

# Dipeptid karnozin - multifunkcionalna molekula s pozitivnim učincima na prehranu i zdravlje

---

**Kosinec, Matea**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:158421>

*Rights / Prava:* [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-17**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**  
**Preddiplomski studij Nutricionizam**

**Matea Kosinec**  
0058215719

**DIPEPTID KARNOZIN-MULTIFUNKCIONALNA MOLEKULA S POZITIVNIM  
UČINCIMA NA PREHRANU I ZDRAVLJE**

**ZAVRŠNI RAD**

**Predmet:** Kemija i biokemija hrane

**Mentor:** prof. dr. sc. Irena Landeka Jurčević

**Zagreb, 2022.**

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

**Završni rad**

**Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Preddiplomski sveučilišni studij Nutricionizam**

**Zavod za poznavanje i kontrolu sirovina i prehrambenih proizvoda  
Laboratorij za kemiju i biokemiju hrane**

**Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Nutricionizam**

**Dipeptid karnozin- multifunkcionalna molekula s pozitivnim učincima na prehranu i zdravlje**

**Matea Kosinec, 0058215719**

## **Sažetak:**

Dipeptid karnozin relativno je slabo istraživana molekula čiji su se novootkriveni učinci pokazali izrazito povoljnima za ljudsko zdravlje. U ljudi je u najvišim koncentracijama prisutan u skeletnim mišićima, no manje su količine zabilježene i u dijelovima živčanog sustava i drugim tkivima. Sintetizira se u prisustvu enzima karnozin-sintaze iz beta alanina i L-histidina pri čemu je potonja aminokiselina limitirajuća. Prirodna je komponenta mesa stoga je suplementacija i poboljšanje statusa karnozina u ljudi moguće i putem prehrane. Fiziološke uloge karnozina su iznenađujuće. Njegova antioksidativna, antiglikacijska, antiinflamatorna, kelirajuća i puferirajuća svojsva smatraju se značajnima i obećavajućima u svim sferama znanosti i svakodnevnoga života. Stoga je ovaj rad usmjeren na cjelokupnu analizu ovoga multifunkcionalnog dipeptida, a njegova pojedinačno opisana svojstva naposljetku valja promatrati kao sinergistički paket koji zajedno djeluje u zdravlju, sportu i cjelokupnom životu ljudi svih dobnih skupina i drugih čimbenika različitosti.

**Ključne riječi:** karnozin, beta-alanin, antioksidans, zdravlje, sport

**Rad sadrži:** 32 stranice, 3 slike, 35 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

**Mentor:** prof. dr. sc. Irena Landeka Jurčević

**Datum obrane:** 18. srpnja 2022.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

**Undergraduate thesis**

**University of Zagreb**  
**Faculty of Food Technology and Biotechnology**  
**University undergraduate study Nutrition**

**Department of Food Quality Control**  
**Laboratory for Food Chemistry and Biochemistry**

**Scientific area: Biotechnical Sciences**  
**Scientific field: Nutrition**

**Dipeptide carnosine- multifunctional molecule with positive effects on diet and health**

**Matea Kosinec, 0058215719**

### **Abstract:**

The dipeptide carnosine is a relatively poorly researched molecule whose newly discovered effects have been shown to be extremely beneficial to human health. In humans, it is present in the highest concentrations in skeletal muscle, but smaller amounts have also been reported in parts of the nervous system and other tissues. It is synthesized in the presence of the enzyme carnosine synthase from beta alanine and L-histidine, and the latter amino acid is limiting. It is a natural component of meat, so supplementation and improvement of carnosine status in humans is also possible through diet. The physiological roles of carnosine are surprising. Its anti-oxidative, anti-glycation, anti-inflammatory, chelating and buffering properties are considered significant and promising in all spheres of science and everyday life. Therefore, this paper focuses on the overall analysis of this multifunctional dipeptide, and its individually described properties should ultimately be viewed as a synergistic package that works together in health, sports, and overall life of people of all ages and other diversity factors.

