

UNIVERSITEIT GENT

FACULTEIT DIERGENEESKUNDE

Academiejaar 2015 – 2016

**DE ROL VAN CREATINE IN DE REGELING VAN HET GLUCOSEMETABOLISME EN DE
INSULINEGEVOELIGHEID IN DE SPIER, EEN VERGELIJKING TUSSEN MENS EN PAARD**

Door

Lotte VAN DER RAAD

Promotor: Prof. Catherine Delesalle

Co-promotor: Berit Boshuizen

Literatuurstudie in het kader

van de masterproef

© 2016 Lotte van der Raad

VERTROUWELIJK – BELANGRIJK

Universiteit Gent, haar werknemers of studenten bieden geen enkele garantie met betrekking tot de juistheid of volledigheid van de gegevens vervat in deze masterproef, noch dat de inhoud van deze masterproef geen inbreuk uitmaakt op of aanleiding kan geven tot inbreuken op de rechten van derden.

Universiteit Gent, haar medewerkers of studenten aanvaarden geen enkele aansprakelijkheid of verantwoordelijkheid voor enig gebruik dat door iemand anders wordt gemaakt van de inhoud van de masterproef, noch voor enig vertrouwen dat wordt gesteld in een advies of informatie vervat in de masterproef.

UNIVERSITEIT GENT

FACULTEIT DIERGENEESKUNDE

Academiejaar 2015 – 2016

**DE ROL VAN CREATINE IN DE REGELING VAN HET GLUCOSEMETABOLISME EN DE
INSULINEGEVOELIGHEID IN DE SPIER, EEN VERGELIJKING TUSSEN MENS EN PAARD**

Door

Lotte VAN DER RAAD

Promotor: Prof. Catherine Delesalle

Co-promotor: Berit Boshuizen

Literatuurstudie in het kader

van de masterproef

© 2016 Lotte van der Raad

Voorwoord

Deze literatuurstudie over de invloed van creatine is geschreven tijdens het tweede masterjaar van de opleiding diergeneeskunde. Het doel was kennis te maken met een wetenschappelijke manier van lezen, schrijven en analyseren.

In deze studie is beschreven wat er tot op heden wetenschappelijk gekend is over de invloed van creatine op het glucosemetabolisme en de insulinegevoeligheid in de spier. Omdat er nog niet veel onderzoeken bij gezelschapsdieren en paarden zijn uitgevoerd, is de studie vanuit een humaan perspectief benaderd. Verder wordt het mogelijke belang van de supplementatie van creatine in de diergeneeskunde besproken.

Het werken aan deze literatuurstudie heeft me veel waardevolle kennis en vaardigheden opgeleverd. Wetenschappelijke informatiebronnen zullen vanaf nu een belangrijke rol spelen in het verbreden van mijn kennis.

Mijn dank gaat uit naar promotor Catherine Delesalle en co-promotor Berit Boshuizen die mij geholpen hebben met het uitwerken van de literatuurstudie. Ook wil ik mijn familie en vrienden bedanken die me geholpen hebben met deze masterproef en me altijd hebben ondersteund tijdens alle jaren van studeren.

Inhoudsopgave

Voorwoord	IV
Inhoudsopgave	V
Samenvatting	1
Inleiding	2
Verklaring afkortingen	3
Literatuurstudie	4
1. <i>Wat is creatine</i>	4
1.1. Definitie	4
1.2. Metabolisme Creatine	4
2. <i>Functies van creatine</i>	8
2.1. Rol in energiemetabolisme	8
2.2. Creatine als antioxidant	13
3. <i>Supplementatie van creatine</i>	14
3.1. Intentie van supplementatie met creatine	14
3.2. Vormen van creatine	16
3.3. Neveneffecten van creatine supplementatie	17
3.4. Resultaten van creatine supplementatie	18
4. <i>Invloed van creatine op het glucosemetabolisme en de insulinegevoeligheid</i>	20
4.1. Glucosemetabolisme in het algemeen	20
4.3. Glucose transport.....	21
4.4. Glycogeen	24
4.5. AMP-geactiveerd proteïne kinase (AMPK)	25
Bespreking	27
Referentielijst	30
Bijlagen	38

Samenvatting

Sleutelwoorden: creatine – supplementatie - glucosemetabolisme - insulinegevoeligheid – paard – spier

De hier beschreven literatuurstudie is gericht op de rol van creatine in het glucosemetabolisme en de insulinegevoeligheid in de spier. Er is een vergelijking gemaakt tussen de rol van creatine bij de mens en de rol bij het paard.

Creatine is een organisch component dat voornamelijk voorkomt in spierweefsel. Het wordt gebruikt als supplement in de sportwereld van mens en paard om prestaties te bevorderen. Na supplementatie met creatine is bij de mens een stijging van 20% totaal creatine waargenomen in de spieren. Hierdoor kunnen intensieve inspanningen van intermitterende aard beter geleverd worden. Bij paarden is er nog geen significante toename van de concentratie van totaal creatine in de spieren na supplementatie waargenomen en ook wat betreft het ergogene effect, zijn er bij paarden nog geen duidende effecten waargenomen. Behalve supplementatie om ergogene effecten te bekomen, wordt er ook gebruik gemaakt van creatine op therapeutische basis.

Al in 1928 is er aangetoond dat creatine invloed uitoefent op de glucoseconcentratie in het bloed. Ook in onderzoeken bij diabetespatiënten werd aangetoond dat een hyperglycemie gereduceerd kon worden, over het onderliggende mechanisme en de rol van insuline is echter nog veel discussie. Wat betreft de invloed van creatine op het glucosemetabolisme, zijn er dan ook veel onderzoeken die elkaar tegenspreken. Dit komt voornamelijk door het gebruik van verschillende diersoorten en onderzoeksmethoden. Wat betreft de invloed op de insulinegevoeligheid is er in vroegere in vitro studies op knaagdieren een invloed op de insulinegevoeligheid waargenomen. Maar in recentere in vivo studies bij ratten, mensen en paarden kon geen effect worden waargenomen ter hoogte van de insulinegevoeligheid. Er is wel een onderzoek dat een verlaging van de insulinogene index heeft waargenomen bij ratten.

Tijdens het transport van glucose spelen de glucosetransporters type 4 (GLUT-4) bij mens en paard een rol. Er is aangetoond dat creatine de expressie van deze transporters kan verhogen en dat kan impliceren dat creatine een rol kan spelen tijdens revalidatie, herstel en perioden van immobilisatie. Naast de functie van creatine bij de opname van glucose, speelt creatine een rol bij de opslag van glucose. Meerdere onderzoeken hebben aangetoond dat de hoeveelheid glycogeen in de spieren toeneemt na supplementatie met creatine. Wel blijkt inspanning hierin een rol te spelen. Als laatste blijkt creatine een invloed te hebben op het AMP-geactiveerde proteïne kinase.

Na het bekijken van al deze onderzoeksresultaten kan worden geconcludeerd dat creatine supplementatie zeker een invloed uitoefent op het glucosemetabolisme. Over de invloed op de insulinegevoeligheid is nog meer onderzoek nodig. Vermoed wordt wel dat creatine supplementatie in de diergeneeskunde een grotere rol kan gaan spelen op therapeutische basis. Zeker omdat er bewezen is dat het een veilig, effectief en goedkoop supplement is.

Inleiding

In deze literatuurstudie is beschreven wat er tot op heden wetenschappelijk gekend is over de invloed van creatine op het glucosemetabolisme en de insulinegevoeligheid van de spier. Omdat er nog niet veel onderzoeken bij gezelschapsdieren en paarden zijn uitgevoerd, is de studie vanuit een humaan perspectief benaderd. Verder wordt het mogelijke belang van de supplementatie van creatine in de diergeneeskunde besproken.

Creatine is een supplement dat wordt gezien als een van de meest effectieve supplementen in de humane sportwereld (Gualano et al., 2012). Dit omdat het een rol speelt in het creatinefosfaatsysteem. Creatine zorgt daar voor een snelle en efficiënte verplaatsing van chemische energie in de spieren. Daarnaast wordt steeds meer onderzoek gedaan naar de voordelen van het gebruik van creatine op therapeutische basis bij onder andere spieraandoeningen, neurodegeneratieve aandoeningen en aandoeningen met een insulineresistentie (Gualano et al., 2012). Ook wordt er veel onderzoek gedaan naar de mogelijkheid om creatine in te zetten als anti-kanker therapie. Dit omdat creatine door zijn invloed op het creatinekinase systeem in de cel, de tumorgroei kan vertragen zonder in te werken op de overlevingskans (Bourgeois et al., 2008 en Campos-Ferraz et al., 2016).

In de verschillende hoofdstukken wordt achtereenvolgens ingegaan op de definitie, het metabolisme en de functie van creatine. Daarna volgt een uiteenzetting over de supplementatie van creatine en tot slot een analyse van de invloed van creatine op het glucosemetabolisme en de insulinegevoeligheid.

Verklaring afkortingen

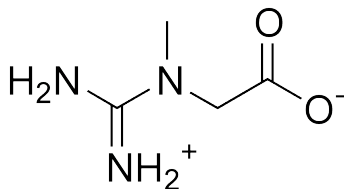
Afkorting	Verklaring
AGAT	L-arginine-glycine-amidino-transferase
ADP	Adenosinedifosfaat
AdoHcy	S-adenosyl-L-homocysteine
AdoMet	S-adenosyl-methionine
ATP	adenosinetrifosfaat
CK	creatinekinase
CP	creatinefosfaat
Cr	creatine
GAA	guanidinoacetaat
GAMT	guanidinoacetaat-methyl-transferase
GLUT	glucose transporter
LG	lichaamsgewicht
MAPK	mitogeen geactiveerde proteïne kinase
MEF	myocyte enhancer factor

Literatuurstudie

1. Wat is creatine

1.1. Definitie

Creatine (N-methylguanidine-azijnzuur, zie Figuur 1) is een organisch component. De naam creatine is afkomstig van het Griekse woord kreas dat vlees betekent. Dit omdat de hoogste waarden (~94%) van creatine voorkomen in de spierweefsels, waaronder skeletspieren en de hartspier (Wyss Kaddurah-Daouk, 2000). Creatine is een niet-essentieel diëtair element. Belangrijke diëtaire bronnen van creatine zijn vlees en vis. Ondanks dat het aminozuren en stikstof bevat is creatine geen eiwit, omdat het in zijn moleculaire structuur geen peptidebindingen bezit en bij de afbraak geen deaminatie plaats vindt (Volek et al, 2008).



Figuur 1 Structuurformule creatine.

1.2. Metabolisme Creatine

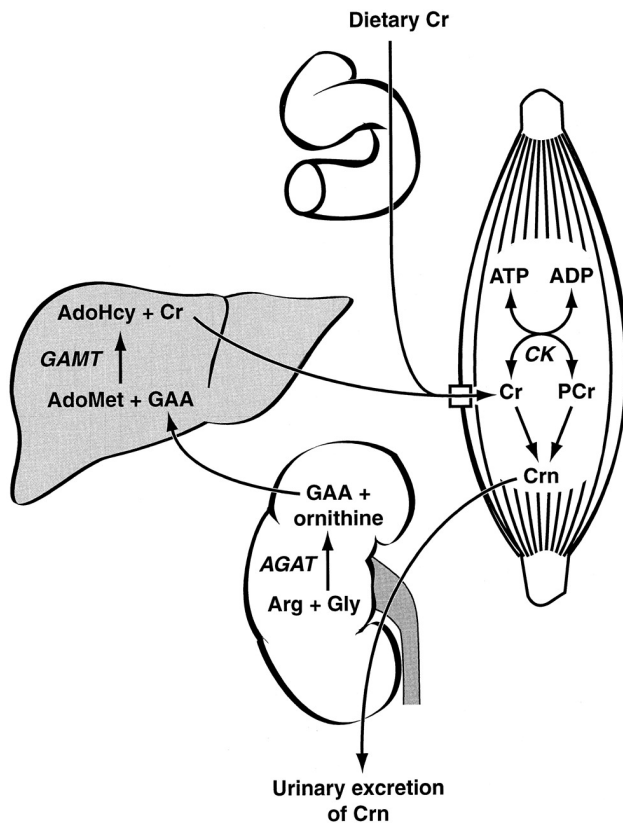
Creatine kan niet in de spieren zelf worden aangemaakt, daarom wordt het aangevoerd via het bloed. Het kan op twee manieren in de bloedbaan terecht komen. Ten eerste op endogene wijze door synthese vanuit aminozuren in de nieren en de lever. En ten tweede kan het op exogene wijze direct als creatine worden opgenomen uit de voeding of uit supplementen.

1.2.1. Endogene Creatine synthese

De voedingsbestanddelen die een rol spelen in de endogene creatine synthese zijn het essentiële aminozuur arginine, het niet-essentiële aminozuur glycine en een methylgroep vanuit een co-enzym. Creatine synthese gebeurt in twee stappen (Wyss en Kaddurah-Daouk, 2000, Zie *Figuur 2*).

1. In de nieren wordt de guanidino-groep van arginine overgedragen aan glycine, waarbij guanidinoacetaat (GAA) en L-ornithine (ornithine) ontstaan. Deze reactie wordt gekatalyseerd door het enzym L-arginine:glycine-amidino-transferase (AGAT).
2. In de lever worden creatine (Cr) en S-Adenosyl-L-homocysteïne (AdoHcy) gevormd vanuit guanidinoacetaat (GAA). Hier zorgt het co-enzym S-adenosyl-methionine (AdoMet) voor de methylatie. Deze reactie wordt gekatalyseerd door het enzym guanidinoacetaat-methyl-transferase (GAMT).

De vorming van GAA blijkt door de AGAT reactie de snelheid beperkende stap te zijn in dit mechanisme (Wyss en Kaddurah-daouk, 2000). De AGAT expressie wordt namelijk onderdrukt door het negatief feedback systeem van het creatinemetabolisme (Volek et al., 2000).



Figuur 2 Hoofdpaden van het creatinemetabolisme. (Uit: Wyss en Kaddurah-daouk, 2000).

