

# Voorwoord

Met dit boek hoop ik te kunnen voorzien in de groeiende behoefte aan wetenschappelijk onderbouwde informatie over voedingssupplementen, in de Nederlandse taal. Hiervoor is het boek voorzien van meer dan vijfhonderd referenties naar de wetenschappelijke literatuur en heb ik zorg gedragen om de gepresenteerde informatie op de meest actuele stand van zaken te baseren. De focus van dit boek ligt op voedingssupplementen die de spierkracht vergroten of de spiergroei bevorderen. Ook zijn in het boek diverse kaders opgenomen die aanvullende informatie bieden over daarvoor besproken onderwerpen.

Vanzelfsprekend komen niet alle voedingssupplementen aan bod. Een boek als dit zou ik anders hoogstwaarschijnlijk nooit af krijgen. Daarom heb ik een selectie moeten maken uit de waaier aan beschikbare voedingssupplementen. Die selectie is gebaseerd op de meer populaire voedingssupplementen en de supplementen waarover voldoende informatie beschikbaar is in de wetenschappelijke literatuur. Verder staan in het eerste deel van het boek enkele hoofdstukken die de handvatten bieden om deze informatie juist te kunnen interpreteren en om verdere informatie uit de wetenschappelijke literatuur te kunnen vergaren.

Hoewel ik mijn best heb gedaan om de informatie in dit boek zo correct mogelijk te presenteren, is het toch mogelijk dat er onverhoopt fouten of onvolkomenheden ingeslopen zijn. Mocht u dergelijke fouten of onvolkomenheden tegenkomen, of op- en aanmerkingen hebben, dan bent u van harte welkom om deze te sturen naar mijn e-mailadres [peter@peterbond.nl](mailto:peter@peterbond.nl).

Tot slot zou ik graag mijn proeflezers, in het bijzonder Rob van Berkel, Jorn Trommelen en Peter Van Mol, willen bedanken voor hun feedback op eerdere versies van dit boek.

*Peter Bond*  
*Zeist, februari 2017*

# Inhoudsopgave

<b>I</b>	<b>Fysiologische basis</b>	
<b>1</b>	<b>Spierfysiologie</b> .....	<b>15</b>
1.1	Inleiding	15
1.2	Macro- en microscopische structuur	16
1.3	Spiercontractie	18
1.4	Spiervezeltypes	20
1.5	Satellietcellen	22
1.6	Neuromusculaire aansturing	23
<b>2</b>	<b>Energiesystemen</b> .....	<b>27</b>
2.1	Inleiding	27
2.2	Fosfaatenergiesysteem	28
2.3	Glycolytische energiesysteem	30
2.3.1	Cori-cyclus .....	32
2.4	Oxidatieve energiesysteem	33
2.4.1	Citroenzuurcyclus .....	35
2.4.2	Ademhalingsketen .....	37

<b>3</b>	<b>Absorptie, metabolisme en veiligheid</b> .....	<b>39</b>
<b>3.1</b>	<b>Inleiding</b>	<b>39</b>
<b>3.2</b>	<b>Absorptie</b>	<b>40</b>
3.2.1	Passief transport .....	42
3.2.2	Actief transport .....	43
<b>3.3</b>	<b>Metabolisme</b>	<b>45</b>
<b>3.4</b>	<b>Veiligheid</b>	<b>46</b>
<b>4</b>	<b>Moleculaire mechanismen van spiergroei</b> .....	<b>49</b>
<b>4.1</b>	<b>Inleiding</b>	<b>49</b>
<b>4.2</b>	<b>mTOR-signalering</b>	<b>50</b>
4.2.1	Regulatie door groeifactoren .....	51
4.2.2	Regulatie door energiestatus .....	54
4.2.3	Regulatie door aminozuren .....	56
4.2.4	Regulatie door mechanische belasting .....	58

## II

## Supplementen

<b>5</b>	<b>Bèta-alanine</b> .....	<b>63</b>
<b>5.1</b>	<b>Inleiding</b>	<b>63</b>
5.1.1	Biosynthese .....	64
5.1.2	Absorptie .....	64
5.1.3	Metabolisme en excretie .....	66
<b>5.2</b>	<b>Werkingsmechanisme</b>	<b>67</b>
5.2.1	pH-buffer .....	67
5.2.2	Verhoogde Ca <sup>2+</sup> -gevoeligheid .....	68
5.2.3	Carnosineshuttlehypothese .....	69
5.2.4	Antioxidante activiteit .....	69
<b>5.3</b>	<b>Klinische resultaten</b>	<b>71</b>
<b>5.4</b>	<b>Veiligheid</b>	<b>72</b>
<b>5.5</b>	<b>Conclusie</b>	<b>73</b>
<b>6</b>	<b>Bèta-hydroxy-bèta-methylbutaanzuur (HMB)</b> .....	<b>75</b>
<b>6.1</b>	<b>Inleiding</b>	<b>75</b>
6.1.1	Biosynthese .....	76
6.1.2	Absorptie .....	77
6.1.3	Metabolisme en excretie .....	78
<b>6.2</b>	<b>Werkingsmechanisme</b>	<b>78</b>
6.2.1	Stimulering van mTOR-signalering .....	79
6.2.2	Remming proteasomale afbraak .....	79

6.2.3	Verbetering van de membraanintegriteit . . . . .	80
6.2.4	Verhoogde satellietcelactiviteit . . . . .	81
6.2.5	Remming van autofagie/lysosomale afbraak . . . . .	82
<b>6.3</b>	<b>Klinische resultaten</b>	<b>82</b>
<b>6.4</b>	<b>Veiligheid</b>	<b>84</b>
<b>6.5</b>	<b>Conclusie</b>	<b>85</b>
<b>7</b>	<b>Cafeïne . . . . .</b>	<b>87</b>
<b>7.1</b>	<b>Inleiding</b>	<b>87</b>
7.1.1	Absorptie . . . . .	88
7.1.2	Metabolisme en excretie . . . . .	89
<b>7.2</b>	<b>Werkingsmechanisme</b>	<b>90</b>
7.2.1	Verschuiving van substraatverbruik . . . . .	91
7.2.2	Stimulering natriumkaliumpomp-activiteit . . . . .	92
7.2.3	Verlaagde perceptie van inspanning en pijn . . . . .	92
<b>7.3</b>	<b>Klinische resultaten</b>	<b>93</b>
<b>7.4</b>	<b>Veiligheid</b>	<b>95</b>
<b>7.5</b>	<b>Conclusie</b>	<b>96</b>
<b>8</b>	<b>Creatine . . . . .</b>	<b>97</b>
<b>8.1</b>	<b>Inleiding</b>	<b>97</b>
8.1.1	Biosynthese . . . . .	98
8.1.2	Absorptie . . . . .	99
8.1.3	Metabolisme en excretie . . . . .	100
<b>8.2</b>	<b>Werkingsmechanisme</b>	<b>101</b>
8.2.1	Temporele en spatiële energiebuffer . . . . .	101
8.2.2	Hyperhydratie . . . . .	102
8.2.3	Satellietcellen . . . . .	103
8.2.4	Besparing van S-adenosylmethionine (SAM) . . . . .	103
8.2.5	Modulatie van genexpressie . . . . .	104
<b>8.3</b>	<b>Klinische resultaten</b>	<b>104</b>
<b>8.4</b>	<b>Veiligheid</b>	<b>108</b>
<b>8.5</b>	<b>Conclusie</b>	<b>109</b>
<b>9</b>	<b>Eiwitpreparaten . . . . .</b>	<b>111</b>
<b>9.1</b>	<b>Inleiding</b>	<b>111</b>
9.1.1	Absorptie . . . . .	112
9.1.2	Metabolisme en excretie . . . . .	114
<b>9.2</b>	<b>Werkingsmechanisme</b>	<b>116</b>
9.2.1	Stimulering mTORC1-signalering . . . . .	117

<b>9.3</b>	<b>Klinische resultaten</b>	<b>119</b>
<b>9.4</b>	<b>Veiligheid</b>	<b>121</b>
<b>9.5</b>	<b>Conclusie</b>	<b>123</b>
<b>10</b>	<b>Fosfatidezuur</b>	<b>125</b>
<b>10.1</b>	<b>Inleiding</b>	<b>125</b>
10.1.1	Biosynthese	126
10.1.2	Absorptie	127
10.1.3	Metabolisme en excretie	128
<b>10.2</b>	<b>Werkingsmechanisme</b>	<b>129</b>
10.2.1	Activatie van mTORC1	129
10.2.2	Remming ubiquitineligases	130
<b>10.3</b>	<b>Klinische resultaten</b>	<b>131</b>
<b>10.4</b>	<b>Veiligheid</b>	<b>134</b>
<b>10.5</b>	<b>Conclusie</b>	<b>135</b>
<b>11</b>	<b>Trimethylglycine</b>	<b>137</b>
<b>11.1</b>	<b>Inleiding</b>	<b>137</b>
11.1.1	Biosynthese	139
11.1.2	Absorptie	140
11.1.3	Metabolisme en excretie	140
<b>11.2</b>	<b>Werkingsmechanisme</b>	<b>141</b>
11.2.1	Bevordering glycolyse	142
11.2.2	Creatinesynthese	143
11.2.3	Eiwitstabilisator	143
11.2.4	Modulatie van genexpressie	144
<b>11.3</b>	<b>Klinische resultaten</b>	<b>144</b>
<b>11.4</b>	<b>Veiligheid</b>	<b>146</b>
<b>11.5</b>	<b>Conclusie</b>	<b>147</b>
<b>12</b>	<b>Vitamine D</b>	<b>149</b>
<b>12.1</b>	<b>Inleiding</b>	<b>149</b>
12.1.1	Biosynthese	150
12.1.2	Absorptie	151
12.1.3	Metabolisme en excretie	152
<b>12.2</b>	<b>Werkingsmechanisme</b>	<b>153</b>
12.2.1	Klassiek effect op bothomeostase	154
12.2.2	Niet-genomische effecten	155
12.2.3	Stimulering Akt/mTOR-reactiepad	155
12.2.4	Remming ubiquitineligases	156

12.3	Klinische resultaten	156
12.4	Veiligheid	158
12.5	Conclusie	159
	<b>Referenties</b> .....	161
	<b>Index</b> .....	191

# 1. Spierfysiologie

## 1.1 Inleiding

Skeletspieren zorgen ervoor dat wij ons kunnen bewegen in het dagelijks leven. Ze verbinden de botten van ons skelet met elkaar. Hierdoor kunnen wij deze vrijwillig ten opzichte van elkaar bewegen. Wanneer in dit boek wordt gesproken over spieren, worden skeletspieren bedoeld en niet het hartspierweefsel of het glad spierweefsel.

De skeletspieren bieden een voortdurende steun aan het skelet, zodat dit in rust niet in elkaar zakt. Zo'n 40–50% van de gehele lichaamsmassa bestaat uit spierweefsel [253]. Naast de functie om te kunnen bewegen en het skelet te ondersteunen, speelt het ook een belangrijke rol in het algemeen lichamelijk metabolisme. Bij atleten, in het bijzonder bodybuilders, kan de spiermassa zelfs ruim de helft van de gehele lichaamsmassa uitmaken. Het vergroten van deze massa neemt dan ook een centrale rol in bij het bodybuilden, tezamen met het bereiken van een zeer laag lichaamsvetpercentage en esthetische spiersymmetrie. Ook het centrale thema van dit boek is gericht op voedingssupplementen die de spiermassa doen toenemen en de spierkracht bevorderen.

Om de werking van voedingssupplementen goed te doorgronden is het cruciaal om te begrijpen hoe onze spieren werken. Daarom wordt hier in dit hoofdstuk uitgebreid aandacht geschonken. Dit hoofdstuk zal de macro- en microscopische structuur van het spierweefsel, het mechanisme van spiercontractie, de verschillende soorten spiervezeltypes, satellietcellen en de neuromusculaire aansturing bespreken. De macrostructuur van spierweefsel beschouwt de structuur op 'grof' niveau. Het beantwoordt vragen zoals: uit welke componenten bestaat een spier? En: hoe zijn deze opgebouwd? Een spier bestaat immers uit meer dan slechts de spiervezels (myocyten) die van origo naar insertie lopen (zie kader 1.1).

**Kader 1.1**

De origo (Latijn voor *oorsprong*) en insertie zijn de twee aanhechtingspunten van een spier aan het skelet. De spiervezels lopen over in bindweefsel, dat zich hecht aan het bot. Zo kan de kracht die gegenereerd wordt door de spiervezels worden overgedragen. Ook kunnen spiervezels direct gehecht zijn aan het bot. Traditioneel wordt de origo gedefinieerd als de proximale aanhechting van de spier, oftewel de aanhechting die het dichtst bij het midden van het lichaam ligt. De distale aanhechting, die zich het verst van het midden van het lichaam bevindt, noemt men de insertie. Het moet opgemerkt worden dat spieren meerdere origines of inserties kunnen hebben. Zo heeft de biceps brachii, die de elleboog kan buigen, twee origines (beide aan de scapula) en een insertie (aan de radius).

