

Vliv kreatinu na kostní metabolický obrat a kvalitu kostní tkáně u potkanů

P. ŽIVNÝ¹, H. ŽIVNÁ², K. ŠVEJKOVSKÁ¹, S. FEKETE¹, M. HOLEČEK³

¹Ústav klinické biochemie a diagnostiky, FN a LF v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze,

²Radioizotopové laboratoře a vivárium, Univerzita Karlova v Praze, LF v Hradci Králové

³Ústav fyziologie, Univerzita Karlova v Praze, LF v Hradci Králové, Česká republika

SOUHRN

Živný P, Živná H., Švejkovská K., Fekete S., Holeček M.: **Vliv kreatinu na kostní metabolický obrat a kvalitu kostní tkáně u potkanů**
Cíl studie: Sledovali jsme vliv kreatinu podávaného v dietě po dobu 12 týdnů na kostní metabolický obrat a kvalitu kostní tkáně u potkanů samců kmene Wistar (n = 20).

Materiál a metody: Potkani byli rozděleni do 2 skupin: 1. skupina byla živena standardní laboratorní dietou ST1-S (n = 10) *ad libitum* po celou dobu trvání pokusu. 2. skupina Krea-S (n = 10) byla živena *ad libitum* ST1 obohacenou o 10 % kreatinu *ad libitum* po celou dobu trvání pokusu. Potkani byli usmrceni odběrem krve z bifurkace břišní aorty v éterové anestezii. Po ukončení pokusu byla provedena celotělová denzitometrie a složení těla metodou dual energy X-ray absorptiometry (DEXA) na přístroji Hologic Delphi A, testována biomechanická odolnost kostí kontrolovanou frakturou na „custom made“ přístroji (Košek a Trnečka, Hradec Králové) a byly stanoveny vybrané ukazatele kostního metabolického obratu procollagen-I N terminal peptide (PINP; pg/ml), kostní frakce alkalické fosfatázy (BALP; ng/ml), bone morphogenetic protein-2 (BMP2; pg/ml), carboxy-terminal collagen crosslinks (CTX1; ng/ml) a insulin like growth factor 1 (IGF-1; pg/ml) metodou EIA. Statistické vyhodnocení výsledků bylo provedeno software SigmaStat Jandel Scientific.

Výsledky (ST1-S vs Krea-S): Obsah tuku v těle (g) na konci pokusu 75 ± 18 vs 39 ± 9 ($p = 0,001$); tříbodové lámání tibí (N) 131 ± 18 vs 126 ± 11 ; torze (N/m) 297 ± 13 vs 288 ± 24 ; tloušťka kosti (mm) $0,541 \pm 0,009$ vs $0,528 \pm 0,012$ ($p = 0,020$).

Závěr: Výsledky naznačují, že užívání přípravků s přídavkem kreatinu, často užívaných kulturisty při tzv. „body building“, ovlivňuje kostní metabolický obrat následované změnami v kostní denzitě.

Klíčová slova: kreatin, kostní markery, hustota kostního minerálu, biomechanické testování

SUMMARY

Živný P, Živná H., Švejkovská K., Fekete S., Holeček M.: **Effect of creatine on the bone metabolic turnover and quality of bone tissue in rats**

Objective: We investigated the effect of creatine administered in the diet for 12 weeks on bone metabolic turnover and quality of bone tissue in male Wistar rats (n = 20).

Material and Methods: Rats were divided into two groups. The first group ST1-S (n = 10) was fed a standard laboratory diet *ad libitum* (ST1) throughout the experiment. The second Crea-S group (n = 10) was fed the ST1 diet enriched with 10 % creatine (Crea) *ad libitum*. Rats were killed by exsanguination from the abdominal aorta under ether anesthesia. After the experiment, whole body densitometry and body composition were determined by dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA; Hologic Delphi A device). Biomechanical bone resistance was tested by controlled fracture using a custom-made device (Kosek and Trnecká, Hradec Kralove). The following markers of bone metabolic turnover were determined: procollagen type I N-terminal propeptide (PINP; pg/ml), bone-specific alkaline phosphatase (BALP; ng/ml), bone morphogenetic protein 2 (BMP-2; pg/ml), carboxy-terminal collagen crosslinks (CTX; ng/ml) and insulin-like growth factor (IGF-1; pg/ml) by EIA. Statistical analysis was performed using SigmaStat software (Jandel Scientific).

Results (ST1-S vs Crea-S): At the end of the experiment, body fat (g) 75 ± 18 vs 39 ± 9 ($p = 0.001$); 3-point tibia fracture (N) 131 ± 18 vs 126 ± 11 ; torsion (N/m) 297 ± 13 vs 288 ± 24 ; bone thickness (mm) 0.541 ± 0.009 vs 0.528 ± 0.012 ($p = 0.020$).

Conclusion: The results suggest that food supplements enriched with creatine, often used by bodybuilders, affects bone metabolic turnover, followed by changes in bone mineral density.