1.2.2. Exogene Creatine opname

Exogeen wordt creatine aangevoerd via de voeding of supplementen. Zoals in Tabel 1 te zien is, bevatten vlees en vis hoge waarden aan creatine (Balsom et al., 1994). Daarentegen bevatten plantaardige bronnen hele lage waarden aan creatine. Vegetariërs en herbivoren zullen daardoor niet veel creatine opnemen via hun dieet. Bij de carnivore gezelschapsdieren zou je een hoog gehalte aan creatine in het dieet verwachten, maar na een vergelijkend onderzoek tussen verschillende commerciële producten en onbewerkte voeding blijkt het gehalte aan creatine in commerciële producten veel lager te zijn (Dobenecker en Braun, 2015). Dit is te wijten aan de verhitting van het vlees (Harris et al., 1997) bij commerciële producten.

Voeding	Creatine (g/kg)
Vis	2-10
Vlees	4,5-5
Melk	0,1
Cranberries	0,02

*Tabel 1 Hoeveelheden creatine in verschillende diëtaire bronnen.
(Naar: Balsom et al., 1994).*

Bij de mens is uit verschillende onderzoeken gebleken dat een verhoogde opname van creatine kan zorgen voor hogere waarden van creatine in de skeletspieren (Harris et al., 1992; Febraio et al., 1995; Hultman et al., 1996). Deze studies toonden aan dat het totaal creatine in de spieren kon stijgen met 20%, als gevolg van creatine supplementatie. Latere studies bij de mens (Balsom et al, 1993, Greenhaff et al, 1993; Harris et al., 1993; Terjung et al., 2000) lieten zien dat deze stijging geassocieerd kon worden met een toename in de capaciteit van deze personen, om intense trainingen van intermitterende aard vol te houden. Hier is uit op te maken dat supplementatie van creatine in bepaalde takken van de sport van toegevoegde waarde kan zijn.

Ook bij paarden zijn er verschillende onderzoeken gedaan naar het effect en de waarde van supplementie van creatine. Op deze onderzoeken wordt uitgebreid ingegaan in het hoofdstuk over supplementatie.

1.2.3. Opslag van creatine

Creatine wordt voornamelijk opgeslagen in de skeletspieren. In deze skeletspieren is 60% van de creatine opgeslagen als creatinefosfaat (Harris et al, 1992, Balsom et al 1993, Casey et al 1996). Verschillende factoren zoals vleesconsumptie, verhouding in spiervezeltype, trainingsstatus, diersoort en leeftijd spelen een rol in de variabele hoeveelheden creatine in de spieren (Volek et al., 2000; Tabel 2). Spiervezels type II bevatten hogere waarden aan creatine dan spiervezeltype I (Kushmerick et al., 1992).

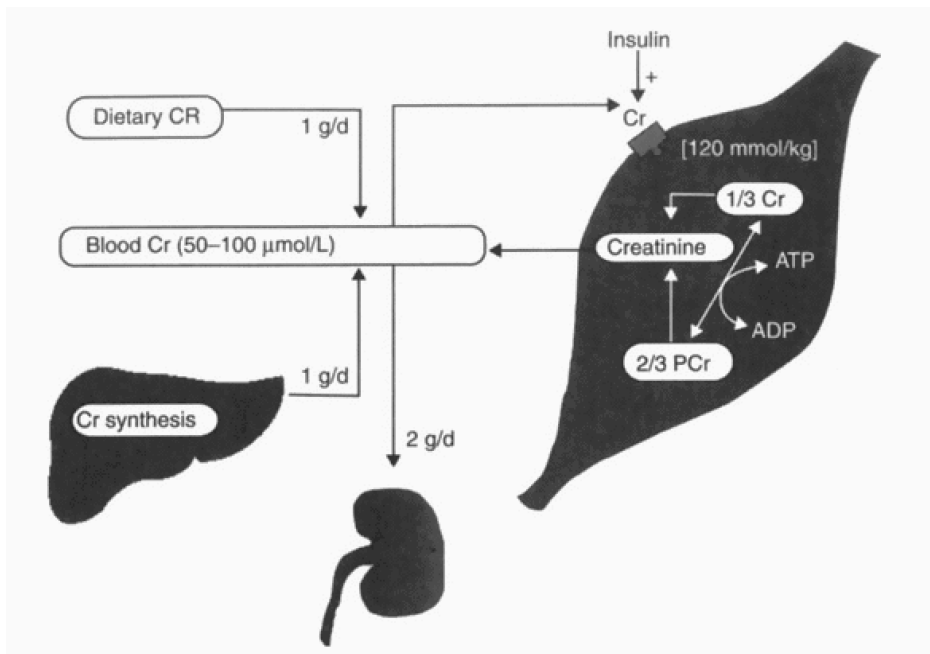
	Totaal creatine (mmol/kg/droge spiermassa)
Mens	90-160
Paard	100-110

*Tabel 2 Hoeveelheden totaal creatine (creatine + creatinefosfaat).
Bronnen: Mens (Volek et al., 1999; Volek et al. 2000), Paard (Harris et al. 1987, Sewell 1992).*

De toename van het totale creatine in de spier bij de mens, is afhankelijk van de beginwaarden aan creatine (Harris et al., 1992). Vegetariërs hebben lagere basale creatinewaarden in hun spieren. Het effect van creatine supplementatie kan bij vegetariërs daardoor groter lijken dan bij omnivoren (Rooney et al., 2003).

1.2.4. Eliminatie van creatine

Dagelijks wordt ongeveer 1,6% van de spiervoorraad creatine afgebroken tot creatinine (zie *Figuur 2* en *Figuur 3*). Dit is een niet-enzymatische nevenreactie. Creatinine kan niet meer gefosforyleerd worden, en wordt via diffusie naar de bloedbaan uitgescheiden met de urine. Volgens Volek et al (2000) is er in de normale spiercreatine homeostase een balans tussen de opname via de voeding, synthese en eliminatie (zie *Figuur 3*).



Figuur 3 Balans in opname, synthese en eliminatie van creatine.
(Uit: Volek et al., 2000).

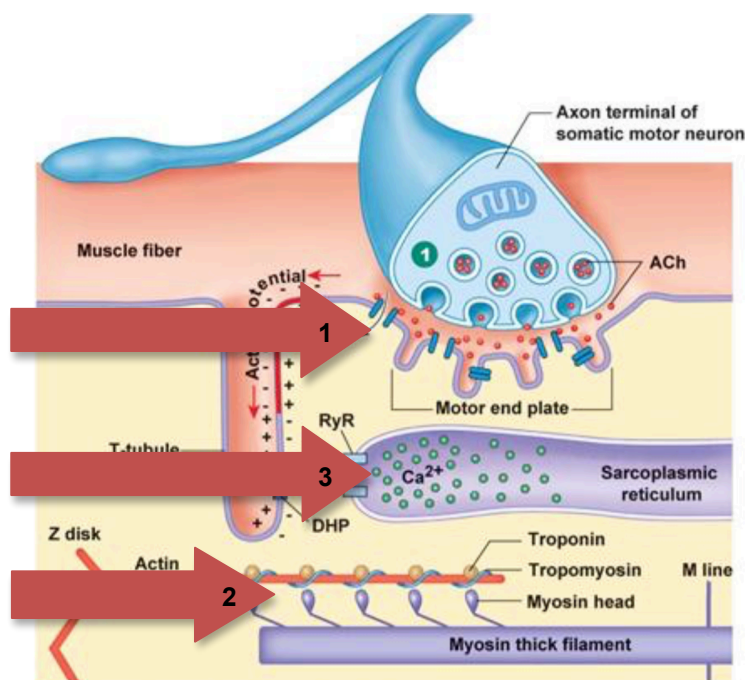
2. Functies van creatine

2.1. Rol in energiemetabolisme

Voor de contractie van de spieren is energie vereist. Deze energie is afkomstig uit verschillende systemen, waaronder het creatinefosfaatsysteem. In het creatinefosfaatsysteem zorgt creatine voor de verplaatsing van chemische energie (ATP) vanuit de mitochondriën naar de myofibrillen (Walliman et al., 1992 en Ruggeri, 2000). Alvorens hierop in te gaan, volgt eerst meer uitleg over de verschillende bronnen en systemen van energie.

2.1.1. Bronnen van energie

Energie opgenomen uit de voeding, wordt omgezet tot adenosinetriphosfaat (ATP). Dit energierijke molecuul ligt opgeslagen in alle spiervezels. Er zijn drie belangrijke plaatsen in de spier waar ATP van belang is. Ten eerste ter hoogte van de Na^+/K^+ pomp (1) voor de depolarisatie van de spier, ten tweede ter hoogte van de myosine hoofdjes (2) en ten derde ter hoogte van de calciumpomp van het sarcoplasmatisch reticulum (3). Op elke plaats zijn enzymen, zogenaamde ATPasen aanwezig om ATP af te breken en energie vrij te laten komen (Figuur 4).

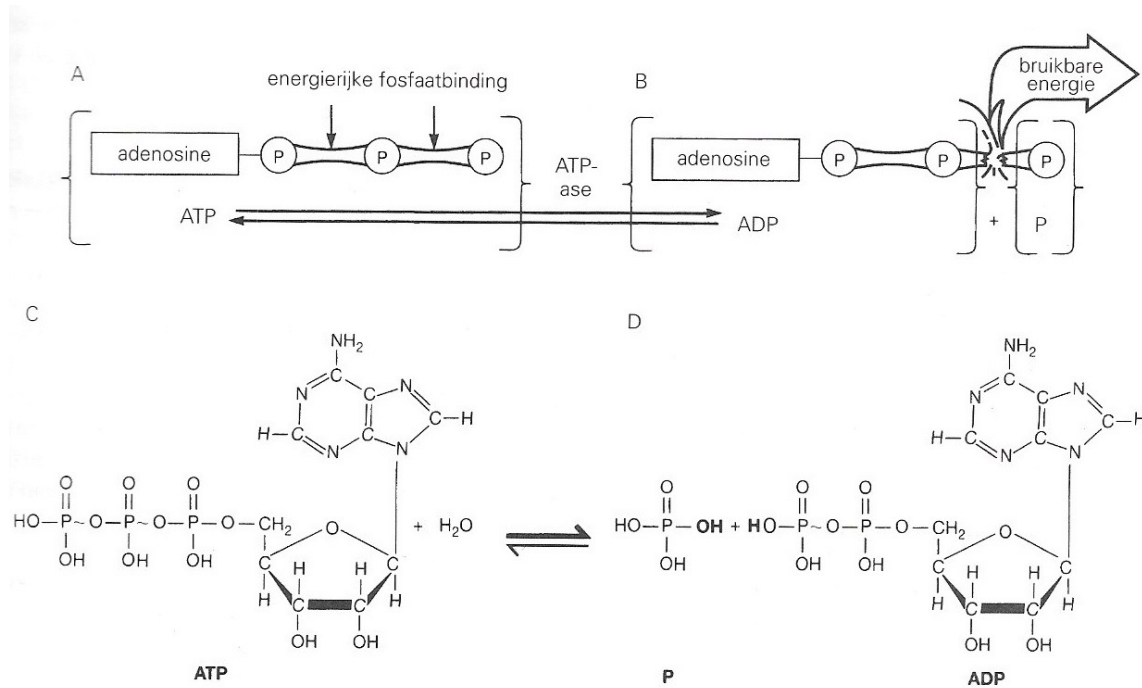


Figuur 4 Plaatsen in de spier waar ATP van belang is:

1. Na^+/K^+ pomp
2. Myosine hoofdjes
3. Calciumpomp van het sarcoplasmatisch reticulum

Naar: Pearson education inc.

ATP wordt omgezet naar adenosinedifosfaat (ADP) en fosforzuur (P). Zoals te zien is in *Figuur 5* komt bij het verbreken van de fosfaatbindingen in ATP energie vrij.



Figuur 5

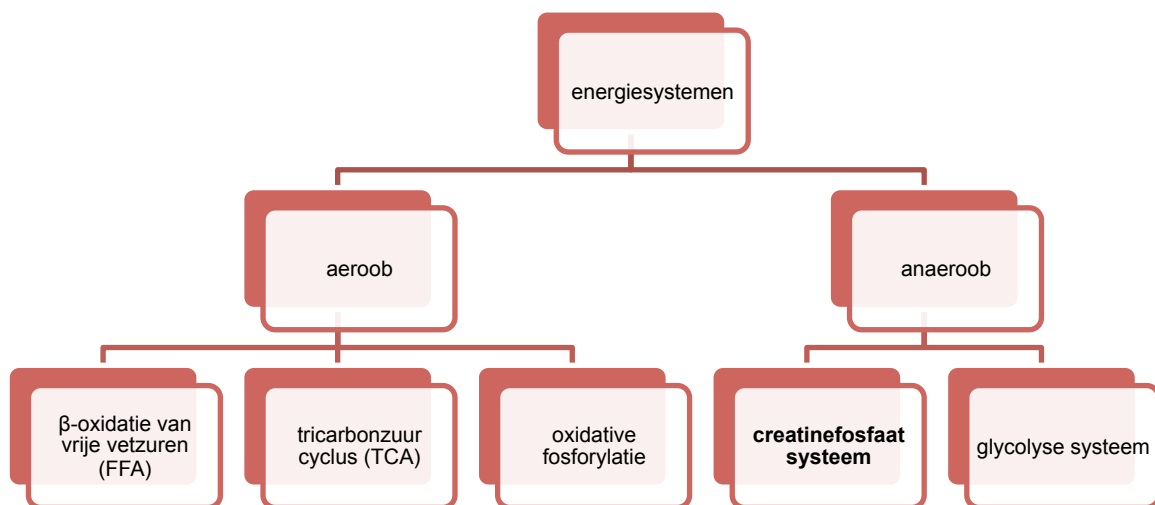
(Uit: Fox et al., 2007).

- A. De structuur van ATP op vereenvoudigde wijze weergeven, met energierijke fosfaatbindingen.
- B. De afbraak van ATP tot ADP en fosforzuur (P), waarbij voor de cel bruikbare energie vrijkomt.
- C. De moleculaire structuur van ATP met de twee energierijke fosfaatbindingen (~).
- D. De reactie naar rechts (dikke pijl) is een hydrolyse van ATP waarbij fosforzuur (P) wordt afgesplitst (de buitenste energierijke fosfaatbinding wordt verbroken) en ADP ontstaat. De reactie naar links (dunne pijl) geeft aan dat resynthese van ATP ook weer mogelijk is.

Om de spiervezels opnieuw van ATP te voorzien is een resynthese van ADP naar ATP nodig, voor deze resynthese is ook energie vereist. Door de verhoogde hoeveelheid creatine in de spieren na supplementatie met creatine, kan de resynthese van ATP sneller en efficiënter plaatsvinden (Gualano et al., 2012).