De spiervezels vormen specifieke structuren (bundels) en worden ondersteund door omringend materiaal (bindweefsel). Wanneer we kijken naar de microstructuur van spierweefsel kijken we op het allerkleinste niveau. Waar bestaat een spiervezel uit op moleculair niveau? Aansluitend volgt een beschouwing van het mechanisme van spiercontractie, de primaire functie van spieren, zoals beschreven door het glijdende-filamenten model (zie kader 1.3). Dit model beschrijft elegant hoe de microscopische structuren van een spiervezel leiden tot het uiteindelijke samentrekken van een spier. Vervolgens behandelen we ook de verschillende soorten spiervezeltypes. Hierin lichten we toe welke microscopische, maar vooral biochemische, verschillen er zijn tussen de verschillende types, en welke praktische implicaties dit heeft in de context van sport. Aansluitend wordt kort de rol van satellietcellen beschouwd. Deze cellen voorzien de gevestigde spiercellen van nieuwe celkernen. Tot slot wordt verteld hoe een vrijwillige spiercontractie wordt ingezet door een motorneuron, oftewel de neuromusculaire aansturing.

**1.2 Macro- en microscopische structuur**

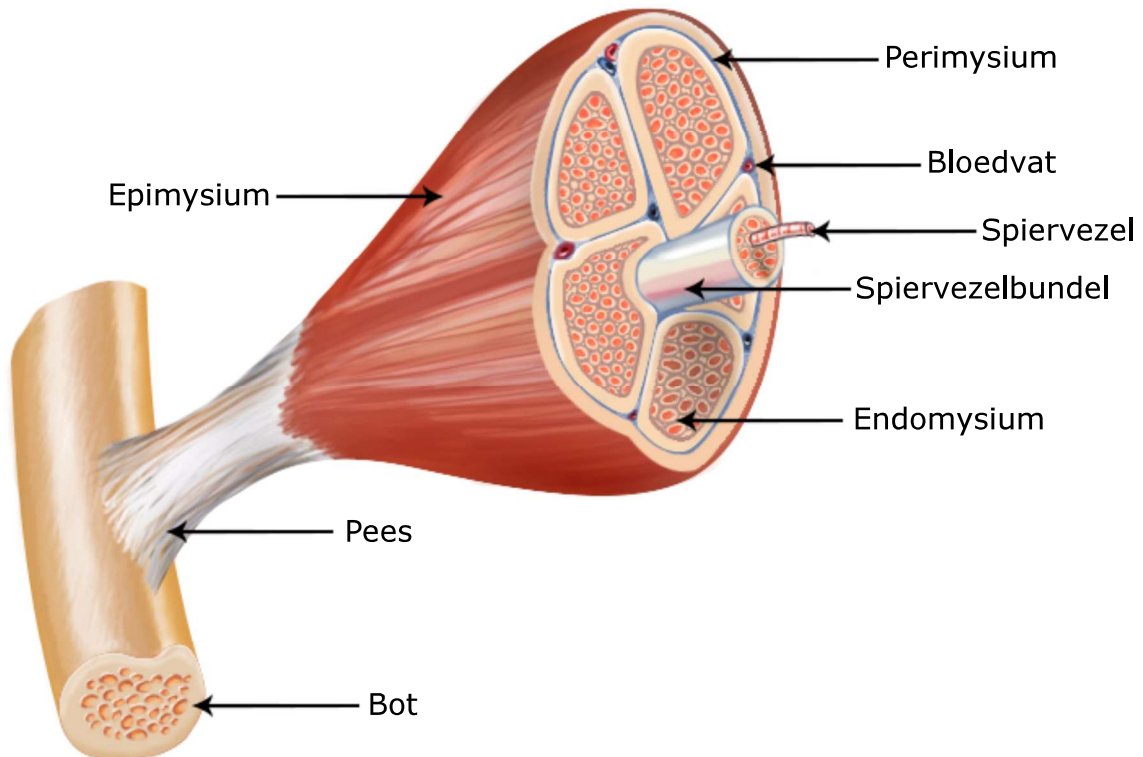
Een spier bestaat uit spierweefsel, bindweefsel, bloedvaten en zenuwcellen. De buitenste laag van een spier bestaat uit het bindweefselvlies epimysium. Het epimysium omringt de gehele spier en loopt over in de pezen die de spier hechten aan het bot. Onder het epimysium vinden we spiervezelbundels die weer omringd worden door het bindweefselvlies perimysium. Het perimysium verbindt de spierbundels met het epimysium. De individuele spiervezels worden verder nog omringd door het endomysium. Het bindweefsel zorgt voor de overdracht van contractiekracht naar de botten, maar beschermt ook de individuele spiervezels en laat het langs elkaar schuiven van de spiervezelbundels toe tijdens contractie. Tijdens een contractie verandert de vorm van een spier aanzienlijk.

Een spiervezel wordt gevormd door een plasmamembraan, het sarcolemma. Naast de gebruikelijke functies die een plasmamembraan vervult, zoals het transport van voedings- en afvalstoffen en het integreren van signalen van buitenaf, geleidt het ook het actiepotentiaal van het aangrenzende motorneuron om contractie te initiëren (zie kader 1.2).

**Kader 1.2**

De plasmamembraan vormt de scheiding tussen de binnenkant van een cel (intracellulair) en de buitenkant van de cel (extracellulair). Deze scheiding wordt gevormd door fosfolipiden die een dubbellaag (bilayer) vormen. Ook zitten er in de plasmamembraan eiwitten die (selectief) transport van bepaalde moleculen toelaten. Zo bestaan er eiwitten die kanalen vormen voor ionen





**Figuur 1.1:** De macroscopische structuur van het skeletspierweefsel. Afbeelding: National Institutes of Health.

zoals  $\text{Ca}^{2+}$ , maar ook voor grote moleculen zoals glucose. Ook kunnen lipide blaasjes van buitenaf 'samensmelten' met de membraan om zo de inhoud in de cel te spuwen (endocytose). Zo komt materiaal van buitenaf intracellulair terecht. Omgekeerd kan de cel ook blaasjes met stoffen aanmaken om uit te spuwen (exocytose). Verder beschikt de cel over kanalen en transportereiwitten om stoffen naar buiten toe te transporteren.

Naast het uitwisselen van stoffen kan een cel extracellulaire signalen oppikken. Zo beschikt de plasmamembraan over receptoren om signalen van buitenaf te ontvangen, zoals de insulinerceptor. Binding van het peptidehormoon insuline aan de insulinerceptor op het sarcolemma activeert een reactiepad dat ervoor zorgt dat er meer glucosetransporters aanwezig zijn op het sarcolemma. Op deze manier stimuleert insuline de opname van glucose door het spierweefsel. Bovendien beschikt spierweefsel over de unieke capaciteit om onafhankelijk van insuline, als reactie op contractie, meer glucosetransporters naar het sarcolemma te transloceren (verplaatsen). Bijzonder belangrijk voor spiercellen is de regulatie van het ionentransport langs het sarcolemma, waarmee een actiepotentiaal over het sarcolemma kan worden voortgeleid. Dit proces wordt verder toegelicht in sectie 1.6.

Binnen het sarcolemma bevindt zich het sarcoplasma (het cytoplasma van een spiervezel), bestaande uit het cytosol (een geleachtige vloeistof) en de organellen. Organellen zijn componenten van de cel die eveneens door een membraan zijn omringd en unieke functies vervullen. Zo genereren de mitochondria de energie om cellulaire processen te laten plaatsvinden en vindt er in de celkern gentranscriptie plaats.

In spiervezels is er een unieke rol weggelegd voor het sarcoplasmatisch reticulum (SR,



## 2. Energiesystemen

### 2.1 Inleiding

Spiers hebben energie nodig om te kunnen samentrekken. Deze energie halen de spiervezels, net als alle andere cellen, uit glucose en vetzuren. Spiervezels zijn vrij bijzondere cellen als het gaat om het halen van energie uit brandstoffen. Daar waar de meeste cellen een vrij constant gebruik van energie hebben, kan het energieverbruik van een spiervezel van het ene op het andere moment meer dan een honderdvoud stijgen [393]. Spiervezels zijn gelukkig uitgerust met drie zeer goed ontwikkelde energiesystemen. Deze drie energiesystemen verschillen in hun capaciteit om energie te leveren en de snelheid waarmee zij dit kunnen.

Zo heeft het fosfaatenergiesysteem een zeer kleine capaciteit, slechts genoeg om een spiercontractie enkele seconden te handhaven [472]. Het kan echter wel zeer snel energie leveren [393], i.e. het heeft een hoog vermogen. Ook verbruikt het geen zuurstof. Het fosfaatenergiesysteem speelt hierdoor een belangrijke rol bij intensieve, zeer korte, inspanningen.

Het glycolytische energiesysteem heeft een wat grotere capaciteit dan het fosfaatenergiesysteem, maar beschikt over een lager vermogen. Dit systeem kan dus langer energie leveren, maar levert minder energie per tijdseenheid dan het fosfaatenergiesysteem. Het systeem werkt net als het fosfaatenergiesysteem anaeroob en verbruikt dus geen zuurstof.

Het oxidatieve energiesysteem beschikt over een nóg lager vermogen, maar heeft een – praktisch gezien – eindeloze capaciteit. Dit systeem verbruikt, zoals de naam suggereert, wel zuurstof (aeroob).

Het is belangrijk om te realiseren dat zowel het glycolytische energiesysteem als het oxidatieve energiesysteem direct hun energie halen uit de brandstoffen die wij uit

onze voeding halen: koolhydraten, vetzuren en aminozuren. Het fosfaatenergiesysteem daarentegen is afhankelijk van deze twee energiesystemen om aangevuld te worden, wat gebeurt in een rusttoestand. Goed beschouwd fungeert het fosfaatenergiesysteem dan ook als een intermediaire buffer van snel beschikbare energie.

Tot slot moeten deze systemen niet gezien worden als sequentieel opererende energieleveranciers, maar als continu opererende en samenwerkende systemen. Zelfs bij een maximale inspanning van slechts enkele seconden wordt een gedeelte van de energie, hoewel klein, aerob (met gebruik van zuurstof) opgewekt. Des te langer de inspanning, des te groter zal de bijdrage van het oxidatieve energiesysteem zijn. Geschat wordt dat er bij maximale inspanning een gelijke bijdrage van anaerobe en aerobe energie optreedt tussen de 1 à 2 minuten, en waarschijnlijk rond de 75 seconden [159]. En hoewel traditioneel gezien maximale inspanningen van 30 seconden worden gezien als louter anaerob, lijkt ook hier al ruim een kwart van de energie afkomstig uit aerobe energie.

	Capaciteit (J/kg)	Vermogen (W/kg)
Fosfaatenergiesysteem	400	800
Glycolytische energiesysteem	1000	325
Oxidatieve energiesysteem	-	200

**Tabel 2.1:** De capaciteit en het vermogen van de drie energiesystemen uitgedrukt in joule per kg spiermassa. Deze waarden zijn slechts schattingen en zijn sterk afhankelijk van trainingsstatus en andere factoren. Let op: 1 W = 1 J/s; vermogen drukt dus een maat van energie per tijdseenheid uit. Overgenomen uit Cardinale e.a. [83].

## 2.2 Fosfaatenergiesysteem

Het fosfaatenergiesysteem levert energie in een vorm die direct benut kan worden door vele cellulaire processen, waaronder het samentrekken van de sarcomeren. Deze vorm van energie is het molecuul adenosinetrifosfaat (ATP), die onder andere door de myosinehoofden wordt gebruikt om de krachtslag te maken zoals beschreven in sectie 1.3. Bij een contractie wordt ATP razendsnel gebruikt en wordt deze ook zeer snel weer aangevuld vanuit dit energiesysteem. Hierdoor daalt de concentratie ATP in de cel nauwelijks. De ATP-omzet (Eng.: *ATP turnover*) is ontzettend groot. Voor het lopen van een marathon regenereert het lichaam van een elite-marathonloper maar liefst 60 kg ATP [73].

