



UNIVERZITET U NOVOM SADU
FAKULTET SPORTA I FIZIČKOG VASPITANJA

**EFEKTI AEROBNOG I ANAEROBNOG VEŽBANJA
MAKSIMALNOG INTENZITETA NA BIOMARKERE
PERIFERNOG ZAMORA I ĆELIJSKE
BIOENERGETIKE KOD MLADIH
MUŠKARACA I ŽENA**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentor:
Prof. dr Sergej Ostojić

Kandidat:
Štajer Valdemar

Novi Sad, 2019. godine

UNIVERZITET U NOVOM SADU

**UNIVERZITET U NOVOM SADU
FAKULTET SPORTA I FIZIČKOG VASPITANJA**

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Valdemar Štajer
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): MN	Prof. dr Sergej Ostojić, redovni profesor
Naslov rada: NR	Efekti aerobnog i anaerobnog vežbanja maksimalnog intenziteta na biomarkere perifernog zamora i ćelijske bioenergetike kod mladih muškaraca i žena
Jezik publikacije: JP	Srpski
Jezik izvoda: JI	srp. / eng.
Zemlja publikovanja: ZP	Republika Srbija
Uže geografsko područje: UGP	Administrativna Pokrajina Vojvodina
Godina: GO	2019.
Izdavač: IZ	Autorski reprint
Mesto i adresa: MA	Srbija, 21000 Novi Sad, Lovćenska 16

Fizički opis rada: FO	(7 poglavlja / 62 stranice / 2 dijagrama / 2 šeme / 1 grafikon / 6 tabela / 103 reference)
Naučna oblast: NO	Fizičko vaspitanje i sport
Naučna disciplina: ND	Osnovne naučne discipline u sportu i fizičkom Vaspitanju
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	Ćeliska bioenergetika, periferni zamor, vežbanje maksimalnog intenziteta
UDK	
Čuva se: ČU	Biblioteka Fakulteta sporta i fizičkog vaspitanja, Univerziteta u Novom Sadu
Važna napomena: VN	
Izvod: IZ	
Datum prihvatanja teme od strane Senata: DP	
Datum odbrane: DO	2019. godina
Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO	predsednik: Prof. dr Drid Patrik / redovni profesor / Fakultet sporta i fizičkog vaspitanja, Univerzitet u Novi Sad član: Prof. dr Tatjana Trivić / docent / Fakultet sporta i fizičkog vaspitanja, Univerzitet u Novi Sad član: Prof. dr Milan Vraneš / vanredni profesor / Prirodno matematički Fakultet, Univerzitet u Novom Sadu

University of Novi Sad
Faculty of Sport and Physical Education

Key word documentation

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	Doctoral Thesis
Author: AU	Valdemar Štajer
Mentor: MN	Full Professor Sergej Ostojic, MD, PhD
Title: TI	Effects of exhaustive aerobic and anaerobic exercise on biomarkers of peripheral fatigue and cell bioenergy in young men and women
Language of text: LT	Serbian
Language of abstract: LA	eng. / srp.
Country of publication: CP	Republic of Serbia
Locality of publication: LP	Administrative Province of Vojvodina
Publication year: PY	2019.
Publisher: PU	Author's reprint
Publication place: PP	Serbia, 21000 Novi Sad, Lovćenska 16

Physical description: PD	(7 chapters / 62 pages / 2 diagrams / 2 figures / 1 chart / 6 tables / 103 references)
Scientific field SF	Physical education and sports
Scientific discipline SD	Basic scientific disciplines in sports and physical education
Subject, Key words SKW	Cellular bioenergetics, peripheral fatigue, strenuous exercise
UC	
Holding data: HD	Library of the Faculty of Sport and Physical Education, University of Novi Sad
Note: N	
Abstract: AB	
Accepted on Senate on: AS	
Defended: DE	2019. year
Thesis Defend Board: DB	<p>president: Drid Patrik, PhD / Full Professor / Faculty of Sport and Physical Education, University of Novi Sad</p> <p>member: Tatjana Trivić, PhD / Assistant Professor / Faculty of Sport and Physical Education, University of Novi Sad</p> <p>member: Milan Vraneš, PhD / Associate Professor / Faculty of Science, University of Novi Sad</p>

SAŽETAK

Primena biomarkera ćelijske energetike, uključujući indikatore metabolizma kreatina u krvi, je relativno novijeg datuma, gde se ovi indikatori koriste kao mogući pokazatelji stanja organizma pri maksimalno intenzivnim fizičkim aktivnostima. *Cilj* istraživanja je obuhvatao utvrđivanje efekata pojedinačnih epizoda aerobnog i anaerobnog vežbanja maksimalnog intenziteta na biomarkere perifernog zamora i ćelijske bioenergetike kod mladih muškaraca i žena. Istraživanje je dizajnirano tako da obuhvati populaciju fizički aktivnih muškaraca i žena, kao i populaciju aktivnih sportista. U prvom eksperimentalnom tretmanu fizički aktivni ispitanici muškog ($n = 12$) i ženskog pola ($n = 11$) podvrgnuti su test protokolima aerobnog i anaerobnog opterećenja maksimalnog intenzivnog i kratkog trajanja. Tokom aerobnog test protokola ispitanici su trčali do maksimalnog voljnog otkaza na tredmil traci sa progresivnim povećanjem opterećenja. Pri anaerobnom test protokolu ispitanici su izvršili testiranje snažne izdržljivosti gornjih ekstremiteta do otkaza potiskom sa ravne klupe, uz opterećenje od 25% od njihove telesne težine. Drugi eksperimentalni tretman je sačinjen iz pre-eksperimentalnog testiranja kardiorespiratorne forme i eksperimentalne protokol sesije trčanja do maksimalnog voljnog otkaza na pokretnoj traci, pri konstantnoj individualnoj brzina trčanja na anaerobnom pragu. U ovom eksperimentalnom tretmanu bila je uključena populacija aktivnih sportista ($n = 10$). Pre, tokom i nakon eksperimentalnih sesija praćena je koncentracija različitih biohemijskih i hematoloških markera: guanidinosirćetna kiselina (GAA); kreatin (Cr); kreatinin (Crn); laktat (Lac); interleukin-6 (IL-6); kreatin kinaza (CK); kortizol (Cor). Rezultati prvog eksperimentalnog tretmana su utvrdili statistički značajne promene u koncentraciji GAA, Cr i Crn u krvi pre i nakon pojedinačne epizode aerobnog i anaerobnog vežbanja maksimalnim intenzitetom. Utvrđena je i statistički značajna povezanost između vežbanjem-indukovanih promena u cirkulatornim vrednostima GAA, Cr, Crn za vreme pre, tokom i nakon drugog eksperimentalnog tretmana. Uočena je statistički značajna povezanost između promena koncentracije GAA, Cr, Crn u serumu sa tradicionalnim biomarkerima perifernog zamora (IL6, Cor, Lac, CK). Dobijeni rezultati ukazuju na mogućnost primene biomarkera metabolizma kreatina u krvi prilikom praćenja i evaluacije stanja organizma tokom maksimalnih intenzivnih fizičkih aktivnosti kod mladih muškaraca i žena.

ABSTRACT

The use of biomarkers of cellular bioenergetics in exercise science appears more prevalent in recent years, where these outcomes perhaps describe changes in creatine metabolism during strenuous exercise. The aim of this study was to determine the effects of individual episodes of strenuous aerobic and anaerobic exercise on several biomarkers of peripheral fatigue and cellular bioenergetics in young men and women. The study recruited physically active men and women, and active athletes. In the first experiment, physically active men ($n = 12$) and women ($n = 11$) were subjected to strenuous aerobic and anaerobic exercise. During the aerobic test, subjects ran to exhaustion while during the anaerobic test, subjects performed repetitive bench press exercise. The second experimental treatment consisted of a pre-experimental testing of cardiorespiratory fitness, and an experimental protocol of a strenuous running session to exhaustion at constant individual running speed at the anaerobic threshold; active athletes ($n = 10$) were included in this experimental treatment. The blood levels of various biochemical and hematological markers were monitored before, during and after the experimental sessions, including guanidinoacetic acid (GAA); creatine (Cr); creatinine (Crn); lactate (Lac); interleukin-6 (IL-6); creatine kinase (CK); cortisol (Cor), and plethora of other physiological outcomes. We found statistically significant changes in serum GAA, Cr and Crn before and after a single session of strenuous aerobic and anaerobic exercise. A significant correlation was found between exercise-induced changes in serum GAA, Cr and Crn before, during and after the second experimental intervention. A statistically significant association was observed between changes in serum GAA, Cr, Crn and traditional biomarkers of peripheral fatigue (IL6, Cor, Lac, CK). The results of the present study suggest that biomarkers of creatine metabolism might be used as innovative tools in monitoring strenuous exercise in young men and women.

Prikaz naučnih radova kandidata iz doktorske disertacije:

Stajer, V., Trivic, T., Drid, P., Vranes, M., i Ostojic, S. M. (2016). A single session of exhaustive exercise markedly decreases circulating levels of guanidinoacetic acid in healthy men and women. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 41(10), 1100-1103., DOI: 10.1139/apnm-2016-0102 **M21**

Stajer, V., Vranes, M., i Ostojic, S. M. (2018). Correlation between biomarkers of creatine metabolism and serum indicators of peripheral muscle fatigue during exhaustive exercise in active men. *Research in Sports Medicine*, 23(5), 1-8., DOI: 10.1080/15438627.2018.1502185 **M22**

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. OSNOVE BIOENERGETIKE I METABOLIZMA FIZIČKOG VEŽBANJA	1
1.1.1. FOSFOKREATINSKI SISTEM	2
1.1.2. SISTEM ANAEROBNE GLIKOLIZE I METABOLIZAM LAKTATA	3
1.1.3. SISTEM AEROBNE PRODUKCIJE ENERGIJE	4
1.2. BIOHEMIJSKI INDIKATORI FIZIČKOG VEŽBANJA I ZAMORA	5
1.2.1. MARKERI MIŠIĆNOG OŠTEĆENJA	6
1.2.2. MARKERI IMUNOLOŠKOG ODGOVORA	7
1.3. MARKERI CELULARNE BIOENERGETIKE	7
1.3.1. HEMIJSKE OSOBINE GUANIDINOSIRĆETNE KISELINE	8
1.3.2. METABOLIZAM GUANIDINOSIRĆETNE KISELINE	9
1.3.2.1. Put biosinteze Cr	9
1.3.2.2. Biosinteza GAA	9
1.3.2.3. Regulacija biosinteze GAA	10
1.3.2.4. Apsorpcija, transport i koncentracija GAA u tkivima.	11
1.3.2.5. Putevi razgradnje GAA	12
1.3.3. POREMEĆAJI METABOLIZMA KREATINA	14
1.3.4. SUPLEMENTACIJA GAA I FIZIOLOGIJA SPORTA	15
1.3.5. OSTALA SAZNAJNA O GUANIDINOSIRĆETNOJ KISELINI	16
2. CILJ	18
3. METOD RADA	19
3.1. EKSPERIMENTALNI DIZAJN	20
3.1.1. OPIS I USLOVI EKSPERIMENTALNOG TRETMANA 1	20
3.1.2. OPIS I USLOVI EKSPERIMENTALNOG TRETMANA 2	21
3.2. UZORAK ISPITANIKA	23
3.2.1. OPŠTI KRITERIJUMI: Eksperimentalni tretman (1) i (2).	23
3.2.2. SPECIFIČNI KRITERIJUMI	24
3.2.2.1. Eksperimentalni tretman (1)	24
3.2.2.2. Eksperimentalni tretman (2)	24
3.3. UZORAK MERNIH INSTRUMENATA	25
3.3.1. Antropometrijske mere i parametri: za eksperimentalni tretman (1) i (2)	25
3.3.2. Motoričko-funkcionalne mere i parametri	25
3.3.2.1. Eksperimentalni tretman (1)	25
3.3.2.2. Eksperimentalni tretman (2)	26
3.3.3. Biohemijsko-hematološki markeri	27
3.3.3.1. Eksperimentalni tretman (1)	27
3.3.3.2. Eksperimentalni tretman (2)	27
3.4. METODE OBRADE PODATAKA	29
4. REZULTATI	30
4.1. Eksperimentalni tretman (1)	30
4.2. Eksperimentalni tretman (2)	34
5. DISKUSIJA	38
5.1. Eksperimentalni tretman (1)	38
5.2. Eksperimentalni tretman (2)	41
6. ZAKLJUČAK	50
7. LITERATURA	52

1. UVOD

1.1. OSNOVE BIOENERGETIKE I METABOLIZMA FIZIČKOG VEŽBANJA

Bioenergetika objedinjava kompleksne procese razmene i utilizacije energije između živog sistema i okoline. Živi sistemi (organizmi) se ponašaju po istim zakonima termodinamike kao i neživi sistemi, ipak uz duboke i veoma značajne razlike. Nijedna elementarna funkcija organizma i proces u organizmu ne može da se izvrši bez energije. Prenos i transformacija energije stoji u osnovi svih fizioloških zbivanja u ćeliji (Kovacevic, 2006).

Metabolizam predstavlja skup svih hemijskih reakcija u organizmu gde se energija iz materija unetih hranom (ugljeni hidrati, masti, proteini) ili sintetisanih u organizmu koriste za hemijske reakcije anaboličkog i kataboličkog karaktera. Anaboličke reakcije predstavljaju reakcije korišćenja energije za hemijske procese sinteze telesnih tkiva i hemijskih jedinjenja. Reakcije u kojima se energija koristi za procese razgradnje hemijskih jedinjenja i tkiva nazivamo kataboličkim reakcijama. Tokom fizičkog vežbanja osnovni cilj hemijskih procesa je dopremanje i konstantno obezbeđivanje energije potrebne za mišićnu aktivnost, gde se hemijska energija konvertuje u mehaničku, nezavisno od tipa bioenergetskih materija i metaboličke reakcije (Ostojic, 2007).

Potencijalna metabolička hemijska energija (gorivo) unosi se ishranom. Ugljeni hidrati, masti i proteini iz namirnica poseduju energetski potencijal koji se nizom hemijskih reakcija transformiše i deponuje u formi visoko energetskog jedinjenja adenzin-trifosfata (ATP) (Ostojic, 2007). ATP predstavlja jedini neposredni donor energije za bilo koju energetsku aktivnost u organizmu. Unutar ćelije ATP se upotrebljava za tri osnovne funkcije: (1) transport materija kroz ćelijske membrane, (2) sintezu hemijskih supstanci u raznim delovima ćelije i (3) mehanički rad (kontrakciju) mišića. Tokom mišićne kontrakcije sinteza ATP-a je direktno povezana sa kataboličkim procesima te je na taj način sadržaj ATP-a u mišićima relativno postojan. Molekul ATP sastoji se od purinske baze adenina, šećera riboze i tri lančano povezane fosfatne grupe. Upravo fosfatne grupe u ovom molekulu su vezane visoko-energetskim vezama. Hemijska energija koja se oslobađa putem hidrolize ATP-a, odnosno hidrolitičkim odvajanjem jedne fosfatne grupe pomoću enzima adenzintrifosfataze (ATPaza, u mišiću miozinska ATPaza), dovodi do oslobađanja energije (34 kJ po molu ATP-a) koja se u procesu mišićne kontrakcije pretvara u mehanički rad, pri čemu nastaje adenzin-difosfat (ADP). Dalja hidroliza ADP delovanjem adenilat kinaze (AK) raskida vezu sa još jednom fosfatnom grupom, pa nastaje adenzin-monofosfat (AMP) (Neumann, Schlattner, i

Wallimann, 2003). Ove hemijska reakcije su reverzibilne i zahtevaju ulaganje energije prilikom resinteze matičnog molekula.

Dostupna količina ATP-a u ljudskom telu je relativno mala, i iznosi oko 80 do 100 g (3 do 5 mmola ATP/kg mišićne mase), što ne predstavlja znatne energetske rezerve pri vežbanju. Osim toga fiziološke rezerve ATP-a ne mogu biti u potpunosti ispražnjene već se zadržavaju na biološkom minimumu. Koncentracija ATP-a može biti umanjena za najviše 50 do 60% u odnosu na vrednosti u mirovanju usled eksperimentalno indukovanoog mišićnog zamora (Greenhaff i sar., 1994; Herda i Cramer, 2016). Metabolički mehanizmi-sistemi za resintezu ATP-a su fosfokreatinski sistem, anerobna glikoliza i aerobna produkcija energije.

1.1.1. FOSFOKREATINSKI SISTEM

Fosfokreatinski sistem obezbeđuje ATP primarno za kratkotrajne aktivnosti visokog intenziteta i na početku svakog fizičkog vežbanja nezavisno od intenziteta (Herda i Cramer, 2016). Kreatin (Cr) u fosfokreatinskom sistemu, a u svom aktivnom molekularnom obliku fosfokreatinu (PCr) kao bioenergent, predstavlja donora fosfatne grupe (Pi) u metaboličkom procesu sinteze/resinteze ATP-a. Kreatin kinaza (CK) je enzim koji katalizuje sintezu i resintezu ATP-a iz PCr i ADP-a (Herda i Cramer, 2016). Takođe, tokom visoko intenzivnih fizičkih aktivnosti AMPK (AMP-protein kinaza) može direktno ili indirektno kontrolisti enzimsku aktivnost CK (Baird, Graham, Baker, i Bickerstaff, 2012; Ponticos i sar., 1998). AMPK postaje aktivna kad se u ćeliji aktivira hidroliza ADP delovanjem adenilat kinaze (AK), a koncentracija AMP se drastično poveća. Ona reguliše ravnotežni odnos AMP i ATP, a visoka koncentracija PCr dovodi do njene inhibicije (Hardie, 2004). Reakcije fosfokreatinskog sistema u velikoj meri su kontrolisane zakonom o dejstvu mase, koji kaže da pravac hemijske reakcije zavise od koncentracije reaktanata ili produkata (ili oba) u rastvoru (Herda i Cramer, 2016).

Organizam se snabdeva Cr putem ishrane ili putem endogene sinteze. Depoi Cr se pretežno nalaze u skeletnim mišićima (98%), od čega se 40% nalazi u slobodnom obliku a ostalih 60% u fosforilizovanom obliku (Hoffman i Stout, 2008). Manje količine Cr su deponovane u mozgu, srčanom mišiću i reproduktivnim gonadama kod muškaraca (Snow i Murphy, 2001). Pod normalnim okolnostima, koncentracija PCr u skeletnim mišićima je četiri do šest puta veća u odnosu na koncentracije ATP (Herda i Cramer, 2016). Mišićna vlakna tipa II (brzokontrahujuća) sadrže veće koncentracije PCr u odnosu na mišićna vlakna tipa I (sporokontrahujuća), pa zato predisponirane osobe sa većim procentom vlakana II mogu

brže da resintetišu ATP putem fosfokreatinskog sistema tokom anaerobnih, alaktatinih eksplozivnih vežbi (Herda i Cramer, 2016; Wyss i Kaddurah-Daouk, 2000). Nakon fizičke aktivnosti odnos Cr/PCr se menja u korist slobodnog Cr. Povišena koncentracija slobodnog Cr stimuliše proizvodnju PCr iz mišićnih mitohondrija oksidativnim putem u mirovanju, pri niskim intenzitetima i tokom oporavka od fizičke aktivnosti (Wyss i Kaddurah-Daouk, 2000). Tim mehanizmom organizam smanjuje koncentraciju slobodnog Cr i ne dozvoljava da dođe do spontane ne-enzimske degradacije Cr u novi metabolički oblik kreatinin (Crn), energetski inaktivni finalni proizvod metabolizma kreatina. Novo jedinjenje napušta mišićne ćelije putem difuzije, ulazi u krvotok i izlučuje se iz organizma putem urina.

1.1.2. SISTEM ANAEROBNE GLIKOLIZE I METABOLIZAM LAKTATA

U momentima kada iz reakcija fosfokreatinskog sistema, a u toku visoko intenzivnog mišićnog rada prestane da se obezbeđuje resinteza ATP odgovarajućom brzinom, tada dolazi do pokretanja sledećeg sukcesivnog metaboličkog procesa – anaerobne glikolize. Sama glikoliza predstavlja razgradnju ugljenih hidrata u anaerobnim uslovima. Tačnije razgradnju glukoze iz krvi i glikogena uskladištenog u mišićima putem uključivanja enzimskih katalitičkih reakcija do kranjeg produkta - pirogroždane kiseline (piruvata), kako bi se održao balans koncentracije ATP.

U anaerobnim uslovima i pri visoko intenzivnim aktivnostima resinteza ATP se obezbeđuje putem pretvaranja piruvata u laktate (Lac), pomoću brze reakcije koja uključuje nikotinamid adenin dinukleotid (NAD^+), uz to da je reakcija vremenski ograničena zbog povećane produkcije vodonikovih jona (H^+) koji dovode do smanjenja pH vrednosti u citosolu (Herda i Cramer, 2016). U stanjima kada je intenzitet rada visok i ekstenzivan javlja se subjektivni osećaj izuzetno velike neprijatnosti prouzrokovan povećanom koncentracijom H^+ jona u aktivnim mišićima. Pošto mitohondrije (ćelijske organele za proizvodnju hemijske energije u aerobnim uslovima) ne mogu da koriste piruvate dovoljno brzo kako bi sprečile njihovo nagomilavanje u mišićnom citostolu (Ostojic, 2007) uz istovremenu produkciju potrebne količine ATP, piruvati se katalizuju delovanjem enzima laktat dehidrogenaze (LDH) i dolazi do stvaranja laktata, kako bi se nesmetano odvijala dalja glikoliza i obezbeđivanje novih molekula ATP. Molekuli laktata nastali tokom anaerobne glikolize difuzijom napuštaju citosol i ulaze u međućelijski prostor, takođe odlaze do ćelija koje laktate mogu da iskoriste u stvaranju energije – npr. mišićna vlakna tipa I i ćelije miokarda (Cramer, 2008; Guyton, 1996). Kada se uspostave metabolički uslovi za produkciju energije aerobnim sistemima, a uz

prisustvo kiseonika tokom mišićnog rada dolazi do otpremanja i mobilizacije nagomilanih količina laktata do mitohondrija u ćelijama ciljnih tkiva. Laktati se ponovo pretvaraju u pirogrogđanu kiselinu i NADH, uz oslobađanje H^+ jona. Ovom reakcijom se dobija velika količina ATP, s tim da se 3/4 piruvata pretvara ponovo u glukozu. Glikoliza u anaerobnim uslovima je brza i neekonomična metabolička reakcija. Tokom fizičkih aktivnosti nivo adrenalina u krvi raste, što dodatno stimuliše anaerobnu glikolizu u mišićima (Ostojic, 2007).