2.1.2. Energiesystemen

Energiesystemen kunnen worden ingedeeld naar hun gebruik van zuurstof in anaerobe en aerobe energiesystemen (Figuur 6). Voor het anaerobe systeem is geen zuurstoftransport vereist, waardoor de energie hier zeer snel ter beschikking staat. Onder dit snelle anaerobe energiesysteem vallen het creatinefosfaatsysteem en het anaerobe glycolyse systeem. Voor het aerobe systeem is wel zuurstoftransport vereist en daardoor kan dit systeem pas na twee tot drie minuten van start gaan. De aerobe energievoorziening gebeurt in de mitochondriën op drie manieren: een β -oxidatie van vrije vetzuren, een tricarbonzuur cyclus en een oxidatieve fosforylatie via elektronentransport.



Figuur 6 Overzicht energiesystemen.

(Naar: Hinchcliff et al., 2014).

Het aerobe systeem werkt heel efficiënt, maar traag. Het anaerobe systeem produceert de energie in zeer korte tijd, maar is daarbij minder efficiënt. Meestal zijn beiden systemen samen actief. Welk systeem relatief het meeste bijdraagt in de spier is afhankelijk van de aard, duur en de intensiteit van de inspanning. Ook de samenstelling van de spier (spiervezeltypen), beschikbaarheid van zuurstof en substraten en de concentraties van intermediaire metabolieten die eventueel bepaalde enzymen kunnen activeren of inhiberen (Valberg S.J.,1996) spelen een rol. In Tabel 3 worden de eigenschappen van de verschillende systemen vergeleken.

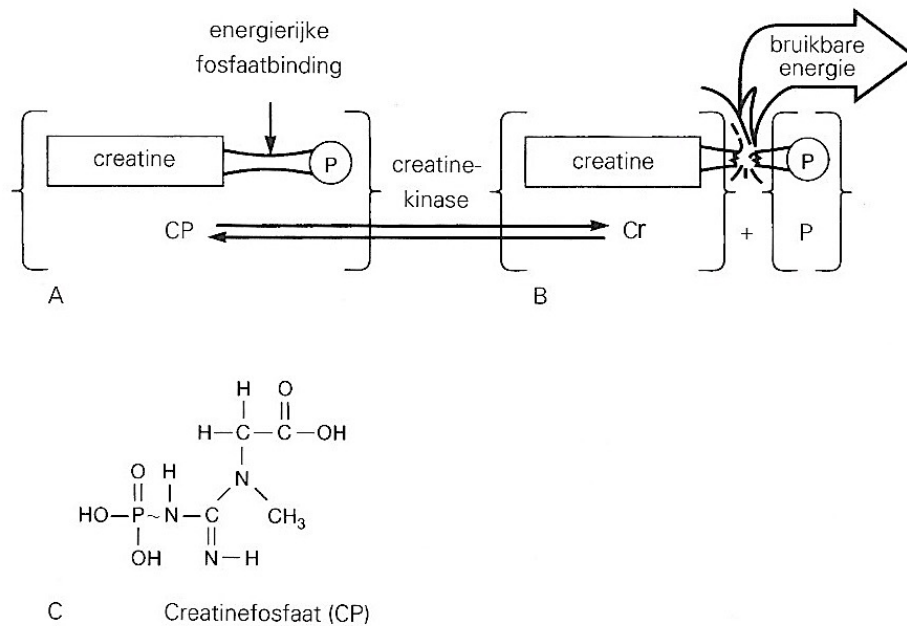
Bij inspanningen van lage intensiteit (zoals wandelen of endurance) zal er de eerste minuten voornamelijk glycogeen gemetaboliseerd worden via het aerobe systeem (Valberg S.J.,1996). Zodra de glucose en vrije vetzuur concentraties in het bloed gaan stijgen, gevolgd op een uitputting van de glycogeenvoorraden met 20-30%, zal er een shift richting de β -oxidatie van vrije vetzuren plaatsvinden. Bij meer vraag naar energie en een daling van de ATP/ADP ratio van de spier, wordt het

anaerobe systeem aangesproken (Davie et al., 1999). Bij inspanningen van hoge intensiteit, zoals bijvoorbeeld bij sprinten of een springparcours, heeft het anaerobe systeem de overhand.

	Anaeroob		Aeroob
Energiesysteem	<i>creatinefosfaat-systeem</i>	<i>glycolyse systeem</i>	<i>aeroob</i>
Brandstof	creatinefosfaat	glycogeen (glucose)	glycogeen, vetten, eiwitten
Zuurstof- behoefte	nee	nee	ja
Duur	fracties van seconden	tot 2-3 minuten	vanaf 2-3 minuten na start
Snelheid	snelst	snel	traag
ATP productie (relatief)	weinig: beperkt	weinig: beperkt	veel: onbeperkt
Lokalisatie in spiercel	cytoplasma	cytoplasma	mitochondriën

*Tabel 3 Eigenschappen energiesystemen
(Naar: Fox et al., 2007).*

Aangezien creatine alleen een rol speelt in het anaerobe creatinefosfaat systeem wordt het aerobe energiesysteem hier verder buiten beschouwing gelaten. Creatinefosfaat (CP) bevat net zoals ATP energierijke fosfaatverbindingen. In *Figuur 7* is te zien dat bij de splitsing van deze verbindingen Creatine (Cr), Fosforzuur (P) en energie ontstaan. Deze splitsing gebeurt met behulp van creatinekinase (CK), een katalyserend enzym. Om opnieuw CP te vormen uit Cr en P, is ook hier weer energie nodig uit de splitsing van ATP. Deze splitsing gebeurt pas tijdens het herstel na de belasting van de spier. Dus als de voorraden tijdens zware inspanningen uitgeput raken, kunnen ze pas weer aangevuld worden tijdens het herstel.



Figuur 7

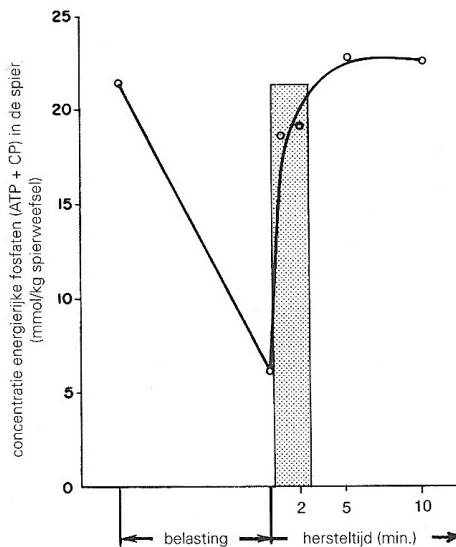
(Uit: Fox et al., 2007).

- A. De structuur van creatinefosfaat (CP) op vereenvoudigde wijze weergeven, met de energierijke fosfaatbinding.
- B. De afbraak van CP tot creatine (Cr) en fosforzuur (P), waarbij energie vrijkomt die door de cel gebruikt kan worden voor de resynthese van ATP.
- C. De moleculaire structuur van CP met de energierijke fosfaatbinding (~).

Een voordeel van CP is het moleculair gewicht. In vergelijking met ATP (± 507 g/mol) heeft CP (± 209 g/mol) een lager moleculair gewicht. Volgens de wet van Fick is de snelheid van de diffusie in een waterige omgeving omgekeerd evenredig met haar moleculair gewicht. Waaruit men kan op maken, dat CP zich sneller kan verplaatsen vanuit de mitochondriën naar de myofibrillen dan ATP. Na gebruik keert creatine terug naar de mitochondriën voor een resynthese van CP.

2.3.3. Aanvullen creatinefosfaat voorraad

Na de belasting van de spieren volgt een periode van herstel. Tijdens deze herstelfase worden de uitgeputte energiereserves aangevuld. Uit verschillende onderzoeken bij de mens blijkt dat de voorraden ATP en CP al enkele minuten na het beëindigen van de inspanning weer zijn aangevuld (Piiper, Di Prampero en Cerretelli, 1968; Piiper en Spiller, 1970; Hultman en Nilsson, 1971). Er worden twee fasen van aanvullen onderscheiden, een snelle en een tragere fase. Zoals in Figuur 8 te zien is zijn de eerste dertig seconden na inspanning van de grootste waarde (Hultman en Nilsson, 1971).



Figuur 8

De voorraad energierijke fosfaten in de spier (ATP + CP), die tijdens lichamelijke belasting uitgeput raakt, wordt binnen enkele minuten na beëindiging van de belasting weer aangevuld. Dit proces is binnen dertig seconden voor ongeveer 70% en na drie tot vijf minuten voor vrijwel 100% voltooid. (Naar: Hultman en Nilsson, 1971).

2.2. Creatine als antioxidant

Naast de werking in het energiemetabolisme blijkt creatine ook te werken als antioxidant (Sestili et al., 2011). Deze effecten zouden een gedeeltelijke verklaring kunnen zijn voor het therapeutische effect van creatine bij voornamelijk neurodegeneratieve aandoeningen (Beal, 2011; Klopstock et al., 2011). De eerste bewijzen voor een 'antioxidant-achtig' effect van creatine werden beschreven door Mattews et al. (1998). In dit onderzoek bleken ratten na een supplementatie met creatine beschermd te zijn tegen een nitropropionzuur intoxicatie. Een paar jaar later kwam het onderzoek van Lawler et al. (2002) met de bevestiging van de hypothese dat creatine een rol zou spelen in het verwijderen van radicale stoffen in een acellulaire omgeving. Daarna zijn nog vele onderzoeken verricht naar de positieve werking van creatine als anti-oxidant (Bijlage I).

Ter conclusie kon in een review van Sestili et al. (2002) gesteld worden dat creatine een milde werking als antioxidant teweeg brengt en van belang kan zijn als supplement voor oudere mensen, post-traumatische patiënten en mensen die een dieet arm aan vleesproducten volgen (hypercholesterolemie, cardiovasculaire aandoeningen, veroudering, vegetarisme).

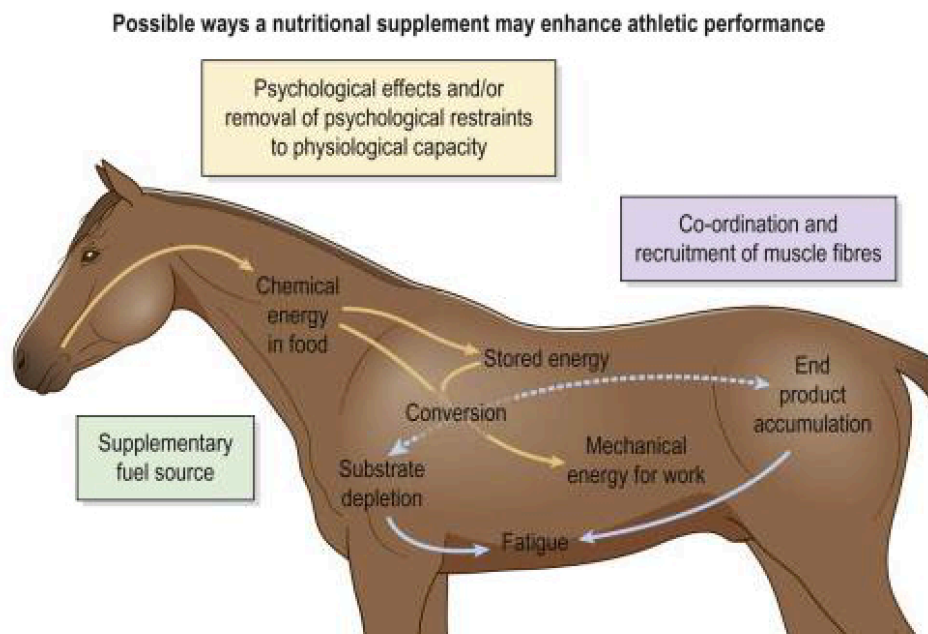
3. Supplementatie van creatine

3.1. Intentie van supplementatie met creatine

Supplementen worden om verschillende redenen aan een dieet toegevoegd. Ten eerste om een disbalans of deficiëntie aan bepaalde stoffen te normaliseren en ten tweede als prestatie bevorderend middel, ook wel ergogene supplementen genoemd. Volgens Wagenmakers (1999) wil de term ergogeen zeggen: 'work generating', waarmee hij aangeeft dat het de prestatie bevordert, zoals een toegenomen snelheid, uithoudingsvermogen of kracht.

3.1.1. Ergogene effecten van creatine

Supplementen kunnen via verschillende mechanismen de atletische prestatie beïnvloeden: psychologische effecten, coördinatie en aantal spiervezels, vergroten van de energievoorraad, verhogen van de efficiëntie van het gebruik van energiebronnen, verbetering van de ADP/ATP homeostase in contractiele spiervezels, verminderde uitputting van substraten, verminderde accumulatie van eindproducten en een verbetering van de zuur-base huishouding (Figuur 9, Wagenmakers, 1999).



Figuur 9 Schematische weergave van de mogelijke mechanismen van een supplement om een ergogeen effect teweeg te brengen.

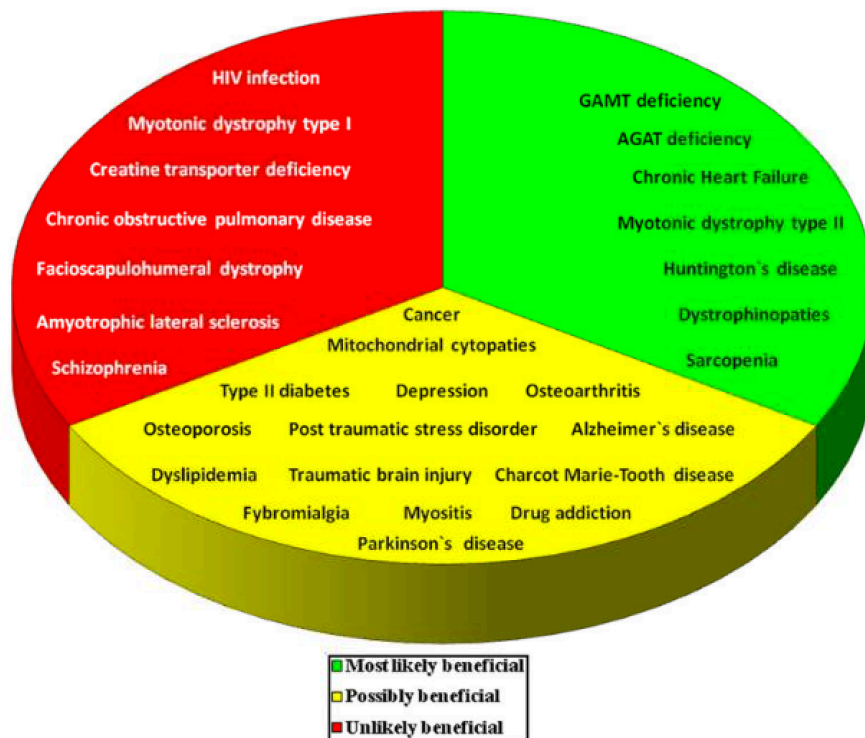
(Uit: Hinchcliff et al., 2014).