Keywords: creatine, bone markers, bone mineral density, biomechanical testing

Osteologický bulletin 2014;19(4):103–109

Adresa: Doc. MUDr. Pavel Živný, CSc., Fakultní nemocnice, Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové, e-mail: zivny@lfhk.cuni.cz

Došlo do redakce: 11. 9. 2014

Přijato k tisku: 14. 12. 2014

Úvod

Užívání doplňků stravy k podpoře růstu svalové hmoty se v posledních letech stalo velmi populární mezi všemi věkovými kategoriemi a to převážně u mužů. Naopak v medicíně bývají vážné chorobné stavy provázeny proteokatabolickými stavy. Oba tyto mezní případy zasahují jak do metabolismu proteinů, tak i do metabolismu kostí.

Kreatin je dusíkatá látka, jejíž nejvyšší koncentrace je ve svazech. Kreatin je neesenciální aminokyselina, vzniká z argininu, glycinu a methioninu v ledvinách, pankreatu a játrech metylací guanidinoacetátu za využití S-adenosylmethioninu jako donoru methylové skupiny. Substrát guanidinoacetát je enzymaticky formován v ledvinách z aminokyselin argininu a glycinu arginin-glycin amidinotransferázou. Hlavní funkcí kreatinu je akumulace energie ve formě makroergické vazby s fosfátem. Adenosintrifosfát (ATP) poskytuje fosfát za vzniku kreatinfosfátu. Reakce je reverzibilní, čili pokud je při námaze svalů potřeba dodat energii, tak se kreatinfosfát štěpí zpět na kreatin za vzniku volného ATP [1]. Kreatin i kreatinfosfát se vyskytují ve svazech, mozku a krvi [2]. ATP je v organismu uchováván do zásoby a při potřebě energie je velmi rychle uvolněn. Jeho zásoby nejsou příliš velké a stačí na pokrytí energie nutné ke krátkodobému výkonu, např. ke krátkému běhu. Při svalové kontrakci dojde k přenosu N-fosforyl skupiny z fosfokreatinu na adenosindifosfát (ADP) v mitochondriích pro regeneraci ATP. Reakce je reverzibilní a za její průběh je zodpovědná kreatinkináza, která má také energetickou roli v kostní tkáni [3].

Zdrojem exogenního kreatinu z potravy je maso [1]. Kreatin je v organismu přeměňován přes kreatinfosfát na kreatinin, ten se jako odpadní látka vylučuje ledvinami. Stanovení kreatininu v moči slouží jako ukazatel funkce ledvin, ale výsledná hodnota je modifikována právě především množstvím svalové tkáně.

Pro své vlastnosti a funkci v organismu je kreatin vyhledávaným potravinovým doplňkem sportovců. Lze se domnívat, že kreatin podaný exogenně by mohl pomoci v energetickém fosfátovém metabolismu [4], což by mohlo vést k zlepšení svalové síly s následným zlepšením kostního metabolismu nejen u kulturistů, ale i u stárnoucích lidí, kdy dochází k poklesu energetického fosfátového metabolismu [5]. Kreatin našel využití i v medicínské oblasti, jako podpora regenerace při nervosvalových poraněních [6]. Jako u všech potravinových doplňků se i u kreatinu spekuluje o jeho vedlejších účincích. Byly prováděny studie hodnotící vliv suplementace kreatinem na svalové křeče, nevolnost, na funkci ledvin či jater [6,7,8]. Bylo zjištěno, že podávání kreatinu

má pozitivní vliv na množství minerálních látek v kostech, na hodnoty cholesterolu i na paměť [9,10].

Kostní metabolismus je nejčastěji sledován stanovením sérových hladin markerů kostního obratu. Mezi specifické markery kostní novotvorby patří kostní alkalická fosfatáza (BALP), osteokalcin (OC) a N- a C-terminální propeptid prokolagenu typu I (PINP, PICP). BALP je lokalizována v membránách osteoblastů, ze kterých se při jejich aktivaci uvolňuje do séra. OC koreluje s intenzitou kostní novotvorby, účastní se při utváření a mineralizaci osteoidu [11] a je závislý na vitamínu D a K. Část OC uvolněného do krevního oběhu se považuje za jeden z nejcitlivějších markerů kostní novotvorby [12]. PINP a PICP jsou propeptidy z prokolagenu I před jeho zabudováním do kostní hmoty ve formě kolagenu I a také odráží kostní novotvorbu [13]. Naopak při odbourávání kolagenu I se z něj uvolňují do systémové cirkulace N- a C-terminální telopeptidy kolagenu I (NTX-I, CTX-I), což vypovídá o resorpci kostní tkáně [14].

Další z faktorů, který ovlivňuje kostní tkáň, je kostní morfogenetický protein (BMP-2), který podporuje expresi a diferenciaci osteoblastů a následované zvýšením kostní novotvorby [15]. Insulinu podobný růstový faktor (IGF-I) se účastní jak kostní novotvorby, tak při osteoresorpci stimulací osteoformace [16].

Pro zjištění účinku samotného kreatinu na kostní tkáň byli v této studii použiti zdraví nekastrovaní samci potkanů, u kterých není metabolismus kostí negativně ovlivněn ani nedostatkem anabolických hormonů, ani jiným patologickým stavem. Cílem této studie bylo zodpovědět, zda ovlivní kostní tkáň přídavek kreatinu do diety podávané po dobu 3 měsíců.

Materiál a metody

Dieta

Dieta Krea byla připravena ze sypké standardní diety pro hlodavce (ST-1, VELAS, Lysá nad Labem) přidáním chemicky čistého kreatinu ve výsledné koncentraci 10 %. V masovém mlýnku byly vytvořeny pelety, které byly sušeny v sušičce při teplotě 55 °C. Takto připravená dieta byla skladována na chladném a suchém místě.