De reactie die de myosine-ATPases katalyseren om energie uit het ATP-molecuul te onttrekken is als volgt:



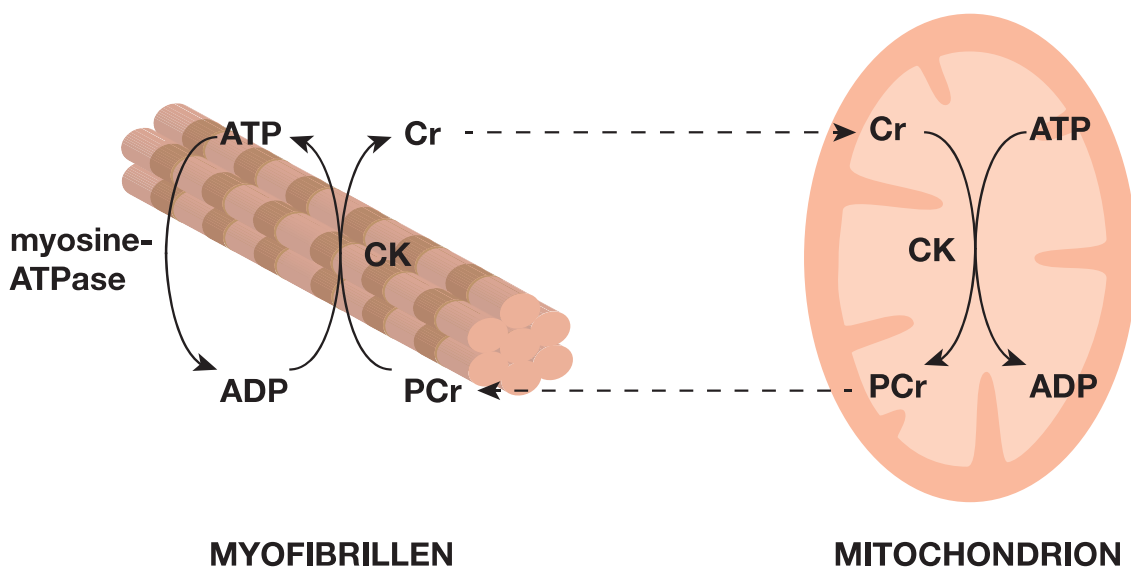
Het ATP wordt gehydrolyseerd en er ontstaan adenosinedifosfaat (ADP), anorganisch fosfaat ( $\text{P}_i$ ) en een proton ( $\text{H}^+$ ). De hoeveelheid ATP in een cel is echter zéér beperkt. De concentratie ATP in een spiervezel is 2-5 mM, dit is slechts genoeg om een spiercontractie enkele seconden te handhaven [472].

Het fosfaatenergiesysteem bestaat uit een reservoir van creatine (Cr), creatinefosfaat (PCr) en het enzym creatinekinase (CK). CK katalyseert de volgende omkeerbare reactie:



Met deze gegevens kunnen we afleiden wat er gebeurt op energieniveau zodra een spier samentrekt. De spiervezel krijgt het signaal om samen te trekken waardoor de myosine-ATPases op de myosinehoofden ATP gaan hydrolyseren (vergelijking 2.1) om dit te bewerkstelligen. Er ontstaan hierdoor ADP en protonen ( $H^+$ ), zoals ook aan de linkerzijde te zien is van vergelijking 2.2. De buffer PCr van het fosfaatenergiesysteem kan er nu voor zorgen dat de reactie van vergelijking 2.2 naar rechts verloopt, waardoor er direct weer ATP gegenereerd wordt. Bovendien worden de gegenereerde protonen ook direct gebruikt, waardoor deze reactie als het ware ook als pH-buffer fungeert. Een daling van de pH ten gevolge van de reactie die myosine-ATPases katalyseren wordt opgevangen.

De buffer van PCr kan weer volledig worden aangevuld in rust. Dit gebeurt vanuit het glycolytische energiesysteem en het oxidatieve energiesysteem zodra er genoeg ATP is om reactie 2.2 naar links te laten verlopen. Dit gebeurt zowel in het cytosol als in de mitochondria. In de mitochondria vindt ATP-generatie door het oxidatieve energiesysteem plaats. Tijdens een spiercontractie is er hierdoor veel ATP aanwezig in de mitochondria ten opzichte van de myofibrillen waar het ATP wordt verbruikt. In het cytosol verloopt hierdoor de door CK-gekatalyseerde reactie naar rechts, om ATP te genereren, terwijl het in de mitochondria naar links verloopt om PCr te leveren. Het in de mitochondria gegenereerde PCr diffundeert vervolgens naar de myofibrillen, waar het gebruikt wordt om weer ATP te genereren. Dit wordt ook wel het creatinefosfaat-shuttlesysteem genoemd (zie figuur 2.1).



**Figuur 2.1:** Het creatinefosfaat-shuttlesysteem. De myosine-ATPases hydrolyseren ATP om contractie te bewerkstelligen waardoor ADP wordt gegenereerd. De door CK-gekatalyseerde reactie kan vervolgens het ADP herfosforyleren tot ATP met gebruik van de fosfaatgroep afkomstig van PCr. Het hierdoor ontstane Cr diffundeert terug naar de mitochondria waar deze door CK terug wordt gefosforyleerd tot PCr met energie afkomstig van de ATP-generatie door het oxidatieve energiesysteem. Afkortingen: ADP, adenosinedifosfaat; ATP, adenosinetrifosfaat; CK, creatinekinase; Cr, creatine; PCr, creatinefosfaat.

## 3. Absorptie, metabolisme en veiligheid

### 3.1 Inleiding

Een supplement is pas werkzaam als het op zijn plaats van bestemming is aangekomen. Een voedingssupplement wordt oraal, oftewel via de mond, ingenomen. Vervolgens wordt het supplement door het maag-darmstelsel opgenomen en wordt het, doorgaans, door de bloedcirculatie naar zijn plaats van bestemming gebracht. Zodra het op zijn plaats van bestemming is aangekomen kan het een effect teweeg brengen.

Tijdens deze reis naar de plaats van bestemming kan een supplement onderhevig zijn aan metabolisatie. Onder metabolisatie wordt biotransformatie (chemische omzetting) van het oorspronkelijke molecuul naar een ander molecuul (een metaboliet) verstaan. Een metaboliet van het ingenomen supplement heeft doorgaans andere effecten op het lichaam dan het oorspronkelijke molecuul. In sommige gevallen heeft het oorspronkelijke molecuul geen werking, en berust de werking van het supplement op biotransformatie van het molecuul naar een actief metaboliet: bio-activatie. In andere gevallen is de werking van een metaboliet vergelijkbaar met die van het oorspronkelijke molecuul. In de meeste gevallen leidt biotransformatie echter tot deactivatie, waardoor het zijn werking verliest en de uitscheiding van het molecuul door het lichaam wordt bevorderd.

In dit hoofdstuk zullen enkele concepten die centraal staan in de absorptie en het metabolisme van supplementen worden uitgelicht. De absorptie en het metabolisme zijn immers fundamenteel voor de uiteindelijke fysiologische werking van een supplement. Naast deze beoogde werking zijn zij ook van cruciaal belang voor eventuele bijwerkingen die kunnen voortvloeien uit supplementgebruik. Aan het einde van dit hoofdstuk wordt dan ook kort het aspect veiligheid van voedingssupplementen aangestipt.

## 3.2 Absorptie

Zoals eerder vermeld worden de meeste supplementen oraal genomen. Het supplement bereikt dus als eerste de mond. In de context van normale voeding, zoals rijst, brood of vlees, speelt de mond geen directe rol in de absorptie van deze middelen. De mond dient dan vooral als maal- en keurmachine. Het malen zorgt ervoor dat het oppervlak van de ingenomen voeding flink wordt vergroot, wat later een bevorderende werking heeft voor de absorptie. Bovendien speelt de smaakbeleving in combinatie met het reukvermogen een belangrijke rol: bedorven voedingswaren worden zo al snel vermeden. Echter, de meeste supplementen zijn bijna altijd beschikbaar in capsule-, tablet, poeder- of kant-en-klare vloeibare vorm. In geen enkel geval speelt het malen een belangrijke rol, en de smaakbeleving wordt doorgaans gestimuleerd door de toevoeging van smaakstoffen wanneer het zich in poeder of kant-en-klare vloeibare vorm bevindt.

Vanuit de mond belandt het supplement in de maag. De maagwand is opgebouwd uit spierlagen die in verschillende richtingen lopen. Deze spierlagen mengen de maaginhoud. Bovendien heerst in de maag een bijzonder zuur milieu en bevat de maag het eiwitsplitsende enzym pepsine. Dit leidt tot snelle denaturatie (het ontvouwen van de ruimtelijke structuur) en afbraak van eiwitten tot kleinere peptiden.

Door het zure milieu van de maag kan er soms al spontane degradatie, dat wil zeggen niet-enzym-gekatalyseerde degradatie, van het supplement optreden. Om die reden wordt soms aangeraden om bepaalde supplementen op een lege maag in te nemen. Wanneer een supplement wordt ingenomen op een lege maag verkort dit de verblijftijd hierin. Deze korte verblijftijd kan de biologische beschikbaarheid bevorderen.

De maag speelt doorgaans geen noemenswaardige rol bij de directe absorptie van voedingsstoffen. Slechts weinig middelen worden significant geabsorbeerd door de maagwand. Uitzonderingen zijn bijvoorbeeld alcohol en cafeïne. Zo wordt van cafeïne circa zo'n 20% opgenomen door de maag [96].

### Kader 3.1



Het supplement Kre-Alkalyn<sup>®</sup>, een creatinevariant, bevat natriumcarbonaat om in te spelen op het gegeven dat sommige supplementen voor een flink deel al gedegradeerd worden in het zure milieu van de maag. Zo zou creatine degraderen tot het nutteloze creatinine bij lage pH-waarden. In het zure milieu van de maag reageert het natriumcarbonaat dat Kre-Alkalyn<sup>®</sup> bevat met de waterstofionen. Dit leidt tot de vorming van natriumionen, water (H<sub>2</sub>O) en kooldioxide (CO<sub>2</sub>). Resultierend geeft dit een lichte verhoging van de pH-waarde in de maag.

Het is echter een mythe dat creatine significante degradatie ondergaat bij lage pH-waarden. De halfwaardetijd van creatine naar creatinine bedraagt 55 dagen bij een pH-waarde van 1.4, 7.5 dagen bij een pH-waarde van 3.7, en 40.5 dagen bij een pH-waarde van 6.8 [350]. Gezien de verblijftijd in de maag een fractie van de halfwaardetijd bedraagt, en de langste halfwaardetijd nota bene bij een pH-waarde van 1.4 werd gemeten, is het beschermen van creatine tegen lage pH-waarden zinloos.

Vanuit de maag belandt een supplement in de dunne darm. Het eerste gedeelte van de dunne darm heet de twaalfvingerige darm (ook wel duodenum genoemd). De alvleesklier zorgt ervoor dat de lage pH-waarde van het uit de maag gearriveerde mengsel (chymus), wordt geneutraliseerd door toevoeging van waterstofcarbonaat. Daarnaast scheidt de alvleesklier verscheidene zymogenen uit. Deze zymogenen zijn de voorlopers van actieve



enzymen (peptidasen), die peptideketens verder kunnen afbreken tot vrije aminozuren, di- en tripeptiden. Ook wordt er hier gal toegevoegd. Het gal zorgt voor emulgering van lipiden, waardoor zeer veel kleine lipidedruppeltjes ontstaan. Dit zorgt voor een grote stijging van het oppervlak, waar lipasen – enzymen die vetten splitsen in losse vetzuren – op in kunnen werken en zo de absorptie ervan bevorderen. Ook worden kleine lipofiele moleculen beter geabsorbeerd door de darmwand door toevoeging van galzouten.

De dunne darm beschikt over een enorm oppervlak om absorptie te bevorderen. Dit grote oppervlak komt tot stand doordat de dunne darm enkele meters lang is en, nog belangrijker, de darmwand sterk geplooid is. De cellen van de darmwand zijn in karakteristieke vingerachtige vormen (villi) geordend. Bovendien bevat de celmembraan van enterocyten aan de apicale zijde (de zijde gericht naar de binnenzijde van de darm) eveneens vingerachtige vormen (microvilli), die het oppervlak verder vergroten.

De enterocyten, de cellen die de binnenwand van de dunne darm bekleden, zijn verantwoordelijk voor de absorptie van moleculen. Verschillende transportmechanismen spelen hierbij een rol, die kunnen worden verdeeld in twee groepen: paracellulair transport en transcellulair transport.

Paracellulair transport betekent dat het molecuul tussen de enterocyten door wordt opgenomen. Tussen de enterocyten bevinden zich namelijk zeer kleine ruimtes: zonula occludens (Eng.: *tight junctions*). In principe vinden alleen kleine moleculen hun weg tussen de enterocyten door. Bovendien is het oppervlak van deze ruimte een fractie van het oppervlak die de membranen van de enterocyten vormen, waardoor deze weg doorgaans geen rol van betekenis heeft bij de absorptie van een supplement dat ook transcellulair wordt opgenomen.

Bij transcellulair transport passeert het molecuul de membraan van de enterocyt. Eerst vindt het transport plaats langs de apicale membraan (de membraan gericht naar de binnenzijde van de darm). Vervolgens beweegt het zich door de cel naar de andere zijde, waar het de membraan passeert en terechtkomt in het interstitiële vocht en de bloedvaten die leiden richting de lever. Het transport langs de membraan kan zowel actief als passief plaatsvinden. Actief transport vereist energie die de cel moet leveren, terwijl passief transport kan plaatsvinden zonder dat de cel hier energie voor hoeft te leveren.