Supplementatie van creatine blijkt bij de mens vooral nuttig te zijn bij kortdurende, intensieve inspanningen van intermitterende aard (Balsom et al, 1993, Greenhaff et al, 1993, Harris et al., 1993; Terjung et al., 2000). De reden daarvoor is het eerder besproken anaerobe energiesysteem, de creatinefosfaatshuttle. Door Rawson en Persky (2007) zijn er verschillende mechanismen toegewezen aan de ergogene werking van creatine supplementatie. Waaronder de toename van de spier glycogeen voorraad en CP, snellere CP resynthese, meer expressie van groeifactoren en indirect door een toename van de trainingscapaciteit.

3.1.2. Therapeutische effecten van creatine

Naast het gebruik van creatine als ergogeen supplement, kan het ook ingezet worden op therapeutische basis. Zoals te zien is in Figuur 10 zijn er meerdere aandoeningen waar dit potentieel interessant kan zijn (Gualano et al., 2012).

Veel bewijzen van positieve effecten van creatine zijn beschreven, waaronder bij supplementatie van myopathieën en neurodegeneratieve aandoeningen dankzij de werking van creatine als antioxidant en het ergogene effect op de skeletspieren (Tarnopolsky et al., 1997; Guerrero-Ontiveros et al., 1998; Tarnopolsky et al., 1999; Louis et al., 2003; Chung et al., 2007). Bij kanker door het aanvullen van de CP voorraden in combinatie met de inhibitie van de enzymen (AGAT en/of GAMT) voor de synthese van creatine, wat een nadelig effect teweeg brengt voor het metabolisme van de kankercellen (Bourgeois et al., 2008 en Campos-Ferraz et al., 2016). Bij been- en kraakbeen aandoeningen is het effect van creatine te wijten aan de toename van het celmetabolisme (Funanage et al., 1992; Gerber et al., 2005). Bij diabetes type II door de invloed op het glucosemetabolisme en de insulinegevoeligheid (Gualano et al., 2012). Bij congestief hartfalen door het ergogene effect op de skeletspieren (Ingwall et al., 1976; Andrews et al., 1998; Gordon et al., 1995). En ook na orthopedische operaties of periodes van immobilisatie kan creatine supplementatie een positief effect teweeg brengen door middel van de toename van de GLUT-4 expressie. (Satolli et al., 1989 en Op 't Eijnde et al., 2001a).



Figuur 10 Ziekten en aandoeningen waar creatine supplementatie een rol zou kunnen spelen. Groen: positieve resultaten uit een of meer hoog kwalitatieve, gerandomiseerde, gecontroleerde onderzoeken met hoge aantallen. Geel: beperkte bewijzen uit in vitro of niet-humane onderzoeken, met kleine aantallen. Of uit gerandomiseerde studies bij mensen, met twijfelachtige uitkomsten. Rood: negatieve resultaten van een of meer hoog kwalitatieve, gerandomiseerde, gecontroleerde onderzoeken met hoge aantallen. (Uit: Gualano et al., 2012).

3.2. Vormen van creatine

Er zijn verschillende vormen van creatine op de markt. Veruit de meest gebruikte vorm is creatine monohydraat (Terjung et al., 2000). Sommige commerciële producten worden aangevuld met hulpstoffen, die de werking zouden kunnen bevorderen. Voorbeelden van deze hulpstoffen zijn: glucose, eiwitten, vitamines, mineralen, RNA, L-glutamine, taurine, β -hydroxy- β -methylbutyraat (HBM), α -ketoglutaraat en kruidenextracten (Terjung et al., 2000). Er is echter niet aangetoond dat andere vormen dan creatine monohydraat of het gebruik van hulpstoffen de werking zouden versterken (Stone et al., 1998 en Stout et al., 1999).

3.3. Neveneffecten van creatine supplementatie

Er bestaan veel anekdotische rapporten over neveneffecten van creatine supplementen (Terjung et al., 2000). Hieronder worden de meest besproken neveneffecten behandeld.

Gastro-intestinaal

Er is een anekdotisch geval gedocumenteerd, waarin creatine supplementatie bij de mens geassocieerd werd met misselijkheid, braken en diarree (Vandebuerie et al., 1998). Maar na verschillende blind uitgevoerde studies, kon deze observatie niet bevestigd worden (Grindstaff et al., 1997; Kreider et al., 1998; Vandebuerie et al., 1997; Volek et al., 1999).

Renale functie

Creatine supplementatie bij de mens verhoogt de urinaire creatine en creatinine excretie (Harris et al., 1992). Maar volgens Poortmans et al. (1997) wordt bij de mens na een korte termijn supplementatie met creatine, de glomerulaire filtratie snelheid niet significant verhoogd. In een onderzoek naar de lange termijn effecten (tot 5 jaar), kon geen aantasting van de nierfunctie, bij gezonde atleten worden aangetoond (Poortmans et al., 1999). Er werd hier onderzoek gedaan naar de plasmawaarden en urinaire excretie van creatinine, ureum en albumine. Wat betreft de klaring was er geen verschil waar te nemen tussen de gesupplementeerde en de controlegroep (Poortmans et al., 1999).

Cardiovasculair

In een studie van Mihic et al. (2000) naar de korte termijn effecten van creatine supplementatie bij gezonde jonge mensen, werden geen effecten waargenomen op de bloeddruk. In een studie naar de lange termijn effecten, werden er geen veranderingen waargenomen op de bloeddruk (Peeters et al., 1999). In studies bij patiënten met congestief hartfalen, werd na supplementatie met creatine geen effect waargenomen op de bloeddruk (Andrews et al., 1998 en Gordon et al., 1995). Volgens Gordon et al. (1995) werd met echografisch onderzoek in dezelfde studie geen verschil opgemerkt aan de pompfunctie van het hart. Wel suggereerde de onderzoekers dat de hartpatiënten voordeel konden hebben van de creatine therapie, aangezien de positieve effecten van creatine op kracht en uithoudingsvermogen van de skeletspieren.

Musculair

Wat betreft de spieren zijn er verschillende nevenwerkingen gedocumenteerd bij de mens (Juhn et al., 1998 en Schnirring, 1998). Het gaat dan voornamelijk over krampen, stijfheid, spanningen en spierschade. In gecontroleerde studies bij gezonde mensen en neuromusculaire patiënten, konden deze nevenwerkingen niet worden uitgelokt (Kreider et al., 1998; Tarnopolsky et al., 1999; Mihic et al., 2000).

Volgens Persky en Rawson (2007) kunnen we na honderden publicaties en miljoenen blootstellingen aan creatine stellen dat creatine supplementatie een goed veiligheidsprofiel heeft.

3.4. Resultaten van creatine supplementatie

Mens

Uit onderzoeken bij de mens is gebleken dat een orale supplementatie met een dagelijkse dosis van 20-25 g (~250 mg/kg lichaamsgewicht (LG)/dag), gedurende zes dagen, resulteert in een concentratie toename van 20% aan totaal creatine in de musculus quadriceps (vastus medialis) (Hultmann et al, 1996). Een tragere ladingsfase met een dagelijkse dosis van 3 g (40-44 mg/kg LG/dag), gedurende 14-28 dagen had een zelfde resultaat (Harris et al., 1992). De verhoogde concentratie aan totaal creatine in de spier kan onderhouden worden met een dagelijkse dosis van 2-3 g creatine (Harris et al., 1992). Andere studies bij de mens (Balsom et al, 1993 en Greenhaff et al, 1993) lieten zien, dat de toename aan totaal creatine in de spier, geassocieerd kon worden met een toename in de capaciteit om intense anaerobe trainingen van intermitterende aard vol te houden. In de studie van Balsom et al. (1993) werden tien mannen na 28 dagen creatine supplementatie getest op hun anaerobe vermogen om intense kortdurende krachtinspanningen (korte series bankdrukken op 70%) vol te houden. In de gesupplementeerde groep werd een toename van 13-18% waargenomen, terwijl in de placebogroep geen verschil werd waargenomen. In de studie van Greenhaff et al. (1993) werd een toename van de capaciteit om krachtinspanningen (knie extensies en fietsen) van korte duur vol te houden waargenomen, en was in de placebogroep geen verschil waar te nemen. In deze studie werd gezien dat er alleen een effect was tijdens de eerste twee series, in de derde serie inspanningen werd geen toename meer waargenomen.

Green et al. (1996) hebben aangetoond dat de creatine accumulatie in de spieren met 60% verhoogd kan worden, mits creatine supplementatie gecombineerd wordt met een verhoogde koolhydraten inname. Zoals in eerdere onderzoeken bij ratten is aangetoond (Koszalka et al., 1972 en Haughland et al., 1975) wordt dit waarschijnlijk veroorzaakt door het insuline gemedieerde transport van creatine. Een recenter onderzoek van Op 't Eijnde et al. (2006) naar de supplementatie van creatine bij insulineresistente Goto-Kakizaki ratten, liet zien dat er een leeftijdsgebonden verschil aantoonbaar was in de accumulatie van creatine in de skeletspieren. Bij jongere ratten was een hogere waarde waarneembaar dan bij oudere ratten. Alsook een hogere accumulatie van creatine in de trage oxidatieve spieren (soleus) van jonge ratten.

Paard

Bij paarden zijn verschillende onderzoeken uitgevoerd naar het nut van de supplementatie van creatine. Sewell en Harris (1995) deden een onderzoek naar de absorptie van creatine bij vier volbloedpaarden. Ze gaven de paarden dertien dagen een dosis van 0,15 g/kg LG/dag creatinemonohydraat. Er was geen significant verschil waar te nemen in totaal creatine voor en na de supplementatie: voor 104 ± 4 vs. na 98 ± 14 mmol/kg droge spiermassa. Er is geen verschil waargenomen in de ATP concentratie van de spier in rust en in de ratio [totaal creatine]/[ATP]. Schuback et al. (2000) deden onderzoek naar het gezamenlijke effect van creatine en inspanning op de metabolisatie van de spieren. Er werden zes standaard rasdravers gebruikt voor de test. Na het uitoefenen van een basisconditietest werden ze ingedeeld in twee groepen. De ene groep kreeg twee

keer per dag een dosis van 25 g creatinemonohydraat. De andere groep kreeg eenzelfde hoeveelheid aan lactose (placebo). De dosis werd gedurende 6,5 dagen toegediend. Daarna werd de conditietest opnieuw uitgevoerd. De resultaten lieten geen significante toename zien in plasma creatine of totaal creatine in de musculus gluteus medius. Er was geen verschil te zien in het totale bloedvolume. Hieruit kon worden opgemaakt dat de creatine supplementatie in deze dosis geen invloed uitoefent op het spiermetabolisme of het totale bloedvolume bij het paard.

D'angelis et al. (2005) deden een onderzoek naar het effect van orale creatine supplementatie op het spiermetabolisme, tijdens aerobe training. Twaalf Arabische volbloedpaarden werden negentig dagen onderzocht tijdens aerobe trainingen, met en zonder de supplementatie van creatine. Ze kregen dagelijks een dosis van 75 g creatinemonohydraat. In de resultaten was na een histochemische analyse van de musculus gluteus medius bij beiden groepen een hypertrofie van de type I en type IIX spiervezeltypes te zien, wat een invloed heeft op de contractiele en metabolische eigenschappen van de spier. Doordat beiden groepen hetzelfde effect toonden was niet aantoonbaar dat creatine hier een rol in speelde naast de aerobe trainingen.

Ferraz et al. (2006) deden een onderzoek naar het lange termijn effect van creatine supplementen tijdens aerobe trainingen. Ook hier werden twaalf Arabische volbloedpaarden negentig dagen onderzocht, met en zonder supplementatie van creatine. Met behulp van bloedstalen, genomen tijdens de inspanning, werden de concentraties van hemoglobine, lactaat, packed cell volume en rode bloedcelwaarden geregistreerd. In de resultaten was een significante toename ($P < 0.05$) in V4 (snelheid op de loopband waarbij de bloedwaarden een lactaatwaarde hebben hoger dan 4 mmol/L-1) te zien bij de paarden die langer dan 60 dagen creatine supplementen hadden gekregen, in vergelijking met de paarden die geen creatine supplementen toegediend hadden gekregen. Deze resultaten laten zien dat een langdurige supplementatie van oraal creatine het prestatievermogen kon verhogen. Waarschijnlijk door de vertraagde lactaat accumulatie.

In 2007 deden D'angelis et al. opnieuw een onderzoek naar het nut van orale creatine supplementatie naast aerobe training. De vraag was of creatine supplementatie kan zorgen voor een toename van het spierweefsel, en niet alleen zorgt voor een toename van vocht door inwerking op de osmotische gradiënt. Met behulp van echografisch onderzoek werd de samenstelling van de musculus longissimus dorsi beoordeeld. Twaalf Arabische volbloedpaarden werden negentig dagen onderzocht, met en zonder de supplementatie van creatine. Ze kregen een dagelijkse dosis van 75 g creatinemonohydraat gedurende de negentig dagen aerobe training. De resultaten toonden aan dat aerobe training met of zonder de supplementatie van creatine, een significante hypertrofie van het spierweefsel en reductie van het vetweefsel veroorzaakt. Er was geen positief effect aan te tonen van de langdurige toediening van creatine op de samenstelling van de spier. Recent is er door Teixeira et al. (2015) een onderzoek gedaan naar het effect van orale creatine supplementatie bij Quarter horses in de barrel race sport. Er werd gekeken naar het effect op de prestatie van de paarden. Gedurende 45 dagen werden tien gezonde Quarter horse kruisingen oraal gesupplementeerd met een dosis van 28 g creatine per 100 kg LG. Bij het afnemen van een barrelrace test werd er geen significant verschil waargenomen wat betreft de snelheid, hartslag en plasmalactaat.