Zvířata

Studie byla provedena podle projektu pokusů schváleného Odbornou komisí na ochranu zvířat proti týrání LF UK-HK (č.j. 30793/2010-30 a 8593/2008-30). Byli použiti dospělí samci potkanů kmene Wistar (Biotest, s. r. o., Konárove) s tělesnou hmotností 233 ± 5 g na začátku pokusu. Potkani byli ve viváriu Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové (LF UK-HK) umístěni po 5 v plastikových klecích a chováni za standardních podmínek (12 hodin světlo a 12 hodin tma, teplota 22 ± 2 °C, vlhkost vzduchu 30–70 %). Byli živeni laboratorními dietami i pitnou vodou *ad libitum*. Tělesná hmotnost potkanů a spotřeba diety byla sledována jednou týdně.

Tabulka 1

Tělesná hmotnost na konci pokusu (BW; g), spotřeba diety na potkana a den (g), BMC a procentuální obsah tuku v těle na konci pokusu

M ± SD	BW (g)	Dieta (g)	Tuk (g)	Tuk (%)
ST1-S	515 ± 12	28,9 ± 0,8	75 ± 18	17,8 ± 4,1
Krea-S	456 ± 11	31,8 ± 0,6	39 ± 9	10,9 ± 1,8
			vs. ST1-S p = 0,001	vs. ST1-S p = 0,001

Tabulka 2

Vliv podávaného kreatinu na kostní minerální hustotu a obsah minerálu v kostech (g/cm²; g)

M ± SD	DEXA total	Th páteř	Levý femur	Pravý femur	Lean BMC (g)
ST1-S	0,170 ± 0,028	0,225 ± 0,091	0,203 ± 0,132	0,201 ± 0,161	342 ± 28
Krea-S	0,178 ± 0,060	0,233 ± 0,107	0,187 ± 0,072	0,189 ± 0,113	317 ± 22 vs. ST1-S p = 0,042

Tabulka 3

Vliv kreatinu na biomechanické vlastnosti levých a pravých tibí (LT a PT), tj. délka, průměr a tloušťka kosti (mm), dále třibodové ohýbání kostí a lámání torzí (N, N/m)

M ± SD		Délka (mm)	Průměr (mm)	Třibodové lámání (N)	Torze (N/m)	Tloušťka (mm)
ST1-S	LT	40,73 ± 1,51	2,75 ± 0,37	131 ± 18	–	0,521 ± 0,009
	PT	39,71 ± 0,37	2,90 ± 0,28	–	297 ± 13	0,541 ± 0,009
Krea-S	LT	41,15 ± 0,60	2,69 ± 0,09	126 ± 11	–	0,516 ± 0,006
	PT	40,97 ± 0,60	2,78 ± 0,2	–	288 ± 24	0,528 ± 0,012 vs. PT ST1-S p = 0,020

Experiment

Potkani byli rozděleni do dvou skupin po 10 zvířatech:

1. skupina **ST1-S** byla živena standardní laboratorní dietou *ad libitum* (ST-1, VELAS, a. s., Lysá nad Labem) po dobu trvání pokusu. 2. skupina **Krea-S** byla živena ST1 obohacenou o 10 % kreatinu *ad libitum* (Krea) po celou dobu trvání pokusu. Po 12 týdnech byla zvířata v éterové anestézii usmrčena odběrem krve z bifurkace břišní aorty.

Hustota kostního minerálu

Potkanům byla po jejich usmrcení změřena kostní minerální hustota (BMD, g/cm²) s využitím dvouenergie rentgenové absorpciometrie (DXA – Dual Energy X-ray Absorptiometry) na přístroji Hologic Delphi A (Hologic, MA, USA) v Osteocentru Fakultní nemocnice v Hradci Králové. Kostní minerální hustota celého těla, oblasti bederních obratlů a oblasti femuru i procentuální složení těla (fat, lean + BMC) celého potkana byly počítačově vyhodnoceny s využitím příslušného softwarového programu pro malá zvířata (DXA, Hologic, MA, USA).

Testování mechanické odolnosti kostní tkáně

Vyňaté tibie byly zamrazeny na –80 °C do dalších analýz. Pravé i levé tibie byly využity k testování mechanické odolnosti kostní tkáně na speciálním elektromechanickém přístroji (Martin Košek & Pavel Trněčka, Hradec Králové, ČR) podle metodiky popsané dříve [17,18]. Před testováním jsme změřili délku a průměr vyšetřovaných kostí. Tibie byly lámány ve středu diafýzy pomocí třibodového testování (three-point bending). Kost byla položena na dva podpůrné body, vzdálené od sebe 18 mm v anteroposteriorním směru. Kost byla nejprve vystavena počáteční síle do 10 N a poté byl spuštěn elektromotor snižující nerezový váleček s konstantní rychlostí 6 mm/min. Po zlomu jsme změřili tloušťku

kortikální části kosti pomocí posuvného mikrometru (OXFORD 0–25MM 30DEG POINTED MICROMETER, Victoria Works, Leicester, Velká Británie). Maximální vynaložená síla (v tlaku N, v torzi N/m) ke zlomení kostí byla zaznamenána měřicí jednotkou (Digitalanzeiger 9180, Burster praezisionsmesstechnik GmbH, Gernsbach, Německo).