1.1.3. SISTEM AEROBNE PRODUKCIJE ENERGIJE

Oksidativni tj. aerobni energetski sistem predstavlja primarni izvor ATP u mirovanju i pri aktivnostima niskog intenziteta (Herda i Cramer, 2016). Kao supstrat se koriste masti, proteini, ugljeni hidrati i piruvati, serijom hemijskih reakcija transformisani na molekule koji mogu biti iskorišćeni putem aerobnog metabolizma (Ostojic, 2007). U miru približno 70% proizvedenog ATP-a potiče iz masti i oko 30% iz ugljenih hidrata (Herda i Cramer, 2016). Sa početkom fizičke aktivnosti, kako se intenzitet vežbanja povećava, povećava se i udeo ugljenih hidrata u ukupnoj proizvodnji energije. Tokom aerobnog vežbanja visokog intenziteta, gotovo 100% ukupno proizvedene energije se dobija razlaganjem ugljenih hidrata (Herda i Cramer, 2016). Nakon razgradnje glukoze iz krvi na dva molekula piruvata (putem glikolize) piruvati se dalje transportuju do matriksa mitohondrije, ako je prisutna dovoljna koncentracija kiseonika u ćeliji. Nakon toga se oba molekula piruvata vezuju za koenzim A (derivat vitamina pantotenske kiseline) i pretvaraju u dva molekula acetil-konzima A (acetil-CoA). Tako nastali acetil-CoA ulazi u Krebsov ciklus. Krebsov ciklus predstavlja seriju hemijskih reakcija oksidativne fosforilacije unetih substrata. Elektroni H^+ jona oslobođeni u Krebsovom ciklusu slede lanaca citohroma (tzv. transportni lanac elektrona) u mitohondrijama, a energija koja se oslobađa tokom ciklusa oksidacije-redukacije dovodi do refosforilacije ADP u ATP. Sve hemijske reakcije transportnog lanca elektrona regulišu enzimi citohrom oksidaze. Krebsovim ciklusom i putem transportnog lanca elektrona iz samo jednog molekula glikogena (ili glukoze iz krvi) proizvede se približno 38 molekula ATP. (Guyton, 1996; Grujic, 2004; Ostojic, 2007).

Masti u formi triglicerida predstavljaju energente koji se razlažu na slobodne masne kiseline i glicerol delovanjem enzima lipaze. Sa jedne strane, glicerol se metaboliše putem glikolize ili se koristi za resintezu glukoze. Kada uđu u mišićnu ćeliju, slobodne masne kiseline se aktiviraju uz prisustvo ATP-a i koenzima A, zatim se transportuju u mitohondrije putem karnitinskog transportnog sistema, gde podležu procesu beta-oksidacije. Beta-

oksidacija predstavlja postepeno otpuštanje segmenata od po dva ugljenikova atoma iz molekula masne kiseline do formiranja acetil-CoA. Acetil-CoA kao glavni intermedijarni metabolit energetskeg metabolizma ulazi u Krebsovog ciklus i sledi ciklus naizmeničnih oksidativnih reakcija. Masna kiselina koja ima 16 atoma ugljenika oslobađa beta-oksidacijom čitavih 300 jedinica ATP (Guyton, 1996; Grujic, 2004; Ostojic, 2007).

1.2. BIOHEMIJSKI INDIKATORI FIZIČKOG VEŽBANJA I ZAMORA

Održavanje stabilnosti unutrašnje sredine organizma naziva se homeostaza (Kibble i Helsey, 2013). Za održavanje homeostaze potrebno je da postoji usklađena, efektivna interakcija ćelijskih i organskih sistema, komunikacija između samih ćelija (tkiva) i unutar samih ćelija (organela). Slanje i primanje ćelijskih informacija uz njihovo sadejstvo je zapravo jedan od odlučujućih elemenata homeostaze (Mooren i Klaus, 2005). Komunikacija između ćelija uglavnom se postiže oslobađanjem biohemijskih *glasnika*, specifičnih jedinjenja čijim merenjem u krvi, drugim telesnim tečnostima ili samim organima možemo dobiti značajne informacije o statusu unutrašnje sredine (Mooren i Klaus, 2005; Kibble i Helsey, 2013). Narušavanjem homeostaze faktorima egzogene i endogene prirode organizam se izlaže stresu. U stanju stresa remeti se homeostaza organizma, zbog čega je organizmu potrebno da uloži dodatne napore kako bi se prilagodio novonastalim uslovima, a kroz proces nazvan adaptacija (Abernethy, 2012).

Adaptacioni proces je sastoji od tri stadijuma: a) stadijum alarma b) stadijum otpora c) stadijum iscrpljenja. U trenažnom procesu u sportu i vežbanju, drugi stadijum odgovara optimalnom opterećenju, kao stresoru koji dovodi do adaptacije na novo stabilno stanje (Grujic, 2004). Fizičko vežbanje kao egzogeni faktor-stresor prouzrokuje promene, a da se prethodno stabilno stanje (stanje mirovanja) narušava, posledično utičući na cirkulaciju, plućnu ventilaciju, metaboličke procese, a sve u cilju da se ponovo uspostavi novo stabilno stanje (Mooren i Klaus, 2005). U protivnom ako stresogeni faktori isuviše intenzivno deluju na organizam, dolazi do iscrpljenosti i pojave zamora (Grujic, 2004). Kada se organizam nađe u stanju zamora, pored ostalih fenomena, uočava se i nedostatak metaboličke energije za proces adaptacije (Abernethy, 2012). Izloženost stresogenim faktorima može da bude akutna i hronična. Po tim principima fiziologija vežbanja je usmerena na razumevanje akutnih (neposrednih) odgovora organizma na vežbanje i hroničnih (dugoročnih) adaptacija na fizičku aktivnost (Abernethy, 2012). Dakle, trenažni stresori integralno deluju na fiziološke promene u organizmu sportista. Tačnije, pokreće se psiho-neuro-endokrino-imunološki

odgovor koji može biti pozitivan (viši stepen adaptacije) ili negativan (pretreniranost-slom adaptacionih sposobnosti) (Herda i Cramer, 2016).

Biohemijski markeri, pored motoričko-funkcionalnih parametara su najčešće korišćeni u evaluaciji i proceni stanja organizma pri iscrpljujućem vežbanju. Oni se, pored ostalog, koriste i kao indikatori oštećenja mišića i imunološko-inflamatornih reakcija (Kraemer i Ratamess, 2005).

1.2.1. MARKERI MIŠIĆNOG OŠTEĆENJA

Za procenu oštećenja mišića pri iscrpljujućem fizičkom vežbanju potrebno je koristiti indikatore i procedure koji mogu sa velikom preciznošću da potvrde uočene promene (akutne/hronične). Poznavanje načina na koji endokrini sistem vrši interakciju sa trenažnim nadražajem omogućava stručnjacima da bolje razumeju način na koji hormoni učestvuju u posredovanju između optimalnih adaptacija i treninga sa opterećenjem (Herda i Cramer, 2016). Hormoni su hemijski glasnici koji imaju specifične regulatorne efekte na ciljane ćelije ili organe-tkiva (Kibble i Helsey, 2013). Sintetišu se, deponuju i oslobađaju kada odgovarajući stimulirajući nadražaj (npr. fizičko vežbanje) deluje na endokrine žlezde (Kraemer, Vingren, i Spiering, 2008).

Hormon stresa, kortizol (Cor) zapravo predstavlja glavni signalni hormon metabolizma ugljenih hidrata i povezan je sa rezervama glikogena u mišiću (Herda i Cramer, 2016). Kortizol povećava nivo dostupne glukoze u krvi, posredstvom nekoliko mehanizama. Jedan od tih mehanizama je da kortizol vrši mobilizaciju aminokiselina iz mišićnih ćelija (katabolički proces), smanjuje korišćenje glukoze u energetske svrhe i smanjuje senzitivnost tkiva na insulin (Kibble i Helsey, 2013). Ovi procesi najviše pogađaju mišićna vlakna tipa II (Kraemer, Vingren, i Spiering, 2008). Time se sprečavaju anabolički procesi u mišićima, kao što je sinteza proteina.

Smanjenje vrednosti pH fizičkim vežbanjem naziva se metabolička acidoza indukovana vežbanjem. Kada su pH vrednosti smanjene, dolazi do inhibicije aktivnosti enzima uključenih u ćelijske energetske sisteme, što može biti ključ za veliki periferni zamor tokom vežbanja (Herda i Cramer, 2016). Merenje koncentracije laktata (Lac) iz krvi kao biohemijskog markera perifernog zamora, ima poseban značaj za procenu stepena adaptacije na trening (stresogeni faktor), kontrolu rane i kasne faze oporavka i nivoa izdržljivosti.

Za kliničko-laboratorijsku i sportsku dijagnostiku enzimologija ima veoma značajno mesto. Najčešće se određuje aktivnost enzima i izoenzima u krvnoj plazmi. Normalno, njihov

sadržaj u plazmi je daleko niži nego u tkivima iz kojih dospevaju u krv. Tek u patološkim uslovima, kada dođe do oštećenja i destrukcije tkiva i ćelija, enzimi se pojavljuju u cirkulaciji u većoj količini (Kovacevic, 2006). Kreatin kinaza (CK) se navodi kao neinvazivni marker tkivnog oštećenja (povrede) i oboljenja skeletnih mišića (npr. sindrom hroničnog zamora) (McLellan, Lovell, i Gass, 2010). Faktori poput tipa metaboličkog opterećenja-stresa, vrste mišićne kontrakcije, ukupne aktivacije mišićne mase, prisutnosti bio-energenata kreatina (npr. nakon suplementacije) i nivoa glikogena utiču na koncentraciju CK u krvi (Koch, Pereira, i Machado, 2014; Wallimann, Tokarska-Schlattner, i Schlattner, 2011).

1.2.2. MARKERI IMUNOLOŠKOG ODGOVORA

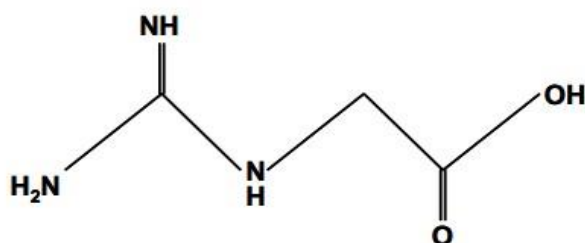
Imunološki sistem na fizičko vežbanje odgovara aktiviranjem, otpuštanjem i lučenjem različitih podtipova imunoloških T-ćelija u perifernu krv, čime se dobija informacija o stepenu stresne reakcije (Grujic, 2004; Kmet, 2017). Intenzivno proučavanje inflamatornih odgovora u fiziologiji vežbanja je dovelo do toga da se citokini (polipeptidni ili glikoproteinski molekuli) mogu koristiti kao pouzdani biohemijski markeri zamora i svojevrsni energetske senzori fizičkog vežbanja (Pedersen i sar., 2003). Oni mogu pozitivno i negativno da deluju na regulatorni imunološki odgovor (pro-inflamatorno/anti-inflamatorno) (Mooren i Klaus, 2005). U praksi se izdvojila podgrupa interleukina koji se oslobađaju u slučajevima kada ćelija doživi mehaničku traumu kao deo imunološkog odgovora (Pedersen, 2012). Interleukin-6 (IL6) se proizvodi u mišićnim ćelijama pri snažnim kontrakcijama. Povišene vrednosti su zabeležene tokom treninga, nakon treninga, a pojava ovog biomarkera u cirkulaciji prethodi drugim citokinima (Pedersen, 2012).

1.3 MARKERI CELULARNE BIOENERGETIKE

Pored gore-pomenutih biohemijskih indikatora fizičkog opterećenja, treba razmotriti i uzeti u obzir biomarkere ćelijske energetike (npr. dostupnost i koncentracija u cirkulaciji) kao što su Cr, Crn i guanidinosirćetna kiselina (GAA) pre, za vreme i nakon fizičkih aktivnosti, kao moguće pokazatelje perifernog zamora kod fizički aktivnih osoba.

1.3.1 HEMIJSKE OSOBINE GUANIDINOSIRČETNE KISELINE

Trenutno postoji relativno mala količina dostupnih informacija vezanih za fundamentalna fizičko-hemijska svojstva GAA kao nutritivnog suplementu u ishrani ljudi (Vranes, Ostojic, Tot, Papovic, i Gadzuric, 2017). Evropska agencija za bezbednost hrane je pozitivno ocenila i odobrila primenu GAA kao suplementa u ishrani tovnih peradi i svinja, uz primenu i poštovanje propisanih bezbednosnih mera prilikom suplementacije (EFSA 2016). GAA ili glikocijamin je aktivna hemijska supstanca strukturalnog oblika $C_3H_7N_3O$ (Dijagram 1.) i molekularne težine 117,1066 g/mol. Ovo jedinjenje pripada klasi organskih jedinjenja poznatih kao derivati alfa aminokiselina. To su aminokiseline u kojima je amino grupa vezana za atom ugljenika uz karboksilatnu grupu (alfa ugljenik) ili njen derivate (Metabocard for Guanidoacetic acid HMDB0000128, 2018). GAA predstavlja derivat aminokiseline glicina (Gly). Vranes, Ostojic, Tot, Papovic, i Gadzuric (2017) u svom radu su opisali rastvorljivost GAA u vodi, njenu termičku stabilnost (terminalnu temperaturnu dekompoziciju) i viskoznost, razmatrajući upotrebu GAA u ljudskoj ishrani i suplementaciji. Eksperimentalni podaci su pokazali da je GAA četiri puta slabije rastvorljiva od Cr u vodi pri standardizovanoj temperaturi između 293,15 i 318,15 K. Terminalna temperaturna dekompozicija se javlja iznad 281⁰C. Za svaki dodatak ishrani (suplement) ovako visoka termička stabilnost ukazuju da će i posle termičke obrade ostati visoka koncentracija istog suplementa. Poredeći sa termičkom stabilnošću Cr koja iznosi 240⁰C, autori su zaključili da metilna grupa koja je sastavni deo Cr snižava termičku stabilnost, što čini da Cr bude u većoj meri hidrosolubiln u odnosu na GAA. Viskoznost GAA u vodi je pokazala promenljivost kada je koncentracija iznad ili ispod 0,013 mola·dm⁻³.



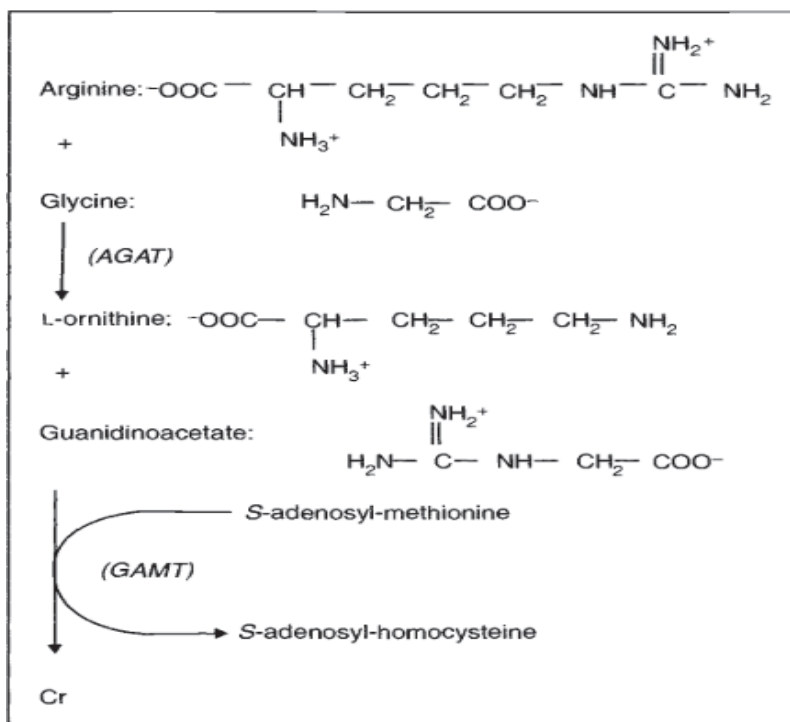
Dijagram 1. Hemijska struktura guanidinosirćetne kiseline

1.3.2 METABOLIZAM GUANIDINOSIRČETNE KISELINE

GAA se endogeno sintetizira u telu ljudi i životinja, a predstavlja metabolički intermedijator između prve i druge reakcije biosinteze Cr.

1.3.2.1 Put biosinteze Cr

Normalna endogena proizvodnja kreatina kod ljudi iznosi ~ 1 g/d, a dodatni kreatin se unosi putem ishrane, pre svega mesa (oko 1 g/d). Ova količina je neophodna za održavanje normalne ravnoteže kreatina u organizmu (Wyss i Kaddar-Daouk, 2000). Prva reakcija u endogenoj sintezi Cr je biosinteza GAA, a druga reakcija predstavlja metilaciju GAA uz učešće S-adenozinmetionina (SAM) kao donora metil grupe i enzima guanidinosirćetne-N-metiltransferaze (GAMT) pri čemu nastaje Cr i S-adenozin-L-homocistein (SAH) (Dijagram 2.) (Wyss i Kaddurah-Daouk, 2000).



Dijagram 2. Put biosinteze kreatina i guanidinosirćetne kiseline

(Wyss i Kaddurah-Daouk, 2000)

1.3.2.2 Biosinteza GAA

GAA predstavlja jedan od biosintetskih proizvoda u metabolizmu ornitina, reakcijama poznatim i kao ciklus uree. Urea ciklus predstavlja metabolizam amino grupa glicina, serina, treonina, arginina i prolina. Uz prisustvo enzima L-arginin-glicin transferaze (AGAT)

arginini (Arg) i glicin (Gly) prelaze u GAA i L-ornitin (EFSA, 2016; Wyss i Kaddurah-Daouk, 2000).

Primarna biosinteza GAA se odigrava u tkivima bubrega i pankreasa (Wyss i Kaddurah-Daouk, 2000). Mesto biosinteze je u mitohondrijama i manjim delom u citoplazmi ćelija. (Curt i sar., 2015; Wyss i Kaddurah-Daouk, 2000). Dokaza za ovu tvrdnju je izmerena visoka koncentraciju AGAT u bubrezima i pankreasu kod sisara, a od ranije je poznat izražen stepen sinteze Arg u proksimalnim tubulima nefrona bubrega (Edison, Brosnan, Meyer, i Brosnan, 2007). Kod ljudi, sinteza GAA u bubrezima čini oko 20% od ukupne produkcije GAA u organizmu (Edison i sar., 2007; Ostojic, 2016b). U jetri sisara su zabeležene niske vrednosti AGAT, dok je koncentracija GAMT visokih vrednosti (Wyss i Kaddurah-Daouk, 2000), što sugerise značajan stepen sinteze Cr u ovom organu. Ipak, ne treba isključiti mogućnost da jetra kao važan organ u metaboličkim procesima može sprovesti aktivnost kompletnog ciklusa uree i time biosintezu GAA (Wyss i Kaddurah-Daouk, 2000) ali je stepen sinteze GAA u jetri verovatno mali.

Stepen genske ekspresije i nivo koncentracija AGAT i GAMT u tkivima kičmene moždine i mozga sugerise da se endogena sinteza GAA i Cr može nezavisno odvijati u centralnom nervnom sistemu, bez obzira na proces sinteze Cr u jetri (Braissant, 2012; Curt i sar., 2015). Isti autori objašnjavaju da ovakva endogena produkcija postoji zbog postojanja specifičnih transportnih barijera u nervnom sistemu (npr. krvno-moždana barijera) koje štite ova osetljiva tkiva od velikog varijabiliteta bioenergenata u mozgu, koja se na dnevnom nivou dešavaju u normalnoj cirkulaciji. Dodatno, u slučaju krvno-moždane barijere postoji ograničen stepen ekspresija kreatinskog transportera (CT1) za potencijalni transport slobodnog kretina iz cirkulacije do mozga.

1.3.2.3 Regulacija biosinteze GAA

Dostupna koncentracija Cr u tkivima putem mehanizma povratne sprege utiče na endogenu sintezu GAA. Ovakav negativan povratni mehanizam prvenstveno je posledica inhibicije AGAT delovanjem novosintetisanog kreatina, čime se sinteza GAA usporava ili sprečava (EFSA, 2016; Edison i sar., 2007). Da regulacija AGAT može biti pod uticajem egzogenih faktora (samim tim i produkcija GAA) govori studija u kojoj su fizički zdravi ispitanici suplementirani kreatin monohidratom (CrM) tokom dvadeset nedelja. Studija je pokazala da intervencija dovodi do smanjivanja ekspresije AGAT i nižih vrednosti u serumskoj cirkulaciji, dakle regulacije sinteze Cr sistemom negativne povratne sprege (Derave i sar.,

2004; Edison i sar., 2007), što se ne može reći i za GAMT koji nije regulisan od strane nivoa Cr u cirkulaciji (EFSA, 2016). Kada se GAA odnosno Cr metabolički sintetišu, izgleda da ne postoji reverzibilni mehanizam negativne povratne sprege koji utiče na nivo GAMT niti se Cr može povratnom reakcijom transformisati u GAA (Braissant, 2012). U okolnostima kada se organizam nalazi pod faktorima stresa i po život opasnim situacijama on pokušava da esencijalne aminokiseline arginin i metionin sačuva, tako što će inhibirati sitezu/aktivnost AGAT. Tako će, promene u ishrani i koncentraciji pojedinih hormona (npr. hormona rasta, tireoidnih hormona) mogu direktno uticati na nivo i koncentraciju AGAT enzima (Curt i sar., 2015; Wyss i Kaddurah-Daouk, 2000). Gladovanje, dijete bez unosa proteina, manjak vitamina E izgleda da deluju negativno na aktivnost AGAT (Curt i sar., 2015). Kod laboratorijskih pacova je zabeleženo da polni hormoni estrogen i testosteron dramatično menjaju koncentraciju produkcije AGAT u bubrezima i testisima. Estrogen dovodi do smanjenja aktivnosti AGAT, dok testosteron stimuliše ekspresiju AGAT (Wyss i Kaddurah-Daouk, 2000). Osobe sa disfunkcijama u lučenju tireoidnog hormona i hormona rasta pokazuju niže vrednosti AGAT (Curt i sar., 2015; Verhelst i sar., 1997). Pored ovih regulacionih mehanizama, treba uzeti u obzir i da se Arg iz citoplazme putem ćelijske membrane transportuje u mitohondriju za biosintezu GAA pa sva fiziološka i patološka stanja koja utiču na transport i utilizaciju arginina mogu indirektno uticati i na biosintezu GAA, što prevazilazi obim ovog poglavlja (Morris, 2016).