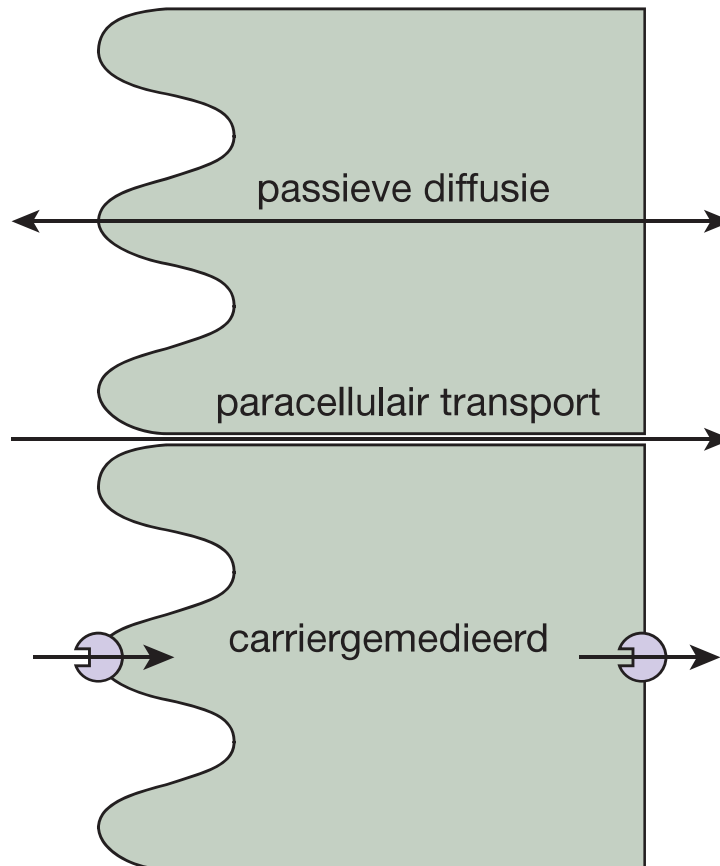
Tot slot kunnen resten in de dikke darm belanden. De dikke darm is vooral belangrijk voor waterabsorptie en het verteren van resten koolhydraten (met name voedingsvezel en resistente koolhydraten) die de dunne darm zijn ontsnapt. In de dikke darm bevinden zich veel bacteriën die deze restproducten verder kunnen verteren. Uit de bacteriële vertering van koolhydraten ontstaan onder meer korteketenvezuren. Deze worden vervolgens geabsorbeerd door het darmepitheel en kunnen dan benut worden om energie te leveren. De rol van de dikke darm is bijzonder beperkt in de context van voedingssupplementen. Een uitzondering vormt hydroxypropylidizetmeelfosfaat (zie kader 3.2).

### Kader 3.2



Hydroxypropylidizetmeelfosfaat (HDP, Eng.: *hydroxypropyl-distarch phosphate*) wordt toegevoegd aan voedingsmiddelen als verdikkings- of bindmiddel en is een resistent soort zetmeel. Het wordt nauwelijks verteerd in de dunne darm. In de dikke darm wordt het gedeeltelijk gefermenteerd tot korteketenvezuren door bacteriën, een deel hiervan wordt gebruikt door deze residente bacteriën en de rest wordt geabsorbeerd door de darmwand. Klinisch onderzoek wijst uit dat HDP sterk het energieverbruik verhoogt na inname ten opzichte van een normaal soort koolhydraat (waxy maize) [416]. Ook zou het

goed verzadigen. Om deze redenen worden enkele voedingssupplementen verkocht die HDP bevatten om te helpen bij het verliezen van lichaamsvet.



**Figuur 3.1:** Verschillende vormen van transport. Zie tekst voor toelichting.

### 3.2.1 Passief transport

Bij passief transport vindt er transport langs de membraan plaats zonder dat het de cel chemische energie kost. Het transport wordt gedreven door het concentratiegradiënt van het betreffende molecuul. Dit betekent dat een stof zich bij passief transport altijd netto beweegt van de plaats met een hoge concentratie naar de plaats met een lage concentratie van de stof. Derhalve vindt passief transport nooit plaats tegen het concentratiegradiënt in.

Passief transport kan op twee manieren plaatsvinden. De simpelste manier is middels diffusie, waarbij de stof vrij diffundeert door de fosfolipidendubbellaag. Sommige stoffen beschikken echter niet over de fysisch-chemische eigenschappen om vrij langs de fosfolipidendubbellaag van de celmembraan te diffunderen, zoals glucose. Voor een aantal van deze stoffen bestaan transporters in de celmembraan die toch diffusie mogelijk maken. Wanneer er gebruik wordt gemaakt van zo'n transporter om langs de membraan te diffunderen, heet dit gefaciliteerde diffusie.

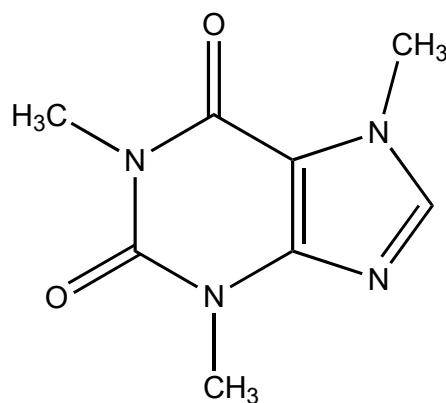
Passief transport middels diffusie kan beschreven worden door de eerste diffusiewet



## 7. Cafeïne

### 7.1 Inleiding

Cafeïne (1,3,7-trimethylxanthine) komt veel voor in de dagelijkse voeding van de meeste mensen. Dit komt grotendeels door de aanwezigheid van de stof in koffie. Daarnaast komt cafeïne voor in thee, chocolademelk, frisdranken zoals cola, en energiedrankjes. Het gebruik van cafeïne in de vorm van koffie en thee kent een rijke geschiedenis [154]. Beide worden inmiddels al honderden jaren gedronken en het gebruik van koffie of thee is onderdeel van veel culturen. Tegenwoordig is een groot gedeelte van de cafeïne-inname onder de Nederlandse bevolking ook te herleiden naar de stijgende consumptie van energiedrankjes. Deze maakten hun entree in de jaren tachtig en zijn vooral populair onder jongeren. Dit in tegenstelling tot koffie, dat vooral gedronken wordt door dertigplussers. Desondanks wordt nog steeds een hogere cafeïneconsumptie gezien in de leeftijdscategorie van 31-69 jaar (509-549 mg per dag voor mannen en 462-505 mg per dag voor vrouwen) dan in de leeftijdscategorie van 19-30 jaar (316 mg per dag voor mannen en 281 mg per dag voor vrouwen), gebaseerd op de consumptie van cafeïnehoudende voedingsmiddelen in de Voedselconsumptiepeiling van 2007-2010 [459]. In tabel 7.1 staat de cafeïne-inhoud weergegeven van enkele middelen.



**Figuur 7.1:** Structuurformule van cafeïne.

Product	Eenheid	Cafeïne (mg)
Koffie	Kopje (150 ml)	40-180
Thee	Kopje (150 ml)	25-50
Frisdranken	Blikje (250 ml)	20-40
Energiedranken	Blikje (250 ml)	30-85
Chocolade	Reep (100 g)	5-20

**Tabel 7.1:** Cafeïne-inhoud van verschillende middelen. Data overgenomen uit [294].

Cafeïne is tevens populair onder atleten als prestatiebevorderend middel. Voor dit doel worden dosissen van  $\sim 3\text{-}6$  mg/kg lgw gebruikt [170], een inname die vergelijkbaar is met wat de meeste volwassenen dagelijks binnen krijgen. Cafeïne is in de context van sportprestaties ook één van de best onderzochte middelen.

### 7.1.1 Absorptie

Cafeïne wordt als supplement vaak oraal ingenomen als capsule of poeder. Vanuit de voeding is het meestal opgelost in koffie, thee of frisdranken. Het wordt vooral opgenomen door de dunne darm, maar zo'n 20% wordt al opgenomen door de maag [96]. De opname vindt vrij snel plaats. In een kleinschalige ( $n = 10$ ) farmacokinetische studie werd 5 mg/kg lgw cafeïne oraal toegediend [51]. De gemiddelde tijd benodigd voor het bereiken van de piekcafeïneplasmaconcentratie na inname was 29.8 min, waarbij de standaardfout 8.1 bedroeg. Ook werd er in hetzelfde experiment dezelfde dosis intraveneus toegediend, om de biologische beschikbaarheid van cafeïne na orale inname te bepalen. Hieruit bleek dat cafeïne een volledige biologische beschikbaarheid kent en dus geen first-pass-effect kent. De bereikte piekplasmaconcentratie varieerde van 6.9 tot 16.1  $\mu\text{g/ml}$  met een gemiddelde waarde van 9.9  $\mu\text{g/ml}$ . De halfwaardetijd bedroeg gemiddeld 4.5 uur, met een bereik van 2.7–9.9 uur, hetgeen duidt op een sterke interindividuele variabiliteit hierin.

Ander onderzoek heeft ook gekeken naar de farmacokinetiek van cafeïne in de vorm van koffie, cola en chocolade [321, 281]. Mumford e.a. gaven 7 proefpersonen een dosis van 72 mg cafeïne (gemiddeld 1.01 mg/kg lgw) als capsule, cola of chocolade [321]. In de chocolade zat tevens de dimethylxanthine theobromine. Ook in deze studie werd na 0.5 uur de piekcafeïneplasmaconcentratie gevonden in de groep die cafeïne als capsule kreeg toegediend. Bij toediening als cola of chocolade werd deze echter pas bereikt na gemiddeld 120 min. Dit kan mogelijk komen doordat suiker de maaglediging van cafeïne vertraagt [96] en een vaste substantie zoals chocolade eveneens vertraagt in de dunne darm belandt. Een andere studie vond echter geen vertraagde opname van cafeïne als cola [281]. Dit zou mogelijk kunnen komen doordat de cafeïne in deze studie hoger gedoseerd was (400 mg) en de cola geen suiker bevatte. Ook vond dezelfde studie dat cafeïne als koffie de opname ervan niet vertraagde.

Cafeïne is voldoende apolair om langs celmembranen te kunnen diffunderen en slechts een klein gedeelte wordt door eiwit gebonden in het bloed. Circa een derde wordt door albumine gebonden, zowel bij jongeren als ouderen die in de regel een lagere serumalbumineconcentratie hebben [50]. Hierdoor verspreidt cafeïne zich makkelijk over het totale lichaamsvocht. Het steady-state-verdelingsvolume ligt tussen de 0.5 en 0.8 l/kg [294]. Hoewel er wordt aangenomen dat cafeïne zich vooral via passieve diffusie langs de

## 9. Eiwitpreparaten

### 9.1 Inleiding

Eiwitten, ook wel proteïnen genoemd, vormen een belangrijk onderdeel van de dagelijkse voeding. De eiwitten uit de dagelijkse voeding dragen er zorg voor dat de vele lichaamsfuncties gewaarborgd blijven. De bouwstenen van eiwitten zijn aminozuren. In totaal worden er twintig aminozuren gebruikt voor de eiwitsynthese in het menselijk lichaam. Elf van deze aminozuren kan het lichaam zelf *de novo* synthetiseren. De overige negen zijn echter onmisbaar in de voeding, doordat deze niet *de novo* gemaakt kunnen worden. Deze negen aminozuren worden dan ook de essentiële aminozuren genoemd. Het menselijk lichaam heeft deze aminozuren nodig voor vele processen. Zo vervullen sommige aminozuren een rol als neurotransmitter (bijvoorbeeld glutamaat) of vormen de precursor voor de synthese van een neurotransmitter (bijvoorbeeld adrenaline) of een hormoon (bijvoorbeeld thyroxine [ $T_3$ ]). Daarnaast zijn zij, uiteraard, nodig voor de synthese van nieuwe eiwitten. Bovendien kunnen aminozuren energie leveren.

Met name vlees, vis, eieren en zuivelproducten dragen voor een groot deel bij aan de dagelijkse eiwitinname. Bij vegetariërs en veganisten vormen andere voedingsmiddelen vaak een belangrijke bron van eiwit, zoals noten, paddenstoelen, peulvruchten en graanproducten. De Gezondheidsraad adviseert 0.8 g/kg lgw/d eiwit aan volwassenen [161]. Voor de meeste mensen komt dit neer op een dagelijkse eiwitinname van circa 50 tot 70 g. Deze hoeveelheid is eenvoudig uit de voeding te halen. Voor sporters die de spiermassa wensen te vergroten ligt de benodigde hoeveelheid echter hoger. Er is geschat dat de behoefte van deze groep in sommige situaties kan oplopen tot wel 3.1 g/kg vetvrije massa per dag [205]. Hierdoor kan het uitdagend worden om voldoende eiwit uit de normale voeding binnen te krijgen zonder eiwitpreparaten te benutten. Veel sporters gebruiken dan ook

eiwitpreparaten als aanvulling op hun voeding.