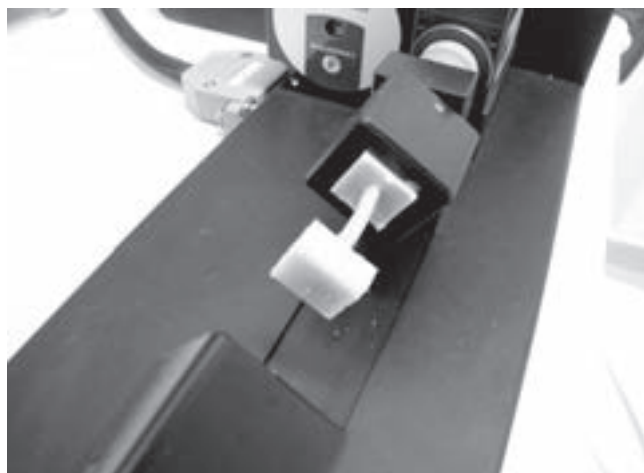
Konec tibie byl svisle fixován ve formě a zalit samopolymerující adhezivní pryskyřicí na bázi metakrylátu (Spofa-cryl-SpofaDental, a. s. Jičín) ve speciálně zhotovené nádobce. Po pěti minutách metylmetakrylát ztuhl a postup se opakoval s druhým koncem tibie. Střed kosti byl stále obalen gázou namočenou ve fyziologickém roztoku. Takto připravená tibie byla umístěna do koncových úchytů přístroje (obr. 1). Po spuštění přístroje se začal jeden úchyt pomalu konstantní rychlostí (24°/min) otáčet, až došlo ke zlomení tibie (obr. 2).

Analýza kostních homogenátů

Homogenát kosti byl připraven po zlomení z proximální části tibie o hmotnosti 0,15 g s 1,5 ml fosfátového pufru (PBS, PAA Laboratories GmbH, Pasching, Austria) na přístroji MagNA Lyser (Roche) ve třech cyklech při 6 500 rpm po dobu 20 sekund. Mezi každým cyklem byly vzorky chlazeny v chladicím kruhu (MagNA Lyser Cooling Block). V kostním homogenátu byly stanoveny koncentrace kostních markerů: N-Termální propeptid prokolagenu I (PINP; pg/ml), karboxyterminální telopeptid kolagenu I (CTX-I; pg/ml), kostní forma izoenzymu alkalické fosfatázy (BALP; ng/ml), kostní morfogenetický faktor 2 (BMP-2; pg/ml) a Insulin Like Growth Factor I (IGF-I; pg/ml) metodou ELISA kity od firmy Uscn Life Science Inc., Wuhan, Čína. Analýzy byly provedeny na Ústavu klinické biochemie a diagnostiky Fakultní nemocnice Hradec Králové.

Obr. 1

Zalitě konce tibií vložené do úchytů přístroje před torzí



Obr. 2

Tibie potkana lámaná torzí, přístroj načítá sílu nutnou ke zlomení



Statistická analýza

Výsledky byly statisticky zpracovány programem SigmaStat 3.1 Jandel Scientific (San Rafael, CA, USA) pomocí nepárového *t*-testu a Mann-Whitney testu. Výsledky jsou vyjádřeny jako průměr $\pm$ směrodatná odchylka ($m \pm SD$) v případně neparametrických hodnot jako medián a 25. a 75. percentil. Hodnoty $p < 0,05$ byly považovány za signifikantní.

Výsledky

Potkani živení 12 týdnů dietou obohacenou o 10 % kreatinu byli na konci experimentu nevýznamně menší než potkani kontrolní živení standardní laboratorní dietou. Spotřeba obou diet byla v průběhu pokusu u obou skupin téměř stejná. Množství tukové tkáně u skupiny Krea-S bylo statisticky významně nižší ve srovnání s kontrolní skupinou ST1-S (tabulka 1).

Vlivem diety obohacené o kreatin došlo k mírnému navýšení BMD v oblasti celého těla a bederních obratlů a naopak k poklesu v oblasti obou femurů. Statisticky významný pokles byl i v obsahu minerálu v kostech. Všechny změny v kostní minerální hustotě byly statisticky nevýznamné (tabulka 2).

Levé i pravé tibie potkanů živených dietou obohacenou o kreatin byly statisticky nevýznamně delší a slabší včetně tloušťky kostní kompakty v místě zlomení. U skupiny Krea-S byly síly nutné k tříbodovému ohýbání – zlomení tibií statisticky nevýznamně nižší než u skupiny ST1-S. U skupiny Krea-S byly statisticky nevýznamně nižší nutné síly ke zlomení tibií torzí než u skupiny ST1-S.

Vyhodnocením ukazatelů kostního obratu v homogenátu kostí u potkanů s dietou obohacenou o kreatin jsme zjistili, že došlo ke statisticky nevýznamnému poklesu všech sledovaných markerů, tj. PINP, BALP, BMP-2 a CTX-I, s výjimkou IGF-I, který naopak statisticky nevýznamně vzrostl ve srovnání se skupinou ST1-S (tabulka 4).