4. Invloed van creatine op het glucosemetabolisme en de insulinegevoeligheid

In voorgaande hoofdstukken zijn de verschillende functies van creatine besproken. In dit hoofdstuk wordt het effect van creatine op het glucosemetabolisme en de insulinegevoeligheid in de spier behandeld.

4.1. Glucosemetabolisme in het algemeen

De concentratie glucose in de bloedbaan is van belang voor het lichaam. De hersenen zijn afhankelijk van een constante toevoer van glucose. Als de glucosewaarden in het bloed te veel dalen kunnen er zenuwstoornissen ontstaan, zoals het verlies van bewustzijn tot zelfs sterfte. Aan de andere kant kunnen langdurige verhoogde waarden ook zorgen voor problemen. Zo zie je bij ongecontroleerde diabetes patiënten symptomen als blindheid, nierfalen, hart- en bloedvataandoeningen en neuropathie (Shepherd en Kahn, 1999). Het behouden van een normale constante glucoseconcentratie in het bloed is dus van groot belang, en afhankelijk van verschillende fysiologische systemen, waaronder het sympathische zenuwstelsel en het endocriene systeem (Suh et al, 2007). Naast het belang van glucose voor het centrale zenuwstelsel, speelt glucose ook een rol in de energievoorziening voor de spiercontractie (Hincliff et al, 2014). In het endocriene systeem zijn de hormonen insuline, glucagon en adrenaline verantwoordelijk voor het glucosemetabolisme. Ze zorgen voor een juiste afstemming tussen de perifere opname van glucose in cellen en de productie van glucose door de lever (Shepherd en Kahn, 1999).

Hill (1928) bracht als eerste een onderzoek uit, waarin bij honden werd aangetoond dat de glucose homeostase werd beïnvloed door creatine. Hij kon een hypoglycemie induceren als reactie op een injectie creatine. Later werd aangetoond dat een eenmalige orale dosis creatine bij gezonde mensen, geen effect had op de glucoseconcentratie in het bloed (Stacey, 1933).

Volgens Rocic et al. (1995) kan bij de mens orale supplementatie met creatine de glucoseconcentratie in het bloed bij insuline gevoelige diabetes type II patiënten wel verlagen. In een recenter onderzoek werd in overeenkomst met Stacy et al. (1933) bij gezonde ongetrainde mensen aangetoond, dat een acute en korte periode van creatine supplementatie geen invloed uitoefent op de glucoseconcentratie van het bloed (Newman et al., 2002). Ferrante et al. (2000) lieten zien dat na een supplementatie met creatine bij muizen met de Huntington ziekte een hyperglycemie gereduceerd kon worden. Rooney et al. (2003) lieten dan weer zien dat een langdurige (42 dagen) creatine supplementatie de glucose homeostase bij de mens wel kan beïnvloeden en dat dit onafhankelijk gebeurt van een gewijzigde insulinerespons. De ongewijzigde insulinerespons is waarschijnlijk te wijten aan het feit dat de proefpersonen vegetarisch waren en daardoor lage basale creatine waarden in hun spieren en een lage turn-over van creatine hadden (Delanghe et al., 1989). Alle creatine werd daardoor opgenomen in de spieren en daardoor werden andere weefsels zoals de pancreas niet beïnvloed. Ook Gualano et al. (2008) laten in hun onderzoek bij de mens zien dat een langdurige (drie maanden) creatine supplementatie het glucosemetabolisme beïnvloed. Ze maakten aantoonbaar dat inspanning in beide groepen de glucosetolerantie verhoogd. Maar dat in de groep met creatine supplementatie, een nog hogere glucosetolerantie waargenomen kon worden. De insulinegevoeligheid werd hier niet beïnvloed.

4.2. Insuline

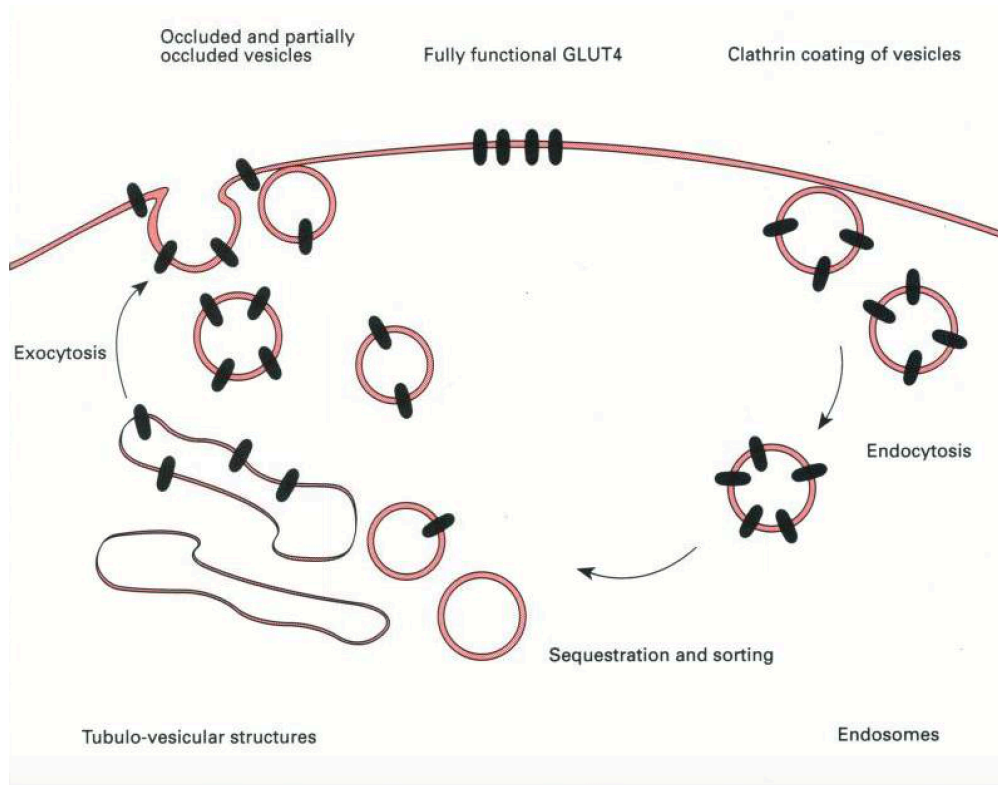
Insuline wordt gesecreteerd door de β -cellen van de eilandjes van Langerhans in de pancreas, overwegend als een respons op gestegen glucose- en aminozurenwaarden in het bloed (Harris en Snow, 1988 en Russel et al, 1996). De vroege insuline reactie bij paarden is gelijk aan die bij andere diersoorten (Persson et al, 1995 en Väihkönen et al, 2002). Na een maaltijd wordt de opname van glucose in de cellen geregeld door insuline. Binnen een paar minuten zorgt dit hormoon voor het transport, de metabolisatie en de opslag van glucose in de spier- en vetcellen (Sheperd en Kahn, 1999).

In vitro studies bij knaagdieren hebben aangetoond dat hoge extracellulaire concentraties van guanidine componenten, waaronder creatine, de insuline secretie in de pancreas stimuleren (Alsever et al., 1970, Marco et al., 1976 en Gempel et al., 1996). Daarnaast hebben Rooney et al. (2002) geconstateerd dat langdurige supplementatie van creatine bij ratten, de basale plasma insuline concentraties laat toenemen. Maar Green et al. (1996) konden in hun studie bij de mens naar de invloed van simultane toediening van creatine en koolhydraten, geen effect waarnemen op de serum insuline concentratie. Ze wijten de verhoogde creatine accumulatie (~60%) in de skeletspieren wel aan een stimulatie door insuline, bij het transport van creatine in de skeletspieren. Ook in een in vivo studie van Op 't Eijnde et al. (2001b) kon er na een orale- of intraveneuze toediening bij ratten geen verandering teweeg worden gebracht van de basale of glucose gestimuleerde insuline concentratie. Ze concludeerden daarmee dat de glycogeenlading ten gevolge van creatine, hier niet te wijten was aan een toename van de insuline concentratie of de insulinegevoeligheid. In een vergelijkbaar in vivo onderzoek bij de mens konden ook Newman et al. (2003) geen verandering uitlokken van de basale plasma insuline concentraties onder invloed van korte of langdurige toediening van creatine. Uit een recenter onderzoek bij Goto-Kakizaki ratten bleek na langdurige toediening van creatine, de insulino gene index gedaald te zijn. Dit zou te wijten zijn aan de verlaging van de insuline plasma concentratie, dat op zijn beurt het gevolg kan zijn van een toegenomen insuline gevoeligheid van insuline op plaatsen buiten de pancreas, waaronder de skeletspieren (Op 't Eijnde et al., 2006). In het onderzoek van Gualano et al. (2008) bij de mens, kon geen effect op de insulinegevoeligheid worden waargenomen.

4.3. Glucose transport

Doordat de cellen een lipidenmembraan bevatten kan glucose niet zomaar door de membranen heen diffunderen. Hiervoor zijn specifieke transporters nodig. Er zijn veel soorten glucosetransporters bekend, maar in de spieren speelt voornamelijk de glucose transporter 4 (GLUT-4) een rol (Sheperd en Kahn, 1999). Ook is volgens DeFronzo (1997) de spier de principiële plaats van insuline-gestimuleerde opname van glucose, en wordt minder glucose opgenomen door vetweefsel in vivo. Eerdere studies hebben geïndiceerd dat het transport van glucose in de spiercellen, de snelheidsbepalende stap is van het glucosemetabolisme (Yki-Jarvinen et al., 1987; Katz et al., 1988; Fink et al., 1992). Een belangrijk verschil met andere glucosetransporters, is dat 90% van de GLUT-4 transporters intracellulair in tubulo-vesiculaire structuren liggen (Figuur 11) en zich daardoor niet in de aanwezigheid van stimuli, zoals insuline of inspanning bevinden. Voordat ze hun functie kunnen

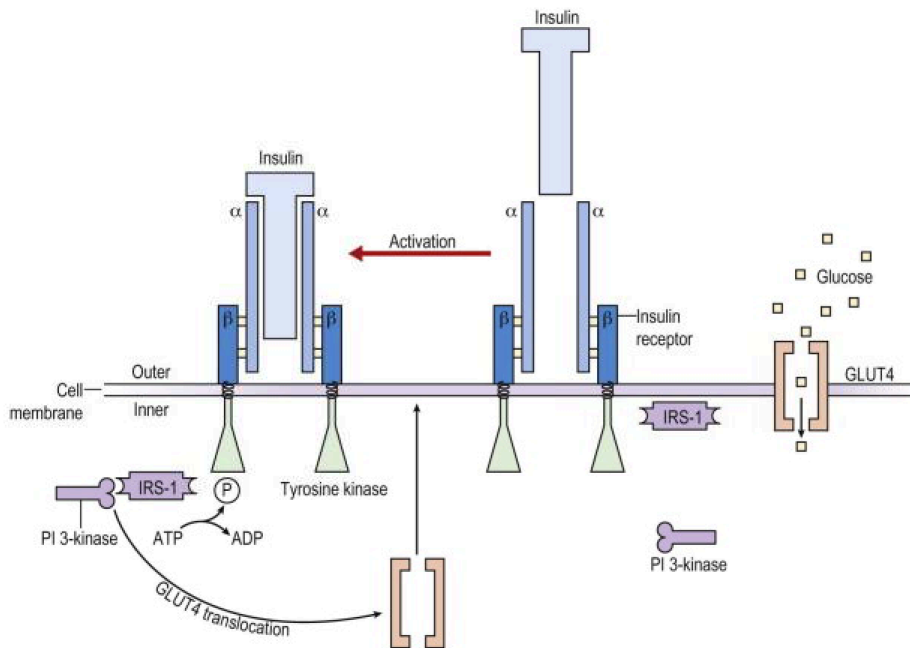
uitoefenen moeten de GLUT-4 transporters een translocatie ondergaan naar het plasmamembraan (Gould GW en Holman GD, 1993). Zoals te zien is in *Figuur 12* wordt deze translocatie gestimuleerd door insuline, en is de translocatie afhankelijk van de activatie van het enzym fosfo-inositide-3-kinase (Shepherd, Whithers en Siddle, 1998).



Figuur 11 GLUT-4 locatie.

GLUT-4 bevindt zich intracellulair in tubulo-vesiculaire structuren. Insuline stimuleert een exocytose naar het plasmamembraan. Recycleren van GLUT-4 gebeurt via clathrine gecoate vesikels.

Uit: Gould en Holman, 1993).



Figuur 12 Translocatie GLUT-4

Als insuline bindt op zijn receptor wordt het enzym tyrosine kinase geactiveerd. Dit enzym initieert een cascade van effecten. De initiële stap is de tyrosine fosforylatie van het insuline receptor substraat 1 (IRS-1). De activatie van fosfatidylinositol 3-kinase (PI 3-kinase) leidt uiteindelijk tot de translocatie van GLUT 4. Uit: Hincliff et al., 2014.

Volgens Shepherd et al. (1999) zou een therapie die de glucose transporters kan stimuleren, een belangrijke rol spelen in de behandeling van insuline resistentie. Ook werd door Op 't Eijnde et al. (2001a) gespeculeerd dat creatine supplementatie een rol kan spelen in de glucosehomeostase van het volledige lichaam en daardoor relevant kan zijn in de preventie en/of behandeling van ziekten gekarakteriseerd door insuline resistentie, zoals diabetes type II, obesitas en inactiviteit (Op 't Eijnde et al. (2001a).