Er bestaan verschillende soorten eiwitpreparaten, waarbij de meeste bestaan uit wei-eiwit of caseïne-eiwit. Beide zijn eiwitfracties afkomstig van melk. Ongeveer een vijfde deel van het melkeiwit bestaat uit wei en vier vijfde deel uit caseïne [414]. Daarnaast zijn er preparaten verkrijgbaar met erwteiwit, ei-eiwit, soja-eiwit, rijsteiwit, rundereiwit, hennepeiwit, etc. Wei-eiwit en caseïne-eiwit zijn echter het populairst. Tevens is hiervan het meeste onderzoek beschikbaar. Dit hoofdstuk zal zich daarom vooral richten op deze twee vormen van eiwitpreparaten.

Gezien aminozuren de bouwstenen vormen van de eiwitten die wij synthetiseren, en dus ook de spiereiwitten myosine en actine, is het niet verwonderlijk dat eiwitname belangrijk is voor een optimale spiergroei. Enerzijds moeten er voldoende aminoacyl-tRNA's beschikbaar zijn voor de spiereiwitsynthese, en anderzijds speelt de aminozuurbeschikbaarheid een sleutelrol in de regulatie van de spiereiwitsynthese. Met name dit laatste punt is de reden waarom er zulke grote hoeveelheden eiwit nodig zijn om de spiergroei te optimaliseren. De hoeveelheid opslag van spiereiwit tijdens een periode van spiergroei vormt immers slechts een fractie van de totale hoeveelheid eiwit die het lichaam aangeboden krijgt. Centraal hierin staat onder meer mTOR-signalering, zoals besproken in sectie 4.2. Hoewel men jaren geleden dacht dat deze regulatie primair geregeld werd door het aminozuur leucine, zijn hier ook verscheidene andere aminozuren nauw bij betrokken. Hetzij indirect door de cellulaire leucine-opname te stimuleren, hetzij direct door mTORC1-activiteit te beïnvloeden [167]. Dit benadrukt het belang van de inname van eiwitten met een volledig aminozuurprofiel.

### 9.1.1 Absorptie

Zodra eiwit na inname in de maag belandt, wordt het blootgesteld aan het zure milieu van de maag. Het maagzuur zorgt ervoor dat de eiwitten hun ruimtelijke structuur snel zullen verliezen. Dit proces wordt denaturatie genoemd. Dit heeft als gevolg dat de eiwitten toegankelijker worden voor enzymen die de peptidebindingen tussen de aminozuren kunnen verbreken. In de maag is deze rol weggelegd voor het enzym pepsine. Pepsine is een endopeptidase, wat inhoudt dat het de peptidebindingen van de niet-terminale aminozuren verbreekt. Ofwel het klieft de eiwitstrengen in twee kleinere peptiden. Het zo ontstane mengsel van polypeptiden en oligopeptiden (korte peptideketens) wordt vervolgens verder bewerkt in de dunne darm door andere peptidasen die afkomstig zijn van de alvelesklier, en membraangebonden peptidasen van de enterocyten. Deze hydrolyseren de peptideketens verder tot vrije aminozuren, di- en tripeptiden, die vervolgens worden opgenomen door de darmmucosa.

De opname van vrije aminozuren door de enterocyten wordt verzorgd door zowel actief transport als gefaciliteerde diffusie. De transporters herkennen hierbij groepen aminozuren in plaats van individuele aminozuren. Hierdoor kan het voorkomen dat overmatige inname van één enkel aminozuur het transport belemmert van andere aminozuren die gebruikmaken van dezelfde transporter(s). Er wordt hiervoor onderscheid gemaakt tussen vijf transportsystemen:

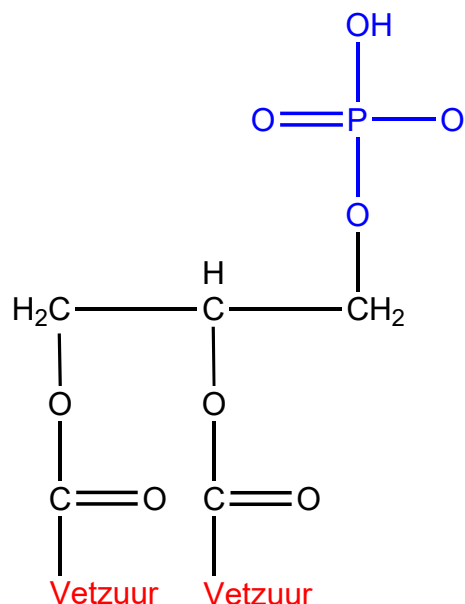
1. het neutrale transportsysteem (met een voorkeur voor ongeladen aminozuren);
2. het kationensysteem (met een voorkeur voor positief geladen aminozuren en cysteïne);
3. het anionensysteem (met een voorkeur voor negatief geladen aminozuren);
4. het iminoglycinesysteem (met een voorkeur voor proline, hydroxyproline en gly-

## 10. Fosfatidezuur

### 10.1 Inleiding

Fosfatidezuur is een fosfolipide bestaande uit glycerol, twee vetzuren en een fosfaatgroep. Hierbij zijn de eerste twee C-atomen van de glycerol veresterd met een vetzuur, en het derde C-atoom met de fosfaatgroep. Het wordt daarom ook een glycerofosfolipide genoemd. Het eerste C-atoom is doorgaans veresterd met een verzadigd vetzuur van zestien of achttien koolstofatomen lang en het tweede C-atoom met een onverzadigd vetzuur van zestien, achttien of twintig koolstofatomen lang. De vetzuren van soja-afgeleid fosfatidezuur (veel gebruikt voor suppletie) bestaan echter alleen uit ketens van zestien of achttien koolstofatomen lang [367]. Fosfatidezuur komt in lage concentraties voor in celmembranen (zie verder kader 10.1). De molaire concentratie is kleiner dan 5% van dat van fosfatidylcholine, de meestvoorkomende glycerofosfolipide in celmembranen [71].

Hoewel fosfatidezuur nog relatief onbekend is als voedingssupplement onder sporters, heeft de fosfolipide al wel de aandacht



**Figuur 10.1:** Structuurformule van fosfatidezuur. Aan het eerste en tweede C-atoom van het glycerol zijn twee vetzuren gebonden en aan het derde C-atoom een fosfaatgroep (in blauw).

getrokken van onderzoekers [60]. Fosfatidezuur is namelijk nauw betrokken bij activatie van mTORC1 (zie ook sectie 4.2.4). In 2009 werd een model voorgesteld waarbij de vorming van fosfatidezuur de activatie van mTORC1 medieert na eccentrische spiercontracties [338]. Het heeft vervolgens niet lang geduurd voordat het de aandacht trok van onderzoekers in de hoek van sportsupplementen: in 2012 werd de eerste klinische studie gepubliceerd die het effect van fosfatidezuursuppletie onderzocht op kracht, spierdikte en magere lichaamsmassa (Eng.: *lean body mass*) [217].

Fosfatidezuur is ook te vinden in de voeding, maar slechts in zeer geringe concentraties (zie tabel 10.1). De beste bron van fosfatidezuur uit voeding lijkt rauwe kool te zijn, met een concentratie van een halve milligram per gram. Maar in principe is de hoeveelheid uit voeding niet toereikend om een dosis te bereiken die vergelijkbaar is met de hoeveelheid die gebruikt wordt in klinische studies (enkele honderden milligrammen).

Product	Fosfatidezuur (mg/g)
Kool	0.49
Kool (gekookt)	0.03
Tomaat	0.23
Komkommer	0.18
Rijst	0.02
Rijst (gekookt)	0.02

**Tabel 10.1:** Fosfatidezuurinhoud van verschillende middelen. Data overgenomen uit [437]. Oorspronkelijke data gerapporteerd in  $\mu\text{mol}$  per g en omgerekend naar mg per g uitgaande van een molaire massa van  $674.9 \text{ g/mol}$  ( $\text{C}_{37}\text{H}_{71}\text{O}_8\text{P}$ ).

### Kader 10.1



De membranen van cellen bestaan uit een dubbele laag van lipiden en eiwitten. Fosfolipiden zijn de meestvoorkomende lipiden in de membranen. Kenmerkend aan fosfolipiden is dat zij een polaire (hydrofiele) kop hebben (de fosfaatgroep) en twee apolaire (hydrofobe) staarten (meestal vetzuren). Bij glycerofosfolipiden zijn de vetzuren en de fosfaatgroep gebonden aan een glycerolmolecuul.

De koppen van fosfolipiden staan naar het water toe gericht, terwijl de staarten naar elkaar toe staan. De fosfolipidensamenstelling van een membraan is belangrijk voor de functie ervan. Er wordt hierbij onderscheid gemaakt tussen vier verschillende soorten glycerofosfolipiden: fosfatidylserine, fosfatidylcholine, fosfatidylethanolamine en sfingomyeline. De verschillen zijn vooral afhankelijk van wat voor chemische groep gebonden is aan de fosfaatgroep (de polaire kop). Fosfatidezuur vormt hierbij de 'simpelste' glycerofosfolipide: er is geen chemische groep gebonden aan de fosfaatgroep, maar slechts een waterstofatoom (de -OH-groep). Fosfatidezuur vormt door zijn structuur dan ook een belangrijke voorloper voor de overige glycerofosfolipiden en staat hierdoor centraal in de glycerofosfolipidesynthese.

#### 10.1.1 Biosynthese

Fosfatidezuur staat centraal in de synthese van membraanfosfolipiden en triacylglycerol [153] en kan gesynthetiseerd worden via drie verschillende metabole paden. Eén van deze paden zorgt voor *de novo*-synthese van fosfatidezuur. Dit mechanisme vertrekt vanuit



twee intermediaire producten van de glycolyse (zie sectie 2.3). Tijdens de glycolyse wordt fructose-1,6-bifosfaat gesplitst in dihydroxyacetonfosfaat en glyceraldehyde-3-fosfaat. Het ontstane dihydroxyacetonfosfaat kan vervolgens worden omgezet in glycerol-3-fosfaat door het enzym glycerol-3-fosfaatdehydrogenase. Vervolgens kunnen twee vetzuren gebonden worden aan het ontstane glycerol-3-fosfaat om zo fosfatidezuur te vormen. De eerste acetyleringsreactie wordt hierbij gekatalyseerd door glycerol-3-fosfaatacyltransferase. Het gevormde lysofosfatidezuur wordt vervolgens nogmaals geacetyleerd tot fosfatidezuur door het enzym lysofosfatidezuuracyltransferase. De vetzuren die hiervoor gebruikt worden kunnen zowel afkomstig zijn uit de voeding als uit *de novo* vetzuren synthese. Dit pad lijkt echter de voorkeur te hebben voor vorming van fosfatidezuur met twee verzadigde vetzuren [501], een vorm die niet in staat lijkt om mTORC1-activiteit te bevorderen [491].

In het tweede metabole pad wordt diacylglycerol gefosforyleerd tot fosfatidezuur door een diacylglycerolkinase of PRK-like ER-kinase (PERK) [54], een kinase die zich bevindt in de membraan van het endoplasmatisch reticulum. Opmerkelijk is dat de kinase-activiteit van PERK afhankelijk is van fosfatidylinositol-3-kinase (PI3K). PI3K wordt geactiveerd door activatie van de insuline- of insuline-achtige groeifactor-1-receptor, zoals beschreven in sectie 4.2.1. Het diacylglycerol kan afkomstig zijn van opgeslagen vet in de vorm triacylglycerol. Hierbij wordt één acyl-CoA-groep gedeacyleerd door een lipase. Ook kan het afkomstig zijn van fosfatidylinositol, waarbij fosfolipase C het molecuul vlak voor de fosfaatgroep klieft.