Diskuze

V našem experimentu potkani živení 12 týdnů dietou obohacenou o 10 % kreatinu měli na konci experimentu nevýznamně nižší tělesnou hmotnost než kontroly živené standardní laboratorní dietou. Můžeme se domnívat, že za tuto nižší tělesnou hmotnost je zodpovědnou statisticky významně nižší množství tukové tkáně ve srovnání s kontrolami. Zajímavé je zjištění, že spotřeba diety byla v průběhu pokusu u obou skupin téměř stejná.

Domníváme se, že vlivem exogenního kreatinu byla preferenčně vytvářena spíše svalová hmota a tuková tkáň jen omezeně. Tímto výsledkem jsme ve shodě s literaturou, která pozitivně hodnotí vliv krátkodobého podávání exogenního kreatinu, který zvyšuje svalovou hmotu, sílu i odolnost proti únavě [19] a zlepšuje výkon při každodenních činnostech [6,20,21,22]. Kreatin má ve svalové tkáni i antikatabolické vlastnosti [23]. Ve vztahu ke kostní tkáni je vyšší množství svalové tkáně výhodné, neboť brání zhoršování osteoporózy [24], snižuje počty pádů osob a tím i počty fraktur [25].

V posledních letech se výzkum rovněž zaměřil na vliv exogenního kreatinu na kostní tkáň [26,27], proto jsme též v experimentu na potkanech sledovali vliv diety obohacené o kreatin na kostní metabolismus.

V našem experimentu vlivem exogenního kreatinu došlo k mírnému navýšení BMD v oblasti celého těla a v oblasti bederních obratlů a naopak k poklesu v oblasti obou femurů. Všechny změny v kostní minerální hustotě však byly statisticky nevýznamné. Ve dvou humánních studiích u mužů dospěli autoři k pozitivnímu nálezu, že suplementace monohydrátem kreatinu (v první studii podávali 3 gramy kreatinu denně po 3 měsíce s 2měsíční wash-out periodou; ve druhé studii podávali kreatin v dávce 0,3 g/kg po 5 dní a poté 0,07 g/kg po dobu 12 týdnů) zvýšila kostní minerální hustotu v bederní páteři ve srovnání s placebem [7,29] i v oblasti horní končetiny [30]. U ovariectomovaných samic potkanů po 8 týdnech podávání kreatinu v dávce 0,3 g/kg/den došlo k výraznému zvýšení obsahu fosfátu v bederních kostech, což může svědčit o zlepšování kvality kosti v čase [31].

V našem experimentu jsme zjistili u potkanů s podávaným kreatinem statisticky nevýznamný pokles ukazatelů kostního metabolismu, tedy PINP, BALP, BMP-2 a CTX-I, s výjimkou IGF-I, který naopak statisticky nevýznamně vzrostl ve srovnání se skupinou kontrolní. Vzhledem k tomu, že většina dostupné literatury popisuje útlum kostního metabolismu vlivem exogenního kreatinu, tedy snížené vylučování telopeptidů kolagenu typu I [23,28,29,32], pokles NTX v séru i v moči [30], domníváme se, že exogenně podaný kreatin vede k útlumu resorpce, což může ve svém důsledku vést k nárůstu množství kostní tkáně. Další příčinou pro nárůst BMD, i pro snížené odbourávání kosti při exo-