**Keywords:** carnosine, beta-alanine, antioxidants, health, sport

**Thesis contains:** 32 pages, 3 figures, 35 references

**Original in:** Croatian

Thesis is deposited in printed and electronic form in the Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

**Mentor:** Irena Landeka Jurčević, PhD, Full Professor

**Thesis defended:** July 18, 2022

## Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO.....	2
2.1. IZVORI KARNOZINA.....	4
2.2. METABOLIZAM KARNOZINA.....	4
2.2.1. VRSTA VLAKNA.....	6
2.2.2. DOB.....	6
2.2.3. AKTIVNOST.....	7
2.2.4. PREHRANA.....	7
2.3. NAJVAŽNIJA SVOJSTVA KARNOZINA.....	8
2.3.1. PH PUFER.....	8
2.4. ANTIOKSIDATIVNI UČINAK.....	8
2.4.1. ANTI-AGING.....	9
2.5. KELIRAJUĆI AGENS.....	11
2.6. ANTIGLIKACIJSKA ULOGA.....	12
2.7. ANTIINFLAMATORNI UČINAK (IMUNOMODULACIJA).....	13
2.8. KARNOZIN U SPORTU.....	14
2.8.1. BETA-ALANIN.....	15
2.8.2. POBOLJŠANJE PERFORMANSI.....	16
2.8.3. PRAKTIČNO KORIŠTENJE.....	17
2.9. TERAPEUTSKI UČINCI KARNOZINA.....	18

2.9.1. ŠEĆERNA BOLEST TIP 2.....	19
2.9.2. KARNOZIN I VASKULARNA FUNKCIJA.....	20
2.9.3. KARNOZIN U KARDIOVASKULARNIM POREMEĆAJIMA.....	20
2.9.4. KARNOZIN I NEUROLOŠKI POREMEĆAJI.....	21
2.9.5. KARNOZIN U ALKOHOLIČARA.....	23
2.9.6. KARNOZIN I MALIGNNE BOLESTI.....	23
2.10. SUPLEMENTACIJA-FUNKCIONALNA HRANA.....	24
2.10.1. PILETINA.....	24
2.10.2. SEVITIN.....	25
2.11. KARNOZIN U KOZMETIČKOJ INDUSTRIJI.....	25
2.12. KARNOZIN I COVID-19.....	26
2.13. PROBLEM ORALNE SUPLEMENTACIJE.....	27
3.ZAKLJUČAK.....	28
4.POPIS LITERATURE.....	29

## 1. UVOD

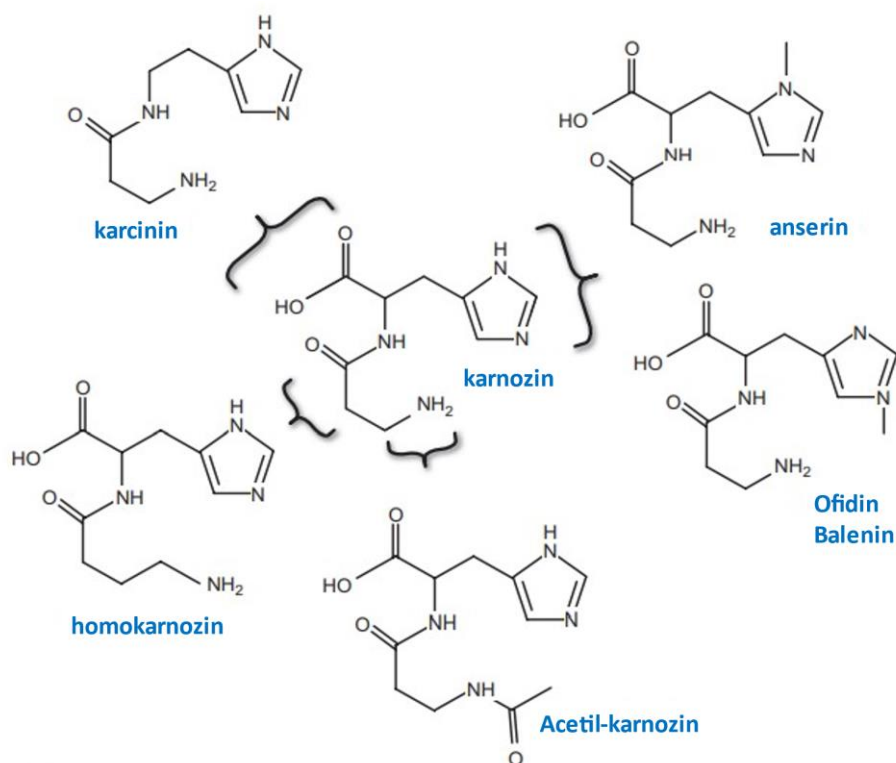
Karnozin i njegovi derivati poput homokarnozina i anserina, zajedno s N-acetiliranim oblicima čine skupinu dipeptida koji se prirodno nalaze u riba, ptica i sisavaca. Iako malena molekula, karnozin zadivljuje mnoštvom svojih pozitivnih svojstava. Stoga je cilj ovoga rada detaljnije opisati fiziološku ulogu karnozina na temelju njegovih biokemijskih svojstava: svojstva pH pufera, ali i keliranja metalnih iona, antioksidansa, imunomodulatora, inhibitora sinteze štetnih krajnjih produkata glikacije i lipoksidacije te drugih povezanih mehanizama. Posljedično, uloga karnozina značajna je u terapijske svrhe, a izrazito važna kako za prevenciju tako i za liječene mnogih bolesti i stanja koja su usko povezana s oksidativnim stresom.