1.3.2.4 Apsorpcija, transport i koncentracija GAA u tkivima

U dostupnoj literaturi se retko mogu pronaći zapisi o apsorpciji GAA putem gastrointestinalnog trakta (GIT) mada je sam transportni mehanizam kroz mukozu creva verovatno sličan mehanizmima transporta u mišićne ćelije (EFSA, 2016). U radu Ostojic i Vojvodic-Ostojic (2015) ispitivana je farmakokinetika GAA kao mogućeg oralnog suplementa kod ljudi. Istraživači su došli do saznanja da resorpcija kroz gastrointestinalni trakt verovatno nije predstavljala ograničavajući faktor, čak se navodi da je bila relativno brza. Pored ostalog, doza uzetog suplementa (od 1,2 do 4,8 grama u pojedinačnoj dozi) izgleda da ima uticaja na dinamiku dostizanja maksimalne koncentraciji GAA u krvi nakon intervencije, što sugerise da postoje dozno-zavisne razlike u apsorpciji u GIT.

Dosadašnja istraživanja sugerisu da se mogući putevi transporta GAA u ćelije mišića i mozga mogu vršiti preko: a) kreatinskog transportera (SLC6A8 ili CT1), b) taurinskog transportera (SLC6A6 ili TauT), c) transportera za gama aminobutričnu kiselinu (SLC6A13) i d) pasivnom difuzijom (Braissant, 2012; Curt i sar., 2015; Ostojic, 2017). Ovakva saznanja

takođe ukazuju i da resorpcija GAA u velikoj meri zavisna od količine i zasićenosti receptora na ćeliskoj membrani (Ostojic i Stojanovic, 2015). GAA pojačano deluje na lučenje insulina što pozitivno deluje na transport GAA preko TauT (Alsever, Georg, i Sussman, 1970; Kraemer i Ratamess, 2005). Dalje, u sistemu sinteze i resinteze ATP uz pomoć CK, smatra se da GAA teoretski može zameniti Cr kao transportni nosač visokoenegetske fosfatne grupe (Kan, Renema, Isbrandt, i Heerschap, 2004). Ovakvi slučajevi su zabeleženi kod ljudi i životinja sa poremećajima u metabolizmu sinteze kreatina. Smatra se i da je stepen produkcije GAA zavisna od vrednosti pH i temperature (7,5 pH / 37°C) (Wyss i Kaddurah-Daouk, 2000).

Na velikoj populacijskoj studiji u Francuskoj dobijene su referentne vrednosti za nivo Cr i GAA u urinu i krvi kod različitih uzrasnih grupa (Curt i sar., 2013). Vrednosti GAA u serumu osoba starijih od 15 godina muškog i ženskog pola iznose $2,3 \pm 0,8 \mu\text{mol/L}$, uz napomenu da su osobe starije od 18 godina činile ispod 8% populacije. Prilikom ispitivanja farmakokinetike oralne jednokratne suplementacije GAA u različitim dozama na zdrave ispitanike muškog i ženskog pola utvrđeno je da se bazične vrednosti GAA u serumu između eksperimentalnih grupa (3 grupe po 12 ispitanika) nisu razlikovale ($2,9 \pm 0,3 \mu\text{mol/L}$) u odnosu na prethodne studije (Ostojic i Vojvodic-Ostojic, 2015).

Tokom fizičkih aktivnosti dostupnost i koncentracija GAA i Cr u krvi dramatično i statistički značajno osciliraju. U studiji Sotgia i sar. (2007) ispitanici su bili podvrgnuti testu maksimalnog progresivnog povećanja opterećenja do voljnog otkaza tokom vožnje na biciklu ergometru. Tada su zabeležene sledeće vrednosti nivoa GAA u serumu za dve grupe ispitanika - sedentarne osobe: pre testa (mirovanje) $5,24 \pm 1,56 \mu\text{mol/L}$, posle testa $4,45 \pm 1,24 \mu\text{mol/L}$; sportisti: pre testa (mirovanje) $6,89 \pm 1,87 \mu\text{mol/L}$, posle testa $5,76 \pm 1,75 \mu\text{mol/L}$, što sugeriše dramatičan pad nivoa GAA tokom fizičkog vežbanja. Dinamika vrednosti nivoa kreatina u krvi bila je bitno drugačija - sedentarne osobe : pre testa (mirovanje) $15,22 \pm 1,15$, posle testa $17,45 \pm 1,21 \mu\text{mol/L}$; sportisti: pre testa (mirovanje) $20,00 \pm 1,47 \mu\text{mol/L}$, posle testa $22,47 \pm 1,74 \mu\text{mol/L}$.

1.3.2.5 Putevi razgradnje GAA

Pored već jasno definisane neenzimske reakcije prelaska Cr i PCr u Crn, izgleda da postoje i alternativni putevi degradacije kreatina i GAA (Wyss i Kaddurah-Daouk, 2000). Pojedini crevni mikroorganizmi poseduju drugačije enzimске puteve degradacije ovih ćelijskih bioenergenata. Npr. enzim kretininiaminohidrolaza kataboliše razgradnju Crn i Cr na ureu i

sarkozin. Naknadno, sarkozin može biti razgrađen na Gly uz pomoć enzima sarkozin dehidrogenaze. Ovaj enzimski put se pokazao teoretski pogodnim i za degradaciju GAA do Gly i uree (Wyss i Kaddurah-Daouk, 2000).

Vreme eliminacije GAA iz krvi nakon jednokratne oralne suplementacije je direktno zavisno od konzumirane doze (Ostojic i Vojvodic-Ostojic, 2015). Umerena i mala doza GAA (2,4 i 1,2 g) se brže eliminišu iz organizma u odnosu na dozu od 4,2 g. Pretpostavlja se da na vreme uklanjanja GAA utiču akumulacioni kapaciteti apsorcije tkiva jetre, mišića i mozga za GAA do metilacije u Cr, kao i vreme potrebno da se GAA ukloni putem burežne filtracije i izluči putem urina. Oralno uzimanje metil-testosterona kod zdravih ljudi dovodi do povećane ekspresije AGAT i utilizacije Cr. Ovakva reakcija dovodi do uvećanja izlučivanja GAA putem urina za 70% (Wyss i Kaddurah-Daouk, 2000). Isti autori navode da pri programima suplementacije Cr, dolazi do inhibicije AGAT, a što prouzrokuje povišenu ekskreciju GAA putem urina.

1.3.3 POREMEĆAJI METABOLIZMA KREATINA

Analizom biosinteze kreatina u patofiziološkim uslovima, mogu se uočiti tri primarna poremećaja, a oni se vezuju za deficijenciju: 1) AGAT enzima 2) GAMT enzima i 3) CT1. Bioenergetika Cr u ovakvim metaboličkim poremećajima je umereno ili značajno umanjena ili je u potpunosti sprečena, što je praćeno izraćenom kliničkom slikom. Saznanja o niskoj tkivnoj utilizaciji energetike kod ovih stanja su potvrđena uz pomoć magnetne rezonance, preciznije spektroskopijom mišića i mozga (Braissant, 2012). Niske vrednosti kreatina u tkivima praćene su neurološkim simptomima, mentalnom retardacijom manjeg ili većeg stepena, nekontrolisanim motoričkim pokretima ekstrapiramidalnog karaktera, ispadima i oštećenjima u govoru, epileptičnim napadima i mišićnom hipotonijom. Ova retka stanja se beleže u najranijem uzrastu dece i kod novorođenčadi (Battini i sar., 2006; Sharer i sar., 2017; Zugno i sar., 2006). Sličnost u građi GAA kao prekursora Cr i mogućnosti da GAA lakše prolazi ćelijske membrane otvorila su nove pravce istraživanja u kojima se ispituje mogućnost suplementacije GAA i njenih modifikovanih analoga u lečenju ovakvih metaboličkih poremećaja bioenergetike (Ostojic, 2017), što bi za efekte imalo uticaj na zdravlje pacijenta i kvalitet života.

Kod pacijenata sa AGAT sindromom, kliničke studije su zabeležile smanjen ili potpuno odsutan stepen sinteze GAA. Bez sintetisane GAA, endogeni proces sinteze Cr se ne može normalno odvijati (Braissant, 2012). U terapijskim studijama gde je korišćena suplementacija CrM, primećeni su značajani pomaci u vrednostima kreatina u moždanom tkivu, bolja regulacija rada mozga i povoljnija klinička slika, što još uvek spada u inovativne metode terapijskog lečenja ovog kompleksnog stanja (Stöckler, Hanefeld, i Frahm, 1996; Schulze i sar., 1998; Ensenaer i sar., 2004; Verbruggen i sar., 2007).

U kliničkim studijama koje su se bavile deficitom GAMT (autozomalno recesivni sindrom), zabeleženo je da dolazi do nagomilavanja GAA u telesnim tečnostima i mozgu (Stöckler i sar., 1996; Schulze i sar., 1998; Schulze, Ebinger, Rating, i Mayatepek, 2001). Povišene vrednosti GAA su zabeležene kao neurotoksične (Schulze i sar., 1998; De Deyn, D'Hooge, Van Bogaert, i Marescau, 2001). U pristupu rešavanja ovakvih metaboličkih poremećaja koristila se terapija CrM, ornitinom i uz ograničenje unosa arginina u ishrani (Stöckler i sar., 1996; Schulze i sar., 1998; Ensenaer i sar., 2004; Verbruggen i sar., 2007). Rezultati terapijskih studija su pokazali male, relativno skromne rezultate povećanja koncentracije Cr u mozgu i mišićima. Vrednosti GAA nisu u potpunosti kontrolisano smanjene, a njene toksične vrednosti (100 puta veće u odnosu na normalne vrednosti) uz

primenu ovakve terapije ostale su visoke. Zapaženo je da se kod genetski modifikovanih GAMT-knockout eksperimentalnih miševa, CK može da *prepozna* GAA u svom fosforalizovanom obliku P-GAA kao supstrat i donor fosfata pri produkciji i resintezi ATP-a (Kan i sar., 2004), što otvara mogućnost za upotrebu GAA kao posebnog energetskog donora u specifičnim kliničkim situacijama.

Proces normalnog transporta Cr u ćelije mišića i mozga vrši se preko ćelijskog-membranskog kreatinskog transportera CT1 koji nastaje usled mutaciju SLC6A8 gena na lancu X hromozoma (Wyss i Kaddurah-Daouk, 2000). Deficit CT1 je retko urođeno oboljenje, u literaturi označeno kao CTD-sindrom. Odlika CTD-sidroma je u tome da je proces transporta vanćelijskog Cr unutar ćelija energetski-zahtevnih tkiva (npr. mozak, mišić) u potpunosti blokiran, čime su metabolički procesi Cr unutar ćelije usmereni samo na endogenu produkciju. Kod ovakvih slučajeva vrednosti GAA pri dijagnostikovanju iz krvnih uzoraka i uzoraka urina ostaju nepromenjene (Sharer i sar., 2017).

1.3.4 SUPLEMENTACIJA GAA I FIZIOLOGIJA SPORTA

U tkivima poput mozga i skeletnih mišića gde potreba za visoko energetskim jedinjenjima stalno postoji, borba za održavanjem konstantne koncentracije je uvek prisutna. GAA se u ovom kontekstu može razmatrati kao inovativni novi suplement u ishrani fizički aktivnih ljudi. Time bi se popravila bioenergetska učinkovitost oslabljenih i osiromašenih visokoenergetskih depoa Cr (Ostojic, 2017).

U studiji u kojoj su Ostojic, Drid, i Ostojic (2016) suplementirali fizički aktivne i zdrave muške osobe, zabeleženo je da je sinteza Cr u mozgu značajno povišena nakon četiri nedelje uzmanja malih doza GAA od 2 do 4 grama (Ostojic, 2016a). Nakon suplementacije sa GAA kod četiri fizički aktivna i zdrava muškaraca tokom 4 nedelje, zapažene su statistički značajne povišene vrednosti Cr, izmerene magnetnom spektroskopijom u medijalnoj glavi četvoroglavog mišića natkolenice (Ostojic, Drid, i Ostojic, 2016). Tokom studije koja je obuhvatala žene sa simptomima hroničnog zamora, ustanovljeno je da nakon suplementacije GAA u trajanju od 3 meseca dolazi do povećanja depoa Cr u skeletnim mišićima i progresije fizičke forme proverena kroz testove snage i kardiovaskularne izdržljivosti (Ostojic i sar., 2016). Poboljšanje u fizičkoj formi kod zdravih i aktivnih muškaraca je zabeleženo i u studiji, gde su ispitanici koristili GAA kao suplement u trajanju od 6 nedelja (Ostojic i sar., 2015). Tada su zabeležena poboljšanja u snazi stiska šake, broju ponavljanja na testu potiska sa klupe tipa izdržljivosti. Kod laboratorijskih miševa, suplementacija Cr i GAA tokom 2

nedelje prouzrokovala je povećanje metabolizma Cr u mišićima zadnjih ekstremiteta. Vrednosti nakon suplementacije Cr bile su uvećane za 49%, a nakon suplementacije GAA za 39% (Stead, Au, Jacobs, Brosnan, i Brosnan, 2001).

1.3.5 OSTALA SAZNANJA O GUANIDINOSIRĆETNOJ KISELINI

Tokom sinteze Cr u procesu metilacije GAA uz prisustvo GAMT i metil donora SAM dolazi do stvaranja SAH. Organizam inače koristi metil grupu SAM u procesima biosinteze, detoksikacije, anaboličkim reakcijama i drugim regulacionim procesima. Mesta aktivnosti SAM su uglavnom jetra i bubrezi kod sisara (Hannibal i Blom, 2017). SAM se formira od dostupnog ATP i metionina uz pomoć enzima metioni-adenosil-transferaze. Literaturni izvori navode da metilacija SAM u procesu sinteze Cr čini više od 50% svih ostalih metilacija u organizmu (EFSA, 2016). Prilikom suplementacije organizma Cr uočava se manja produkcija SAM. Novo formirani molekul SAH dalje ulazi u proces reverzibilne hidrolize pri kojoj nastaju adenzin i homocistein (tHcy), uz delovanje enzima S-adenozinhomocistein hidrolaze. Povećan nivo tHcy u krvi može povećati rizik od kardiovaskularnih bolesti (Clarke, 1998; Hannibal i Blom, 2017). Hiperhomocisteinemija se definiše kada koncentracija tHcy prelazi vrednosti od 15 μM , a stratifikovana je u tri nivoa rizika: a) umereni 15-30 μM , b) srednji 30-100 μM , i c) teški $\geq 100 \mu\text{M}$ (Clarke, 1998). Čak i blage porast u koncentraciji tHcy iznad normalnih vrednosti (npr. kod muškaraca $> 10 \mu\text{M/L}$, kod žena $> 8 \mu\text{M/L}$) će povećati rizik od kardiovaskularnih bolesti za 60% odnosno 80% (Stead i sar., 2001).

U slučajevima veće metilacije GAA pri sintezi Cr produkcija tHcy dramatično se povećava, pa se test sa egzogenom administracijom GAA može iskoristiti kao efektivan metod za procenu efekata na koncentraciju tHcy (Stead i sar., 2001). Ovakva zapažanja su primećena na eksperimentalnim miševima gde je uočeno da pri suplementaciji GAA u period od 2 nedelje dolazi do značajnog povećanja tHcy (porast za 50%) naspram vrednosti uzetih sa početka eksperimenta (Stead i sar., 2001). Pri suplementaciji GAA u periodu od 8 nedelja kod fizički zdravih ljudi uočio se porast tHcy za 43,9% nakon 4 nedelje (tzv. faze punjenja) ali ne i statistički značajne razlike naspram početnih vrednosti. Nakon završetka studije vrednosti tHcy su opale u odnosu na fazu punjenja (4 nedelje). Ispitanici nisu prijavili nikakve negativne neurošloške promene, a biohemijski markeri u radu jetre nisu bili iznad referentnih vrednosti (Ostojic, Ostojic, Drid, Vranes, i Jovanov, 2017). Vrednosti tHcy kod sportista nisu značajno promenjene ni nakon oralne suplementacije kombinacijom Cr i GAA

u omeru 1:3 grama na dan za period od 28 dana a iznosile su $10,5 \pm 1,9 \mu\text{mol/L}$ (Semeredi i sar. 2019).

Homocistein može da se kataboliše do cisteina uz pomoć vitamina B kompleksa i folne kiseline, a kasnije će se formirati serin, koji se može ponovo koristiti u remetilaciji metionina (Hannibal i Blom, 2017). Povećan unos folne kiseline, vitamina B12 i B6 će najverovatnije smanjiti nivo tHcy, skoro kod svake osobe (Clarke, 1998). Vitaminska terapija sigurno će učiniti da komplikacije na kardiovaskularnom sitemu praćene porastom tHcy budu prevenirane. Unos folne kiseline iz voća i povrća koje su dobar izvor folne kiseline, može se smatrati dobrim zaštitnim faktorom od kardiovaskularnih bolesti (Hannibal i Blom, 2017). Sotgia i sar. (2007) su pokazali da nakon intenzivne fizičke aktivnosti nema značajne promene koncentracije tHcy-a kod sportista (pre testa $9,3 \pm 3,0 \mu\text{mol/L}$ / posle testa $9,9 \pm 3,7 \mu\text{mol/L}$) i sedentarnih osoba (pre testa $11,1 \pm 2,3 \mu\text{mol/L}$ / posle $11,4 \pm 3,0 \mu\text{mol/L}$).

2. CILJ

Cilj istraživanja

Cilj istraživanja obuhvata utvrđivanje efekata pojedinačnih epizoda aerobnog i anaerobnog vežbanja maksimalnog intenziteta na biomarkere perifernog zamora i ćelijske bioenergetike kod mladih muškaraca i žena

Parcijalni ciljevi

- (1) Utvrđivanje promena nivoa cirkulatornih vrednosti guanidinosirćetne kiseline, kreatina i kreatinina pre i nakon pojedinačne epizode aerobnog vežbanja maksimalnog intenziteta
- (2) Utvrđivanje promena nivoa cirkulatornih vrednosti guanidinosirćetne kiseline, kreatina i kreatinina pre i nakon pojedinačne epizode anaerobnog vežbanja maksimalnog intenziteta
- (3) Utvrđivanje povezanosti između vežbanjem-indukovanih promena cirkulatornih vrednosti GAA, kreatina i kreatinina pre, za vreme i nakon pojedinačne ekstenzivne epizode aerobnog vežbanja i tradicionalnih biomarkera perifernog zamora

3. METOD RADA

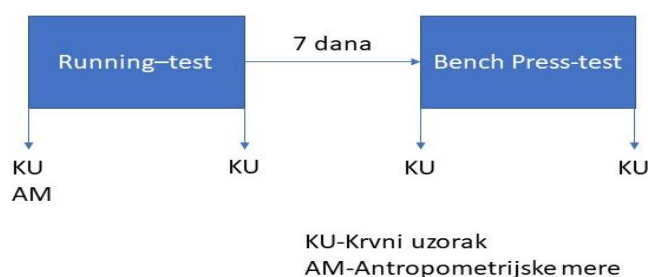
Prema prirodi naučnih istraživanja, ovo istraživanje pripada kategoriji empirijskih, dok prema cilju preduzimanja predstavlja aplikativno istraživanje. Vremenska određenost istraživanja je transverzalnog karaktera, a sastoji se iz dva eksperimentalna tretmana pri kojima su prikupljeni podaci za različite epizode-sesije iscrpljujućeg vežbanja. U odnosu na stepen kontrole, ovo naučno istraživanje pripada kategoriji laboratorijskih istraživanja. Planirana studija i eksperimentalni tretmani su u skladu sa etičkim standardima Helsinške deklaracije.

3.1. EKSPERIMENTALNI DIZAJN

Esperimentalni dizajn je obuhvatao populaciju fizički aktivnih muškaraca i žena, kao i populaciju aktivnih sportista, a podeljen je na dva eksperimentalna tretmana (1) i (2).

3.1.1. OPIS I USLOVI EKSPERIMENTALNOG TRETMANA 1

Eksperimnetalni tretman je sadržao dve zasebne protokol-sesije u vremenskom razmaku od 7 dana (Šema 1). Sedam dana neposredno pre eksperimentalnog tretmana ispitanici su bili familijarizovani sa test protokolima. Svi ispitanici su bili pozvani da dođu u Laboratoriju za primenjenu bioenergetiku na Fakultetu sporta i fizičkog vaspitanja, Univerziteta u Novom Sadu u jutarnjim terminima između 8:00 i 10:00. Ispitanici su, takođe, bili zamoljeni da pre dolaska u laboratoriju 24 h pre protokol-sesija, ne učestvuju u fizičkim aktivnostima i imaju period gladovanja od 12 h pre dolaska u laboratoriju (20:00 – 8:00). Pri prvom dolasku u laboratoriju ispitanicima su uzete osnovne antropometrijske mere. Kod prve i druge posete laboratoriji ispitanicima se uzimao uzorak venske krvi pre eksperimentalnih protokol-sesija na prazan stomak, nakon kojeg bi dobili doručak u obliku 0,5 L vode i 2 komada keksa od slepljenih žitarica (BonŽita, nutritivna vrednost u 100g proizvoda/ Energetska vrednost 423,14kcal/ Masti 13g/ Ugljeni hidrati 70,93g/ Proteini 4,06g/ Vlakana 3,09/ So 0,14g).