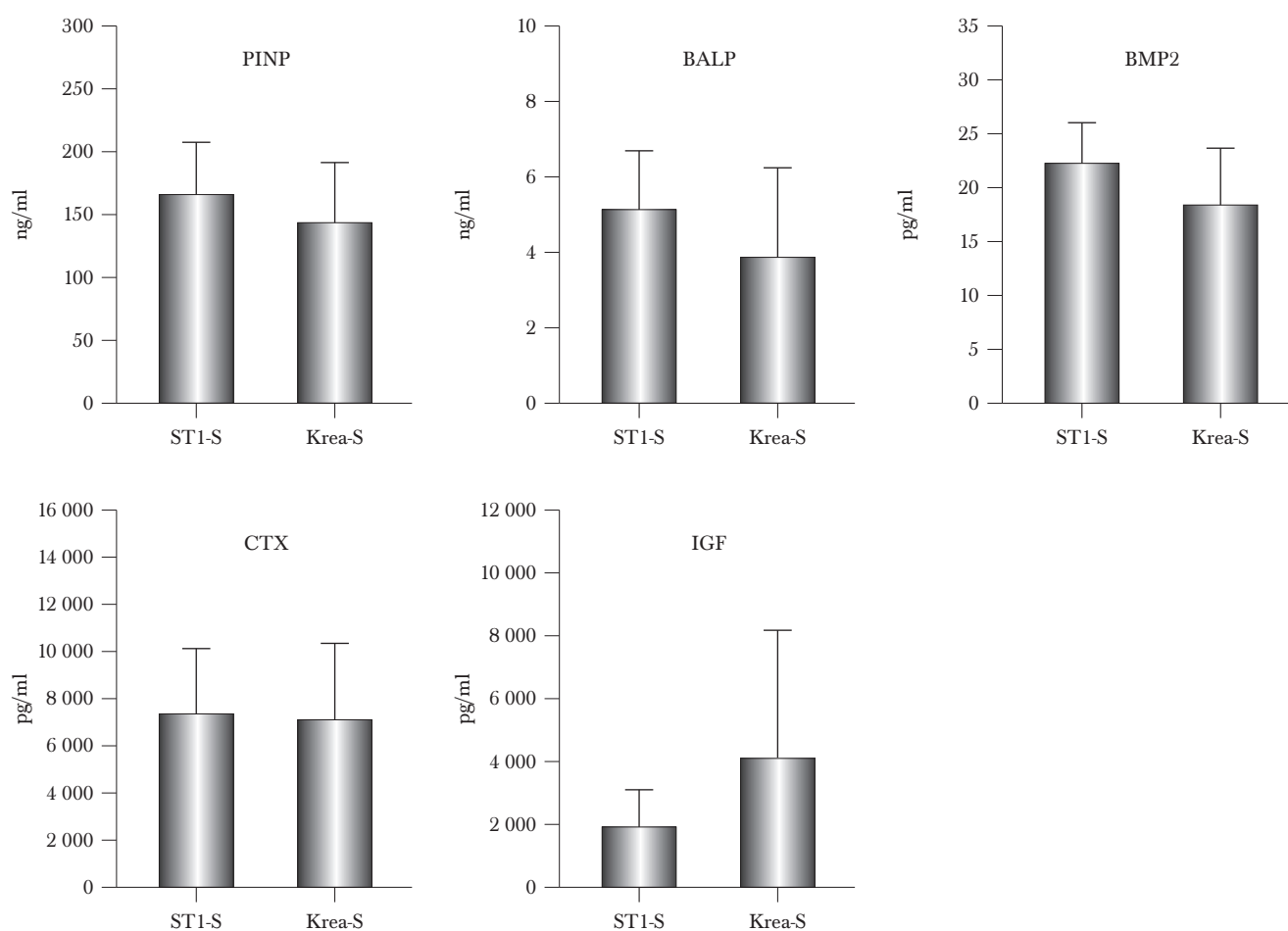
genním podávání kreatinu, může být větší svalová síla, která zvyšuje tah na úpony svalů na kostech [28,29,30].

Pozitivní vliv kreatinu přímo na kostní tkáň může být zprostředkovan také zvýšením aktivity různých buněčných faktorů (např. IGF-I, eukaryotický translační iniciační faktor 4E-vázací protein – 4EBP-1) [33]. Studie *in vitro* [34] na zvířatech [3] odhalily vliv kreatinu na stimulaci vývoje a diferenciaci kostních buněk, zvýšení mineralizace kolagenu, vyšší metabolickou aktivitu a diferenciaci osteoblastů a dalších buněk, které se podílejí na tvorbě kostí a jsou závislé na energii získané prostřednictvím kreatinkinázové reakce [35].

Tabulka 4 a graf 1

Koncentrace kostních markerů v homogenátu kostí (PINP pg/ml; BALP ng/ml; BMP2 pg/ml; CTX ng/ml a GF-1 pg/ml)

M ± SD	PINP	BALP	BMP2	CTX1	IGF
ST1-S	165,9 ± 40,7	5,11 ± 1,58	22,27 ± 3,66	7 283 ± 2 788	1 387 1 096–2 849
Krea-S	142,5 ± 48,3 vs. ST1-S p = 0,260	3,83 ± 2,40 vs. ST1-S p = 0,179	18,45 ± 5,18 vs. ST1-S p = 0,075	7 021 ± 3 256 vs. ST1-S p = 0,849	1 598 762–8 745 vs. ST1-S p = 0,163



V klinických studiích byl vlivem kreatinu prokázán menší úbytek kostní hmoty v krčku femuru ve srovnání s kontrolami, nárůst subperiostální tloušťky kosti femuru i u postmenopauzálních žen [36], snížené ztráty kostní hmoty u Duchennovy svalové dystrofie a u starších trénujících osob [28,30]. Existuje ale také řada studií, kde autoři nenašli žádný důkaz o pozitivním účinku kreatin-monohydrátu na svalovou sílu [37,38,39,40]. Zaujalo nás množství podávaného kreatinu: Bembien podával 5 g kreatinu denně, Bermon podával 20 g kreatinu po 5 dní a poté po 3 g kreatinu denně, Eijnde podával dlouhodobě 5 g kreatinu denně.

V našem experimentu se při vyhodnocení biomechanických vlastností kostí potkanů neprokázaly žádné rozdíly mezi sledovanými skupinami, pouze trend k horším hodnotám u potkanů živěných dietou obohacenou o kreatin. Čímž jsme se shodli s jinými autory, kteří ve studii se spontánně hypertenzními potkany (SHR) neprokázali příznivý efekt na kostní hmotu při suplementaci kreatinu v denní dávce 5 g/kg [41], ale domnívají se, že suplementace kreatinem je efektivnější u mladých rostoucích zvířat [41]. Tento závěr naše výsledky nemohou vyloučit, ale zpracovávaný materiál jsme získali od potkanů až po 3 měsících experimentu, tedy v době, kdy již dosáhli dospělosti.