Beta-alanin, jedna od aminokiselina koja tvori ovaj dipeptid, posebno je zanimljiv kao dodatak prehrani za sportaše. Suplementacijom beta-alanina povećava se koncentracija mišićnog karnozina što povoljno utječe na sportske performanse, posebno kod anaerobnih aktivnosti.

Naposlijetku, brojna istraživanja i dalje čekaju potvrdu svojih rezultata kako bi se u potpunosti opravdala široka primjenjivost ove multifunkcionalne molekule, a za to vrijeme razvijaju se i obogaćeni proizvodi, različiti dodaci prehrani, medicinski i kozmetički pripravci koji sadrže karnozin. Posebno je zanimljivo obogaćivanje hrane kako bi suplementacija karnozina bilo dostupna cijeloj populaciji zbog čega bi karnozin i proizvodi s dodatkom karnozina u budućnosti mogli dobiti popularni epitet funkcionalne hrane.

## 2. TEORIJSKI DIO

Karnozin ( $\beta$ -alanil-L-histidin) (Slika 1) jest citoplazmatski dipeptid koji nastaje sintezom dvaju aminokiselina: proteinogenog L-histidina i neproteinogenog beta-alanina. Otkriven je 1900. godine od strane ruskog biokemičara Vladimira Gulevicha tijekom proučavanja dušičnih spojeva u Liebigovom mesnom ekstraktu prema čemu je naposljetku i dobio ime (lat. *carnis*-meso). Ovaj spoj pripada skupini spojeva koji sadrže histidin (HCD) te je uglavnom pronađen isključivo u kralježnjaka kod kojih se u najvećoj koncentraciji nalazi u skeletnim mišićima (gotovo 99% ukupnog karnozina u tijelu), a nešto manje koncentracije pronađene su i u dijelovima živčanog sustava, temeljno mozgu i njušnom režnju. Međutim, kod pojedinih vrsta karnozin se pojavljuje u nekom od oblika svojih metiliranih derivata kao što su anserin (npr. kod kokoši) ili pak ofidin/balenin (npr. kod zmija) dobiveni metilacijom imidazolnog histidinskog prstena, ali i mnogi drugi koji se pojavljuju rijetko (karcinin, acetil-karnozin i dr.). Također, živčana tkiva kralježnjaka sadrže homokarnozin kod kojega je beta-alanin zamijenjen s  $\gamma$ -aminomaslačnom kiselinom (GABA).



Slika 1. Kemijska struktura karnozina i njegovih derivata (Bodyrev i sur. 2013)



Raspon koncentracija karnozina kod različitih vrsta širokog je raspona, a u ljudi može varirati 5-8 mmol/L u mokre mase, odnosno 20-30 mmol/kg u suhe mišićne mase što je usporedivo s koncentracijama poznatih spojeva kao što su adenozin trifosfat (ATP), karnitin, taurin te nešto niže od koncentracije kreatina (Derave i sur., 2010).