Šema 1. Način i vreme uzorkovanja

Tokom prve sesije bilo je izvršeno testiranje izdržljivosti u trčanju do maksimalnog voljnog otkaza na tredmil traci sa progresivnim povećanjem opterećenja (Running-test). Protokol trčanja sa progresivnim povećanjem opterećenja se sadržao iz tri faze: 1) zagrevanje - započinje sa 3 minuta brzog hodanja/laganog trčanja na brzini od 6 km/h; 2) test trčanje - počinje odmah nakon zagrevanja sa početnom brzinom trčanja od 8 km/h uz progresivno povećanje opterećenja za 1,5 km/h na svaki minut [kriterijumi za prekid trčanja bili su subjektivna procena opterećenja po Borgovoj skali sa vrednostima preko 7 i/ili ostvarivanje

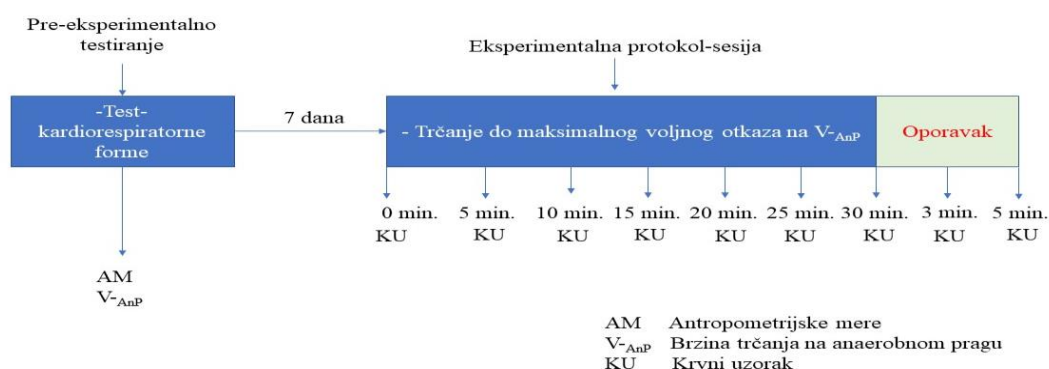
90% od predviđene maksimalne srčane frekvence dobijene na osnovu uzrasta (kriterijumu određivanja maksimalne srčane frekvence 220-broj godina)]; 3) oporavak - neposredno nakon faze 2 ispitanici su silazili sa trake i tokom pasivnog odmora u prvoj minuti im se uzimao venski uzorak krvi. Nakon toga im se omogućavalo da nastave sa aktivnim oporavkom (hodanje i dinamično istežanje uz regulaciju disanja).

U drugoj sesiji je izvršeno testiranje snažne izdržljivosti gornjih ekstremiteta potiskom sa ravne klupe (Bench Press-test). Protokol sesije je sadržao 3 faze kao i protocol prve sesije: 1) zagrevanje - 5 ponavljanja sa spoljnim opterećenjme od 10 kg; 2) testiranje - podizanje tereta potiskom, ispitanik je ležao na klupi gde su glava, ramena, kukovi bili oslonjeni na klupu, a noge u kolenima savijene pod 90 stepeni sa stopalima čvrsto na podu. Ispitanici su rukama potiskivali i spuštali šipku sa tegovima, u ritmu koji bi njima odgovarao. Opterećenje je bilo podešeno na 25% od telesne mase samog ispitanika. Zadatak je bio da se dostigne repetitivni voljni otkaz uz kriterijume za prekid testa: subjektivna procena opterećenja po Borgovoj skali sa vrednostima preko 7 i/ili nepravilno izvođenje pokreta tokom testa usled zamora; 3) oporavak- nakon poslednjeg izvedenog ponavljanja, ispitanici bi se pridigli i sedeli dok bi im se u prvoj minuti oporavka izvršilo vađenje krvi nakon čega bi mogli da se aktivno oporavljaju.

3.1.2. OPIS I USLOVI EKSPERIMENTALNOG TRETMANA 2

Drugi eksperimentalni tretman je započeo pre-eksperimentalnim testiranjem kardiorespiratorne forme kroz trčanje na tredmil traci, a iz koje se utvrdila funkcionalna sposobnost i kapaciteti ispitanika. Vrednosti sa testa kardiorespiratorne forme služili su kao kalibrišući početni parametri za eksperimentalnu protokol-sesiju 2. Vremenski razmak između testa kardiorespiratorne forme i eksperimentalne protokol-sesije je bio 7 dana. Sama protokol-sesija je zahtevala od ispitanika da trče do maksimalnog voljnog otkaza na tredmil traci, gde je brzina trčanja konstantna i odgovara individualnoj brzini trčanja ispitanika na anaerobnom pragu (Šema 2).

Šema 2. Način i vreme uzorkovanja



Na pre-eksperimentalno testiranje i za samu eksperimentalnu protokol-sesiju svi ispitanici su bili pozvani da dođu u laboratoriju za primenjenu bioenergetiku na Fakultetu sporta i fizičkog vaspitanja, Univerziteta u Novom Sadu u jutarnjim terminima između 8:00 i 10:00. Ispitanici su, takođe, bili zamoljeni da pre dolaska u laboratoriju 24 h pre samog testiranja i protokol-sesije, ne učestvuju u fizičkim aktivnostima i imaju period gladovanja od 12 h pre dolaska u samu laboratoriju (20:00 – 8:00).

Dolaskom u laboratoriju na preeksperimentalno testiranje ispitanicima su uzimane osnovne antropometrijske mere. Tokom iste posete, ispitanici su bili podvrgnuti testu opterećenja na tredmil traci sa porastom spoljnog opterećenja na svaki minut maksimalnog karaktera. Test protokol maksimalnog karaktera započinjao je zagrevanjem u trajanju od 2 minuta na tredmil traci gde je ispitanik hodao pri brzini od 6 km/h. Test je započinjao trčanjem ispitanika na početnoj brzini od 8 km/h, uz progresivno povećanje za 1,5 km/h na svaki naredni minut. Inklinacija tredmil trake je bila konstantna i iznosila je 1%. Po završetku testa ispitanik je prelazio u period oporavka. U oporavku ispitanik je iz trčanja prelazio u hodanje na brzini od 5 km/h u trajanju od 5 minuta. Tokom celog test protokola ispitanik bi iznosio podatke o subjektivom osećaju zamora uz korišćenje Borgove skale. Pomoću gasnog analizatora po principu *breath-by-breath* bile su beležene i analizirane funkcionalne varijable respiratornog-ventilatornog maksimalnog napora. Da bi se test protokol smatrao korektno izvršenim i validnim ispitanici su se ohrabrivljali da izvrše maksimalan napor u skladu sa sledećim kriterijumima: [respiratorni količnik preko $\geq 1,2$; dostizanje platoa potrošnje kiseonika (VO_2) bez obzira na povećanja nivo opterećenja; vrednosti subjektivne procene opterećenja po Borgovoj skali preko 17 i/ili ostvarivanje 90% od predviđene maksimalne srčane frekvence dobijene na osnovu uzrasta (kriterijumu određivanja maksimalne srčane frekvence 220-broj godina)]. Nakon završetka testa, pregledom sirovih podataka i njihovom obradom određena je brzina trčanja na anaerobnom pragu za svakog ispitanika. Brzina bi se odredila uz pomoć respiratornog količnika (1,00 i 1,10), što je značilo da su brzine u tom vremenokom period testa bile uzete za izračunavanje srednje vrednosti brzine iz koje bi se dobila brzina na anaerobnom pragu.

Sedam dana od testiranja kardiorespiratorne forme, sama eksperimentalna protokol-sesija je započinjala uzimanjem prvog venskog uzorka na prazan stomak, nakon kojeg bi usledio doručak od 0,5 L vode i 2 komada kekisa od slepljenih žitarica (BonŽita, nutritivna vrednost u 100g proizvoda/ Energetska vrednost 423,14kcal/ Masti 13g/ Ugljeni hidrati 70,93g/ Proteini 4,06g/ Vlakana 3,09/ So 0,14g). Sesija se sadržala iz tri celine: 1) zagrevanja – 5 minuta trčanja na brzini od 8 km/h i dinamičnim zagrevanjem u trajanju od 3 min.; 2) testa trčanja –

nakon pauze od 3 minuta i subjektivne procene opterećenja po Borgu pri čemu je brzina trčanja bila kalibrisana i prilagođena individualnoj brzini trčanja svakog ispitanika na anerobnom pragu. Ispitanici su imali za cilj da što duže vremena provedu trčeći na zadatoj brzini trčanja do otkaza. Kad više nije bio u stanju da prati zadatu brzinu trči na traci tretmanskog deo sesija bi se završio. U toku trajanja ove celine ispitanicima bi se uzimao venski krvni uzorak na svakih 5 minuta. Da bi se uzorci prikupili, ispitanici su silazili sa tredmil trake u trajanju od 3 minuta i potom nastavljali sa trčanjem sledeći novi interval trčanja od 5 minuta. Subjektivna, procena opterećenja po Borgu (1-20) i vrednosti srčane frekvence su se kontinuirano monitorisali tokom trajanja tretmana, kao i u oporavku. Kriterijumi za prekid tretmana bili su subjektivna procena zamora po Borgu sa vrednostima preko 17 i/ili vrednosti srčane frekvence preko 90% od predviđenog maksimuma za godišće; 3) oporavak – ova faza se sastojala iz pasivnog i aktivnog dela. Pasivan oporavak nakon tretmanskog trčanja se iskoristio za uzimanje venskog krvnog uzorka u trećem i petom minutu, uz monitorisanje vrednosti srčane frekvence i subjektivne procena zamora. Nakon toga se ispitanicima dozvolio aktivan oporavak kroz dinamično istezanje sa kontrolom disanja.

3.2. UZORAK ISPITANIKA

Svi ispitanici u studiji (eksperimentalnim tretmanima) su bili volonteri. Potencijalni ispitanici su prvo bili informisani o samom procesu eksperimentalnog tretmana za koji su se prijavili, potencijalnim rizicima učešća, kako o obavezama i mogućnosti povlačenja u svakom trenutku. Svoju saglasnost za učešće u studiji-tretmanu su potvrdili kroz pismenu saglasnost. Da bi ispitanici učestvovali u eksperimentalnim tretmanima potrebno je bilo da ispune sledeći opšti i specifični kriterijume.

3.2.1. OPŠTI KRITERIJUMI: Eksperimentalni tretman (1) i (2)

1. Osobe bez pozitivnih znakova na skrining upitnicima (manje od 2 znaka rizika):
 - a. Par-Q i ti - zdravstveni upitnik za osobe stare od 15 do 69 godina
 - b. Health/Fitness Facility Preparticipation Screening Questionnaire AHA/ACSM HHQ – upitnik skrining predhodnih aktivnosti i bolesti
2. Osobe bez akutnih i hroničnih kardio-metaboličkih bolesti

3.2.2. SPECIFIČNI KRITERIJUMI

3.2.2.1 Eksperimentalni tretman (1)

1. Uzorak ispitanika činili su fizički aktivni (≈ 5 sati nedeljno) mladi muškarci i žene, starosti između 18 i 30 godina starosti
2. Osobe bez prethodne istorije upotrebe dijetetskih suplemenata u periodu od 4 nedelje pre početka tretmana
3. Osobe bez prisutnih smetnji na koštano-mišićnom sistemu koji ih mogu ometati tokom eksperimentalnog tretmana
4. Minimalna veličina uzorka za eksperimentalni tretman izračunata je pomoću softvera G-Power (Heinrich- Heine University Düsseldorf, Germany), a dobijena veličina uzorka iznosila je 25, gde je ukupna veličina uzorka (N) izračunata kao funkcija potrebnog nivoa snage studije ($1 - \beta$) od 0,80 i unapred određenog nivoa značajnosti ($\alpha = 0,05$) i veličine efekata ($q = 0,5$) za primarne ispitivane varijable. Nivo snage za ovu studiju od 0,80 se može okarakterisati kao srednji nivo snage, a koji je već korišćen u studiji Ostojic i saradnici (2013) za iste primarne ispitivane varijable.

3.2.2.2 Eksperimentalni tretman (2)

1. Uzorak ispitanika činili su fizički aktivni sportisti (≥ 10 sati nedeljno) muškog pola, starosti između 18 i 30 godina starosti.
2. Osobe bez prethodne istorije upotrebe dijetetskih suplemenata u periodu od 8 nedelja pre početka ispitivanja.
3. Osobe bez prisutnih smetnji na koštano-mišićnom sistemu koji ih mogu ometati tokom eksperimentalnog tretmana.
4. Minimalna veličina uzorka za eksperimentalni tretman izračunata je pomoću softvera G-Power (Heinrich- Heine University Düsseldorf, Germany), a dobijena velična uzorka iznosila je 10, gde je ukupna veličina uzorka (N) izračunata kao funkcija potrebnog nivoa snage studije ($1 - \beta$) od 0,80 i unapred određenog nivo značajnosti ($\alpha = 0,05$) i veličine efekata ($q = 0,5$) za primarne ispitivane varijable.

3.3. UZORAK MERNIH INSTRUMENATA

U eksperimentalnim tretmanima su bili korišćeni merni instrumenti za procenu antropometrijskih mera, motoričko-funkcionalnih sposobnosti i biohemijski-hematološki markeri.

3.3.1 Antropometrijske mere i parametri: za eksperimentalni tretman (1) i (2)

a. Telesna visina (TV)

Rekviziti i merni instrumentariji

Visinometar SECA-213 (Germany), sa tačnošću od 0,1 cm.

b. Telesna masa (TM)

Rekviziti i merni instrumentariji

Digitalna vaga OMRON-BF (Japan) 511 sa preciznošću od 100 g

3.3.2 Motoričko-funkcionalne mere i parametri

3.3.2.1 Eksperimentalni tretman (1)

i. Test-protokol maksimalnog iscrpljujućeg napora (Bench press-test)

a. Broj ponavljanja sa 25% od TM isitanika (Rep._(n))

b. Subjektivana procena zamora po Borgu (skala od 1 do 10) (Rpe._(n))

Rekviziti i merni instrumentariji

Olimpijska šipka (20 kg) Eleiko (Swedish)

Slobodni tegovi od 0,5 do 25 kg Eleiko (Swedish)

Ravna klupa GYM 80 (Germany)

ii. Test-protokol maksimalnog iscrpljujućeg napora (Running-test)

a. Srčana frekvenca u miru / maksimalna srčana frekvenca u oporavku (HR_{Rest} / HR_{Rec})

b. Subjektivana procena zamora po Borgu (skala od 1 do 10) (Rpe._(n))

c. Maksimalno vreme provedeno pod opterećenjem na testu (Time Ex. _(sec))

Rekviziti i merni instrumentariji

Pulsmetar - model RS800_{cx} (PolarElectro Oy, Kempela, Finland)

Tredmil traka - model T170 (Cosmed, Italija)

3.3.2.2 Eksperimentalni tretman (2)

- iii. Test za procenu kardiorespiratorne forme - pre-eksperimentalno testiranje
- Srčana frekv. na anaerobnom pragu / maksimalna srčana frekvenca ($HR_{\text{AnP}} / HR_{\text{Max}}$)
 - Potrošnja kiseonika na anaerobnom pragu / maksimalna potrošnja kiseonika / procenat potrošnja kiseonika na anaerobnom pragu od maksimalne potrošnje

$$VO_{2 \text{ max}} / VO_{2 \text{ AnP}} / VO_{2 \text{ AnP}}$$
 - Brzina trčanja na anaerobnom pragu / maksimalna brzina trčanja ($V_{\text{Max}} / V_{\text{AnP}}$)
 - Subjektivna procena zamora po Borgu (skala 1 do 20) (Borg- Rpe. (n))

Rekviziti i merni instrumentariji

Pulsmetar - model RS800_{CX} (PolarElectro Oy, Kempela, Finland)

Tredmil traka - model T170 (Cosmed, Italija)

Maska za nos i usta (Hans, Rudolph, USA)

Gasni analizator *breath-by-breath* (Quark PFT ErgoCPET, Cosmed, Italija)

- iv. Test maksimalnog iscrpljujućeg napora - eksperimenatalna protokol sesija
- Srčana frekvenca pre testa u miru / na kraju svakog intervala trčanja / nakon poslednjeg intervala testa / u oporavku nakon testa za 1, 3 i 5 minut - protokol sesije:

$$HR_{\text{Rest}} / HR_{\text{EX-T}^{5-10-15 \dots}} / HR_{\text{Max}} / HR_{\text{Rec}}^{1/3/5} \text{ (otk/min)}$$
 - Subjektivna procena opterećenja po Borgu nakon zagrevanja / u svakom intervalu na trećem minutu intervala / nakon poslednjeg intervala testa / u oporavku nakon testa za 1, 3 i 5 minut - protokol sesije: (Skala od 1 do 20)

Borg- Rpe. ^{Wup} / Borg- Rpe. _{EX-T^{5-10-15 ...}} / Borg- Rpe. _{Max} / Borg- Rpe. _{Rec^{1/3/5}} (n)

- Maksimalno vreme provedeno pod opterećenjem testa (Time. Ex)

Rekviziti i merni instrumentariji

Pulsmetar - model RS800_{CX} (PolarElectro Oy, Kempela, Finland)

Tredmil traka - model T170 (Cosmed, Italija).

3.3.3 Biohemijsko-hematološki markeri

Biohemijsko-hematološki markeri su analizirani iz krvne plazme. Uzorci su uzimani iz prednje kubitalne vene. Krvna plazma se odvajala centrifugiranjem u roku 20 minuta od sakupljanja venskih krvnih uzoraka. Pripremljeni uzorci za analizu su čuvani na temperaturi između -20 i -80°C do analize. Identifikacija i analiza specifičnih biohemijsko-hematološki markera za GAA, Cr i Crn, kod oba eksperimentalna tretmana (1) i (2) su izvršene na Prirodno matematičkom fakultetu (Departmanu za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine) Univerziteta u Novom Sadu. U drugom eksperimentalnom tretmanu lista analiziranih markere je bila proširena za markere perifernog zamora: IL6, CK, Cor, Lac. Vrednosti analiziranih markera u drugom eksperimentu su bile korigovane za vrednosti hematokrita, kako bi se posledice procesa dehidracije anulirale za ekstenzivan period iscrpljujućeg fizičkog napora. Analiza i identifikacija markera perifernog zamora i ćelijske bioenergetike je bila sprovedena u akreditovanoj i specijalizovanom Zavodu za laboratorijsku dijagnostiku JUGOLAB Novog Sada.

3.3.3.1 Eksperimentalni tretman (1)

a. Koncentracija u krvi

GAA pre / posle test protokol sesija (GAA_{Rest} / GAA_{Rec})

Cr pre / posle test protokol sesija (Cr_{Rest} / Cr_{Rec})

Crn pre / posle test protokol sesija (Crn_{Rest} / Crn_{Rec})

Rekviziti i merni instrumentariji

Analizator Agilent 1200 Series LC (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, SAD)

3.3.3.2 Eksperimentalni tretman (2)

a. Koncentracija u krvi

GAA u miru / na kraju svakog intervala trčanja / nakon poslednjeg intervala testa / u oporavku nakon testa za 3 i 5 minut - protokol sesije

GAA_{Rest} / $GAA_{EX-T}^{5-10-15 \dots}$ / GAA_{Max} / $GAA_{Rec}^{3/5}$

Kreatina u krvi / u miru / na kraju svakog intervala trčanja / nakon poslednjeg intervala testa / u oporavku nakon testa za 3 i 5 minut - protokol sesije

Cr_{Rest} / $Cr_{EX-T}^{5-10-15 \dots}$ / Cr_{Max} / $Cr_{Rec}^{3/5}$

Kreatinina u krvi / u miru / na kraju svakog intervala trčanja / nakon poslednjeg intervala testa / u oporavku nakon testa za 3 i 5 minut - protokol sesije:

$$\text{Crn}_{\text{Rest}} / \text{Crn}_{\text{EX-T}^{5-10-15 \dots}} / \text{Crn}_{\text{Max}} / \text{Crn-Rec}^{3/5}$$

Kortizola u krvi / u miru / na kraju svakog intervala trčanja / nakon poslednjeg intervala testa / u oporavku nakon testa za 3 i 5 minut - protokol sesije:

$$\text{Cor}_{\text{Rest}} / \text{Cor}_{\text{EX-T}^{5-10-15 \dots}} / \text{Cor}_{\text{Max}} / \text{Cor-Rec}^{3/5}$$

Interleukina-6 u krvi / u miru / na kraju svakog intervala trčanja / nakon poslednjeg intervala testa / u oporavku nakon testa za 3 i 5 minut - protokol sesije:

$$\text{IL6}_{\text{Rest}} / \text{IL6}_{\text{EX-T}^{5-10-15 \dots}} / \text{IL6}_{\text{Max}} / \text{IL6-Rec}^{3/5}$$

Kreatin kinaze u krvi / u miru / na kraju svakog intervala trčanja / nakon poslednjeg intervala testa / u oporavku nakon testa za 3 i 5 minut - protokol sesije:

$$\text{CK}_{\text{Rest}} / \text{CK-EX-T}^{5-10-15 \dots} / \text{CK}_{\text{Max}} / \text{CK}_{\text{Rec}}^{3/5}$$

Laktata u krvi / u miru / na kraju svakog intervala trčanja / nakon poslednjeg intervala testa / u oporavku nakon testa za 3 i 5 minut - protokol sesije:

$$\text{Lac}_{\text{Rest}} / \text{Lac}_{\text{EX-T}^{5-10-15 \dots}} / \text{Lac}_{\text{Max}} / \text{Lac}_{\text{Rec}}^{3/5}$$

Rekviziti i merni instrumentariji

Agilent 1200 Series LC (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, SAD)

COBAS C-6000 analyzer (Roche Diagnostics, Indianapolis, SAD)

Accutrend Plus (Roche Diagnostics, Indianapolis, SAD)

3.4. METODE OBRADJE PODATAKA

Podaci dobijeni merenjem bili su pregledani, sređeni, a zatim statistički obrađeni u statističkom paketu SPSS 20.0. Za date parametre izvedene su varijable, a izračunati su deskriptivni statistici (aritmetička sredina, standardna devijacija). Za proveru normalnosti distribucije dobijenih podataka koristio se Kolmagorov-Smirnov test. U slučajevima kada je homogenost distribucije bila narušena pristupilo se korišćenju neparametrijskih metoda obrade podataka.