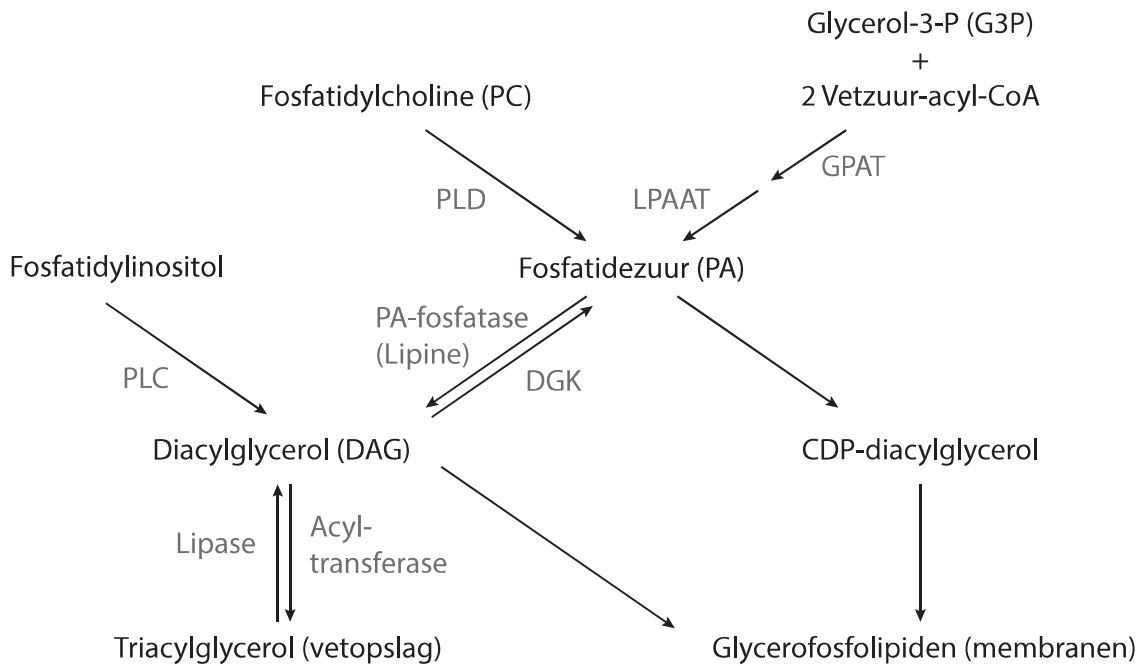
In het derde metabole pad dat fosfatidezuur vormt, wordt uitgegaan van fosfatidylcholine als substraat. Het enzym fosfolipase D hydrolyseert hierbij fosfatidylcholine waardoor het zijn cholinegroep verliest.

De biosynthese van fosfatidezuur die belangrijk is voor mTORC1-signalering door mechanische activiteit lijkt met name verzorgd te worden door de diacylglycerolkinases, in het bijzonder de  $\zeta$ -isovorm [495].

### 10.1.2 Absorptie

Fosfatidezuur wordt oraal gesuppleerd in de vorm van capsules of soft gels. In de dunne darm wordt het gemetaboliseerd tot lysofosfolipiden of glycerol-3-fosfaat. Hiervoor zijn fosfolipasen afkomstig uit het alvleeskliersap verantwoordelijk. Deze fosfolipasen hydrolyseren de esterbindingen op het eerste (*sn*-1) of tweede C-atoom (*sn*-2) van fosfatidezuur. De fosfolipasen, in het bijzonder fosfolipase A2, klieven met name het vetzuur op het tweede C-atoom [454]. Vervolgens worden deze producten opgenomen door de darmmucosa. Dit zullen met name lysofosfolipiden zijn waarbij een vetzuur op het tweede C-atoom ontbreekt. In de enterocyten kunnen de lysofosfolipiden opnieuw worden veresterd met een vetzuur dat weer fosfatidezuur geeft. Met welk vetzuur de lysofosfolipide wordt veresterd is met name afhankelijk van de overige vetzuren die de enterocyten betreden. Zodoende is het dus afhankelijk van het aanbod van vet uit de voeding.

Het opnieuw gevormde fosfatidezuur, en eventueel andere fosfolipide producten, worden verpakt in chylomicronen waarvan zij de buitenste laag zullen uitmaken. De gevormde chylomicronen worden vervolgens door middel van exocytose uitgescheiden door de enterocyten, waarna het in het lymfesysteem terechtkomt. Vanuit het lymfesysteem komt het vervolgens in de circulatie terecht. Het komt hierdoor trager in de circulatie terecht dan andere voedingsmiddelen en -supplementen die via de poortader de lever bereiken en van daaruit in de circulatie terechtkomen. In een kleinschalig onderzoek ( $n = 1$ ) vond men dan ook een piek in de plasmafosfatidezuurconcentratie ( $T_{\max}$ ) na drie uur, en was



**Figuur 10.2:** Fosfatidezuur (PA) kan gesynthetiseerd worden uit glycerol-3-fosfaat (G3P), fosfatidylcholine (PC) en diacylglycerol (DAG). G3P wordt tweemaal geactyleerd om PA te vormen. Eerst vindt er actylering plaats door GPAT, gevolgd door LPAAT. PC wordt gehydrolyseerd door PLD om PA te leveren en DAG wordt gefosforyleerd door DGK om PA te leveren. DAG is afkomstig van triacylglycerolen en fosfatidylinositol. PA-lyase is verantwoordelijk voor de defosforylering van PA tot DAG. Verscheidene CDP-diacylglycerolsynthesen produceren CDP-diacylglycerol uit PA. Figuur overgenomen uit Bond [59].

deze concentratie zeven uur na inname nog steeds verhoogd [367]. Dit stemt overeen met wat men zou verwachten bij stoffen die via het lymfesysteem worden opgenomen. De maximaal gemeten concentratie ( $C_{max}$ ) bedroeg 3.51 nmol/ml bij een basisconcentratie van 2.66 nmol/ml (+32%). Dit bij een dosis van 1.5 gram soja-afgeleid fosfatidezuur. Ook werd er een sterke stijging in de plasmalysofosfatidezuurconcentratie gevonden.

Op het moment van schrijven is er echter geen data bekend over de incorporatie van fosfatidezuur uit de voeding in de membranen van spiercellen. Nota bene zijn er aanwijzingen dat fosfatidezuursuppletie, in ieder geval ten dele, leidt tot mTORC1-activatie door extracellulaire conversie naar lysofosfatidezuur [486]. Dit zou betekenen dat incorporatie van fosfatidezuur in de celmembraan (of opname door de cel) niet per se nodig is. Het gevormde lysofosfatidezuur bindt namelijk aan *endothelial differentiation gene 2* (EDG-2, een lysofosfatidezuurreceptor) en dit stimuleert vervolgens mTORC1-signalering door activatie van het ERK-reactiepad.

### 10.1.3 Metabolisme en excretie

Fosfatidezuur staat centraal in de synthese van glycerofosfolipiden. Het vormt namelijk de gemeenschappelijke voorloper van glycerofosfolipiden. Dit belangrijke metabole pad dat fosfatidezuur kan inslaan, begint met activering door koppeling aan cytidinedifosfaat (CDP), waardoor CDP-diacylglycerol ontstaat. De activering met CDP is vergelijkbaar



met die van glucose door uridinedifosfaat (UDP), zoals gezien in de glycogeensynthese. Vervolgens kan de OH-groep reageren met een alcohol, waardoor drie verschillende glycerofosfolipiden kunnen ontstaan: fosfatidylcholine, fosfatidylethanolamine en fosfatidylinositol. Ook kan het aminozuur serine reageren met de OH-groep wat fosfatidylserine geeft.

Tevens kan fosfatidezuur gedefosforyleerd worden door een fosfatidezuurfosfatase [84]. Hierdoor blijft een diacylglycerolmolecuul over. Dit molecuul kan vervolgens nogmaals veresterd worden met een vetzuur door acyltransferase. Hierdoor ontstaat een triacylglycerol die kan worden opgeslagen in onder andere het vetweefsel. Ook kan diacylglycerol omgevormd worden tot glycerofosfolipiden.

In principe kunnen het glycerolmolecuul en de daaraan gebonden vetzuren van fosfatidezuur dienen als substraten voor energieproductie. De hoeveelheden zijn echter dermate gering dat zij geen significante rol spelen in het energiemetabolisme.

## 10.2 Werkingsmechanisme

In sectie 4.2.4 is reeds besproken dat mechanische belasting leidt tot de vorming van fosfatidezuur. Fosfatidezuur kan vervolgens mTORC1-activiteit stimuleren door directe interactie met het complex. Fosfatidezuur dat uit de voeding afkomstig is kan eveneens mTORC1-activiteit stimuleren, maar lijkt dit ook via een ander mechanisme te doen dan het fosfatidezuur dat wordt gevormd door mechanische belasting [413]. Immers wordt het fosfatidezuur in reactie op mechanische belasting intracellulair geproduceerd, terwijl het fosfatidezuur uit de voeding zich ook buiten de cellen bevindt.

### 10.2.1 Activatie van mTORC1

In 2011 voerden Yoon e.a. een *in vitro*-onderzoek uit waaruit zou blijken dat fosfatidezuur in staat is om direct mTORC1 te activeren [493]. Allereerst werd vastgesteld dat toevoeging van fosfatidezuurvesikels aan het celmedium leidde tot mTORC1-activatie. Vervolgens werd er gekeken naar het effect van fosfatidezuur op de endogene mTORC1-remmer FKBP38. FKBP38 bindt, net als fosfatidezuur, aan het FRB-domein. Mogelijk zou fosfatidezuur dus competitief kunnen binden aan dit domein, waardoor FKBP38 dit niet meer zou kunnen doen. En inderdaad, fosfatidezuur bleek met FKBP38 te concurreren voor binding aan dit domein, wat de remmende werking van FKBP38 op mTORC1 opheft. Tot slot keken de onderzoekers nog of fosfatidezuur in staat was mTORC1-activiteit te stimuleren in de afwezigheid van FKBP38. Als dit het geval was, zou het dus niet alleen de remmende werking van FKBP38 opheffen, maar zou het ook zelf mTORC1 kunnen activeren. De resultaten van de onderzoekers suggereren inderdaad dat dit het geval is en dat fosfatidezuur tevens als allosterische activator van mTORC1 fungeert.

Later onderzoek, eveneens door Yoon e.a., toonde aan dat fosfatidezuur ervoor zorgt dat de mTORC1-remmer DEPTOR dissocieert van het complex [491]. Ook vonden zij dat alleen fosfatidezuur met ten minste één onverzadigde vetzuurketen hiervoor zorgde, terwijl de varianten met twee verzadigde vetzuren dit niet deden. Dit is in lijn met de resultaten van een ander *in vitro*-onderzoek waarbij het effect van soja-afgeleid fosfatidezuur op mTORC1-activatie werd vergeleken met dat van ei-afgeleid fosfatidezuur [246]. De soja-afgeleide fosfatidezuur zorgde voor een sterkere mTORC1-activatie en bevatte een grotere hoeveelheid onverzadigde vetzuren dan ei-afgeleid fosfatidezuur.

Verder is gesuggereerd dat exogeen fosfatidezuur mTORC1 mogelijk niet activeert door directe interactie. In plaats daarvan zou het zijn werking uitoefenen door extracellulaire conversie naar lysofosfatidezuur. Lysofosfatidezuur wordt gevormd door een fosfolipase, waarbij het tweede C-atoom wordt ontdaan van de acylgroep. Lysofosfatidezuur zou vervolgens aan endothelial differentiation gene 2 (EDG-2)-receptoren binden op de celmembraan [486]. EDG-2 is een receptor die behoort tot de familie van G-proteïne-gekoppelde receptoren. Activatie van de receptor zou vervolgens het MEK-ERK-reactiepad activeren, dat door middel van remming van het TSC-complex [290] en raptor [85] mTORC1-signalering kan stimuleren. Bovendien stimuleert EDG-2-activatie de activiteit van fosfolipase D, waardoor er meer intracellulair fosfatidezuur wordt gegenereerd uit fosfatidylcholine.

Later onderzoek toetste de betrokkenheid van het MEK-ERK-reactiepad door gebruik te maken van de MEK-ERK-remmer U0126 in een *ex-vivo*-model [494]. In dit model remde U0126 de stijging in S6K1- en 4E-BP1-fosforylering in reactie op mechanische stimulering, maar blokkeerde het deze stijging niet volledig. In C2C12-myoblasten waaraan fosfatidezuur werd toegevoegd, werden vergelijkbare resultaten gevonden. U0126 blokkeerde hierbij niet de stijging in S6K1-fosforylering, noch in 4E-BP1-fosforylering, maar remde deze wel enigszins. Concluderend is het MEK-ERK-reactiepad dus niet noodzakelijk, maar lijkt het wel gedeeltelijk verantwoordelijk voor de geobserveerde mTORC1-activatie.

### 10.2.2 Remming ubiquitineligases

Een belangrijke mediator van spieratrofie is het ubiquitinesysteem. Dit systeem bestaat uit een samenspel van moleculen die eiwitten markeren met de marker ubiquitine en een groot eiwitcomplex dat vervolgens deze gemarkeerde eiwitten afbreekt, het proteasoom. Twee zogeheten E3-ligases, die direct verantwoordelijk zijn voor het binden van ubiquitine aan eiwitten, lijken voornamelijk betrokken bij deze regulatie in spiercellen. Dit zijn *muscle atrophy F-box* (MAFbx, ook wel bekend als atrogine-1) en *muscle ring finger 1* (MuRF1). In veel experimentele modellen waarbij spieratrofie plaatsvindt, zoals cachexie of toediening van dexamethason, treft men een verhoogde expressie van deze twee ubiquitineligases. Om die reden worden ze dan ook vaak uitgelezen in experimenteel onderzoek als surrogaatmarker voor spierafbraak. De *forkhead box class O* (FoxO)-familie van transcriptiefactoren spelen een belangrijke rol in de regulatie van expressie hiervan.