Door Op 't Eijnde et al. (2001a) is met behulp van spierbiopten aangetoond dat de orale supplementatie van creatine bij de mens kan zorgen voor een behoud van de basale GLUT-4 concentraties in de musculus quadriceps femoris tijdens revalidatie. In de placebo groep werd hier een daling van ~20% waargenomen. Ook werd in deze studie aangetoond dat inspanning op zichzelf staand, geen stimulus is voor een toename van de GLUT-4 concentratie in de spier. Hetzelfde trainingsschema, gecombineerd met creatine supplementatie, liet wel een duidelijke stijging in GLUT-4 eiwitwaarden zien (Op 't Eijnde, 2001a). In tegenstelling tot Op 't Eijnde et al. (2001a) konden Van Loon et al. (2004) in hun onderzoek bij de mens geen verband aantonen tussen orale creatine supplementatie en de GLUT-4 expressie. Terwijl tijdens een onderzoek bij ratten dan weer wel is gebleken dat de supplementatie van creatine zorgt voor een toename van de GLUT-4 expressie. En dat deze toegenomen expressie, zorgt voor een toename van de insuline gestimuleerde glucose

opname in de spieren (Ju et al., 2005). Om precies te zijn werden er verhoogde waarden aan MEF2, MEF2A, MEF2C en MEF2D gevonden, dit zijn transcriptiefactoren die de GLUT4 expressie regelen. In een recente in vitro studie (Ceddia et al., 2004) kon geen significant verschil worden aangetoond wat betreft de GLUT-4 concentratie, insuline gemedieerde GLUT-4 translocatie, glucose opname en glycogeensynthese in de skeletspiercellen van ratten.

4.4. Glycogeen

Glucose wordt in de spieren opgeslagen in de vorm van glycogeen. Glycogeen supercompensatie (stapeling van glycogeen door een verhoogde koolhydraten inname) wordt in verschillende sporten toegepast ter bevordering van langdurige sportprestaties met een middelmatige intensiteit (Conlee, 1987 en Hawley et al, 1997). Dit in tegenstelling tot de supplementatie van creatine, die juist korte sportprestaties met een hoge intensiteit bevordert (Volek et al, 1997). Maar creatine en glycogeen hebben ook een gemeenschappelijke eigenschap. Bij een verhoogde aanvoer van een van beiden in de cel, neemt de osmotische gradiënt in de cel toe. Met als gevolg meer aantrekking van water naar intracellulair, waardoor het celvolume toeneemt (Olsson et al., 1970 en Ziegenfuss et al., 1998). Een toename van het celvolume zou de mitogeen geactiveerde proteïne kinase (MAPK) cascade kunnen activeren (Tilly et al., 1996, Lang et al., 1998 en Niisato et al., 1999). MAPK zou een rol kunnen spelen in de toename van de glycogeensynthese in de spier (Van Loon et al., 2004). In een onderzoek van Robinson et al. (1999) werd ontdekt dat er een synergetisch effect bestaat tussen creatinelading en glycogeen supercompensatie. De accumulatie van glycogeen was hoger in combinatie met creatinelading dan bij glycogeen supercompensatie alleen. De verklaring die door Robinson et al. (1999) werd gegeven is dat creatinelading het celvolume laat toenemen en dat een verhoogd celvolume zorgt voor een sterkere stimulatie van de glycogeensynthese (Low et al., 1998). In een latere studie van Nelson et al. (2000) werd het synergistisch effect tussen creatinelading en glycogeen supercompensatie opnieuw bewezen. Tevens werd daarin aangetoond dat het mogelijk is om een glycogeenlading uit te voeren nadat de creatinelading voltooid is. De glycogeenaccumulatie was hier ~10% hoger dan bij een simultane toediening van creatine en glucose.

Newman et al. (2003) konden geen stijging van het glycogeen in de spieren aantonen na een korte periode van creatine supplementatie bij mensen. Dit is in overeenkomst met de onderzoeken van Robinson et al. (1999) en Op 't Eijnde et al. (2001a), waarin werd aangetoond dat er alleen een stijging was van glycogeen na supplementatie met creatine bij de mens, mits de spier vooraf inspanning onderging. Dit is in tegenstrijd met de onderzoeken bij ratten (Op 't Eijnde et al, 2001b) en vissen (McFarlane et al., 2001) waar wel een stijging van glycogeen werd waargenomen na een kort durende supplementatie met creatine. In het onderzoek van Op 't Eijnde (2001b) werd bij ratten aangetoond dat de supplementatie van creatine zorgt voor een toename van het glycogeen in de spieren. Men zag dat daar het effect meer aanwezig was in de langzame aerobe spiervezels (type I) dan in de snelle anaerobe spiervezels (type II). Daarbij werd de vraag gesteld of het verschil in spiervezeltype per diersoort hier een rol zou spelen. Inspanning speelt een belangrijke rol in de resultaten. Zo is te zien in het onderzoek van Ceddia et al. (2004) dat in een in vitro onderzoek andere

resultaten waargenomen worden. De spiercellen worden dan immers niet blootgesteld aan inspanning en contractie.

Uit een onderzoek van Van Loon et al. (2004) is gebleken dat een supplementatie met een hoge dosis creatine (20 g/dag) op de korte termijn (5 dagen) zorgt voor een toename in totaal creatine, vrij creatine, CP en glycogeen. Maar na het voortzetten (37 dagen) van een lage dosis creatine (2 g/dag) konden de verhoogde waarden niet behouden blijven. De initiële stijging van het glycogeen in de spieren was niet te verklaren door een stijging van de insulineconcentratie, GLUT-4 mRNA of GLUT-4 eiwitten. Ze concludeerden dat de creatine opname op zichzelf de glycogeensynthese stimuleert en daarbij geen invloed uitoefent op de GLUT-4 expressie. Zo werden ook in een onderzoek bij ratten (Ju et al., 2005) verhoogde waarde aan glycogeen waargenomen in de skeletspieren na supplementatie met creatine. Op 't Eijnde et al. (2006) konden na langdurige supplementatie van creatine, bij Goto-Kakizaki ratten geen toename van glycogeen in de skeletspieren waarnemen.

4.5. AMP-geactiveerd proteïne kinase (AMPK)

AMPK is een eiwit dat bestaat uit een α -subunit en twee niet-katalytische β -subunits. De hoogste expressie van deze subunits is gevonden in de skeletspieren (Verhoeven et al., 1995), wat suggereert dat AMPK hier een fysiologische functie vervult. Hayashi et al. (2000) hebben in een onderzoek naar de werking van AMPK kunnen aantonen dat in bepaalde situaties de AMPK activiteit en het glucosetransport toenemen. Er is een toename gezien in situaties zoals contractie, hypoxie, inhibitie van de oxidatieve fosforylatie, hyperosmotische stress en een reductie in energiestatus. Ook andere onderzoeken hebben aangetoond dat AMPK een mediator is van het contractie-gestimuleerde glucosetransport in de skeletspier (Merill et al., 1997; Hayashi et al., 1998; Kurth-Kraczek et al., 1999; Bergeron et al., 1999). Holmes et al. (1999) hebben aangetoond dat de GLUT-4 concentratie in de skeletspier verhoogd was, na een toediening van een AMPK-agonist (amino-amidazole-4-carboximide riboside). Op 't Eijnde et al. (2001a) verwachtte op basis hiervan dat een supplementatie van creatine, door een verhoging van de AMPK activiteit een reden zou kunnen zijn van de toename van GLUT-4 in de spier.

Door Pontikos et al. (1998) en Ceddia et al. (2004) is gesuggereerd dat een daling in de CP/Cr ratio, gevolgd op een supplementatie met creatine, kan zorgen voor een stimulatie van het AMPK. De CP/Cr ratio daalt na supplementatie met creatine doordat CP en Cr niet wijzigen in dezelfde proportie (Greenhaff et al., 1994; Green et al., 1996, Hultman et al., 1996; Steenge et al., 1998). Young et al. (2002) lieten in hun onderzoek bij ratten gesupplementeerd met creatine, een daling zien van de CP/Cr ratio. In de studie van Van Loon et al. (2004) kon bij de mens geen daling van de CP/Cr ratio als gevolg van creatine supplementatie worden aangetoond. Door Ju et al. (2005) kon geen wijziging in de CP/Cr ratio na supplementatie van creatine bij ratten worden aangetoond. Ju et al. (2005) hebben wel bij ratten kunnen aantonen dat de supplementatie van creatine zorgt voor een toename in AMPK fosforylatie. Er werd in deze studie een toename van de transcriptie-factoren (Myocyte enhancer factor 2 (MEF2), MEF2A, MEF2C en MEF2D) van de GLUT-4 expressie aangetoond. In een studie van Al-Khalili et al. (2004) werd er bewezen dat er parallelle intracellulaire pathways van de signaaltransductie bestaan tussen AMPK en MEF2 in de skeletspier. Er is eerder

aangetoond dat de activatie van AMPK zorgt voor een toename van de MEF2 DNA bindingscapaciteit, dat op zijn beurt zorgt voor een toename van de GLUT-4 concentratie in de spier (Zheng et al., 2001; Ojuka et al., 2002; Al-Khalili et al., 2004). In de studie van Ju et al. (2005) werd een toename (~44%) van de bindingscapaciteit van MEF2 waargenomen, na supplementatie met creatine bij ratten.

Bespreking

Voor deze literatuurstudie is een uitgebreid wetenschappelijk literatuur onderzoek naar de kennis over creatine in het algemeen, het gebruik en de resultaten verricht. Er is door verschillende onderzoekers verondersteld dat creatine in de humane sportwereld een effectief en veilig supplement is (Persky en Rawson, 2007; Gualano et al., 2012). Maar hoe zit dit bij paarden en gezelschapsdieren?

Omdat creatine een rol speelt in het energiemetabolisme in de spier en bij mensen duidelijke ergogene effecten laat zien (Balsom et al., 1993; Greenhaff et al., 1993; Harris et al., 1993; Terjung et al., 2000), zou het interessant kunnen zijn om creatine supplementen te gebruiken als prestatie bevorderend middel bij sportpaarden en racehonden (Windhonden en Rhodesian ridgebacks). Op therapeutische basis zou dit van belang kunnen zijn en met name wat betreft het herstel na blessures en orthopedische operaties (Satolli et al., 1989 en Op 't Eijnde et al., 2001a). Een ander interessant punt is het glucose metabolisme (Shepherd et al., 1999 en Op 't Eijnde et al., 2001a) aangezien insulineresistentie ook een probleem is bij paarden en gezelschapsdieren.

Er is weinig literatuur gevonden over het gebruik van creatine bij gezelschapsdieren. Bij paarden is er voor het gebruik in de sport al veel onderzoek gedaan, maar nog met weinig positieve resultaten. Voornamelijk wat betreft de intestinale opname zijn er nog veel vragen. Doordat paarden herbivoren zijn, is creatine geen natuurlijk element in het dieet. Daardoor zijn ze voornamelijk afhankelijk van de endogene synthese van creatine en kan het zijn dat hun gastro-intestinale stelsel niet goed ingesteld is op de opname van creatine. Een onderzoek naar het effect van intraveneuze toediening van creatine zou daarom interessant kunnen zijn.

Onderzoeken bij mensen, knaagdieren en vissen lieten verschillende resultaten zien wat betreft de invloed op het glucosemetabolisme en de insulinegevoeligheid in de spier. De verschillen in resultaten kunnen als volgt worden verklaard. Ten eerste spelen diersoortverschillen, met verschillende verhoudingen in spiervezeltypen een rol. Ten tweede is het de vraag of de dosis zonder meer geëxtrapoleerd kan worden naar de verschillende diersoorten of dat daar een groot verschil is wat betreft de opnamecapaciteit tussen omnivoren, carnivoren en herbivoren. Ten derde is de studieduur erg variabel. En ten slotte speelt de aanwezigheid van inspanning tijdens de onderzoeken een rol. Uit de meeste onderzoeken blijkt dat creatine supplementatie een invloed heeft op het glucosemetabolisme (Hill, 1928; Rocic et al., 1995; Ferrante et al., 2000; Rooney et al., 2003; Gualano et al., 2008). Door Stacey et al. (1933) kon na een eenmalige dosis creatine bij de mens, geen effect op het glucosemetabolisme worden aangetoond.

Volgens Op 't Eijnde et al. (2001a) en Ju et al. (2005) wordt het glucosetransport beïnvloed door de supplementatie van creatine. Maar Van Loon et al. (2004) en Ceddia et al. (2004) konden geen significante verschillen aantonen ter hoogte van de GLUT-4 transporters. Ondanks de positieve resultaten in vitro (Alsever et al., 1970; Marco et al., 1976 en Gempel et al., 1996), kan er wat betreft de insulinegevoeligheid in vivo nog niet veel bewezen worden (Green et al., 1996; Op 't Eijnde et al., 2001b; Newman et al., 2003 en Gualano et al., 2008). In een recent onderzoek bij Goto-Kakizaki

ratten is wel een daling in de insulinoëne index waargenomen (Op 't Eijnde et al., 2006). Voordat creatine therapie kan worden toegepast bij diabetes type II, metabool syndroom, obesitas en andere aandoeningen gekarakteriseerd met insuline resistentie is meer onderzoek aangewezen. Voornamelijk het onderliggende mechanisme van het effect van creatine is een punt van discussie. Met name insuline (Op 't Eijnde et al., 2006) en de toename van het celvolume (Olsson et al., 1970; Low et al., 1998 en Ziegenfuss et al., 1998) worden daarbij aangehaald. Verder onderzoek is nodig om de verantwoordelijke mechanismen te identificeren. Zo ook andere mogelijke factoren naast de toename van het celvolume, zoals bijvoorbeeld andere insulineachtige hormonen moeten onderzocht worden (Op 't Eijnde et al., 2001b).

Wat betreft de glycogeenwaarden in de spieren, zijn er ook verschillende onderzoeksresultaten. De voornaamste reden hiervoor is, het al of niet aanwezig zijn van inspanning tijdens de onderzoeken. In onderzoeken van Robinsson et al. (1999) en Nelson et al. (2000) werd een synergistisch effect tussen creatinelading en glycogeen supercompensatie waargenomen. Ook hier wordt het verhoogde celvolume, door de osmotische gradiënt aangehaald als onderliggend mechanisme (Low et al., 1998). Er waren onderzoeken waar geen effect werd waargenomen wat betreft de glycogeenaccumulatie (Robbinson et al., 1999; Op 't Eijnde et al., 2001a; Newman et al., 2003), maar dit was te wijten aan het feit dat er geen voorafgaande inspanning plaats had gevonden. In tegenstelling tot deze conclusie, werd er bij vissen, ratten en mensen toch een stijging van glycogeen waargenomen zonder inspanning vooraf (Op 't Eijnde et al., 2001b; McFarlane et al., 2001; Van Loon et al., 2004 en Ju et al., 2005). Hierdoor blijkt creatine zelf dus ook een invloed op te glycogeen synthese uit te oefenen. Het is hier weer de vraag in hoeverre de verschillende methoden (doses, studieduur, gezonde versus zieke dieren) in de studies, de resultaten hebben beïnvloed. Maar omdat het zowel bij mensen, ratten als vissen waargenomen is, lijkt dit toch vrij betrouwbaar. Ondanks de verschillende resultaten wat betreft de CP/Cr ratio (Young et al., 2002; Van Loon et al., 2004 en Ju et al., 2005), kon er wel een significant effect waargenomen worden wat betreft de AMPK fosforylatie (Ju et al., 2005).