U eksperimentalnom tretmanu (1) utvrđivane su razlike između dobijenih vrednosti za obe protokol-sesije neparametriskim metodama za ponovljena merenja analize varijanse: Fridmanova 2-way analiza varijanse i Kraskal-Willisonova analiza. Uz ove razlike bile su urađene i razlike između inicijalnog i finalnog merenja za obe protokol-sesije neparametriskim metodama Vilkoxonove analize dva povezana uzorka i Kraskal-Willisonovom analizom. Utvrđivanje razlika je testirano na celokupnom uzorku, između polova i prema polu zasebno. Parametrijska metoda direktne korelacije (Pirsonova korelacija povezanosti) u jednom smeru je primenjena radi utvrđivanja povezanosti rasta ili opadanja vrednosti serumske GAA sa Cr i Crn kod maksimalno iscrpljujućih testova, a na nivou celokupnog uzorka i za grupe prema polovima zasebno. Minimalni uslov za postojanje statistički značajne razlike je p (nivo značajnosti) manji ili jednak 0,05.

Za eksperimentalni tretman (2) se koristila neparametrijska Kraskal-Willisonova analiza radi utvrđivanja razlika između inicijalnog merenja u miru, nakon svakog intervala u toku eksperimentalne protokol sesije i nakon eksperimentalne protokol sesije u oporavku. Pored ovih metoda koristila se parametrijska metoda direktne korelacije (Pirsonova korelacija povezanosti) povezanosti serumskih nivoa GAA, Cr i Crn sa markerima perifernog zamora IL-6, CK, Cor, Lac i sa subjektivnom procenom zamora po Borgu. Minimalni uslov za postojanje statistički značajne razlike je p (nivo značajnosti) manji ili jednak 0,05.

4. REZULTATI

4.1. Eksperimentalni tretman (1)

U Tabeli 4.1.1 A i B prikazani su osnovni deskriptivni statistici i karakteristike distribucije analiziranih varijabli za celokupan uzorak, za muškarce i žene prema polu.

Tabela 4.1.1 (A) Osnovni deskriptivni statistici i karakteristike distribucije analiziranih varijabli

	Ceo uzorak (<i>n</i> = 23)	Muškarci (<i>n</i> = 12)	Žene (<i>n</i> = 11)
<i>Antropometrijske mere i parametri</i>			
Starost (god)	24,7 ± 2,5	24,00 ± 1,8	25,5 ± 3,0
TV (cm)	174,9 ± 10,0	182,08 ± 6,8	167,1 ± 6,2
TM (kg)	69,6 ± 13,2	79,92 ± 7,2	58,4 ± 7,6
Obim treninga (h)	2,35 ± 1,40	2,25 ± 1,54	2,45 ± 1,29
<i>Motoričko-funkcionalne mere i parametri</i>			
Bench Press-test			
Rep (n)	56,7 ± 34,12	87,9 ± 20,3	28,3 ± 9,8
Borg _{Rpe} (n)	9,9 ± 0,2	10,0 ± 0,0	9,9 ± 0,3
Rep T (kg)	20,3 ± 0,7	20,6 ± 1,0	20,00 ± 0,0
Running-test			
HR _{Rest} (otk/min)	101,9 ± 19,2	98,8 ± 19,4	105,7 ± 19,3
HR _{Rec} (otk/min)	188,7 ± 7,6	190,2 ± 7,5	187,0 ± 7,8
Borg _{Rpe} (n)	9,9 ± 0,2	10,0 ± 0,0	9,9 ± 0,3
Time Ex (s)	370,7 ± 93,6	439,8 ± 60,3	288,2 ± 45,7

Legenda: TV - Telesna visina; TM - Telesna masa; Rep - broj ponavljanja na testu; Borg_{Rpe} - vrednosti sa modifikovane Borgove skale (1-10); Rep T - masa savladanog spoljašnjeg opterećenja u kilogramima na testu; HR_{Rest} - srčana frekvenca u miru pre testa; HR_{Rec} - maksimalna srčana frekvenca nakon testa; Time Ex vreme do otkaza na testu.

Tabela 4.1.1 (B) Osnovni deskriptivni statistici i karakteristike distribucije analiziranih varijabli

	Ceo uzorak (<i>n</i> = 23)	Muškarci (<i>n</i> = 12)	Žene (<i>n</i> = 11)
<i>Biohemijsko-hematološki markeri</i>			
Bench Press-test			
GAA _{Rest} (μmol/L)	2,6 ± 0,8	2,7 ± 1,0	2,5 ± 0,7
GAA _{Rec} (μmol/L)	2,3 ± 0,8	2,4 ± 0,9	2,3 ± 0,8
Cr _{Rest} (μmol/L)	20,6 ± 6,4	18,2 ± 4,4	22,7 ± 7,3
Cr _{Rec} (μmol/L)	21,62 ± 6,4	20,02 ± 5,0	23,1 ± 7,5
Crn _{Rest} (μmol/L)	7,6 ± 1,0	8,3 ± 0,8	6,9 ± 0,7
Crn _{Rec} (μmol/L)	8,09 ± 1,4	9,1 ± 1,1	7,1 ± 0,7
Running-test			
GAA _{Rest} (μmol/L)	3,0 ± 0,8	3,1 ± 0,8	2,9 ± 0,7
GAA _{Rec} (μmol/L)	2,4 ± 0,7	2,4 ± 0,7	2,4 ± 0,6
Cr _{Rest} (μmol/L)	22,5 ± 8,0	18,1 ± 3,8	27,9 ± 8,7
Cr _{Rec} (μmol/L)	25,7 ± 9,3	21,3 ± 3,3	31,1 ± 11,6
Crn _{Rest} (μmol/L)	7,2 ± 1,3	7,4 ± 1,4	6,9 ± 1,0
Crn _{Rec} (μmol/L)	9,8 ± 1,2	10,4 ± 1,2	9,2 ± 0,9

Legenda: GAA_{Rest} / GAA_{Rec} – koncentracija guanidinosirćetne kiseline u krvi pre i posle testa; Cr_{Rest} / Cr_{Rec} - koncentracija kreatina u krvi pre i posle testa; Crn_{Rest} / Crn_{Rec} - koncentracija kreatinina u krvi pre i posle testa.

Tabela 4.1.2 u segmentu A prikazuje interakciju faktora: tip protokol-sesije (Running vs. Bench Press) i vreme uzorkovanja (Rest vs Rec) za analizirane varijable, a prema analiziranim grupama. Interakcija faktora statistički značajno utiču na promene u koncentraciji GAA, Cr, Crn kod ispitanike muškog, ženskog pola i na celokupnom uzorku. Koncentracija GAA između ispitanika muškog i ženskog pola nije statistički značajna, dok su se za nivo Cr i Crn pokazale statistički značajne razlike.

Tabela 4.1.2 Interakcije faktora tokom eksperimentalnog protokola 1

A - Razlike između protokol-sesija

Running / Bench Press vs Rest / Rec	Ceo Uzorak	M vs Ž	M	Ž
GAA	0,01	0,61	0,00	0,00
Cr	0,01	0,00	0,05	0,03
Crn	0,00	0,00	0,00	0,00

B - Razlike između inicijalnog i finalnog merenja

<i>Running</i> Rest vs. Recovery	Ceo Uzorak	M vs Ž	M	Ž
GAA	↓ 0,00	0,45	↓ 0,00	↓ 0,01
Cr	↑ 0,01	↑ 0,00	↑ 0,01	0,26
Crn	↑ 0,00	↑ 0,02	↑ 0,00	↑ 0,01
<i>Bench Press</i> Rest vs Recovery	Ceo Uzorak	M vs Ž	M	Ž
GAA	↓ 0,00	0,49	↓ 0,01	↓ 0,01
Cr	0,08	0,12	↑ 0,05	0,72
Crn	↑ 0,00	↑ 0,00	↑ 0,00	0,06

Legenda: ↓↑ - trend opadanja i rasta vrednosti; podebljani rezultati prikazuju statističku značajnost na nivou $p = 0,05$

U segmentu B - Tabele 4.1.2 prikazane su razlike za ispitane biohemijsko-hematološke markere prema protokol-sesiji i analiziranim grupama. Ovde pronalazimo da su obe protokol-sesije statistički značajno uticale na pad koncentracije GAA na celokupnom uzorku, za ispitanike muškog i ženskog pola. Za testirane razlike između polova za vrednosti GAA u

obe sesije nisu bile utvrđene statistički značajne razlike. Nakon protokol-sesije iscrpljujućeg trčanja uočena su statistički značajna povećanja u koncentraciji Cr na celokupnom uzorku, zatim postoje razlike između polova i kod ispitanika muškog pola. Sa druge strane, u protokol-sesiji snažne izdržljivosti, statistički značajno povećanje koncentracije Cr je zabeleženo kod ispitanika muškog pola. Obe protokol-sesije su statistički značajno uticale na povećanje koncentracije Crn za sve ispitane grupe, uz izuzetak kod žena na testu snažne izdržljivosti.

Tabela 4.1.3. Povezanost između promena serumskih indikatora celularne bioenergetike tokom eksperimentalnog protokola 1

		Ceo Uzorak	Muškarci	Žene
<i>Running test</i>	GAA vs Cr	$r = - 0,53$	$r = - 0,75$	$r = - 0,63$
		$p = \mathbf{0,00}$	$p = \mathbf{0,00}$	$p = \mathbf{0,00}$
	GAA vs Crn	$r = 0,27$	$r = - 0,41$	$r = 0,58$
		$p = \mathbf{0,04}$	$p = \mathbf{0,02}$	$p = \mathbf{0,00}$
<i>Bench press test</i>	GAA vs Cr	$r = - 0,29$	$r = - 0,19$	$r = - 0,32$
		$p = \mathbf{0,04}$	$p = 0,22$	$p = 0,88$
	GAA vs Crn	$r = 0,02$	$r = - \mathbf{0,05}$	$r = - 0,14$
		$p = 0,46$	$p = 0,42$	$p = 0,27$

Legenda: podebljani rezultati prikazuju statističku značajnost na nivou $p = 0,05$

Niska do umereno snažna statistički značajna negativna korelacija je zabeležena između promena koncentracije GAA i Cr u obe protokol-sesije na celokupnom uzorku, a kod muškog i ženskog pola za prvu protokol sesiju (Tabela 4.1.3). Pozitivna korelacija između promena koncentracije GAA i Crn je utvrđena na celokupnom uzorku, kao i za ispitanike muškog i ženskog pola kod prve protokol sesije.

4.2 Eksperimentalni tretman (2)

U Tabeli 4.2.1 prikazani su osnovni deskriptivni statistici (A segment) i karakteristike dinamike praćenja analiziranih varijabli tokom eksperimentalnog testiranja (B segment). Ukupno trajanje testa do otkaza za ceo uzorak je bilo $1082,5 \pm 448,3$ s. Posednji red tabela 1 4.2.1 prikazuje trend promene vrednosti i statističke razlike za ispitane markere prema protokol-sesiji za analizirane vremenske intervale. Kod svih markera možemo uvideti trend porasta vrednosti (Grafikon 4.2.2.,A,B,C), uz prikazanu statističku značajnost za dinamiku promena koncentracije GAA, Cr, Crn, IL6, Cor i Lac, osim kod varijable CK (Tabela 4.2.1).

Tabela 4.2.1 (A) Osnovni deskriptivni statistici ($n = 10$)

	Srednja vrednost \pm SD
Starost (godine)	$22,7 \pm 4,0$
TV (cm)	$174,1 \pm 6,4$
TM (kg)	$75,5 \pm 14,2$
Obim treninga (h)	$9,8 \pm 1,1$
Borg-R _{pe} Max (n)	$19,5 \pm 0,7$
HR-Max (otk/min)	$194,2 \pm 8,9$
VO ₂ -Max (ml/kg/min)	$49,5 \pm 5,4$
V-Max (km/h)	$18,0 \pm 1,0$
HR-AnP (otk/min)	$176,7 \pm 10,9$
VO ₂ -AnP (ml/kg/min)	$40,6 \pm 5,2$
VO ₂ -AnP (%)	$82,1 \pm 6,9$
V-AnP (km/h)	$14,3 \pm 1,4$

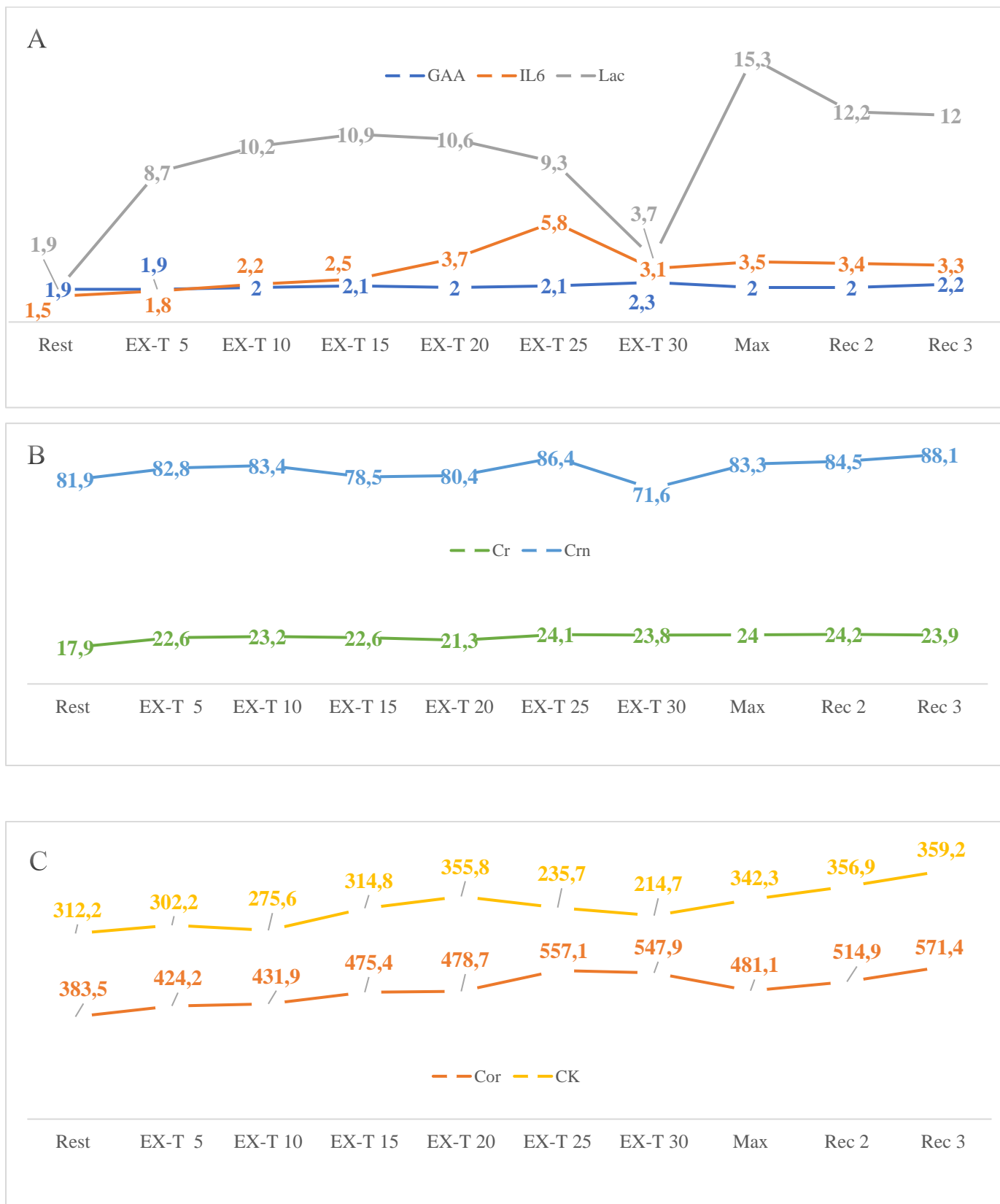
Legenda: TV - Telesna visina; TM - Telesna masa; Borg R_{pe} Max - maksimalne vrednosti Borgove skale na kraju testa; HR_{max} - maksimalna srčana frekvenca; HR_{AnP} - srčana frekvenca na anaerobnom pragu; VO₂ Max - maksimalna potrošnja kiseonika; VO₂AnP - potrošnja kiseonika na anaerobnom pragu; VO₂AnP - procenat potrošnja kiseonika na anaerobnom pragu od maksimalne potrošnje; V_{Max} - maksimalna postignuta brzina trčanja; V_{AnP} - brzina trčanja na anaerobnom pragu.

Tabela 4.2.1 (B) Dinamika praćenja analiziranih varijabli tokom eksperimentalnog testiranja

	Rest (n = 11)	EX-T ⁵ (n = 11)	EX-T ¹⁰ (n = 10)	EX-T ¹⁵ (n = 8)	EX-T ²⁰ (n = 7)	EX-T ²⁵ (n = 3)	EX-T ³⁰ (n = 1)	Max (n = 11)	Rec ¹ (n = 11)	Rec ² (n = 11)	Rec ³ (n = 11)	
GAA ($\mu\text{mol/L}$)	1,9 \pm 0,3	1,9 \pm 0,3	2,0 \pm 0,4	2,1 \pm 0,3	2,0 \pm 0,3	2,1 \pm 0,5	2,3 \pm 0,0	2,0 \pm 0,3	/	2,0 \pm 0,3	2,2 \pm 0,3	↑ 0,00
Cr ($\mu\text{mol/L}$)	17,9 \pm 3,1	22,6 \pm 7,8	23,2 \pm 6,8	22,6 \pm 3,8	21,3 \pm 3,9	24,1 \pm 3,3	23,8 \pm 0,0	24,0 \pm 6,4	/	24,2 \pm 7,2	23,9 \pm 7,7	↑ 0,00
Crn (mmol/L)	81,9 \pm 9,1	82,8 \pm 16,1	83,4 \pm 14,0	78,5 \pm 13,8	80,4 \pm 9,3	86,4 \pm 10,8	71,6 \pm 0,0	83,3 \pm 12,6	/	84,5 \pm 12,7	88,1 \pm 12,8	↑ 0,00
IL6 (pg/mL)	1,5 \pm 0,0	1,8 \pm 1,0	2,2 \pm 1,4	2,5 \pm 1,3	3,7 \pm 3,4	5,8 \pm 3,4	3,1 \pm 0,0	3,5 \pm 2,4	/	3,4 \pm 2,0	3,3 \pm 2,1	↑ 0,00
Cor (nmol/L)	383,5 \pm 152,6	424,2 \pm 101,4	431,9 \pm 118,4	475,4 \pm 124,5	478,7 \pm 139,9	557,1 \pm 120,2	547,9 \pm 0,0	481,1 \pm 109,6	/	514,9 \pm 88,1	571,4 \pm 82,2	↑ 0,00
CK (IUI/L)	312,2 \pm 268,3	302,2 \pm 253,2	275,6 \pm 241,4	314,8 \pm 289,7	355,8 \pm 289,4	235,7 \pm 64,9	214,7 \pm 0,0	342,3 \pm 251,6	/	356,9 \pm 258,5	359,2 \pm 260,0	0,836
Lac (mmol/L)	1,9 \pm 0,8	8,7 \pm 4,1	10,2 \pm 3,4	10,9 \pm 3,6	10,6 \pm 3,4	9,3 \pm 4,5	3,7 \pm 0,0	15,3 \pm 7,6	/	12,2 \pm 3,7	12,0 \pm 4,2	↑ 0,00
HR (otk/min)	75,5 \pm 8,5	184,1 \pm 10,0	190,1 \pm 11,2	191,3 \pm 13,2	193,3 \pm 13,6	190,0 \pm 15,1	175,0 \pm 0,0	194,2 \pm 8,9	151,8 \pm 18,5	123,1 \pm 13,5	118,3 \pm 15,5	↑ 0,00
Borg _{Rpe} (ocena)	6,8 \pm 1,5	10,8 \pm 2,3	13,6 \pm 3,6	14,4 \pm 3,0	16,1 \pm 2,4	16,3 \pm 4,6	11,0 \pm 0,0	18,5 \pm 2,7	15,1 \pm 4,8	10,4 \pm 2,7	8,1 \pm 1,7	↑ 0,00

Legenda: GAA - guanidinosirćetna kiselina; Cr - kreatin; Crn - kreatinin; Lac - laktat; IL-6 - interleukin-6; CK – kreatin kinaza; Cor - kortizol; HR - srčana frekvencija; Borg_{Rpe} - vrednosti subjektivne procene zamora; Rest - vrednosti pre testa u miru; EX-T⁵⁻¹⁰⁻¹⁵⁻²⁰⁻²⁵⁻³⁰ - vrednosti na kraju svakog intervala trčanja za 5, 10, 15, 20, 25 i 30 minut; Max - maksimalne vrednosti nakon poslednjeg intervala testa; Rec^{1 / 3 / 5} vrednosti u oporavku nakon testa za 1, 3 i 5 minut; podebljani rezultati prikazuju statističku značajnost na nivou p = 0,05.

Grafikon 4.2.2.1 (A,B,C) Cirkulatorne vrednosti svih markera



Povezanost između dinamike promena markera perifernog zamora, subjektivne procene opterećenja sa cirkulatornim vrednostima GAA, Cr, Crn prikazani su u Tabeli 4.2.2. Ovde se uočavaju umereno do visoke pozitivne korelacije između promena serumskih vrednosti GAA, Cr i Crn sa IL-6, Cor, Lac i vrednostima subjektivne procene zamora. Sa druge strane, statistički značajna negativna korelacije je uočena između promena GAA i CK u cirkulaciji.

Tabela 4.2.2. Korelacija između markera perifernog zamora i ćelijske bioenergetike

	GAA	Cr	Crn	IL-6	Cor	CK	Lac	Borg _{Rpe}
GAA	-	0,88	0,93	0,52	0,87	- 0,35	0,65	0,76
Cr	0,88	-	0,91	0,57	0,83	0,55	0,73	0,79
Crn	0,93	0,91	-	0,60	0,87	0,25	0,68	0,79

Legenda: GAA - guanidinosirćetna kiselina; Cr - kreatin; Crn - kreatinin; Lac - laktat; IL-6 – Interleukin 6; CK - kreatin kinaza; Cor - kortizol; Borg_{Rpe} – ocena subjektivnog zamora; podebljani rezultati prikazuju statističku značajnost na nivou $p = 0,05$.