Naše výsledky nepotvrdily ani pozitivní výsledky autorů práce z roku 2007 [35]. Tito autoři naopak zjistili, že suplementace kreatinem zvýšila odolnost femuru v ohybu s nálezem většího průměru femuru u zdravých potkanů [35]. Tito autoři ale podávali dietu 2 % kreatinu po dobu 8 týdnů, náš experiment trval 12 týdnů s dietou obsahující 10 % kreatinu, tedy 6,5 g kreatinu/kg tělesné hmotnosti potkana/den. Tyto rozdíly mohou být příčinou odlišných závěrů.

Přidání 10 % kreatinu do diety nevyvolalo nežádoucí, až toxické účinky [4], kdy podání exogenního kreatinu v dávce nad 20 g/den vede ke zvýšené produkci formaldehydu [43], přibývání na váze, křečím, nevolnosti a průjmům [8,42]. Přesto se domníváme, že dlouhodobá dieta s 10 % exogenního kreatinu měla spíše negativní dopad na kvalitu kostní tkáně.

Závěr

Předpokládáme, že delší doba podávání diety s koncentrací kreatinu (10 %) byla příčinou, proč u potkanů nedošlo k tvorbě a ukládání tukové tkáně v těle. Dále se domníváme, že svalová tkáň ovlivněná exogenním kreatinem má druhotně dopad i na kostní tkáň. V takové situaci za nárůst BMD a snížené odbourávání kosti může být odpovědná i silnější svalová síla, která zvyšuje tah na úpony svalů na kostech. Zjištěné snížení kostního metabolického obratu vlivem kreatinu vytváří dobré předpoklady pro následnou mineralizaci skeletu. Pod vlivem kreatinu obsaženého v dietě v koncentraci 10 % došlo sice ke snížení kostního metabolického obratu a k mírnému nárůstu BMD, ale bez patřičného odrazu v biomechanických vlastnostech kostí.

Předpokládáme, že by pro dosažení pozitivního efektu exogenního kreatinu bylo vhodnější podávat ho pouze v nízkých dávkách, pohybujících se kolem 2 %. Vyšší koncentrace sice ještě netoxické, působí na kost spíše negativně. Tato hypotéza by potřebovala ještě důkladné ověření.

Poděkování:

Tato studie byla podpořena projekty Prvrouk P37/05 a SVV-2013.

Dále autoři děkují pracovnícím Radioizotopových laboratoří a vivárií Lékařské fakulty v Hradci Králové Dagmar Ježkové, Kateřině Šildbergerové, Ivě Zadobílkové a Romaně Vaňoučkové za přípravu diet a za pomoc při experimentu.

Literatura

- Wyss M, Kaddurah-Daouk R. Creatine and creatinine metabolism. *Physiol Rev* 2000;80:1107–1213.
- Friedecký D, Hlídková E, Novotný D et al. Kreatinin – biochemie, Metabolismus a dědičné metabolické poruchy, Laboratorní technologie, web2.stapro.cz/bull-fons/42007/labo2.pdf
- Gerber I, Gwynn I, Alini M et al. Stimulatory effects of creatine on metabolic activity, differentiation and mineralization of primary osteoblast-like cells in monolayer and micromass cell cultures. *Eur Cell Mater* 2005;10:8–22.
- Smith SA, Mountain SJ, Matott RP et al. Creatine supplementation and age influence muscle metabolism during exercise. *J Appl Physiol* 1998;85:1349–1356.
- Larsen RG, Callahan DM, Foulis SA et al. Age-related changes in oxidative capacity differ between locomotory muscles and are associated with physical activity behavior. *Appl Physiol Nutr Metab* 2012;37:88–99.
- Stout JR, Sue Graves B, Cramer JT et al. Effects of creatine supplementation on the onset of neuromuscular fatigue threshold and muscle strength in elderly men and women (64 – 86 years). *J Nutr Health Aging* 2007;11:459–464.
- Louis M, Lebacqz J, Poortmans JR et al. Beneficial effects of creatine supplementation in dystrophic patients. *Muscle Nerve* 2003;27:604–610.
- Wallimann T, Tokarska-Schlattner M, Schlattner U. The creatine kinase system and pleiotropic effects of creatine. *Amino Acids* 2011;40:1271–1296.
- Wallimann T, Wyss M, Brdiczka D et al. Intracellular compartmentation, structure and function of creatine kinase isoenzymes in tissues with high and fluctuating energy demands: the 'phosphocreatine circuit' for cellular energy homeostasis. *Biochem J* 1992;281:21–40.
- Dos Santos FS, da Silva LA, Pochapski JA et al. Effects of L-arginine and creatine administration on spatial memory in rats subjected to a chronic variable stress model. *Pharm Biol* 2014;52:1033–1038.
- Brown JP, Albert C, Nassar BA et al. Bone turnover markers in the management of postmenopausal osteoporosis. *Clin Biochem* 2009;42:929–942.
- Lee AJ, Hodges S, Eastell R. Measurement of osteocalcin. *Ann Clin Biochem* 2000;37:432–446.
- Garnero P, Vergnaud P, Hoyle N. Evaluation of a fully automated serum assay for total N-terminal propeptide of type I collagen in postmenopausal osteoporosis. *Clin Chem* 2008;54:188–196.
- Herrmann M, Seidel MJ. The amino- and carboxyterminal cross-linked telopeptides of collagen type I, NTX-I and CTX-I: a comparative review. *Clin Chim Acta* 2008;393:57–75.
- Jadhav SB, Jain GK. Statins and osteoporosis: new role for old drugs. *J Pharm Pharmacol* 2006;58:3–18.
- Swarthout JT, D'Alonzo RC, Selvamurugan N, Partridge NC. Parathyroid hormone-dependent signaling pathways regulating genes in bone cells. *Gene* 2002;282:1–17.
- Gradosova I, Zivna H, Svejkovska K, Palicka V, Tichy A, Zivny P. The role of atorvastatin in bone metabolism in male albino Wistar rats. *Pharmazie* 2011;66(8):606–610.
- Zivný P, Švejková K, Gradošová I et al. Možnosti určení mechanické odolnosti kostí v experimentu – souhrn poznatků. *Osteologický bulletin* 2011;16:132–136.
- Chrusch MJ, Chilibeck PD, Chad KE et al. Creatine supplementation combined with resistance training in older men. *Med Sci Sports Exerc* 2001;33:2111–2117.
- Gotshalk LA, Kraemer WJ, Mendonca MA et al. Creatine supplementation improves muscular performance in older women. *Eur J Appl Physiol* 2008;102:223–231.
- Rawson ES, Clarkson PM. Acute creatine supplementation in older men. *Int J Sports Med* 2000;21:71–75.
- Rawson ES, Wehnert ML, Clarkson PM. Effects of 30 days of creatine ingestion in older men. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1999;80:139–144.
- Stout JR, Sue Graves B, Cramer JT et al. Effects of creatine supplementation on the onset of neuromuscular fatigue threshold and muscle strength in elderly men and women (64 – 86 years). *J Nutr Health Aging* 2007;11:459–464.
- Candow DG, Little JP, Chilibeck PD et al. Low-dose creatine combined with protein during resistance training in older men. *Med Sci Sports Exerc* 2008;40:1645–1652.
- Crepaldi G, Maggi S. Sarcopenia and osteoporosis: A hazardous duet. *J Endocrinol Invest* 2005;28, Suppl 10:66–68.
- Clegg A, Young J, Iliffe S et al. Frailty in elderly people. *Lancet* 2013;381:752–762.
- Candow DG, Chilibeck PD. Potential of creatine supplementation for improving aging bone health. *J Nutr Health Aging* 2010;14:149–153.