Prilikom određivanja razine karnozina u ljudskom tijelu, treba uzeti u obzir problem detekcije karnozina u plazmi dok mišićna biopsija predstavlja nepreferencijalan invazivan proces. Ljudska plazma ne sadrži mjerljivu količinu karnozina pa se laboratorijska analiza krvi ne može koristiti kao dokaz njegovog mogućeg deficita. Međutim, ukoliko dođe do ozljede mišića, koncentracija karnozina u plazmi raste te se može koristiti kao detektor povrede. Uz to, potrebno je razmotriti i limitirajući učinak beta-alanina na samu sintezu karnozina čija količina se može razlikovati pod utjecajem mnoštva čimbenika, između ostaloga i načina prehrane pojedinca. Kod ljudi, povećanje dostupnosti beta-alanina, bilo putem prehrane (npr. govedina, piletina, svinjetina, puretina i riba) ili suplementacijom, rezultira povećanjem sadržaja karnozina u skeletnim mišićima. Međutim, iako je suplementacija beta-alaninom i karnozinom potaknula izrazita zanimanja kroz prizmu ergogenih sredstava, učinci karnozina potencijalno bi mogli imati velik značaj u poboljšanju zdravlja te prevenciji i liječenju bolesti (Harris i sur., 2006).

Mnoge su biološke funkcije uočene kod ovoga dipeptida, uključujući svojstva fiziološkog pufera (kontrola pH), imunostimulansa, kelirajućeg agensa za mnoge metale (cink, kobalt, željezo), posjedovanja antioksidativnoga učinka, pozitivnog djelovanja na zarastanje rana, sposobnosti hvatanja slobodnih radikala značajnih kod oksidativnog i stresa uzrokovanog dušičnim oksidima i superoksidima te mnoga druga koja ukazuju na izrazit značaj i potencijal ove nedovoljno istražene molekule. Karnozin je, kako je navedeno, ponajviše prisutan u skeletnim mišićima, a vjeruje se kako mu je glavna funkcija uz doprinos homeostatskoj kontroli drugih organa, i potpora lokalne homeostaze tijekom mišićne kontrakcije. Na taj način, karnozin svoju ulogu nalazi na mnogim poljima, od medicine, nutricionizma, genetike, pa do kineziologije i drugih usko ili šire povezanih znanstvenih grana. Stoga je ovaj rad orijentiran na obje njegove temeljne uloge, sistemske i lokalne, te mnoge benefite kako u medicini i sportu, tako i u drugim sferama znanosti te svakodnevnom životu.

## 2.1. IZVORI KARNOZINA

Karnozin jest sastavnica namirnica životinjskog podrijetla. Kao jedan od odličnih izvora karnozina u ljudskoj prehrani pokazalo se crveno meso, posebno govedina. Zbog svoga visokog sadržaja ove hranjive tvari, konzumacija govedine može uvelike utjecati na poboljšanje ljudske prehrane te imati mnoge zdravstvene pogodnosti. Međutim, iako je poznato da je količina karnozina visoka, literaturni podaci mogu značajno varirati od 14 mg pa do 1 g karnozina u 100 g sirovoga goveđeg mesa (Jukić i sur. 2021) što se pripisuje razlikama u provedenim analitičkim metodama, dobi i pasmini životinje, analiziranom dijelu mesa ili pak nekome od drugih čimbenika. Također, treba uzeti u obzir i aktivnost enzima karnozinaze u *in vivo* uvjetima koja može biti pod utjecajem ostalih sastavnica namirnice.