5. DISKUSIJA

5.1. Eksperimentalni tretman (1)

Koncentracija GAA u serumu u stanju mirovanja iznosile su $3,0 \pm 0,8 \mu\text{mol/L}$ (protokol trčanja) odnosno $2,6 \pm 0,8 \mu\text{mol/L}$ (potisak sa klupe). Ove vrednosti se ne razlikuju značajno od zabeleženih vrednosti u drugim studijama sličnog karaktera i drugim populacijama. Kod osoba starijih od 15 godina oba pola koncentracija GAA u krvi iznosila je $2,3 \pm 0,8 \mu\text{mol/L}$, uz napomenu da su osobe starije od 18 godina činile manje od 8% ispitivane populacije (Curt i sar., 2013). Sa druge strane, u istraživanju Sotgia i sar. (2007) ispitane grupe su prikazali znatno više vrednosti GAA u mirovanju u odnosu na vrednosti u našoj studiji (sedentarne osobe $2,4 \pm 1,6 \mu\text{mol/L}$ / sportisti $6,9 \pm 1,9 \mu\text{mol/L}$). Slične koncentracije GAA ($2,2 \pm 0,5 \mu\text{mol/L}$ i $2,0 \pm 0,5 \mu\text{mol/L}$) našem istraživanju su zabeležene kod ispitanika skorašnjih studija (Al Fazazi i sar., 2018; Semeredi i sar., 2019).

Eksperimentalni tretman je pokazao značajan pad koncentracije GAA, kao odgovor na obe protokol sesije iscrpljujućeg vežbanja, kod oba pola i na celokupnom uzorku. Izgleda da vežbanje u trajanju iznad 280 s uz progresivno rastuće opterećenje, a koje uključuju velike mišićne grupe prouzrokuje povećanu utilizaciju ili smanjenu produkciju GAA, sudeći prema vrednostima GAA u cirkulaciji. Trčanje do maksimalnog voljnog otkaza je izazvalo veći pad GAA u krvi odmah posle aktivnosti u poređenju sa testiranjem snažne izdržljivosti gornjih ekstremiteta potiskom sa ravne klupe na celokupnom uzorku (20,3% vs. 11,2%) i prema polu (muškarci: 22,0% vs. 11,0%; žene: 17,2% vs. 8,0%). Ovo može da ilustruje razlike u vrsti aktivnosti koje utiču na dostupnost GAA, uzimajući u obzir da je pri trčanju do otkaza angažovan veći obim skeletnih mišića koji verovatno utroše više GAA nezavisno od rodne pripadnosti. To sugerise mogućnost da se praćenje nivoa GAA u serumu tokom vežbanja može koristiti u determinisanju intenziteta odnosno tipa vežbanja.

Sa druge strane, intenzivan iscrpljujući fizički rad indukuje kompleksne promene i u renalnoj hemodinamici, uključujući i redukciju protoka krvi i metabolizma u bubrezima (Bellinghieri, Savica, i Santoro, 2008). Ovo može prouzrokovati akutni negativan efekat na sintezu GAA u glavnom organu za produkciju ovog aminokiselinskog derivata, pre svega smanjujući dostupnost arginina, glicina ili vežbanjem-indukovanu supresorsku aktivnost na AGAT. Nekoliko kliničkih studija je uočilo različite poremećaje u endogenoj sintezi GAA i Cr, što može dovesti do ozbiljnih poremećaja celularne bioenergetike i posledičnih kliničkih manifestacija (Andreas Schulze, 2003, 2013). Studija od strane Japanske grupe autora je

ukazala na niske vrednosti GAA u serumu kod pacijenata koji boluju od hronične bolesti bubrega ili dijabetesa melitusa (Tsubakihara, Hayashi, i Shoji, 2012), sugerišući na moguću povezanost između bubrežne disfunkcije i GAA deficijencije. Osim toga, suplementacija CrM kod 16 ispitanika u trajanju 20 nedelja, dovela je do pada vrednosti GAA u serumu u odnosu na vrednosti pre suplementacije (Derave i sar., 2004). Već nakon prve nedelje suplementacije, primećen je pad koncentracije GAA za 50%, kada su ispitanici bili suplementirani većom količinom Cr (20 g/d). Nakon inicijalnog pada, došlo je do smanjenja redukcije GAA u cirkulaciji do 30% od bazičnih vrednosti iz krvi kada su ispitanici dobijali 5 g kreatina dnevno. Istraživači u svom zaključku naglašavaju da je najverovatniji mehanizam za ovaj pad nivoa GAA, inhibicija AGAT nastala delovanjem egzogenog kreatina, s tim da se ne isključuju da i drugi mehanizmi negativne regulacije.

Tokom protokol-testa potiskom sa ravne klupe u više uzastopnih serija sa spoljnim opterećenjem podešenim na 30% od telesne mase kod muških ispitanika, Al Fazazi i sar. (2018) su pokazali da dolazi do pada vrednosti GAA u serumu (za $9,6 \pm 7,3\%$), prećenog porastom vrednosti koncentracije Cr (za $5,0 \pm 2,5\%$) i Crn (za $11,9 \pm 4,3\%$) odmah nakon test protokola. Ovo sugerise da iscrpljujuće visoko intenzivno vežbanje može akutno da stimuliše GAA metilaciju do kreatina, kreatina do kreatinina, što izaziva trošenje GAA i povećanje koncentracije Cr, posebno tokom kratkih epizoda vežbanja gde je kreatin glavni izvor ćelijske energije. Autori sugerisu i da postoji mogućnost da je došlo do povećane aktivacije enzima GAMT u procesu metilacije GAA. Da ovakvi rezultati nisu samo vezani za jedan oblik vežbanja pokazala je studija italijanske grupe istraživača (Sotgia i sar., 2007). Oni su u svom radu prikazala slične rezultate tokom iscrpljujuće epizode vožnje bicikla, gde je uočen pad koncentracije GAA na celokupnom uzorku za 16% nakon epizode vežbanja (kod sportista ~ 16% a kod sedentarnih osoba ~ 15%), uz statistički značajan porast koncentracije Cr na celokupnom uzorku od 3%.

U našem eksperimentalnom tretmanu interakcije dva test protokola sa različitim modelima opterećenja, oba oblika opterećenja statistički značajno utiču na promene u koncentraciji GAA, Cr i Crn, što odgovara trendu promena u predhodno navedenim istraživanjima. Taj trend na celokupnom uzorku i prema sub-grupama (polovima), može se iskoristiti da opiše bioenergetiku tokom relativno kratkih aerobnih režima rada (test trčanja do voljnog otkaza) i anaerobnih režima rada (test potiska sa ravne klupe do voljnog otkaza). To dalje otvara mogućnost da se pomenuti markeri ćelijske bioenergetike eventualno koriste kao markeri za procenu i određivanje nivoa zamora pri kratkim visoko intenzivnim fizičkim aktivnostima. Koncentracija Cr i Crn raste u oba tretmanska protokola što sugerise da i u

našem eksperimentu dolazi do rapidnog trošenja GAA u procesu sinteze Cr, a zatim i do spontanog prelaska Cr u Crn. Statistički značajna negativna korelacija između dinamike promena koncentracija GAA i Cr na celokupnom uzorku u obe protokol sesije pojačavaju već navedenu pretpostavku. Statistička značajnost nije uvek pratila procentualni rast vrednosti Cr i Crn u test protokolu potiska sa ravne klupe. Tako, promene vrednosti koncentracije Cr na celokupnom uzorku za test protokol potiska sa ravne klupe nisu pokazale statistički značajne razlike, uz procentualni trend rasta vrednosti od 4,5%. Moguće je da je vreme koje su ispitanici ukupno proveli tokom ovog tipa vežbanja previše kratko da bi izazvalo značajnu redukciju nivoa GAA. U prilog ovome treba uzeti rezultate rada Al Fazazia i sar. (2018), koji su pod sličnim vrednostima opterećenja ali pri produženom trajanju testa (veći broj serija do otkaza) dobili statistički značajne razlike. Ne treba zaboraviti i to da u njihovom uzorku nije bilo ženskih ispitanika. Rezultati za mušku sub-grupu ispitanika pokazali su da postoje statističke značajne razlike pre i nakon testa kada je reč u promeni koncentracije GAA. Bez uočenih statističkih značajnih razlika između polova za promene koncentracije Cr i GAA, može se postaviti pitanje da li je izabrani test protokol dovoljno osetljiv da ilustruje razlike između polova na relativno malom uzorku ispitanika. Isto se može reći i sa aspekta korelacionih povezanosti promena koncentracije GAA i Cr-Crn, gde je jedino uočena blaga negativna korelacija između promena nivoa GAA i nivoa Cr prilikom posmatanja čitavog uzorka. Očigledno je potrebno da u narednim istraživanjima uključimo veći broj ispitanika da bi se uočile eventualne promene povezane sa razlikama među polovima, i ustanovili trendovi. To je u potpunosti drugačije kada je reč o testu trčanja, gde je uočna značajna korelacija između promena koncentracije GAA i Cr/Crn mada nije uočena polno-zavisna povezanost.

Ostojic i saradnici (2015) su prikazali da je oralna suplementacija GAA u trajanju od 6 nedelja prouzrokovala povećan broj ponavljanja prilikom testa potisak sa ravne klupe do otkaza (opterećenje od 75% telesne mase), dok kod testa potisak nogama do otkaza (opterećenje od 150% telesne mase) nije uočeno značajno poboljšanje rezultata. Autori sugerišu da oralna suplementacija GAA možda bolje targetira relativno manje razvijene grupe mišića, kao što su mišići ruku i grudi kod opšte populacije. Takođe, moguće je da GAA omogućava bolju proizvodnju sile i snage kada su inicijalne vrednosti relativno niske. U praktičnim okvirima rezultata našeg istraživanja, kao i drugih istraživanja koja su na sličan način proučavala promene vrednosti GAA nakon vežbanja, trebalo bi razmotriti da li postoji specifični period u kome bi se egzogeno uzimala GAA u cilju prevencije pada nivoa GAA u serumu tokom iscrpljujućeg visoko intenzivnog vežbanja. Osim toga, zbog ograničenog broja ispitanika muškog i ženskog pola uključenih u našu studiju, buduća istraživanja bi trebalo da

regrutuju više ispitanika kako bi se ispitale eventualne razlike u vežbvanjem indukovanim promena koncentracije GAA među polovima.

5.2. Eksperimentalni tretman (2)

U ovom eksperimentalnom tretmanu zabeležene su značajni efekti vežbanja na promene koncentracija biomarkera metabolizma kreatina, mišićnog oštećenja i imunološkog odgovora.

Koncentracija GAA u serumu izgleda nije blisko povezana sa promena vrednosti uočenim tokom prvog eksperimentalnog tretmana. Prethodni eksperiment je pokazao da usled kratkotrajnog iscrpljujućeg vežbanja dolazi do opadanja koncentracije GAA u serumu, što je potvrđeno i od drugih istraživača (Al Fazazi i sar., 2018; Sotgia i sar., 2007).

Koncentracija GAA je bila povišena tokom perioda testiranja, neposredno nakon testa (maksimalne vrednosti) i u periodu oporavka u odnosu na vrednosti u stanju mirovanja. Jedan od mogućih razlog za ovu nesaglasnost u rezultatima između prvog i drugog eksperimentalnog tretmana, može biti u samom vremenskom trajanju eksperimentalnih test-protokola i tipu opterećenja. U prvom eksperimentanom tretmanu bilo je korišćeno visoko-intenzivno progresivno rastuće opterećenje u relativno kratkom vremenskom intervalu. U drugom eksperimentalnom tretmanu bilo je korišćeno produženo visoko-intenzivno opterećenje, trčanje do otkaza na anaerobnom pragu. Na osnovu dostupne literature, ovakve promene u cirkulturnoj dinamici GAA nisu zabeležene do sada. U drugom eksperimentu, moguće je uočiti pad GAA u serumu na kraju prvog intervala trčanja, međutim raspoloživost GAA u cirkulaciji nije bila ugrožena tokom daljeg trajanja testa i za vreme oporavka. Ovo može da sugeriše na svojevrsnu dvofaznu dinamiku promene koncentracije GAA u serumu na vežbanje visokog intenziteta, koja se sastoji iz prve faze praćene inicijalnim padom vrednosti koji je praćen porastom koncentracije GAA u serumu. Neznatan pad se može protumačiti kao posledica minimalne kratkoročne povećane utilizacije GAA. Akutna redukcija nivoa GAA može biti posledica: (a) kompleksnih promena renalne hemodinamike, uključujući redukciju u protoku krvi i metabolizma u bubrezima (Bellinghieri i sar., 2008; Poortmans i Vanderstraeten, 1994); (b) povećane metilacije GAA tokom sinteze Cr potrebnog za visoko energetske aktivnosti (Ostojic, 2016b) ili (c) nekog nepoznatog faktora. Naknadni porast GAA tokom produženog iscrpljujućeg vežbanja možda ilustruje adaptaciju na gore pomenute odgovore, što dalje otvara vrata novim istraživanjima.

Kod istraživanja koja su proučavala dinamiku kretanja vrednosti Cr tokom i nakon različitih fizičkih aktivnosti, rezultati ukazuju da opterećenja umerenog intenziteta od oko 60% maksimalnih vrednosti dovode do statistički značajno povišenih vrednosti Cr u takozvanom slobodnom obliku, dok vrednosti fosforalizovanog kreatina PCr bivaju smanjene (Chen i sar., 2003). Još izraženije promene se uočavaju kada vrednosti opterećenja prelaze 80% maksimalnih vrednosti kod produžene iscrpljujuće fizičke aktivnosti ili kada su aktivnosti izvedene maksimalnim naporom (100%) u veoma kratom vremenskom periodu (Greenhaff i sar., 1994; Chen i sar., 2003). Rezultati našeg istraživanja su u saglasnosti sa gorenavedenim studijama. Koncentracija Cr u serumu raste tokom napora i za vreme oporavka, a vrednosti su statistički značajno povišene naspram vrednosti u miru pre testiranja. Prilikom tumačenja dobijenih rezultata, u literaturi se pominje da Cr u svom fosforilisanom obliku (PCr) može biti korisan u prevenciji oštećenja samih mišićnih ćelija i ćelijskih membrana, kada je ćelija izložena stresogenim faktorima (Kim i sar., 2015). Kada su vrednosti PCr visoke, PCr smanjuje fluidnost i povećava gustinu membrana, što sprečava gubitak važnih ćelijskih bioenergetskih enzima i ne dozvoljava neenzimsku degradaciju Cr u Crn. U kontekstu dobijenih vrednosti za ovaj eksperimentalni tretman, to bi značilo da povišene vrednosti Cr u krvi koje se javljaju nakon iscrpljujućeg trčanja, možda ukazuju na oštećenja ćelija, ćelijskih membrana i moguću disfunkciju u bioenergetici ćelije.

Iz ugla sportskih nauka, praćenje koncentracije Crn u serumu (krajnjeg produkta metabolizma kreatina) često se koristi kao rutinski test-marker za procenu rada bubrega, kao i određivanja stepena razgradnje mišićne mase i oštećenju mišićnih ćelija nakon iscrpljujućih epizoda vežbanja (Banfi, Del Fabbro, i Lippi, 2009). Za interpretaciju i tumačenje rezultata uglavnom je potrebno da prođe 24 h od fizičke aktivnosti kako bi se tumačile promene nivoa Crn u krvi. Tumačenje dobijenih rezultata u kontekstu referentnih vrednosti za opštu populaciju uglavnom prouzrokuje pogrešnu interpretaciju rezultata kod sportista kada je reč o vrednostima koncentracije Crn u krvi. Referentne vrednosti Crn u serumu kod sportista ili osoba koje su redovno izložene teškom fizičkom radu su znatno povišene i mogu da osciluju u zavisnosti od dominantnih energetske izvora za stvaranje energije tokom aktivnosti (npr. aerobni vs. anaerobni sportovi). U našem eksperimentu, vrednosti Crn su bile značajno povišene tokom, neposredno nakon epizode vežbanja kao i u oporavku u odnosu na vrednosti u mirovanju. Ovo može da sugeriše da već u akutnoj fazi tokom i nakon fizičke aktivnosti dolazi do promena hemodinamike bubrega i povećanog metabolizma kreatina u aktivnim ćelijama (Kim i sar., 2016).

Prilikom mišićne kontrakcije, mišić kao para-immuno-endokrini organ proizvodi i otpušta citokine u cirkulaciju (tzv. miokini), prvenstveno IL-6 (Febbraio i Pedersen, 2005; Huh, 2018; Pedersen i sar., 2003). Kao prominentni miokin, IL-6 među prvima dospeva u krvotok, a nakon fizičke aktivnosti njegove vrednosti mogu da se uvećaju i za 100 puta naspram vrednosti u mirovanju (Febbraio i Pedersen, 2002; Ostrowski i sar., 2000). Nakon izuzetno ekstremnog ekstenzivnog trčanja u trajanju od 6 h i pređenih 65 km, kod 19 visoko utreniranih atletičara dugoprugaša zabeleženo je uvećanje koncentracije IL-6 za 3.9 puta (mirovanje $18,5 \pm 4,2$ pg/ml; nakon trčanja $71,5 \pm 33,3$ pg/ml) (Drenth i sar., 1995). Kako bi potvrdili da se IL-6 otpušta iz mišića, Ostrowski i saradnici (1998) su testirali 16 učesnika maratona. Ispitanicima je uziman uzorak venske krvi a urađena je i mišićna biopsija nedelju dana pre maratona u stanju potpunog mirovanja (koncentracija IL-6 bila je $1,5 \pm 0,7$ pg/ml), za zatim neposredno nakon kompletiranog maratona ($94,4 \pm 12,6$ pg/ml) i 2 h posle maratona. Vrednosti nakon maratona ekstremno su porasle i ostale povišene i 2 h nakon maratona ($22,1 \pm 3,8$ pg/ml). Ista grupa istraživača (Ostrowski i sar., 1998) pratila je promene koncentracije IL-6 i drugih miokina pri kontinuiranom trčanju na 75% od maksimalne potrošnje kiseonika tokom trčanju u trajanju od 2,5 h, sa uzorkovanjem na svakih pola sata tokom testa, neposredno nakon testa i na svakih sat vremena tokom oporavka u trajanju od 6 sati. Istraživači su zabeležili porast vrednosti IL-6 za 2,8 puta već nakon prvih pola sata trčanja. Vrednosti na kraju protokola bile su uvećane za 25 puta kod 10 visoko utreniranih ispitanika. U sledećoj studiji, cilj je bio ustanoviti akutne efekte iscrpljujućeg vežbanja na promene koncentracije citokina neposredno nakon završene vožnje bicikla i tokom 60 minuta oporavka (Antunes i sar., 2019). Ova grupa istraživača je ustanovila da vrednosti IL-6 rastu i ostaju povišene nezavisno od promena intenziteta opterećenja. U eksperimentalnom dizajnu svog istraživanja, Sim i saradnici (2013) su ograničili vreme eksperimentalnih protokola sesija trčanja i vožnje bicikla na 40 minuta. Ispitanici su najpre učestvovali u pre-eksperimentalnom testiranju kardiorespiratorne forme kroz trčanje na tredmil traci i vožnju bicikla do otkaza. Potom su izveli četiri eksperimentalne protokola sesije, od toga dve na tredmil traci i dve na bicikl ergometru. Vremenski razmak između pre-eksperimentalnih i eksperimentalnih protokola je bio 7 dana. Eksperimentalne sesije bile su postavljene tako da simuliraju različite intenzitete opterećenja, postavljene prema procentima od maksimalne potrošnje kiseonika na 60% i 85%. Uz konstantno praćenje srčane frekvencije i subjektivnog osećaja zamora, istraživači su dokazali da nezavisno od intenziteta i izbora regrutacije velikih mišićnih grupa putem trčanja i vožnje bicikla dolazi do statistički značajnog porasta vrednosti IL-6 neosredno nakon opterećenja. Ovo je u saglasnosti sa našim istraživanjem, gde je

primećeno da je trčanje na brzini anaerobnog praga do voljnog otkaza prouzrokovalo rast koncentracije IL-6 za 2,3 puta neposredno nakon aktivnosti, odnosno za 2,2 puta u periodu akutnog oporavaka (3 i 5-minut) u odnosu na vrednosti u stanju mirovanja.

Da bi proizveo i održao neophodnu mišićnu silu pri visokim i ekstenzivnim aerobnim naporima, pored mišićnih vlakana tipa I, organizam uključuje i mišićna vlakna tipa II. Biopsija mišića je ukazala da je ekspresija IL-6 povećana nakon maratonske trke pre svega u mišićnim vlaknima tipa II (Ostrowski i sar., 1998), moguće zbog činjenice da su mišićna vlakna tipa II osetljivija na promene u koncentraciji glikogena. Primećeno je da se intramuskularna ekspresija IL-6 povećava kada dolazi do snižavanja količine glikogena (Ostrowski i sar., 1998). Prilikom eksperimentalnih protokola gde se kontrolisano obarala koncentracija dostupnog glikogena u mišićima putem iscrpljujućeg fizičkog vežbanja, koncentracija IL-6 u serumu je bila pozitivno povezana sa opadanjem nivoa glikogena (MacDonald i sar., 2003). Druga grupa autora pokazala je da depoi glikogena povećavani tokom fizičkih aktivnosti (putem nutritivnih intervencija) prouzrokuju snižavanje nivoa IL-6 (Nehlsen-Cannarella i sar., 1997). Izgleda da IL-6 svojim kaskadnim delovanjem na biodostupnost AMPK može dovesti do direktnog uticaja na transkripciju i ekspresiju gena neophodnih za metabolizam glikogena i masnih kiselina unutar mišićnih ćelija (Diniz i sar., 2019; Weber, 2011). Kada se biorasploživost AMPK povećava i kad je enzim aktiviran, verovatno dolazi do isključivanja anaboličkih procesa pri kojima se troši ATP a pokreće se katabolizam ATP (MacDonald i sar., 2003). AMPK deluje pre svega kao proteinska kinaza kada je balans održavanja nivoa odnosa AMP/ATP u ćeliji narušen (Yoon i sar., 2019). AMPK deluje ka enegetski senzor *pomerajući* ćelijske bioenergente prema ćelijskoj membrani, omogućavajući da visoko-fosfatni nosači energije budu lakše transportovani u samu ćeliju (npr. Cr, GAA). U literaturi je zabeleženo da je jedan od mogućih mehanizama ekspresije i povećane senzibilnosti kreatinskog transportera (SLC6A8) povećana ekspresija AMPK, koja se aktivira pri remećenju odnosa PCr/Cr (Ponticos i sar., 1998). Tačnije, ako je unutarćelijska koncentracija Cr snižena, dolazi do aktivacije AMPK. Već je ranije u uvodnom delu sugerisano da mogući putevi transport GAA u ćelije mišića, idu preko kreatinskog transportera (SLC6A8), taurinskog transportera (SLC6A6), transportera GABA (SLC6A13) i pasivnom difuzijom (Braissant, 2012; Curt i sar., 2015; Ostojic, 2017). Zanimljivo je i da je tokom eksperimentalnih testiranja unosa GAA kao suplementa za životinje ustanovljeno da GAA pozitivno utiče na povećanje dostupne koncentracije Cr u mišićima (EFSA, 2106). U rezultatima se navodi i da je nivo dostupnog APT povećan kako se doza GAA povećavala, što je prouzrokovalo pad dostupnog AMP u mišićnim ćelijama.