Overexpressie van fosfolipase D1, dat fosfatidezuur genereert uit fosfatidylcholine, leidt tot een verlaagde mRNA-expressie van FoxO, MAFbx en MuRF1 in volledig gedifferentieerde L6-myotubes [236]. Incubatie van myotubes met 100  $\mu$ M fosfatidezuur remt eveneens een door dexamethason geïnduceerde stijging in MuRF1-, MAFbx- en FoxO3-mRNA. Bovendien liet hetzelfde onderzoek zien dat exogeen fosfatidezuur in staat was om atrofie ten gevolge van dexamethason, alsook ten gevolge van TNF $\alpha$  (een ontstekingsfactor), tegen te gaan. Een mogelijk mechanisme dat hieraan ten grondslag zou kunnen liggen verloopt via mTORC2. De rol van mTORC2 in de regulatie van spiergroei is wat minder prominent, en verschilt structureel gezien van mTORC1 door associatie met het eiwit rictor in plaats van raptor. Door de directe interactie van fosfatidezuur met mTOR kan het mogelijk ook de activiteit van mTORC2 beïnvloeden. mTORC2 fosforyleert, en activeert daarmee, Akt op een serineresidu [401]. Zodra Akt is geactiveerd fosforyleert het verscheidene substraten, waaronder FoxO-eiwitten [444], waardoor zij geremd worden [502]. MuRF1 en MAFbx zijn vervolgens twee belangrijke downstream effectoren van FoxO-signalering. Mocht deze weg via mTORC2-Akt ten grondslag liggen aan het

spieratrofieremde effect van fosfatidezuur, dan rest de vraag in hoeverre dit relevant is onder fysiologische omstandigheden waarbij groeifactoren, die het PI3K-Akt-reactiepad activeren, ruim aanwezig zijn. Mogelijk is dit effect niet additief.

### 10.3 Klinische resultaten

In 2012 werd de eerste klinische studie uitgevoerd die keek naar het effect van fosfatidezuur op kracht, spierdikte en magere lichaamsmassa [217]. In totaal deden zestien mannen met ervaring met krachttraining mee aan het onderzoek. Zeven van deze mannen kregen fosfatidezuur toegediend, waarbij de dosering 750 mg per dag bedroeg. De overige negen mannen kregen een placebo. Bij aanvang werd de lichaamscompositie bepaald met een dual-energy X-ray absorptiometrie (DXA)-scan. Als uitgangspunt voor kracht werden de 1-RM bepaald van de squat en het bankdrukken. Met gebruik van ultrasonografie werd de spierdikte en -architectuur (pennatiehoek) van de vastus lateralis bepaald. Na een acht weken durend krachttrainingprogramma, waarbij viermaal per week werd getraind, werden de metingen herhaald. De resultaten van deze interventie op deze zeven uitkomstmaten staan vermeld in tabel 10.2.

Geen van de zeven uitkomstmaten bereikte statistische significantie, maar wel werd er een trend ( $P = 0.065$ ) gezien voor een stijging in de magere lichaamsmassa. Toepassing van magnitude-gebaseerde inferentie (MBI, Eng.: *magnitude-based inference*) suggereert een 'zeer waarschijnlijk' positief effect op de magere lichaamsmassa en een 'waarschijnlijk' positief effect op de 1-RM squatmeting. Voor de overige vijf uitkomstmaten is de data te onduidelijk om iets uit af te leiden (zie ook kader 10.2). De beperkte groepsgrootte en de uitkomsten van de MBI maken het aannemelijk dat de kleine groepen een significant effect, op in ieder geval de magere lichaamsmassa, verdoezelde. Opmerkelijk was wel dat de placebogroep nagenoeg geen verandering in de magere lichaamsmassa ondervond (+0.1 kg), wat kan betekenen dat de trainingsprikkel niet adequaat was voor spierhypertrofie.

Variabele	$\Delta$	P-waarde	Klinische interpretatie
1-RM bankdrukken (kg)	2.38	0.43	Onduidelijk
1-RM squatten (kg)	4.31	0.19	Waarschijnlijk
Spierdikte (cm)	0.007	0.96	Onduidelijk
Pennatiehoek ( $^{\circ}$ )	0.79	0.69	Onduidelijk
Lichaamsmassa (kg)	1.4	0.35	Onduidelijk
Lichaamsvet (kg)	0.1	0.99	Onduidelijk
Magere lichaamsmassa (kg)	1.6	0.065	Zeer waarschijnlijk

**Tabel 10.2:** Gemiddelde verschillen ( $\Delta$ , fosfatidezuur vs. placebo) en P-waarden voor groep  $\times$  tijd-interacties. Voor de analyse is een tweeweg factoriële variantieanalyse (ANOVA) toegepast met Tukey post-hoc-tests. De  $\alpha$ -waarde is gezet op 0.05. Klinische interpretatie gebaseerd op magnitude-gebaseerde inferentie (zie ook kader 10.2). Resultaten uit [217].

#### Kader 10.2



Magnitude-gebaseerde inferentie (MBI, Eng.: *magnitude-based inference*) is een statistische methode die de laatste jaren in toenemende mate gebruikt wordt in de sportwetenschappen. De methode wordt vooral toegepast om

uitspraken te doen over kleine effecten in kleine groepen, die geen statistische significantie weten te bereiken door een gebrek aan statistisch onderscheidingsvermogen. De methode is namelijk een stuk minder conservatief dan traditionele methoden. Zodoende zou het goed kunnen inspelen op de grote kans op een type II-fout ('fout-negatief') die optreedt bij kleine effecten in kleine groepen. De kwalitatieve P-waarden die MBI geeft worden vertaald in beschrijvende categorieën zoals 'meest onwaarschijnlijk', 'zeer onwaarschijnlijk', 'onwaarschijnlijk', 'mogelijk', 'waarschijnlijk', 'zeer waarschijnlijk' en 'meest waarschijnlijk'. Wanneer een betrouwbaarheidsinterval (BI, vaak het 95%-BI) zowel de grenswaarde voor een positief als een negatief effect overschrijdt wordt deze gecategoriseerd als 'onduidelijk'.

De statistische methode is echter niet zonder bezwaren en gebruik ervan wordt ontmoedigd [476]. Voorzichtigheid is dan ook geboden bij het interpreteren van de resultaten van MBI. Het moet erkend worden dat kleinschalige studies simpelweg een beperkte statistische bewijskracht kennen.

In navolging op deze eerste klinische studie werd een vergelijkbare vervolgstudie uitgevoerd door Joy e.a. [246]. Ook hier werd een 8 weken durend krachttrainingprogramma gevolgd door mannen met ervaring met krachttraining en werd eveneens 750 mg fosfatidezuur per dag uitgezet tegenover een placebo. Een belangrijk verschil was dat het aantal deelnemers groter was (in totaal 28), het tijdstip van inname van het fosfatidezuur gereguleerd was en er een directe bepaling van spierhypertrofie werd uitgevoerd (de dwarsdoorsnedeoppervlak [CSA] van een spier). Het fosfatidezuur werd op trainingsdagen dertig minuten voor de training genomen (450 mg) en direct daarna (300 mg), en op rustdagen bij het ontbijt (450 mg) en het avondeten (300 mg). De magere lichaamsmassa, bepaald middels een DXA-scan, toonde een significante groep  $\times$  tijd-interactie waarbij deze meer steeg in de fosfatidezuurgroep ten opzichte van de placebogroep. In tegenstelling tot de eerdere studie, nam nu ook de magere lichaamsmassa in de placebogroep toe (+1.2 kg). Dit suggereert dat de trainingsprikkel in deze studie adequaat was. Een trend werd gevonden voor de vetmassa die meer daalde in de fosfatidezuurgroep. Ook werd een significant grotere stijging van de CSA, vastgesteld middels ultrageluid van de rectus femoris, gevonden in de fosfatidezuurgroep. Als krachtmaat werd in deze studie eveneens uitgegaan van de 1-RM bankdrukken voor het bovenlichaam, voor het onderlichaam werd echter de 1-RM leg press gehanteerd. Hoewel de 1-RM leg press significant meer steeg in de fosfatidezuurgroep, was dat niet het geval voor het bankdrukken. De resultaten van deze studie liggen daarmee in lijn met de eerder uitgevoerde pilotstudie.

Aan een klinische studie uitgevoerd door Escalante e.a. deden achttien mannen met ervaring met krachttraining mee [143]. Ook hier werd gekozen voor een acht weken durend krachttrainingprogramma en werd een DXA-scan toegepast om de lichaamscompositie in kaart te brengen. Eveneens werd de DXA-scan ingezet om hypertrofie van de dijbeenspiermassa inzichtelijk te maken. De gebruikte dosering en tijdstip van inname waren identiek aan die van de studie door Joy e.a., alleen was er aan het supplement van de fosfatidezuurgroep ook vitamine D, leucine en het leucinemetaboliet  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methylbutaan zuur (HMB) toegevoegd. Ook hier werd er een significante stijging van de 1-RM bankdrukken, 1-RM leg press en de magere lichaamsmassa gevonden, en een trend naar een daling van de vetmassa in de fosfatidezuurgroep ten opzichte van de placebogroep. Er werd geen significant verschil gevonden in hypertrofie van de dijbeenspiermassa tussen beide groepen. Het moet opgemerkt worden dat de toevoeging van vitamine D, leucine en HMB aan het fosfatidezuur de resultaten beïnvloed zou kunnen hebben, ook al stemmen de resultaten overeen met eerder onderzoek. Het valt daarom niet te zeggen in hoeverre fosfatidezuur

bijdroeg aan de resultaten.

Een recente klinische studie keek naar de effecten van lagere doseringen fosfatidezuur (250 mg en 375 mg dagelijks) in combinatie met krachttraining [14]. In totaal deden 28 proefpersonen mee, waarvan 10 een placebo kregen, 9 personen 250 mg fosfatidezuur, en de resterende 9 personen 375 mg fosfatidezuur per dag. Ook hier hadden alle proefpersonen ervaring met krachttraining en werd een acht weken durend krachttrainingprogramma gevolgd. Het fosfatidezuur werd één uur voor de training ingenomen op trainingsdagen en 's ochtends op rustdagen. Een DXA-scan werd toegepast voor het vaststellen van de vetmassa en magere lichaamsmassa. Er werd gebruikgemaakt van ultrasonografie om de CSA van de rectus femoris te bepalen. Kracht van het onderlichaam werd vastgesteld door een 1-RM leg press, terwijl de kracht van het bovenlichaam in dit onderzoek niet werd meegenomen als uitkomstmaat. Een ANOVA liet voor geen van de uitkomstmaten een significante groep  $\times$  tijd-interactie zien. Toepassing van MBI liet wel een waarschijnlijk positief effect zien op de vetvrije massa en CSA van de rectus femoris, en een zeer waarschijnlijk positief effect op de 1-RM leg press in de fosfatidezuurgroep die 250 mg per dag kreeg ten opzichte van de placebogroep. Ook in de groep die 375 mg per dag kreeg werd een waarschijnlijk positief effect gevonden op de CSA van de rectus femoris, 1-RM leg press, en een mogelijk positief effect op de magere lichaamsmassa ten opzichte van de placebogroep. De gerapporteerde MBI-data lijken echter niet te kloppen. De magere lichaamsmassa nam namelijk gemiddeld minder toe in zowel de fosfatidezuurgroep die 250 mg per dag kreeg (+0.5 kg) als de groep die 375 mg kreeg (+1.3 kg), dan in de placebogroep (+1.6 kg). Ook de vetmassa nam gemiddeld het meeste af in de placebogroep. De overige cijfers in de tabel met MBI-waarden stemmen ook niet overeen met de data gerapporteerd elders in het onderzoek.

Gezien de dubbelzinnige resultaten in de literatuur onderzochten ook Gonzalez et al. het effect van fosfatidezuursuppletie (750 mg per dag) in getrainde mannen [173]. Ook in deze studie volgden de proefpersonen ( $n = 8$ ) een krachttrainingsprogramma waarbij driemaal per week werd getraind. Voor en na de acht weken werd er gekeken naar het effect op spierdikte van de rectus femoris, vastus lateralis, biceps brachii en triceps brachii (gemeten met ultrasonografie), en krachtwinst (1-RM squatten, deadliften en bankdrukken). Helaas werd in deze studie niet de lichaamscompositie bepaald. Hoewel alle proefpersonen vooruitgingen met al deze metingen, werden er geen significante verschillen tussen de placebogroep en fosfatidezuurgroep gevonden.