Na het bekijken van al deze onderzoeksresultaten kan worden geconcludeerd dat creatine supplementatie zeker een invloed uitoefent op het glucosemetabolisme. Over de invloed op de insulinegevoeligheid is nog meer onderzoek nodig. Of de onderzoeken die voornamelijk bij de mens en rat zijn uitgevoerd, kunnen worden geëxtrapoleerd naar paarden en gezelschapsdieren is nog de vraag. Zeker wat betreft het paard bestaan daar twijfels over, omdat paarden herbivoren zijn en de intestinale resorptie van creatine eerst goed onderzocht moet worden. Het zou interessant zijn om een onderzoek te verrichten bij paarden, waarbij na orale en intraveneuze toediening de hoeveelheid totaal creatine in de spier met behulp van biopten gemeten zou worden. Het berekenen van de juiste dosis met behulp van de dosis respons curve is hier van belang. Er kan dan worden gekeken naar het verschil in resultaten bij aerob (korte sprint) en anaerob (langere afstand op rustig tempo) getrainde paarden. In de meeste onderzoeken zijn de testen uitgevoerd na een aerobe inspanning, terwijl creatine in het creatinefosfaatsysteem een functie vervuld tijdens anaerobe inspanningen. Wat betreft de therapeutisch toepassing naar insuline resistentie toe, zou het interessant kunnen zijn om een langdurige supplementatie met creatine te onderzoeken.

Vermoed wordt wel dat creatine supplementatie in de diergeneeskunde een grotere rol kan gaan spelen op therapeutische basis. Zeker omdat er bewezen is dat het een veilig, effectief en goedkoop supplement is (Gualano et al., 2012).

Referentielijst

- Al-Khalili L., Chibalin A.V., Sjodin B., Nylen C., Zierath J.R. en Krook A. (2004). MEF2 activation in differentiated primary human skeletal muscle cultures requires coordinated involvement of parallel pathways. *The American Journal of Physiology - Cell Physiology* 286, C1410-1416.
- Alsever R.N., Georg R.H. en Sussman K.E. (1970). Stimulation of insulin secretion by guanidinoacetic acid and other guanidine derivatives, *Endocrinology* 86, 332-336.
- Andrews R.P., Greenhaff S., Curtis S., Perry A. en Cowley A.J. (1998). The effect of dietary creatine supplementation on skeletal muscle metabolism in congestive heart failure. *European Heart Journal* 19, 617-622.
- Balsom P.D., Ekblom B., Soderlund K. en Hultman E. (1993). Creatine supplementation and dynamic high intensity exercise. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports* 3, 143-149.
- Beal F. (2011). Neuroprotective effects of creatine. *Amino Acids* 40 (5), 1305-1313.
- Bergeron R., Russel R.R. III, Young L.H., Ren J.M., Marcucci M, Lee A. en Shulman G.I. (1999). Effect of AMPK activation on muscle glucose metabolism in conscious rats. *American Journal of Physiology* 276, E938-E944.
- Bourgeois J.M., Nagel K., Pearce E., Wright M., Barr R.D. en Tarnopolsky M.A. (2008). Creatine monohydrate attenuates body fat accumulation in children with acute lymphoblastic leukemia during maintenance chemotherapy. *Pediatric blood and cancer* 51 (2), 183-187.
- Campos-Ferraz P.L., Gualano B., das Neves W., Andrade I.T., Hangai I., Perceira R.T.S., Bezerra R.N., Deminice R., Seelaender M. en Lancha A.H. (2016). Exploratory studies of the potential anti-cancer effects of creatine. *Amino acids* 2016, 1-9.
- Casey A., Constantin-Teodosiu D., Howel S., Hultman E. en Greenhaff P.L. (1996). Creatine ingestion favorably affects performance and muscle metabolism during maximal exercise in humans. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism* 271, E31-E37.
- Ceddia R.B. en Sweeney G. (2004). Creatine supplementation increases glucose oxidation and AMPK phosphorylation and reduces lactate production in L6 rat skeletal muscle cells. *The Journal of Physiology* 555.2, 409-421.
- Chung Y.L., Alexanderson H., Pipitone N, Morrison C., Dastmalchi M., Stahl-Hallengren C., Richards S., Thomas E.L., Hamilton G., Bell J.D., Lundberg I.E. en Scott D.L. (2007). Creatine supplements in patients with idiopathic inflammatory myopathies who are clinically weak after conventional pharmacologic treatment: six-month, double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Arthritis and Rheumatology* 57 (4), 694-702.
- Conlee R.K. (1987). Muscle glycogen and exercise performance: a twenty year perspective. *Exercise and sport science reviews* 15, 1-28.
- Constantin-Teosiu D., Greenhaff S.M., Gardiner M.D., Randall E., March E. en Bennet T. (1995). Attenuation by creatine of myocardial metabolic stress in Brattleboro rats caused by chronic inhibition of nitric oxide synthase. *British Journal of Pharmacology* 116, 3288-3292.

- Davie A.J., Evans D.L., Hodgson D.R., et al. (1999). Effects of muscle glycogen depletion on some metabolic and physiological responses to submaximal treadmill exercise. *Canadian Journal of Veterinary Research* 63, 241–247.
- DeFronzo R.A (1997). Pathogenesis of type 2 diabetes: metabolic and molecular implications for identifying diabetes genes. *Current Diabetes Reviews* 5, 177-269.
- Delanghe J., Slypere J.P., De Buyzere M., Robbrecht J., Wieme R. en Vermeulen A. (1989). Normal reference values for creatine, creatinine and carnitine are lower in vegetarians. *Clinical chemistry* 35, 1802-1803.
- Dobenecker B. en Braun U. (2015). Creatine and creatinine contents in different diet types for dogs – effects of source and processing. *Animal Physiology and Animal nutrition* 99, 1017-1024.
- Earnest C., Almada A. en Mitchell T. (1996). High-performance capillary electrophoresis-pure creatine monohydrate reduce blood lipids in men and women. *Clinical Science* 91: 113-118.
- Febbraio M.A., Flanagan T.R., Snow R.J, Zhao S. en Carey M.F. (1995). Effect of creatine supplementation on intramuscular TCr, metabolism and performance during intermittent, supramaximal exercise in humans. *Acta Physiologica Scandinavica* 155: 387-395.
- Ferrante R.J., Andreassen O.A., Jenkins B.G., Dedeoglu A., Kuemmerle S., Kubilus J.K., Kaddurah-Daouk R., Hersch S.M. en Beal M.F. (2000). Neuroprotective effects of creatine in a transgenic mouse model of Huntington’s disease. *The Journal of Neuroscience* 15: 4389-4397.
- Fink R.I., Wallace P., Brechtel G. en Olefsky J.M. (1992). Evidence that glucose transport is rate-limiting for in vivo glucose uptake. *Metabolism* 41 (8), 897-902.
- Fox E.L., Bowers R.W. en Foss, M.L. (1997). *Fysiologie voor lichamelijk opvoeding, sport en revalidatie*. Vierde editie, Elsevier/De tijdstroom, Maarssen.
- Fuld J.P., Kilduff L.P., Neder J.A., Pitsiladis Y., Lean M.E.J., Ward S.A. en Cotton M.M. (2005). Creatine supplementation during pulmonary rehabilitation in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 60, 531-537.
- Funanage V.L., Carango P., Shapiro I.M., Tokuoka T. En Tuan R.S. (1992). Creatine kinase activity is required for mineral deposition and matrix synthesis in endochondrial growth cartilage. *Bone and Mineral* 17 (2), 228-236.
- Gempel K., Brdiczka D., Kaddurah-Daouk R., Wallimann, T., Kaufhold P. En Gerbitz K.D. (1996). The creatine analogue cyclocreatine increases insulin secretion in INS-1 cells via a K⁺ channel independant mechanism. *Diabetologia* 39, 109-109.
- Gerber I., Gwynn I., Alini M. en Wallimann T. (2005). Stimulatory effects of creatine on metabolic activity, differentiation and mineralization of primary osteoblast-like cells in monolayer and micromass cell cultures. *European cells and materials* 10, 8-22.
- Gordon A., Hultman E., Kauser L. et al. (1995). Creatine supplementation in chronic heart failure increases skeletal muscle creatine phosphate and muscle performance. *Cardiovascular Research* 30, 413-418.
- Gould G.W. en Holman G.D. (1993). The glucose transporter family: structure, function, and tissue-specific expression. *Biochemical Journey* 295(Pt 2), 329-341.

- Green A.L., Hultman E., Macdonald I.A., Sewell D.A. en Greenhaff P.L. (1996). Carbohydrate ingestion augments skeletal muscle creatine accumulation during creatine supplementation in humans. *The American Journal of Physiology* 271 (Endocrinology & Metabolism 34), E821-E826.
- Greenhaff P.L., Casey A., Short A.H., Harris R.C., Soderlund K. en Hultman E. (1993). Influence of oral creatine supplementation on muscle torque during repeated bouts of maximal voluntary exercise in man. *Clinical Science* 84, 565-571.
- Greenhaff P.L., Bodin K. Soderlund K. en Hultman E. (1994). The effect of oral creatine supplementation on muscle phosphocreatine resynthesis. *The American Journal of Physiology* 266, E725-E730.
- Grindstaff P.D., Kreider R., Bishop R. et al. (1997). Effects of oral creatine supplementation on repetitive sprint performance and body composition in competitive swimmers. *International Journal of Sports nutrition and exercise metabolism* 7, 330-346.
- Gualano B., Novaes R.B., Artioli G.G., Freire T.O., Coelho D.F., Scagliusi F.B., Rogeri P.S., Roschel H., Ugrinowitsch C. En Lancha Junior A.H. (2008). Effect of creatine supplementation on glucose tolerance and insulin sensitivity in sedentary healthy males undergoing aerobic training. *Amino acids* 34: 245-250.
- Guerrero-Ontiveros M.L. en Wallimann T. (1998). Creatine supplementation in health and disease. Effects of chronic creatine ingestion in vivo: Down-regulation of the expression of creatine transporter isoforms in skeletal muscle. *Molecular and Cellular Biochemistry* 184, 427-437.
- Harris P. en Snow D.H. (1988). The effects of high intensity exercise on the plasma concentration of lactate, potassium and other electrolytes. *Equine veterinary journal* 20(2), 109-113.
- Harris R.C., Soderlund K. en Hultman E. (1992). Elevation of creatine in resting and exercised muscle of normal subjects by creatine supplementation. *Clinical Science (London)* 83, 367-374.
- Harris R.C., Viru M., Greenhaff P.L. en Hultman E. (1993). The effect of oral creatine supplementation on running performance during maximal short term exercise. *Journal of Physiology (London)* 467, 74.
- Harris R.C., , Lowe J.A., Warnes K. en Orme C.E. (1997). The concentration of creatine in meat, offal and commercial dog food. *Research in Veterinary Science* 62, 58-62.
- Haughland R.B. en Chang D.T. (1975). Insuline effects on creatine transport in skeletal muscle. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 148, 1-4.
- Hawley J.A., Schabort E.J., Noakes T.D., en Dennis S.C. (1997). Carbohydrate-loading and exercise performance: an update. *Sports medicine* 24, 73-81.
- Hayashi T., Hirshman M.F., Kurth E.J., Winder W.W. en Goodyear L.J. (1998). Evidence for 5' AMP-activated proteine kinase mediation of the effect of muscle contraction on glucose transport. *Diabetes* 47, 1369-1373.
- Hayashi T., Hirshman M.F., Fujii N., Habinowski S.A., Witters L.A. en Goodyear L.J. (2000). Metabolic stress and altered glucose transport activation of AMP-activated protein kinase as a unifying coupling mechanism. *Diabetes* 49, 527-531.
- Hinchcliff, K. W., Kaneps, A. J., en Geor, R. J. (2014). *Equine sports medicine and surgery*. Elsevier Health Sciences, p. 75-78; 771-775; 828-829.

- Holmes B.F., Kurth-Kraczek E.J. en Winder W.W. (1999). Chronic activation of 5'-AMPK-activated protein kinase increases GLUT4, hexokinase, and glycogen in muscle. *Journal of Applied Physiology* 87, 1990-1995.
- Hultman E. en Nilsson L.H. (1971). Liver glycogen in man. Effect of different diets and muscular exercise. In *Muscle metabolism during exercise*. Springer US, p. 143-151.
- Hultman E., Soderlund K., Timmons J.A., Cederblad G. en Greenhaff P.L (1996). Muscle creatine loading in men. *Journal of Applied Physiology* 81 (1), 232-237.
- Ju J., Smith J.L., Oppelt P.J. en Fisher J.S. (2005). Creatine feeding increases GLUT4 expression in rat skeletal muscle. *American Journal of Physiology (Endocrinology & Metabolism)* 288, E347-E352.
- Juhn M.S. en Tarnopolsky M. (1998). Oral creatine supplementation and athletic performance: a critical review. *Clinical Journal of Sport medicine* 8, 286-297.
- Katz A., Nyomba B.L. en Bogardus C. (1988). No accumulation of glucose in human skeletal muscle during euglycemic hyperinsulinemia. *American Journal of Physiology* 255, E942-E945.
- Klopstock T., Elstner M. en Bender A. (2011). Creatine in mouse models of neurodegeneration and aging. *Amino Acids* 40 (5), 1297-1303.
- Koszalka T.R. en Andrew C.L. (1972). Effect of insulin on the uptake of creatine-1-14C by skeletal muscle in normal and X-irradiated rats. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 139, 1265-1271.
- Kreider R.B., Ferreira M. en Wilson M. et al. (1998). Effect of creatine supplementation on body composition, strength and sprint performance. *Medicine and Science in Sports and exercise* 30, 73-82.
- Kurth-Kraczek E.J., Hirshman M.F., Goodyear L.J. en Winder W.W. (1999). 5' AMP-activated protein kinase activation causes GLUT4 translocation in skeletal muscle. *Diabetes* 48, 1667-1671.
- Kushmerick M.J., Moerland T.S. en Wiseman R.W. (1992). Mammalian skeletal muscle fibers distinguished by contents of phosphocreatine, ATP and Pi. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(16), 7521-7525.
- Lang F., Busch G.L., Ritter M. et al. (1998). Functional significance of cell volume regulatory mechanisms. *Physiological Reviews* 78, 247-306.
- Lawler J.M., Barnes W.S, Wu G., Song W. en Demaree S. (2002). Direct antioxidant properties of creatine. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 290, 47-52.
- Louis M., Lebacqz J., Poortmans J.R., Belpaire-Dethiou M.C., Devogelaer J.P., Van Hecke P., Goubel P. en Francaux M. (2003). Beneficial effects of creatine supplementation in dystrophic patients. *Muscle and nerve* 27 (5), 604-610.
- Low S.Y., Rennie M.J. en Taylor P.M. (1996). Modulation of glycogen synthesis in rat skeletal muscle by changes in cell volume. *Journal of physiology (London)* 495, 299-303.
- Marco J., Calle C., Hedo J.A. en Villanueva M.L. (1976). Glucagon-releasing activity of guanidine compounds in mouse pancreatic islets. *FEBS Letters* 64, 52-54.