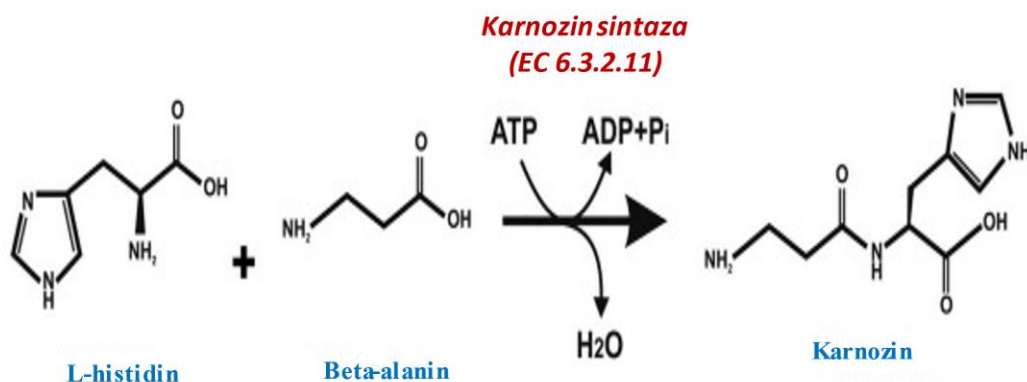
## 2.2. METABOLIZAM KARNOZINA

Karnozin iz hrane uglavnom se apsorbira u gornjem probavnom traktu (u jejunumu), a onda iz krvi direktno stiže do mišića, srca, mozga i drugih organa. Sam metabolizam, odnosno homeostaza karnozina ovisi o njegovoj sintezi i razgradnji na njegove sastavne aminokiseline. Za sintezu karnozina, tj. kondenzaciju beta-alanina i L-histidina neophodna je prisutnost nespecifičnog enzima karnozin sintaze prirodno prisutnog u skeletnim mišićima (Slika 2). Beta-alanin ima visoki afinitet ( $K_m = 1,0-2,3 \text{ mM}$ ) za karnozin sintazu te se u mišiću nalazi u niskim koncentracijama, dok su koncentracije histidina visoke, no afinitet znatno niži ( $K_m = 16,8 \text{ }\mu\text{M}$ ). Time je vidljivo da je za sintezu karnozina beta-alanin limitirajuća aminokiselina (Artioli i sur., 2019).

S druge strane, enzimatsku hidrolizu, odnosno degradaciju potiče hidrolitički enzim karnozinaza koja u ljudskom organizmu može biti prisutna u dva oblika: serumska karnozinaza (CN1) čija je aktivnost izrazito jaka i za ulogu ima potpuno uklanjanje karnozina u krvi, te tkivna karnozinaza (CN2) znatno slabije aktivnosti te ju ubrajamo u citosolnu nespecifičnu dipeptidazu. Serumska karnozinaza vrlo je specifična za karnozin, dok karnozinaza koja se nalazi u tkivu ima širu specifičnost supstrata i aktivnost joj je optimalna pri pH 9,5 što nije karakteristično za mišiće na koje posljedično ima mali utjecaj.

Zbog prisutnosti karnozinaze u gastrointestinalnom traktu, karnozin (ili neki od derivata-anserin, balenin...), može biti hidroliziran i prije no što je dospio u krvotok. Ipak,

većina karnozina dospjeva u krvotok gdje se ispoljava aktivnost CN1. O spomenutome potvrđuje i činjenica da je cirkulirajuća razina karnozina u krvi nakon unosa hranom svedjedno vrlo niska, a nakon hidrolize sastavne aminokiseline se mogu transportirati do mišića. CN1 najčešće hidrolizira karnozin iz krvi unutar 2-3 sata što je i razlog njegove slabe detekcije nakon izvjesnog vremena gladovanja. Uobičajene peptidaze nemaju utjecaja na kidanje peptidnih veza unutar molekule karnozina što ukazuje na dobru metaboličku regulaciju ovog dipeptida. Cijeli proces degradacije karnozina prati i popularni naziv „karnozinaza paradoks“ jer ostaje nerazjašnjeno zašto dolazi do razlaganja ovako pozitivne i neinvazivne molekule na manje komponente od kojih slobodni histidin može imati toksične učinke.



Slika 2. Endogena sinteza karnozina enzimom karnozin sintazom (Artioli i sur., 2019)

### 2.3. ČIMBENICI RAZLIKE U KONCENTRACIJI KARNOZINA U ORGANIZMU

Razina karnozina u ljudskim skeletnim mišićima (bez dodatka karnozina ili beta-alanina) u rasponu je od 5 do 10 mM, ili 16,7–33,3 mmol/kg suhe težine mišića. Ona uvelike ovisi o različitim individualnim čimbenicima uključujući dob, spol, prehranu, distribuciju, raspodjelu mišićnih vlakana i status treninga.