Een overzicht van de resultaten van de zojuist besproken studies is gepresenteerd in tabel 10.3.

Samenvattend suggereren de studies misschien een positief effect op de magere lichaamsmassa en spierkracht door fosfatidezuursuppletie in combinatie met krachttraining. De recente studie door Andre e.a. wordt geplaagd door verkeerd gerapporteerde data en mogelijk speelt ook de lagere dosering een rol in de gevonden resultaten. Hierdoor zouden significante effecten uit kunnen blijven. Zowel Escalante e.a. en Joy e.a. vonden een positief effect op de magere lichaamsmassa door fosfatidezuursuppletie, hoewel in het onderzoek van Escalante e.a. ook vitamine D, leucine en HMB werd gesuppleerd. Deze extra supplementen zouden de resultaten kunnen hebben beïnvloed, waardoor het niet te zeggen valt in hoeverre fosfatidezuur verantwoordelijk was voor de gevonden resultaten. De resultaten van Hoffman e.a. tonen alleen een positief effect op de magere lichaamsmassa wanneer wordt uitgeweken naar een MBI-analyse. Tot slot laten de meeste studies een positief effect op de krachtontwikkeling zien, hoewel deze alleen significantie weet te



Studie	1-RM BP (kg)	1-RM SQ/LP (kg)	LBM (kg)	FM (kg)
Gonzalez e.a. (2017)	+0.5	+0.6	-	-
Andre e.a. (2016) <sup>a</sup>	-	+20.5	-0.3	+0.4
Andre e.a. (2016) <sup>b</sup>	-	+42.4	-1.1	+0.3
Escalante e.a. (2016) <sup>c</sup>	+8.5*	+29.2*	+1.1*	-1.0
Joy e.a. (2014)	+10.3	+19.5*	+1.2*	-0.8
Hoffman e.a. (2012)	+2.4	+4.2	+1.6	+0.1

**Tabel 10.3:** Resultaten geven het gemiddelde verschil van verandering weer tussen de fosfatidezuur-groep en placebogroep na acht weken krachttraining. De gebruikte dosering fosfatidezuur bedroeg 750 mg per dag, tenzij anders vermeld. <sup>a</sup>Gebruikte dosering fosfatidezuur bedroeg 375 mg per dag. <sup>b</sup>Gebruikte dosering fosfatidezuur bedroeg 250 mg per dag. <sup>c</sup>Naast 750 mg fosfatidezuur kregen de proefpersonen ook vitamine D, leucine en HMB. \*Significant verschillend ten opzichte van placebogroep ( $P < 0.05$ ). Afkortingen: BP, bankdrukken; SQ, squat; LP, leg press; LBM, magere lichaamsmassa; FM, vetmassa.

bereiken in de studie door Escalante e.a., waarbij wederom de toevoeging van de overige supplementen dit resultaat zou kunnen hebben beïnvloed. De onlangs gepubliceerde studie van Gonzalez vond geen enkel effect op kracht, noch op spierdikte.

Vervolgonderzoek met meer proefpersonen is nodig om meer zekerheid te verschaffen. Als er een effect is op de magere lichaamsmassa of kracht, dan is deze waarschijnlijk klein. Vooralsnog is er geen onderzoek verricht naar het effect van fosfatidezuursuppletie in een ongetrainde populatie. Zodoende blijft het onbepaald wat het effect van fosfatidezuur is in ongetrainde personen. Ook is het onduidelijk of het werkingsmechanisme, stimulering van mTORC1 door interactie met mTOR en activatie van het MEK-ERK-reactiepad, *in vivo* bij mensen een rol speelt. Gezien het remmende effect van fosfatidezuur op volledig gedifferentieerde L6-myotubes op ubiquitineligases (zoals besproken in sectie 10.2.2) is het interessant om het effect hiervan te onderzoeken in populaties waarbij spieratrofie op de voorgrond staat.

## 10.4 Veiligheid

Er is opmerkelijk weinig bekend over de veiligheid van fosfatidezuur. Tot op heden is er slechts één publicatie in de wetenschappelijke literatuur terug te vinden die hier direct onderzoek naar heeft verricht [133]. In deze posterpresentatie, gepresenteerd op de tiende jaarlijkse conferentie van de International Society of Sports Nutrition in 2013, werd de veiligheid van fosfatidezuur onderzocht in 28 gezonde jonge mannen. Het onderzoek was dubbelblind opgezet waarbij één groep dagelijks 750 mg soja-afgeleid fosfatidezuur kreeg, en de andere groep een placebo. De cardiovasculaire, nier- en leverfunctie werden in kaart gebracht door middel van een compleet metabool beeld (CMP, Eng.: *comprehensive metabolic panel*) en compleet bloedbeeld (CBC, Eng.: *complete blood test*). Ook werd een urinemonster afgenomen om de specifieke zwaartekracht (een nierfunctietest) en de pH hiervan te bepalen. Na acht weken suppletie werd er geen enkel significant verschil gevonden tussen de fosfatidezuurgroep en de placebogroep.

In géén van de klinische studies besproken in sectie 10.3 wordt melding gedaan van bijwerkingen. Echter, deze studies keken niet specifiek naar veiligheid en er werden dus

geen tests gedaan die bijwerkingen zou opmerken die de gebruiker niet zou kunnen voelen (denk bijvoorbeeld aan een verhoging van het LDL-cholesterol).

Met deze beperkte data lijkt fosfatidezuursuppletie, bij een dosering van 750 mg per dag op de korte termijn veilig in gezonde jonge mannen. Gegeven dat in totaal 75 proefpersonen fosfatidezuur gesuppleerd kregen in de beschouwde studies, en geen bijwerkingen vertoonden, is het maximale risico op bijwerkingen circa 4% [192]. Verder onderzoek is noodzakelijk om meer zekerheid te krijgen over de veiligheid van het supplement, ook voor andere populaties en langetermijngebruik.

## 10.5 Conclusie

Fosfatidezuur is mogelijk een interessant supplement voor wie de spiermassa wil vergroten of meer krachtwinst wil boeken. Veel moleculair onderzoek impliceert een nauwe betrokkenheid van fosfatidezuur bij de regulatie van het mTORC1-eiwit en daarmee ook de eiwitsynthese. Doordat het slechts in zeer geringe hoeveelheden in de voeding voorkomt, is suppletie nodig om aan een dosering te komen die mogelijk ergoegen werkt. De gangbare dosering hierbij is 750 mg per dag, afkomstig van soja-afgeleid fosfatidezuur. Doordat er geen vergelijkend onderzoek verricht is naar het optimale tijdstip van inname, is het raadzaam om trouw te blijven aan de tijdstippen die het vaakst in het klinisch onderzoek werden gebruikt. Op trainingsdagen wordt fosfatidezuur dertig tot zestig minuten voor de training ingenomen, en direct na de training. De dosering wordt hierbij gesplitst in 450 mg voor de training en 300 mg na de training, om zo op een totale inname van 750 mg uit te komen. Op rustdagen wordt 450 mg ingenomen bij het ontbijt en 300 mg bij het avondeten. Doordat fosfatidezuur na inname eerst wordt bewerkt, waarna het in de enterocyten weer opnieuw wordt veresterd tot fosfatidezuur (zoals besproken in sectie 10.1.2), kan het zijn dat de samenstelling van de maaltijd waarmee het wordt ingenomen invloed heeft op de effectiviteit. Vooralsnog is hier echter geen onderzoek naar uitgevoerd. Op basis van het gegeven dat met name het fosfatidezuur veresterd met onverzadigde vetzuren effectief is, is het wellicht nuttig om gelijktijdige inname met verzadigde vetzuren te mijden.

# 11. Trimethylglycine

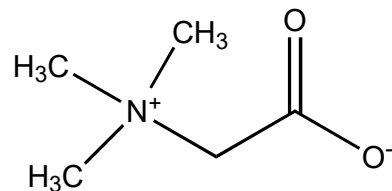
## 11.1 Inleiding

Trimethylglycine (TMG) is een methyl derivaat van het aminozuur glycine. TMG werd voor het eerst gevonden in het sap van de suikerbiet (*Beta vulgaris*) waar het zijn alternatieve benaming betaïne aan heeft te danken. Ook komt TMG voor in dieren, planten en micro-organismen. Met name schaaldieren – ongewervelde zeediertjes in het bijzonder –, tarwekiemen of -zemelen en spinazie zijn rijk aan TMG [105].

Het supplement won aan populariteit nadat een studie uit 2013 aantoonde dat het de lichaamscompositie, armgrootte en bankdrukwerkcapaciteit significant verbeterde in mannen die al ervaring hadden met krachttraining [95].

De werking van het supplement wordt toegeschreven aan twee werkingsmechanismen. Zo kan TMG fungeren als osmolyt in de cel. Osmolyten zijn nauw betrokken bij de regulatie van de osmotische druk in een cel, en bijgevolg de vochtthuishouding. Dit effect is het gevolg van osmose, waarbij water diffundeert van buiten de cel naar binnen de cel (waar de concentratie van de osmolyt hoger is). Osmose wordt nader toegelicht in kader 11.1.

TMG accumuleert in bijna alle weefsels om het celvolume te reguleren en wordt beschouwd als een van de belangrijkste organische osmolyten [272]. TMG waarborgt



**Figuur 11.1:** Structuurformule van trimethylglycine. Het molecuul is een zwitterion, aangezien het beschikt over zowel een negatieve lading (de carboxylgroep) als een positieve lading (het quaternair ammoniumkation).

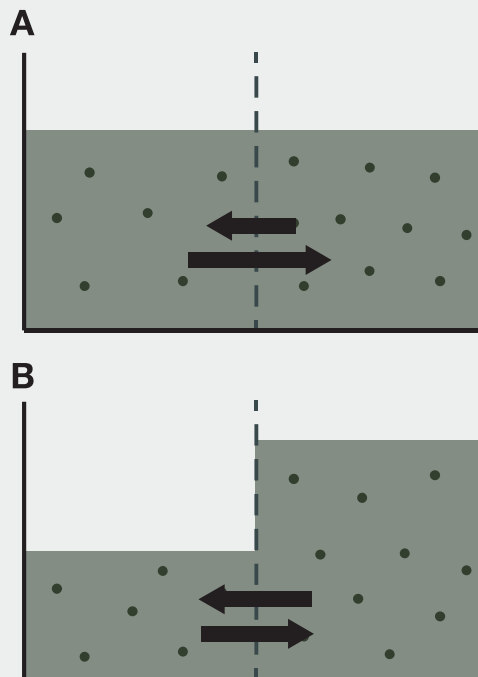


dus de vochthuishouding van de cellen. Daarnaast fungeert TMG als methyl donor: het voedt een biochemisch proces genaamd transmethylatie. Hierbij wordt een methylgroep van TMG doorgegeven aan een ander molecuul. Methyleringsreacties zijn belangrijk voor talloze cellulaire reacties en daarom is het belangrijk dat er voldoende methylgroepen aanwezig zijn om deze reacties te voeden. In het bijzonder fungeert TMG als methyl donor voor de hermethylering van homocysteïne, wat zorgt voor de vorming van methionine. TMG-suppletie is dan ook effectief in het verlagen van de serumhomocysteïneconcentratie [308]. Een hoge serumhomocysteïneconcentratie wordt gezien als een onafhankelijke risicofactor voor cardiovasculaire aandoeningen. Het directe effect van TMG-suppletie op het risico van cardiovasculaire aandoeningen is momenteel echter onbekend [369]. Ook laat een recente meta-analyse een associatie zien tussen TMG-inname en kankerincidentie [430]. Een hogere inname zou hier een beschermend effect op hebben.

### Kader 11.1



Osmose is een verschijnsel dat centraal staat in de werking van osmolyten, zoals TMG. Het is in principe een vorm van passief transport, zoals beschreven in sectie 3.2.1. Het zijn echter geen in water opgeloste moleculen die langs de membraan diffunderen, maar de watermoleculen zelf. Wanneer er een semipermeabele membraan aanwezig is, die wel water doorlaat, maar niet (een selectie van) de daarin opgeloste deeltjes, dan kan er osmose optreden als er een concentratieverschil is tussen weerszijden van de membraan van deze deeltjes. Dit gegeven is gevisualiseerd in onderstaande afbeelding.



Door de thermische beweging komen er continu deeltjes, zowel de niet-doorlaatbare deeltjes als de waterdeeltjes, in aanraking met de membraan. Wanneer er aan één van de twee zijdes meer niet-doorlaatbare deeltjes aanwezig zijn dan aan de andere zijde, dan komen er minder waterdeeltjes in aanraking met de membraan ten opzichte van de andere zijde. Dit leidt ertoe dat er netto dus meer waterdeeltjes van de ene kant naar de andere kant stromen. Water gaat dus van een verdunde oplossing (lage concentratie opgeloste stof) naar een geconcentreerde oplossing (hoge concentratie opgeloste stof).