Suplementacija Cr (0,3 g/kg telesne mase) u trajanju od 7 dana dovela je do pozitivnih efekata kada je reč o balansirajućem porastu vrednosti pro-inflamatornih markera (citokina) nakon anaerobnog RAST testa (Deminice i sar., 2013). Vrednosti pro-inflamatornih markera su takođe snižene nakon suplementacije kreatinom (20 g/d) tokom pet dana pre trke na 30 km (Santos i sar., 2004). Bassit i saradnici (2008) su ukazali da vrednosti IL-6 ostaju povišene 24 h nakon završenog triatlona uprkos suplementaciji Cr u trajanju pet dana pre trke do su koncentracije drugih pro-inflamatornih markera ostale snižene, što može ukazati na činjenicu da je dalja pro-inflamatorna reakcija supresirana delovanjem egzogenog kreatina. Ovakva saznanja nam otvaraju mogućnost da preispitamo eventualni uticaj IL-6 na transportne nosače kreatina i utilizaciju GAA i Cr unutar mišićnih ćelija pri visoko intenzivnim aerobnim aktivnostima, i uticaj na druge pro-inflamatorne markere i tok inflamatorne reakcije prouzrokovane vežbanjem pošto je drugi eksperimentalni tretman ukazao na značajne pozitivne korelacije između biomarkera kreatinskog metabolizma i IL-6.

U visoko-energetskim tkivima, poput bubrega, mozga i mišića, neophodna je stalna utilizacija ATP pa je enzim kreatin kinaza (CK) važan medijator u metaboličkim procesima ovih tkiva i organa (Brancaccio i sar., 2007; Wallimann, Tokarska-Schlattner i Schlattner, 2011). CK se nalazi na unutrašnjoj membrani mitohondrije u miofibrilima, citoplazmi mišića i ćelijskoj membrani (Schlattner i sar., 2006). CK se uključuje u procese proizvodnje ATP u stanju mirovanja kao katalizator pri reakciji PCr sa ADP u procesu sinteze i resinteze ATP; ali i kao prenosilac energije fosfata iz mesta proizvodnje u mitohondrijama u citoplazmu mišićnih ćelija, gde se koristi za vreme mišićnih kontrakcija. U sistemu sinteze i resinteze ATP uz pomoć CK, GAA može zameniti Cr kao transportni nosač visokoenergetske fosfatne grupe u izuzetnim okolnostima (Kan i sar., 2004). Ovakvi slučajevi su zabeleženi kod ljudi i životinja sa poremećajima u metabolizmu sinteze kreatina. Sa druge strane, moguć inhibicioni mehanizam delovanja GAA na rad CK, njenih izoenzima i enzime $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase potvrđen je u nizu eksperimenata gde su izolovane ćelije i ćelijske membrane moždane mase pacova bile izložene velikoj količini GAA u rastvoru za vremenski period do 3 sata (Zugno i sar., 2006, 2007). Tada je zabeleženo da GAA inhibira rad CK nakon 30 minuta a nivo CK opada za 30%. Matematičko-kompjuterska simulacija koju su sproveli Vranes i saradnici (neobjavljena studija), ilustruje stepen vezivanja GAA i Cr sa CK. Oni ukazuju da se GAA može snažnije vezati za CK nego što je to ranije u literaturi opisano, a to može ukazati na veću utilizaciju CK od strane GAA prilikom aktivnosti fosforilacije u ćeliji. U zavisnosti od tipa fizičke aktivnosti, CK modeluje i adaptira svoju ulogu u ćelijskoj bioenergetici. Kada je aerobna fizička aktivnost dominantna, citosolna CK poprima transportnu ulogu nosača visoko

fosfatne energije, poput specifične srčane mitohondrijalne CK (Wyss i Kaddurah-Daouk, 2000). Naši rezultati ukazuju na povezanost promena GAA, Cr i Crn u serumu sa promenama nivoa CK. Relativno niska korelacija sa negativnim predznakom između GAA i CK može ukazati na mogućnost da u slučaju kada su povišene vrednosti GAA u krvi, GAA može zaštitno delovati na moguće mehanizme direktne eliminacije CK iz mišićnih ćelija tokom iscrpljujućih fizičkih aktivnosti tako što će inhibitorno delovati na sam rad ćelijskih membrana, nosača i sprečiti otpuštanje CK u međućelijski prostor i krvotok. Drugi mogući mehanizam može biti utilizacija GAA od strane CK u mišićnim ćelijama i njnim membranama.

Između promena koncentracije Cr i CK u serumu uočena je pozitivna korelacija. Moguć mehanizam možemo potražiti u kaskadnom delovanju Cr na AMPK i delovanjem AMPK na CK. U istraživanjima je naznačeno da tokom visoko intenzivnih fizičkih aktivnosti kada je AMPK u svom aktivnom stanju, ovaj enzim može direktno ili indirektno kontrolisti enzimsku aktivnosti CK (Baird i sar., 2012; Ponticos i sar., 1998). Posledica ovakve kontrolne uloge AMPK, ukazuju na mogući mehanizam direktne eliminacije CK iz mišićnih ćelija i povećanje koncentracije u krvi (Ponticos i sar., 1998). Kim i saradnici (2015) sugerišu da oralna suplementacija Cr može smanjiti koncentraciju CK u krvi nakon anernih i aerobnih fizičkih aktivnosti; ne treba izostaviti i mogući uticaj pH i koncentracije laktata na ovaj mehanizam ekskrecije CK.

Koncentracija CK u krvi svoje maksimalne vrednosti dostiže od 24 sata do 4 dana nakon fizičke aktivnosti. Vrednosti u mirovanju kao i raspon očekivanih koncentracija CK kod sportista su znatno drugačije u odnosu na ostalu populaciju (Mougios, 2007). Povišene vrednosti u mirovanju su posledica činjenice da su sportisti svakodnevno izloženi akutnim efektima planiranog i programiranog fizičkog vežbanja (Mougios, 2007). U literature se navodi da vrednosti između 300 i 500 IU/L predstavljaju tačku otpuštanja CK u krvotok nakon fizičkog vežbanja (Brancaccio i sar., 2007; Totsuka i sar., 2002). Vrednosti CK dobijene tokom našeg eksperimentalnog tretmana u skladu su sa očekivanim vrednostima za akutni period nakon fizičke aktivnosti (maksimalne vrednosti $342,3 \pm 251,6$ IU/l / treći minut oporavka $356,9 \pm 258,5$ IU/l / peti minut oporavka $359,2 \pm 260,0$ IU/l). Akutne vrednosti neposredno posle i nekoliko sati posle fizičke aktivnosti variraju u zavisnosti od nekoliko najčešće pominjanih faktora kao što su intenzitet, trajanje i tip vežbanja. U pominjanom istraživanju (Ostrowski i sar., 1998) pokazano je da nakon 2,5 h trčanja (75% od maksimalne potrošnje kiseonika) dolazi do statistički značajnih povećanja nivoa CK odmah nakon aktivnosti i tokom oporavka. Rezultati su pokazali i da nakon maratonske trke u trajanju od 2

h vrednosti CK ostaju značajno iznad vrednosti u mirovanju (Pre trke 225 IU / Neposredno posle trke 2360 IU / 2 h nakon završetka trke 1193 IU) (Ostrowski i sar., 1998). Dominantno ekscentrični režim mišićne kontrakcije (40-min trčanje nizbrdo pri intenzitetu od 60% maksimalne potrošnje kiseonika) dovodi do porasta vrednosti CK za 40% neposredno nakon aktivnosti, a nakon 1 h od aktivnosti i za čitavih 56% (Peake i sar., 2005).

Kortizol se ponaša kao glavni hormonski modulator utilizacije aminokiselina od strane tkiva koja imaju visoko-energetske zahteve (Christiansen i sar., 2007). Fizičko vežbanje prouzrokuje porast nivoa kortizola koji može da inhibira prihvatanje GAA i Cr (derivati aminokiselina) u skeletne mišiće, omogućavajući veću dostupnost ovih jedinjenja u cirkulaciji. U našoj studiji, pokazana je značajna pozitivne korelacija između markera metabolizma kreatina i nivoa kortizola. Al Fazazi sa svojim saradnicima (2018) nije pokazao povezanost između markera kreatinskog metabolizma (GAA, Cr, Crn) i kortizola. Ipak treba uzeti u obzir razlike u modalitetu opterećenja i vremenu trajanja protokola između istraživanja. Sa druge strane, Cr možda reguliše dinamiku kortizola tokom visoko intenzivnih treninga (Dobgenski i sar., 2014), sugerišući na prilično kompleksan metabolički odnos između dve varijable. Dodatna istraživanja su potrebna da se proceni mogući efekat cirkulišućeg kortizola na ekspresiju i aktivnost SLC6A8, zajedno sa potencijalnim uticajem GAA i Cr na holesterolsku sintezu kortizola u zoni fascikulati adrenalnog korteksa.

U organizmu utreniranih osoba metabolizam laktata (Lac) je efikasnije regulisan metaboličkim procesima, pa su time sportisti sposobniji da bolje podnesu intenzivnije fizičke aktivnosti za duži vremenski period (Bessa i sar., 2016). Koncentracija Lac može biti koristan biohemijski marker iz krvi za procenu anaerobnog kapaciteta, određivanje anaerobnog praga i praćenje intenziteta vežbanja (Bessa i sar., 2016; Hoffman, 2006). Pri normalnim uslovima (stanju mirovanja), nivoa laktata u krvi i mišićima je relativno nizak, u rasponu od 0,5 do 2,2 mmol/L odnosno 0,5-2,2 mmol po kilogramu mišića (Herda i Cramer, 2016). Vrednosti dobijene u drugom eksperimentu naše studije ne izlaze iz ovih okvira ($1,9 \pm 0,8$ mmol/L). Vrednosti oko i preko 4 mmol/L ukazuju na početak nagle akumulacije laktata u krvi i pojave zamora (Herda i Cramer, 2016), momenat poznat kao laktatni ili anaerobni prag. Anaerobni prag se obično nalazi na 50 do 60% maksimalne potrošnje kiseonika kod netreniranih osoba, a na 70 do 80% kod treniranih osoba (Herda i Cramer, 2016). Naši ispitanici su pokazali vrednosti relativno visokog anaerobnog praga ($82,1 \pm 6,9\%$) prilikom pre-eksperimentalnog testiranja. Već nakon prvog intervala u eksperimentalnoj sesiji došlo je do naglog porasta vrednosti za 4,5 puta u odnosu na vrednosti u mirovanju ($8,7 \pm 4,1$ mmol/L). Dalji linearan porast vrednosti laktata je zabeležen za svaki sledeći interval kako

je eksperimentalna sesija odmicala. Najviše vrednosti su dostignute neposredno posle same eksperimentalne sesije u prvoj minuti ($15,3 \pm 7,6$ mmol/L), a zatim je uočljiv pad u trećem minutu oporavka ($12,2 \pm 3,7$ mmol/L) i petom minutu oporavka ($12,0 \pm 4,2$ mmol/L). Ovakvi rezultati ukazuju da je ukupan intenzitet protokol sesije u drugom eksperimentu bio izuzetno iscrpljujući za sve sisteme proizvodnje ćelijske energije. Pažnju i fokus mnogih istraživača je privukla činjenica da vrednosti Cr prate trend porasta vrednosti Lac a uočen je i eventualni uticaj suplementacije kreatinom na koncentraciju Lac. Iz našeg istraživanja jasno se može videti pozitivna korelacija koncentracija Lac i Cr u serumu tokom testiranja. To je u skladu sa ranijim istraživanjima, gde je prilikom testa opterećenja na biciklu (20 minuta na 40-80% intenziteta) utvrđeno da dolazi do usaglašanih promena u koncentraciji laktata, glikogena, PCr, slobodnog AMP, ADP, odnosa AMP/ATP-a i Cr (Chen i sar., 2003). Srednji intenzitet je prouzrokovao pad koncentracije glikogena i PCr, a doveo je do povećanja koncentracije slobodnog AMP i ADP, odnosa AMP/ATP-a, Cr i Lac u odnosu na inicijalne vrednosti. Tokom visoko intenzivnog dela protokola došlo je do daljeg pada nivoa glikogena i PCr uz povećanje koncentracije slobodnog AMP i ADP, odnosa AMP/ATP-a i Cr. Dinamika promena koncentracije Lac nije se razlikovala kada je reč o srednjem i visokom intenzitetu vežbanja. I ako se autori nisu bavili korelacijom promena Lac i Cr u serumu, iz ovih rezultata možemo zapaziti da promena koncentracije Cr u serumu prati trend promena nivoa Lac. Činjenica je i da suplementacija kreatinom može imati donekle pozitivan efekat na oštećenje mišića izazvanih fizičkim vežbanjem (McKinnon, Graham, i Tiidus, 2012)

Stepen zamora koji osoba oseća dok vežba blisko je povezana sa neuro-kardio-respiratornim i metaboličkim parametrima (Jakobsen i sar., 2014; Steed i sar., 1994). Upravo se zato Borgova skala možesmatrati pouzdanim i validnim indikatorom za određivanje stepena zamora, i za određivanje nivoa intenziteta vežbanja (Williams, 2017). Vrednosti maksimalnog napora na Borg-Rpe skali za naše ispitanike bile su visoke ($18,5 \pm 2,7$), pri čemu je od 11 ispitanika njih 10 (95%) ostvarilo ocena preko 17, što se smatra izuzetno iscrpljujućim naporom ostvarenim tokom fizičke aktivnosti. Mogući mehanizam povezanosti markera kreatinskog metabolizma (Cr, GAA, Crn) i subjektivnog osećaja zamora izmerenog pomoću Borgove skale treba razmotriti kroz činjenicu da se GAA i Cr vezuju za CT1 i njemu srodne neuromodelirajuće receptore/transprtere (Curt i sar., 2015; Wyss i Kaddurah-Daouk, 2000) što može imati posledični efekat na neurološke procese. CT1 ima 46-53% sličnosti sa GABA i taurinskim transporterima, dok ima nešto manju sličnost (38-44%) sa drugim transporterima aminokiselina i blsikih molekula (glicin, prolin, kateholamini, serotonin) (Wyss i Kaddurah-Daouk, 2000). S tim u vezi, Ostojic i Stojanović (2015) su pokazali da već

nakon tri nedelje oralne suplementacije sa GAA (3 grama na dan) dolazi do pada vrednosti GABA u krvnoj plazmi (za 46%). To ukazuje na mogućnost da se GAA vezuje za GABA transmitter a moguće inhibiranje GABA receptora od strane GAA može prouzrokovati modulaciju neurotransmisije sa aferentnih neurona na eferentne neurone prilikom mišićnih kontrakcija što se može reflektovati i na izmenjen osećaj zamora tokom vežbanja.

6. ZAKLJUČAK

Uzimajući u obzir sve predhodno navedeno u ovom radu vezanom za biomarkere perifernog zamora i ćelijske bioenergetike dolazi se do više zaključka:

- U prvom eksperimentalnom tretmanu dve protokol sesije (aerobna/anaerobna) objedinjeno utiču da markeri ćelijske bioenergetike GAA, Cr i Crn kod mladih muškaraca i žena, statistički značajno menjaju svoje koncentracije, pre i nakon završenih sesija.
- Nakon pojedinačne epizode aerobnog / anaerobnog vežbanja maksimalnim intenzitetom nivo cirkulatornih vrednosti GAA statistički značajno opadaju u obe protokol sesije na celokupnom uzorku (20,3% / 11,2%) i prema polovima (muškarci: 22,0% / 11,0%; žene: 17,2% / 8,0%). Prema tome treba razmotriti primenu GAA kao mogućeg standardnog markera u okvirima baterija testova za procenu nivoa opterećenja pri kratkim i visoko intenzivnim fizičkim aktivnostima ne zavisno od njihovog tipa (aerobnog/anaerobnog). Uz dalje istraživanja fizioloških procesa u kojima dolazi do mogućeg maksimalnog iscrpljivanja GAA kao dostupnog bioenergenta.
- Nakon aerobne sesije iscrpljujućeg trčanja uočena su statistički značajna povećanja u koncentraciji Cr na celokupnom uzorku za 14% i kod ispitanika muškog pola za 17,6%. Kod anaerobne sesije snažne izdržljivosti, statistički značajno povećanje koncentracije Cr je zabeleženo samo kod ispitanika muškog pola (10%). Što delimično govori da se Cr može koristiti kako marker za procenu opterećenja zamora pri kratkim i visoko intenzivnim aerobnim aktivnostima.
- Obe protokol-sesije (aerobna/anaerobna) su statistički značajno uticale na povećanje koncentracije Crn na celokupnom uzorku, (36%/6,4%); kod muškaraca je zabeležen rast za 40% odnosno 9,6%; za ispitanike ženskog pola statistički značajno procentualno povećanje od 33% je zapaženo pri aerobnoj sesiji dok kod anaerobne nisu zabeležene statističke značajnosti. Navedene vrednosti ukazuju da prilikom maksimalnih napora dolazi do rapidnog trošenja GAA u procesu sinteze Cr, a zatim i do spontanog prelaska Cr u Crn. Time ovaj marker ćelijske bioenergetike može biti pogodan za primenu u različitim metaboličkim sistemima tokom fizičkih aktivnosti kratkog i maksimalnog intenziteta.
- U drugom eksperimentalnom tretmanu utvrđene su statistički značajne promene vežbanjem-indukovanih vrednosti GAA, Cr, Crn za vreme pre, tokom i nakon pojedinačne ekstenzivne epizode aerobnog vežbanja. Tako koncentracija ovih markera kreatinskog metabolizma rastu tokom perioda testiranja, neposredno nakon testa

(maksimalne vrednosti) i u periodu oporavka, a u odnosu na vrednosti stanja mirovanja. Tu se može uočiti razlika između koncentracije vrednosti GAA nakon prve eksperimentalne sesije gde su vrednosti opadale, time ukazujući na dvostepenu reaktivnost GAA kao markera pri ekstenzivnim i iscrpljujućim fizičkim aktivnostima. Primećuje se pad vrednosti GAA u periodu prvih 300-420 sekundi, što odgovara vremenskom trajanju eksperimentalnih sesija prvog eksperimentalnog tretmana.

- Mogućnost generalizacije rezultata ovog istraživanja je delimično ograničena zbog broja ispitanika uključenih u istraživanje; neophodna su dalja istraživanja u vezi sa potencijalnim polnim razlikama koje se tiču promena aktivnosti ćeliske bioenergetike tokom vežbanja.

7. LITERATURA

Abernethy, B. (2012). Biofiziološke Osnove Ljudskog Pokreta. Beograd: Data Status.

Al Fazazi, S., Stajer, V., Drid, P., Maksimovic, N., Milosevic, Z., i Ostojic, S. M. (2019). 24-hour dynamics for serum biomarkers of creatine metabolism after an acute session of exhaustive resistance exercise in active men. *Science & Sports*, 34(3), 181-185.

Alsever, R. N., Georg, R. H., i Sussman, K. E. (1970). Stimulation of insulin secretion by guanidinoacetic acid and other guanidine derivatives. *Endocrinology*, 86(2), 332–336.

Antunes, B. M., Campos, E. Z., dos Santos, R. V. T., Rosa-Neto, J. C., Franchini, E., Bishop, N. C., i Lira, F. S. (2019). Anti-inflammatory response to acute exercise is related with intensity and physical fitness. *Journal of Cellular Biochemistry*, 120(4), 5333–5342.

Baird, M. F., Graham, S. M., Baker, J. S., i Bickerstaff, G. F. (2012). Creatine-Kinase- and Exercise-Related Muscle Damage Implications for Muscle Performance and Recovery. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2012, 1–13.

Banfi, G., Del Fabbro, M., i Lippi, G. (2009). Serum creatinine concentration and creatinine-based estimation of glomerular filtration rate in athletes. *Sports Medicine*, 39(4), 331-337.

Bassit, R. A., Curi, R., i Rosa, L. C. (2008). Creatine supplementation reduces plasma levels of pro-inflammatory cytokines and PGE 2 after a half-ironman competition. *Amino acids*, 35(2), 425-431.

Battini, R., Alessandrì, M. G., Leuzzi, V., Moro, F., Tosetti, M., Bianchi, M. C., i Cioni, G. (2006). Arginine: glycine amidinotransferase (AGAT) deficiency in a newborn: early treatment can prevent phenotypic expression of the disease. *The Journal of pediatrics*, 148(6), 828-830.

Bellinghieri, G., Savica, V., i Santoro, D. (2008). Renal alterations during exercise. *Journal of Renal Nutrition*, 18(1), 158-164.

Bessa, A. L., Oliveira, V. N., Agostini, G. G., Oliveira, R. J., Oliveira, A. C., White, G. E., ... i Espindola, F. S. (2016). Exercise intensity and recovery: biomarkers of injury, inflammation, and oxidative stress. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 30(2),

311-319.

Braissant, O. (2012). Creatine and guanidinoacetate transport at blood-brain and blood-cerebrospinal fluid barriers. *Journal of inherited metabolic disease*, 35(4), 655-664.

Brancaccio, P., Maffulli, N., i Limongelli, F. M. (2007). Creatine kinase monitoring in sport medicine. *British medical bulletin*, 81(1), 209-230.

Chen, Z. P., Stephens, T. J., Murthy, S., Canny, B. J., Hargreaves, M., Witters, L. A., ... i McConell, G. K. (2003). Effect of exercise intensity on skeletal muscle AMPK signaling in humans. *Diabetes*, 52(9), 2205-2212.