### 2.3.1. Vrsta vlakna

Razine karnozina u mišićima obično su veće u brzim mišićnim vlaknima (npr. gastrocnemius) čija je aktivnost karakteristična za aerobne aktivnosti visokoga intenziteta u usporedbi sa sporim mišićnim vlaknima (npr. soleus). Tako je ustanovljena veća intramuskularna koncentracija ovoga dipeptida u sprintera, kao i u bodybuildera kao posljedica kronične izloženosti nižim pH-vrijednostima te prehrane bogate proteinima. Bodybuilderi mogu imati prosječne vrijednosti od 13 mmol ili 43 mmol/kg suhe mase što doseže i više od dvostruke vrijednosti normalnih razina (Jukić i sur., 2021).

Gardner i suradnici potvrdili su kako ovaj tip tjelesne aktivnosti povećava aktivnost karnozinaze u plazmi te smanjuje izlučivanje karnozina što dovodi do veće koncentracije mišićnog karnozina. Dodatno, ukoliko osoba ima više koncentracije u jednom mišiću, utvrđuje se korelacija i na druge mišiće, ali uzevši u obzir spomenutu vrstu vlakna (Gartner i sur., 1991.).

### 2.3.2. Spol

Sadržaj karnozina uvelike ovisi i o spolu organizma. Naime, pokazalo se kako je u muškaraca sadržaj karnozina u mišićima gotovo 20-25% veći nego u žena što se djelomično može pripisati spolnom dimorfizmu koju uzrokuje veću količinu brzih mišićnih vlakana u muškaraca, a samim time i bolje predispozicije u anaerobnim performansama. Veliku ulogu imaju i androgeni hormoni čija je koncentracija viša u muškoga spola. Povezani su s pojavom sekundarnih spolnih karakteristika, a time i mišićavosti, pa se može zaključiti kako androgeni povoljno utječu na povećanje broja mišićnih vlakana i sintezu karnozina u organizmu. Pokusi na životinjama utvrdili su kako i uporaba androgena u ženskog spola može imati povoljne učinke, no ljudski su modeli ostali nepoznati. Temeljem dobivenih rezultata, sugerira se da bi enzim karnozin sintaza mogao biti direktno reguliran androgenima, a utjecaj spolnih hormona na apsorpciju beta-alanina također nije isključiv (Mannion i sur., 1992).

### 2.3.3. Dob

Sadržaj karnozina u skeletnim mišićima značajno opada sa starenjem. Ono je povezano s postupnim gubitkom brzih mišićnih vlakana te prevalencijom sporih vlakana koja imaju slabiju sposobnost sinteze karnozina. Nadalje, starenjem se smanjuje koncentracija androgenih

hormona u organizmu, osobito vidljivo kod muškog spola, a dodatna je okolnost smanjena otpornost i imunitet organizma koji je podložniji različitim bolestima i patološkim stanjima poput dijabetesa i metaboličkog sindroma. Tako kronična stanja uzrokuju neprirodno ubrzano starenje te imaju utjecaja na mišićnu kompoziciju i u krajnjem slučaju količinu karnozina. Starenjem, dakle, opada sposobnost endogene sinteze karnozina, a prisutni je karnozin podložniji oštećenju.

#### 2.3.4. Aktivnost

Uspoređivane su koncentracije karnozina u mišićima sprintera, veslača, maratonaca i neutreniranih pojedinaca. Najveća je vrijednost uočena kod sprintera (4,93 – 0,76 mmol/kg) i veslača (5,04 – 0,72 mmol/kg), nešto manja kod neutreniranih ispitanika (3,75 – 0,86 mmol/kg), dok je najmanja bila kod maratonaca (2,80 – 0,74 mmol/kg). To ukazuje na činjenicu kako na količinu karnozina, osim genetskih čimbenika (npr. distribucija vlakana i slične predispozicije), utječe i tip i intenzitet treninga, odnosno fizičke aktivnosti, ali i sam stupanj utreniranosti. Anaerobna aktivnost pokazala se najučinkovitijom za samu sintezu karnozina dok aerobna pokazuje najveće gubitke (Parkhouse i sur., 1985).