28. Candow DG, Chilibeck PD, Forbes SC. Creatine supplementation and aging musculoskeletal health. *Endocrine* 2014;45:354–361.
29. Louis M, Poortmans JR, Francaux M et al. No effect of creatine supplementation on human myofibrillar and sarcoplasmic protein synthesis after resistance exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003;285:E1089–1094.
30. Tarnopolsky MA, Mahoney DJ, Vajsar J et al. Creatine monohydrate enhances strength and body composition in Duchenne muscular dystrophy. *Neurology* 2004;62:1771–1777.
31. Chilibeck PD, Chrusch MJ, Chad KE et al. Creatine monohydrate and resistance training increase bone mineral content and density in older men. *J Nutr Health Aging* 2005;9:352–353.
32. de Souza RA, Xavier M, da Silva FF et al. Influence of creatine supplementation on bone quality in the ovariectomized rat model: an FT-Raman spectroscopy study. *Lasers Med Sci* 2012;27:487–495.
33. Cornish SM, Candow DG, Jantz NT et al. Conjugated linoleic acid combined with creatine monohydrate and whey protein supplementation during strength training. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2009;19(1):79–96.
34. Deldicque L, Louis M, Theisen D et al. Increased IGF mRNA in human skeletal muscle after creatine supplementation. *Med Sci Sports Exerc* 2005;37:731–736.
35. Funanage VL, Carango P, Shapiro IM et al. Creatine kinase activity is required for mineral deposition and matrix synthesis in endochondral growth cartilage. *Bone Miner* 1992;17:228–236.
36. Antolic A, Roy BD, Tarnopolsky MA et al. Creatine monohydrate increases bone mineral density in young Sprague-Dawley rats. *Med Sci Sports Exerc* 2007;39:816–820.
37. Beck TJ, Kohlmeier LA, Petit MA et al. Confounders in the association between exercise and femur bone in postmenopausal women. *Med Sci Sports Exerc* 2011;43:80–89.
38. Bemben MG, Witten MS, Carter JM et al. The effects of supplementation with creatine and protein on muscle strength following a traditional resistance training program in middle-aged and older men. *J Nutr Health Aging* 2010;14:155–159.
39. Bermon S, Venembre P, Sachet C et al. Effects of creatine monohydrate ingestion in sedentary and weight-trained older adults. *Acta Physiol Scand* 1998;164:147–155.
40. Eijnde BO, Van Leemputte M, Goris M et al. Effects of creatine supplementation and exercise training on fitness in men 55–75 year old. *J Appl Physiol* 2003;95:818–828.
41. Eliot KA, Knehans AW, Bemben DA et al. The effects of creatine and whey protein supplementation on body composition in men aged 48 to 72 years during resistance training. *J Nutr Health Aging* 2008;12:208–212.
42. Alves CR, Murai IH, Ramona P et al. Influence of creatine supplementation on bone mass of spontaneously hypertensive rats. *Rev Bras Reumatol* 2012;52:453–461.
43. Kim HJ, Kim CK, Carpentier A et al. Studies on the safety of creatine supplementation. *Amino Acids* 2011;40:1409–1418.