- Matthews R.T., Yang L., Jenkins B.G., Ferrante R.J., Rosen B.R., Kaddurah-Daouk R. en Beal M.F. (1998). Neuroprotective effects of creatine and cyclocreatine in animal models of Huntingtons's disease. *Journal of Neuroscience* 18, p.156-163.
- Merrill G.F., Kurth E.J., Hardie D.G. en Winder W.W. (1997). AICA riboside increases AMP-activated protein kinase, fatty-acid oxidation, and glucose uptake in rat muscle. *American Journal of Physiology* 273, E1107-E1112.
- Mihic S., Macdonald J.R., McKenzie S. en Tarnopolsky M.A. (2000). Acute creatine loading increases fat-free mass, but does not effect blood pressure, plasma creatinine nor CK activity. *Medicine and science in Sports and exercise* 32 (2), 291-296.
- Nelson A.G., Arnall D.A., Kokkonen J., Day R. en Evans J. (2000). Muscle glycogen supercomposition is enchanced by prior creatine supplementation. *Medicine and science in sports and exercise* 33 (7), 1096-1100.
- Newman J.E.N., Hargreaves M, Garnham E. en Snow R.J. (2003). Effect of creatine ingestion on glucose tolerance and insulin sensitivity in men. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 35 (1), 69-74.
- Niisato N., Post M., Van Driessche W. en Marunaka Y. (1999). Cell zwelling activates stress-activated protein kinases. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 266, 547-550.
- Ojuka E.O., Jones T.E., Nolte L.A., Chen M., Wamhoff B.R., Sturek M. en Holloszy J.O. (2002). Regulation og GLUT4 biogenesis in muscle: evidence for involvement of AMPK and Ca²⁺. *American Journal of Physiology (Endocrinology & Metabolism)* 282, E1008-E1013.
- Olsson K.E. en Saltin B. (1970). Variation in total body water with muscle glycogen changes in man. *Acta Physiologica Scandinavica*. 80, 11-18.
- Op 't Eijnde B., Ursø B., Richter E.A., Greenhaff P.L. en Hespel P. (2001a). Effect of oral creatine supplementation on human muscle GLUT4 protein content after immobilization. *Diabetes* 50 (1), 18-23.
- Op 't Eijnde B., Richter E.A., Henquin J.-C., Kiens B. en Hespel P. (2001b). Effect of creatine supplementation on creatine and glycogen in rat skeletal muscle. *Acta Physiologica Scandinavica* 171, 169-176.
- Op 't Eijnde B., Jijkli H., Hespel P. en Malaisse W.J. (2006). Creatine supplementation increases soleus muscle creatine content and lowers the insulinogenic index in an animal model of inherited type 2 diabetes. *International Journay of Moleculair Medicine* 17, 1077-1084.
- Osbakken M., Ito K., Zhang D. et al. (1992). Creatine and cyclo-creatine effects on ischemic myocardium: 31P-nuclear magnetic resonance evaluation of intact heart. *Cardiology* 80, 184-195.
- Peeters B.M., Lantz C.D. en Mayhew J.L. (1999). Effect of oral creatine monohydrate and creatine phosphate supplementation on maximal strenght indices, body composition, and bloodpressure. *The Journal of Strenght and conditioning Research* 13, 3-9.
- Persson S.G.B., Essén-Gustavsson B., Funkquist P. en Blanco Romero P. (1995). Plasma, red cell and whole blood lactate concentrations during prolonged treadmill exercise at VLA4. *Equine Veterinary Journal* 18, 104–107.

- Piiper J., Di Prampero P.E. en Cerretelli P. (1968). Oxygen debt and high-energy phosphates in gastrocnemius muscle of the dog. *American Journal of Physiology Legacy Content* 215 (3), 523-531.
- Piiper J. en Spiller P. (1970). Repayment of O₂ debt and resynthesis of high-energy phosphates in gastrocnemius muscle of the dog. *Journal of Applied Physiology* 28 (5), 657-662.
- Ponticos M., Qi Long L., Morgan J.E., Hardie D.G., Partridge T.A. en 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, 1688-1699.
- Poortmans J.R., Auguier H., Renaut V., Durussel A., Saugy M. en Brisson G.R. (1997). Effect of short-term creatine supplementation on renal responses in men. *The European Journal of Applied Physiology* 76, 566-567.
- Poortmans J.R. en Francaux M. (1999). Long-term oral creatine supplementation does not impair renal function in healthy athletes. *Medicine and Science in Sports and exercise* 31, 1108-1110.
- Rawson E. en Persky A. (2007). Mechanisms of muscular adaptations to creatine. *International Journal of Sports and medicine* 8, 43-53.
- Robinson T.M., Sewel D.A., Hultman E. en Greenhaff P.L. (1999). Role of submaximal exercise in promoting creatine and glycogen accumulation in human skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology* 87, 598-604.
- Ruggeri P. (2000). Factors modifying creatine accumulation in human skeletal muscle. In *creatine: From basic science to clinical applications*, ed. Paoletti R., Poli A. en Jackson A.S. Kluwer academic publishers, London, p. 59-63.
- Russell, M. A., Rodiek, A. V., & Lawrence, L. M. (1986). Effects of exercise, training and sampling location on selected plasma free amino acids in horses. *Canadian Journal of Animal Science*, 66 (3), 827-831.
- Schnirring L. (1998). Creatine supplements face scrutiny: will users pay later? *The Physician and Sportsmedicine* 6, 15-22.
- Sestili P., Martinelli C., Colombo E., Barbieri E., Potenza L., Sartini S. en Fimognari C. (2011). Creatine as an antioxidant. *Amino Acids* 40, 1385-1396.
- Sewell D.A. en Harris R.C. (1995). Effects of creatine supplementation in the Thoroughbred horse. *Equine veterinary journal* 18, 239-242.
- Shepherd P.R., Whithers D.J. and Siddle K. (1998). Phosphoinositide 3-kinase: the key switch mechanism in insuline signalling. *Biochemical Journal* 333 (3), 471-490.
- Shepherd P.R. en Kahn B.B. (1999). Glucose transporters and insuline action. *The New England Journal of Medicine* 341, 248-257.
- Steenge G.R., Lambourne J., Casey A., Macdonald I.A. en Greenhaff P.L. (1998). The stimulatory effect of insulin on creatine accumulation in human skeletal muscle. *American journal of Physiology* 275, E974-E979.

- Stone M.H., Sanborn K., Smith L. et al. (1999). Effects of in-season (5 weeks) creatine and pyruvate supplementation on anaerobic performance and body composition in American football players. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism* 9, 146-165.
- Stout J.R., Echerson D., Noonan D., Moore G. en Cullen D. (1999). Effects of creatine supplementation on exercise performance and fat free weight in football players during training. *Nutrition Research* 19, 217-225.
- Suh S. H., Paik I. Y., en Jacobs K. (2007). Regulation of blood glucose homeostasis during prolonged exercise. *The journal of molecules and cells* 23, 272-279.
- Tarnopolsky M.A., Macdonald J. en Roy B. (1997). A randomized, double blind trial of creatine monohydrate in patients with mitochondrial cytopathies. *Muscle and nerve* 20, 1502-1509.
- Tarnopolsky M.A. en Martin J. (1999). Creatine monohydrate increases strenght in patients with neuromusculair disease. *Neurology* 52, 854-857.
- Teixeira F.A., Araújo A.L., Ramalho L.O., Adamkosky M.S., Lacerda T.F. en Coelho C.S. (2015). Oral creatine supplementation on performance of Quarter Horses used in barrel racing. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 2015.
- Terjung L., Clarkson P., Eichner E.R., Greenhaff P.L., Hespel P., Israel R.G., Kraemer W.J., Meyer R.A., Spriet L.L., Tarnopolsky M.A., Wagenmakers A.J.M. en Williams M.H. (2000). The physiological and health effects of oral creatine supplementation. *Medicine and Science in Sports and exercise* 32 (3), 706-717.
- Tilly B.C., Gaestel M., Engel K., Edixhoven M.J. en de Jonge H.R. (1996). Hypo-osmotic cell swelling activates the p38 MAP kinase signalling cascade. *FEBS Letters* 395, 133-136.
- Toganowski W. (1996). The effects of phoshocreatine introduced simultaneously into many cardiac cells. *European Journal of Applied physiology* 431, 652-657.
- Väihkönen L.K., Ojala M. en Pösö A.R. (2002). Age-related changes and inheritance of lactate transport activity in red blood cells. *Equine Veterinary Journal*, 34, 568-572.
- Valberg S.J. (1996). Muscular causes of exercise intolerance in horses. *Veterinary Clinics of North America* 12, 495-515.
- Vandebeurie F., Vandeneynde B.M., Vandenberghe K. en Hespel P. (1998). Effect of creatine on endurance capacity and sprint power in cyclists. *International Journal of sports medicine* 19, 490-495.
- Vandenberghe K., Goris M., Van Hecke P., Van Leemputte M.V., Van Gerven L. en Hespel P. (1997). Long-term creatine intake is beneficial to muscle performance during resistance training. *Journal of Applied Physiology* 83, 2055-2063.
- Verhoeven A.J., Woods A., Brennan C.H., Hawley S.A., Hardie D.G., Scott J., Beri R.K. en Carling D. (1995). The AMP-activated protein kinase gene is highly expressed in rat skeletal muscle: alternative splicing and tissue distribution of the mRNA. *European Journal of Biochemistry* 228, 236-243.
- Volek J.S., Duncan N.D., Mazzetti S.A. et al. (1999). Performance and muscle fiber adaptations to creatine supplementation and heavy resistance training. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 312, 1147-1156.

- Volek J.S., Ballard K.D., Forsythe C.E. (2008). H1 Overview of creatine metabolism. Uit het boek: Essentials of Creatine in Sports and Health, Humana Press 262, 1-23.
- Wagenmakers A. J. M. (1999). Nutritional supplements: effects on exercise performance and metabolism. Perspectives in Exercise Science and Sports Medicine 12, 207-259.
- Walliman T., Wyss M., Brdiczka D., Nikolay K. en Eppenberger H.M. (1992). Intracellulair compartimentation, structure and function of creatine kinase isoenzymes in tissues with high and fluctuating energy demands: 'the phosphocreatine circuit' for cellular energy homeostasis. Biochemistry Journal 281, 21-40.
- Wyss M. en Kaddurah-Daouk R. (2000). Creatine and creatinine metabolism. Physiological Reviews 80, 177-242.
- Yki-Jarvinen H., Young A.A., Lamkin C. en Foley J.E. (1987). Kinetics of glucose disposal in whole body and across the forearm in man. Journal of Clinical Investigation 79 (6), 1713.
- Young J.C. en Young R.E. (2002). The effect of creatine supplementation on glucose uptake in rat skeletal muscle. Life sciences 71: 1731-1737.
- Zheng D., Maclean P.S., Pohnert S.C., Knight J.B., Olson A.L., Winder W.W. en Dohm G.L. (2001). Regulation of muscle GLUT-4 transcription by AMP-activated protein kinase. Journal of Applied Physiology 91, 1073-1083.
- Ziegenfuss T.N., Lowery L.M. en Lemon P.W.R. (1998). Acute fluid volume changes in men during three days of creatine supplementatation. Journal for Exercise Physiologists 1 (3).

Bijlagen

Table 1 The antioxidant or “antioxidant-like” effects of Cr

Reference	Effect
Matthews et al. (1998)	Cr supplementation protects rats from nitropropionic acid-intoxication
Lawler et al. (2002)	Direct antioxidant effect of Cr in acellular systems
Berneburg et al. (2005)	Cr protects from induction of the common deletion, a mtDNA mutation marker, generated in normal human fibroblast by repetitive UV-A irradiation through an energy-dependent mechanism
Lenz et al. (2005)	Protection of mtDNA against UV- and oxidative stress-induced damage in human keratinocytes
Meyer et al. (2006) Santiago et al. (2008)	Cr prevents mitochondrial ROS formation through the preservation of mtCK activity
Sestili et al. (2006)	Cr affords cytoprotection in oxidatively injured cultured mammalian cells <i>via</i> direct antioxidant activity
Guidi et al. (2008)	Cr protects against oxidative mtDNA damage in HUVEC cells
Rakpongsiri and Sawangkoon (2008)	The combination of Cr supplementation, oestrogen replacement and combined exercise training ameliorates the cardiac reserve function and antioxidant reservation against oxidative stress in oestrogen-deficient hamsters
Bender et al. (2007)	Improved health and survival in Cr-supplemented mice
Fimognari et al. (2009)	Creatine protects against oxidative RNA damage
Rambo et al. (2009)	Attenuation of seizures and oxidative damage in pentilentrazol-intoxicated rats
Sestili et al. (2009)	Cr supplementation prevents the inhibition of myogenic differentiation in oxidatively injured C2C12 murine myoblasts
Hosamani et al. (2010)	Attenuation of rotenone-induced mitochondrial oxidative damage and neurotoxicity in <i>Drosophila melanogaster</i> supplemented with Cr
Young et al. (2010)	Induction of the antioxidant enzymes peroxiredoxin-4, a type 2 peroxiredoxin-4 reductase and thioredoxin dependent peroxide reductase in C2C12 cells

Bijlage I Overzicht van de onderzoeken naar creatine als antioxidant.

Uit: Sestili et al., 2011.