Christiansen, J. J., Djurhuus, C. B., Gravholt, C. H., Iversen, P., Christiansen, J. S., Schmitz, O., ... i Møller, N. (2007). Effects of cortisol on carbohydrate, lipid, and protein metabolism: studies of acute cortisol withdrawal in adrenocortical failure. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 92(9), 3553-3559.

Clarke, R. (1998). Homocysteine and cardiovascular disease. Overview. *Journal of cardiovascular risk*, 5(4).

Cramer, J. T. (2008). Bioenergetics of Exercise and Training. U T. R. Baechle, i R. W. Earle (urednici), Essentials of strength training and conditioning 3rd edition (str. 21-40). Champaign, IL: Human Kinetics: National Strength and Conditioning Association.

Curt, M. J. C., Cheillan, D., Briand, G., Salomons, G. S., Mention-Mulliez, K., Dobbelaere, D., ... i Valayannopoulos, V. (2013). Creatine and guanidinoacetate reference values in a French population. *Molecular genetics and metabolism*, 110(3), 263-267.

Curt, M. J. C., Voicu, P. M., Fontaine, M., Dessein, A. F., Porchet, N., Mention-Mulliez, K., ... i Vamecq, J. (2015). Creatine biosynthesis and transport in health and disease. *Biochimie*, 119, 146-165.

De Deyn, P. P., D'hooge, R., Van Bogaert, P. P., i Marescau, B. (2001). Endogenous guanidino compounds as uremic neurotoxins. *Kidney International*, 59, S77-S83.

Deminice, R., Rosa, F. T., Franco, G. S., Jordao, A. A., i de Freitas, E. C. (2013). Effects of creatine supplementation on oxidative stress and inflammatory markers after repeated-sprint exercise in humans. *Nutrition*, 29(9), 1127-1132.

Derave, W., Marescau, B., Eede, E. V., Eijnde, B. O., De Deyn, P. P., i Hespel, P. (2004). Plasma guanidino compounds are altered by oral creatine supplementation in healthy humans. *Journal of Applied Physiology*, 97(3), 852-857.

Diniz, T. A., Júnior, J. C. J. A., Mosele, F. C., Cabral-Santos, C., de Lima Junior, E. A., de Souza Teixeira, A. A., ... i Neto, J. C. R. (2019). Exercise-induced AMPK activation and IL-6 muscle production are disturbed in adiponectin knockout mice. *Cytokine*, 119, 71-80.

Dobganski, V., Santos, M., Campbell, B., i Kreider, R. (2014). Short-term creatine supplementation suppresses the cortisol response to a high-intensity swim-sprint workout. *J. Nutr. Health Sci*, 1(204), 8-10.

Drenth, J. P., Van Uum, S. H., Van Deuren, M., Pesman, G. J., Van der Ven-Jongekrijg, J., i Van der Meer, J. W. (1995). Endurance run increases circulating IL-6 and IL-1ra but downregulates ex vivo TNF-alpha and IL-1 beta production. *Journal of Applied Physiology*, 79(5), 1497–1503.

Drenth, J. P., Van Uum, S. H., Van Deuren, M., Pesman, G. J., Van der Ven-Jongekrijg, J., i Van der Meer, J. W. (1995). Endurance run increases circulating IL-6 and IL-1ra but downregulates ex vivo TNF-alpha and IL-1 beta production. *Journal of Applied Physiology*, 79(5), 1497–1503.

Edison, E. E., Brosnan, M. E., Meyer, C., i Brosnan, J. T. (2007). Creatine synthesis: production of guanidinoacetate by the rat and human kidney in vivo. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 293(6), F1799-F1804.

EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP). (2016). Safety and efficacy of guanidinoacetic acid for chickens for fattening, breeder hens and roosters, and pigs. *EFSA Journal*, 14(2), 4394.

Ensenauer, R., Thiel, T., Schwab, K. O., Tacke, U., Stöckler-Ipsiroglu, S., Schulze, A., ... i Lehnert, W. (2004). Guanidinoacetate methyltransferase deficiency: differences of creatine uptake in human brain and muscle. *Molecular genetics and metabolism*, 82(3), 208-213.

Febbraio, M. A., i Pedersen, B. K. (2002). Muscle-derived interleukin-6: mechanisms for activation and possible biological roles. *The FASEB journal*, 16(11), 1335-1347.

- Febbraio, M. A., i Pedersen, B. K. (2005). Contraction-induced myokine production and release: is skeletal muscle an endocrine organ?. *Exercise and sport sciences reviews*, 33(3), 114-119.
- Greenhaff, P. L., Nevill, M. E., Soderlund, K., Bodin, K., Boobis, L. H., Williams, C., i Hultman, E. (1994). The metabolic responses of human type I and II muscle fibres during maximal treadmill sprinting. *The Journal of physiology*, 478(1), 149-155.
- Grujic, N. (2004). Fiziologija sporta. Novi Sad: Futura.
- Guyton, A. C. (1996). Medicinska Fiziologija. Beograd: Savremena administracija d.d.
- Hannibal, L., i Blom, H. J. (2017). Homocysteine and disease: Causal associations or epiphenomenons? *Molecular Aspects of Medicine*, 53, 36–42.
- Hardie, D. G. (2004). AMP-Activated Protein Kinase: A Key System Mediating Metabolic Responses to Exercise. In *Medicine and Science in Sports and Exercise* (Vol. 36, str. 28–34). Lippincott Williams and Wilkins.
- Herda, J. T., i Cramer, T. J. (2016). Bioenergetics of Exercise and Training. U G. G. Haff i N. T. Triplett (urednici), *Essentials of strength training and conditioning* 4th edition (str. 43–63). Champaign, IL: Human Kinetics: National Strength and Conditioning Association.
- Hoffman, J. (2006). *Norms for fitness, performance, and health*. Human Kinetics.
- Hoffman, J. R., i Stout, J. R. (2008). Performance Enhancing Substances. U T. R. Baechle, i R. W. Earle (urednici), *Essentials of strength training and conditioning* 3rd edition (str. 179-200). Champaign, IL: Human Kinetics: National Strength and Conditioning Association.
- Huh, J. Y. (2018). The role of exercise-induced myokines in regulating metabolism. *Archives of pharmacal research*, 41(1), 14-29.
- Jakobsen, M. D., Sundstrup, E., Persson, R., Andersen, C. H., i Andersen, L. L. (2014). Is Borg's perceived exertion scale a useful indicator of muscular and cardiovascular load in blue-collar workers with lifting tasks? A cross-sectional workplace study. *European journal of applied physiology*, 114(2), 425-434.
- Kan, H. E., Jan Renema, W. K., Isbrandt, D., i Heerschap, A. (2004). Phosphorylated

guanidinoacetate partly compensates for the lack of phosphocreatine in skeletal muscle of mice lacking guanidinoacetate methyltransferase. *The Journal of physiology*, 560(1), 219-229.

Kibble, J. D., & Helsey, C. R. (2013). *Medicinska fiziologija : klinički kontekst*. Beograd: Data Status.

Kim, J., Lee, J., Kim, S., Yoon, D., Kim, J., i Sung, D. J. (2015). Role of creatine supplementation in exercise-induced muscle damage: A mini review. *Journal of exercise rehabilitation*, 11(5), 244.

Kim, J., Lee, J., Kim, S., Ryu, H. Y., Cha, K. S., & Sung, D. J. (2016). Exercise-induced rhabdomyolysis mechanisms and prevention: A literature review. *Journal of Sport and Health Science*, 5(3), 324-333.

Kmet, M. (2017). *Povezanost stresa i aktivacije koagulacijskog sustava*. Zagreb: Farmaceutsko-Biokemijski Fakultet-Sveučilište u Zagrebu.

Koch, A. J., Pereira, R., i Machado, M. (2014). The creatine kinase response to resistance exercise. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 14(1), 68-77.

Kovacevic, Z. L. (2006). *Biohemija i molekularna biologija*. Novi Sad: Medicinski fakultet iz Novog Sada.

Kraemer, W. J., Vingren, J. L., i Spiering, B. A. (2008). Endocrine Responses to Resistance Exercise. U T. R. Baechle, i R. W. Earle, (urednici), *Essentials of strength training and conditioning 3rd edition* (str. 41-64). Champaign, IL: Human Kinetics: National Strength and Conditioning Association.

Kraemer, W. J., i Ratamess, N. A. (2005). Hormonal Responses and Adaptations to Resistance Exercise and Training. *Sports Med*, 35(4), 339–361.

MacDonald, C., Wojtaszewski, J. F., Pedersen, B. K., Kiens, B., i Richter, E. A. (2003). Interleukin-6 release from human skeletal muscle during exercise: relation to AMPK activity. *Journal of Applied Physiology*, 95(6), 2273-2277.

McLellan, C. P., Lovell, D. I., i Gass, G. C. (2010). Creatine kinase and endocrine responses of elite players pre, during, and post rugby league match play. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 24(11), 2908-2919.

McKinnon, N. B., Graham, M. T., i Tiidus, P. M. (2012). Effect of creatine supplementation on muscle damage and repair following eccentrically-induced damage to the elbow flexor muscles. *Journal of sports science & medicine*, 11(4), 653-659.

Metabocard for Guanidoacetic acid HMDB0000128. (2018). Preuzeto sa Human Metabolome Database HMDB 4.0: <http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB00128>

Mougios, V. (2007). Reference intervals for serum creatine kinase in athletes. *British journal of sports medicine*, 41(10), 674-678.

Mooren, F., i Klaus, V. (2005). Molecular and cellular exercise physiology. Champaign, IL: Human Kinetics.

Morris Jr, S. M. (2016). Arginine metabolism revisited. *The Journal of nutrition*, 146(12), 2579S-2586S.

Nehlsen-Cannarella, S. L., Fagoaga, O. R., Nieman, D. C., Henson, D. A., Butterworth, D. E., Schmitt, R. L., ... i Davis, J. M. (1997). Carbohydrate and the cytokine response to 2.5 h of running. *Journal of Applied Physiology*, 82(5), 1662-1667.

Neumann, D., Schlattner, U., i Wallimann, T. (2003). A molecular approach to the concerted action of kinases involved in energy homeostasis. *Biochemical Society Transactions*, 31, 169-174.

Ostojic, S. M. (2007). Osnovi fiziologije sporta : odabrana poglavlja. Novi Sad: TIMS Fakultet za sport i turizam.

Ostojic, S. M. (2016a). A new perspective to improve brain bioenergetics in disorders with functional GAMT and CT1. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 84, 1833.

Ostojic, S. M. (2016b). Exercise-induced mitochondrial dysfunction: a myth or reality?. *Clinical Science*, 130(16), 1407-1416.

Ostojic, S. M. (2016c). Guanidinoacetic acid as a performance-enhancing agent. *Amino acids*, 48(8), 1867-1875.

Ostojic, S. M. (2017). Tackling guanidinoacetic acid for advanced cellular bioenergetics. *Nutrition*, 34, 55-57.

Ostojic, S. M., Drid, P., i Ostojic, J. (2016). Guanidinoacetic acid increases skeletal muscle creatine stores in healthy men. *Nutrition*, 32(6), 723–724.

Ostojic, S. M., Ostojic, J., Drid, P., Vranes, M., i Jovanov, P. (2017). Dietary guanidinoacetic acid increases brain creatine levels in healthy men. *Nutrition*, 33, 149-156.

Ostojic, S. M., i 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., Stojanovic, M. D., i Hoffman, J. R. (2015). Six-week oral guanidinoacetic acid administration improves muscular performance in healthy volunteers. *Journal of Investigative Medicine*, 63(8), 942–946.

Ostojic, S. M., Stojanovic, M., Drid, P., Hoffman, J. R., Sekulic, D., i Zenic, N. (2016). Supplementation with guanidinoacetic acid in women with chronic fatigue syndrome. *Nutrients*, 8(2), 1–9.

Ostojic, S. M., i Vojvodic-Ostojic, A. (2015). Single-dose oral guanidinoacetic acid exhibits dose-dependent pharmacokinetics in healthy volunteers. *Nutrition research*, 35(3), 198-205.

Ostrowski, K., Hermann, C., Bangash, A., Schjerling, P., Nielsen, J. N., i Pedersen, B. K. (1998). A trauma-like elevation of plasma cytokines in humans in response to treadmill running. *The Journal of physiology*, 513(3), 889-894.

Ostrowski, K., Rohde, T., Zacho, M., Asp, S., i Pedersen, B. K. (1998). Evidence that interleukin-6 is produced in human skeletal muscle during prolonged running. *The Journal of physiology*, 508(3), 949-953.

Ostrowski, K., Schjerling, P., i Pedersen, B. K. (2000). Physical activity and plasma interleukin-6 in humans—effect of intensity of exercise. *European journal of applied physiology*, 83(6), 512-515.

Peake, J. M., Suzuki, K., Wilson, G., Hordern, M., Nosaka, K., Mackinnon, L., i Coombes, J. S. (2005). Exercise-induced muscle damage, plasma cytokines, and markers of neutrophil activation. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 37(5), 737-745.

Pedersen, B. K. (2012). Muscular interleukin-6 and its role as an energy sensor. *Medicine and science in sports and exercise*, 44(3), 392-396.

Pedersen, B. K., Steensberg, A., Fischer, C., Keller, C., Keller, P., Plomgaard, P., ... i Saltin, B. (2003). Searching for the exercise factor: is IL-6 a candidate?. *Journal of Muscle Research & Cell Motility*, 24(2-3), 113-119.

Ponticos, M., Lu, Q. L., Morgan, J. E., Hardie, D. G., Partridge, T. A., i Carling, D. (1998). Dual regulation of the AMP-activated protein kinase provides a novel mechanism for the control of creatine kinase in skeletal muscle. *The EMBO Journal*, 17(6), 1688–1699.

Poortmans, J. R., i Vanderstraeten, J. (1994). Kidney function during exercise in healthy and diseased humans. *Sports Medicine*, 18(6), 419-437.

Santos, R. V. T., Bassit, R. A., Caperuto, E. C., i Rosa, L. C. (2004). The effect of creatine supplementation upon inflammatory and muscle soreness markers after a 30km race. *Life sciences*, 75(16), 1917-1924.

Schlattner, U., Tokarska-Schlattner, M., i Wallimann, T. (2006). Mitochondrial creatine kinase in human health and disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1762(2), 164-180.

Schulze, A., Mayatepek, E., Bachert, P., Marescau, B., De Deyn, P. P., i Rating, D. (1998). Therapeutic trial of arginine restriction in creatine deficiency syndrome. *European journal of pediatrics*, 157(7), 606-607.

Schulze, A., Ebinger, F., Rating, D., i Mayatepek, E. (2001). Improving treatment of guanidinoacetate methyltransferase deficiency: reduction of guanidinoacetic acid in body fluids by arginine restriction and ornithine supplementation. *Molecular genetics and metabolism*, 74(4), 413-419.

Schulze, A. (2003). Creatine deficiency syndromes. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 244, 143–150.

Schulze, A. (2013). Creatine deficiency syndromes. In *Handbook of clinical neurology* (Vol. 113, pp. 1837-1843). Elsevier.

Semeredi, S., Stajer, V., Ostojic, J., Vranes, M., i 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.

Sharer, J. D., Bodamer, O., Longo, N., Tortorelli, S., Wamelink, M. M., i Young, S. (2017). Laboratory diagnosis of creatine deficiency syndromes: a technical standard and guideline of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genetics in Medicine*, 19(2), 256-263.

Sim, M., Dawson, B., Landers, G., Swinkels, D. W., Tjalsma, H., Trinder, D., i Peeling, P. (2013). Effect of exercise modality and intensity on postexercise interleukin-6 and hepcidin levels. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 23(2), 178–186.

Snow, R. J., i Murphy, R. M. (2001). Creatine and the creatine transporter: A review. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 224 (1–2), 169–181.

Sotgia, S., Carru, C., Caria, M. A., Tadolini, B., Deiana, L., i Zinellu, A. (2007). Acute variations in homocysteine levels are related to creatine changes induced by physical activity. *Clinical Nutrition*, 26(4), 444–449.

Stead, L. M., Au, K. P., Jacobs, R. L., Brosnan, M. E., i Brosnan, J. T. (2001). Methylation demand and homocysteine metabolism: effects of dietary provision of creatine and guanidinoacetate. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, 281(5), E1095-E1100.

Steed, J., Gaesser, G. A., i Weltman, A. (1994). Rating of perceived exertion and blood lactate concentration during submaximal running. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 26, 797-803.

Stöckler, S., Hanefeld, F., i Frahm, J. (1996). Creatine replacement therapy in guanidinoacetate methyltransferase deficiency, a novel inborn error of metabolism. *The Lancet*, 348(9030), 789-790.

- Totsuka, M., Nakaji, S., Suzuki, K., Sugawara, K., i Sato, K. (2002). Break point of serum creatine kinase release after endurance exercise. *Journal of Applied Physiology*, 93(4), 1280-1286.
- Tsubakihara, Y., Hayashi, T., i Shoji, T. (2012). Guanidinoacetic acid (GAA) in patients with chronic kidney disease (CKD) and diabetes mellitus (DM). *Kidney Research and Clinical Practice*, 31(2), A81.
- Verbruggen, K. T., Sijens, P. E., Schulze, A., Lunsing, R. J., Jakobs, C., Salomons, G. S., i van Spronsen, F. J. (2007). Successful treatment of a guanidinoacetate methyltransferase deficient patient: findings with relevance to treatment strategy and pathophysiology. *Molecular genetics and metabolism*, 91(3), 294-296.
- Verhelst, J., Berwaerts, J., Marescau, B., Abs, R., Neels, H., Mahler, C., i De Deyn, P. P. (1997). Serum creatine, creatinine, and other guanidino compounds in patients with thyroid dysfunction. *Metabolism*, 46(9), 1063-1067.
- Vranes, M., Ostojic, S., Tot, A., Papovic, S., i Gadzuric, S. (2017). Experimental and computational study of guanidinoacetic acid self-aggregation in aqueous solution. *Food chemistry*, 237, 53-57.
- Wallimann, T., Tokarska-Schlattner, M., i Schlattner, U. (2011). The creatine kinase system and pleiotropic effects of creatine. *Amino Acids*, 40(5), 1271-1296.
- Weber, J. M. (2011). Metabolic fuels: regulating fluxes to select mix. *Journal of Experimental Biology*, 214(2), 286-294.
- Williams, N. (2017). The Borg rating of perceived exertion (RPE) scale. *Occupational Medicine*, 67(5), 404-405.
- Wyss, M., i Kaddurah-Daouk, R. (2000). Creatine and Creatinine Metabolism. *Physiological Reviews*, 80(3), 1107-1213.
- Yoon, K. J., Zhang, D., Kim, S. J., Lee, M. C., i Moon, H. Y. (2019). Exercise-induced AMPK activation is involved in delay of skeletal muscle senescence. *Biochemical and biophysical research communications*, 512(3), 604-610.

Zugno, A. I., Scherer, E. B. S., Schuck, P. F., Oliveira, D. L., Wofchuk, S., Wannmacher, C. M. D., ... Wyse, A. T. S. (2006). Intrastriatal administration of guanidinoacetate inhibits Na⁺, K⁺-ATPase and creatine kinase activities in rat striatum. *Metabolic Brain Disease*, 21(1), 41–50.

Zugno, A. I., Scherer, E. B., Mattos, C., Ribeiro, C. A., Wannmacher, C. M., Wajner, M., i Wyse, A. T. (2007). Evidence that the inhibitory effects of guanidinoacetate on the activities of the respiratory chain, Na⁺, K⁺-ATPase and creatine kinase can be differentially prevented by taurine and vitamins E and C administration in rat striatum in vivo. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1772(5), 563-569.

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani/a Valdemar Štajer

Broj upisa: 05/2012

Izjavljujem da je doktorska disertacija pod naslovom:

**EFEKTI AEROBNOG I ANAEROBNOG VEŽBANJA MAKSIMALNOG
INTENZITETA NA BIOMARKERE PERIFERNOG ZAMORA I ĆELIJSKE
BIOENERGETIKE KOD MLADIH MUŠKARACA I ŽENA**

- rezultat spostvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio/la intelektualnu svojinu drugih lica.

U Novom Sadu,

Dana 19. 09. 2019.

Potpis kandidata

Valdemar Štajer

Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada
i dozvola za objavljivanje ličnih podataka

Ime i prezime autora: Valdemar Štajer

Broj upisa: 05/2012

Studijski program: Sport

Naslov rada:

**EFEKTI AEROBNOG I ANAEROBNOG VEŽBANJA MAKSIMALNOG
INTENZITETA NA BIOMARKERE PERIFERNOG ZAMORA I ĆELIJSKE
BIOENERGETIKE KOD MLADIH MUŠKARACA I ŽENA**

Mentor: Prof. dr Sergej Ostojić

Potpisani/a

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za postavljanje na uvid javnosti na portalu Digitalna biblioteka disertacija Univerziteta u Novom Sadu.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada. Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama Digitalne biblioteke disertacija Univerziteta u Novom Sadu, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Novom Sadu, kao i u repozitorijumu NaRDuS.

U Novom Sadu,
Dana 19.09.2019.

Potpis kandidata

Valdemar Štajer

Prilog 3.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Biblioteku Fakulteta sporta i fizičkog vaspitanja i Centralnu biblioteku Univerziteta u Novom Sadu da u Digitalnu biblioteku disertacija Univerziteta u Novom Sadu unesu moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

**EFEKTI AEROBNOG I ANAEROBNOG VEŽBANJA MAKSIMALNOG
INTENZITETA NA BIOMARKERE PERIFERNOG ZAMORA I ĆELIJSKE
BIOENERGETIKE KOD MLADIH MUŠKARACA I ŽENA**

, koja će potom biti presnimljena u repozitorijum NaRDuS.

Disertaciju sa svim prilogima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnu biblioteku disertacija Univerziteta u Novom Sadu i u repozitorijum NaRDuS mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo – nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poledini lista.)

U Novom Sadu,

Dana 19.09.2019.

Potpis kandidata

Valdemar Štajer

1. Autorstvo – Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.

2. Autorstvo – nekomercijalno. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.

3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.

4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.

5. Autorstvo – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence.

Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.

6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.