#### 2.3.5. Prehrana

Karnozin se nalazi isključivo u hrani životinjskog podrijetla te je za razliku od ostalih antioksidanasa jedinstven obzirom da se može sintetizirati u ljudskom organizmu. Govedina, svinjetina, puretina i piletina mogu osigurati izvore karnozina, a u idealnom slučaju, tijelu je potrebno 500-3500 mg karnozina iako prosječan unos u ljudi iznosi samo 50-250 mg. Kako je glavni izvor karnozina meso, vegetarijanska prehrana nema izvore HCD-a pa su zabilježene i niže koncentracije karnozina u osoba koje su prakticirale ovakav način prehrane. Suplementacija dodatkom beta-alanina najbolji je način za postizanje optimalne razine karnozina što je posebno važno za sportaše vegetarijance koji žele izgraditi mišićnu masu i povećati izdržljivost.

Sinteza karnozina u samom organizmu teoretski je ograničena količinom njegovih sastavnica; histidinom i beta-anlaninom, no histidin je uglavnom uvijek prisutan u dovoljnim koncentracijama (osim ukoliko se prakticira posebna dijeta bez histidina), stoga je jedino beta-alanin limitirajući. On pak nije prisutan u proteinima, a endogeno se može dobiti ireverzibilnom

razgradnjom pirimidina, uracila i timidina.

## **2.4. NAJVAŽNIJA SVOJSTVA KARNOZINA**

### **2.4.1. pH pufer**

Karnozin u svojoj strukturi ima tri značajne ionizirajuće skupine: karboksilna (pKa 2,76), amino skupina (alaninski ostatak) (pKa 9,32) te dušik iz imidazolnog prstena (pKa 6,72), stoga se pri fiziološkom pH uglavnom nalazi u obliku zwitter-iona. Moguća su dva tautomerna oblika karnozina, a tautomerna ravnoteža je pod utjecajem kelacije metala što je još jedno od svojstava karnozina.

Uloga karnozina kao fiziološkog pH pufera prva je otkrivena funkcija ovoga dipeptida. Kako cjelokupni intramiocelularni puferi kapacitet čine puferko djelovanje proteina, fosfata, amonijaka, bikarbonata i HCD, uočeno je da od svih bočnih ogranaka samo imidazolni prsten histidina ima povoljnu pKa vrijednost za puferko funkcioniranje u fiziološkom rasponu zbog čega može prihvatiti H<sup>+</sup> ione nastale tijekom acidoze izazvane mišićnim kontrakcijama. Uz to, djeluje kao visokoenergetski fosfatni sustav usporediv s kreatin/fosfokreatinskim sustavom.

Postoje neke vrste riba (tzv. "histidinske ribe") koje ne sadrže HCD spojeve u svojim mišićima, ali zato je pronađena visoka koncentracija slobodnoga histidina i puferko djelovanje je osigurano.

Ovo svojstvo karnozina prati i tzv. "Severinov fenomen", odnosno utjecaj karnozina na snagu i aktivnost mišića koji opisuje brži oporavak i smanjeni umor. Intenzivniji mišićni rad uzrokuje nakupljanje veće količine mliječne kiseline (laktata) u mišiću i okolnom mediju, a uz suplementiranje karnozinom, nakon vježbanja ustanovljena je 25-30% manja količina mliječne kiseline. Tako je otkrivena uloga karnozina u prevenciji acidifikacije intracelularnog medija te kasnije i sposobnost regulacije osmotskog tlaka u mišićnom tkivu.

## **2.5. ANTIOKSIDATIVNI UČINAK**

Poznato je da na razvoj većine bolesti i njihovu patogenezu utjecaj imaju prekomjerno stvaranje slobodnih radikala u organizmu te poremećaj antioksidativnog zaštitnog sustava što progresivno uzrokuje nastanak oksidativnog stresa i povećane količine kisikovih reaktivnih

vrsta (ROS), odnosno poremećaj homeostaze unutar živoga organizma. Iako u normalnim fiziološkim uvjetima ROS obavljaju važne regulatorne funkcije organizma, u prevelikim količinama uzrokuju nepoželjne modifikacije kao što su nastanak karboniliranih, nitroziliranih ili glikiranih proteina, produkata lipidne peroksidacije, glikacije (AGE) i drugih koji posljedično prekidaju vitalne funkcije stanica.

Stoga se nastoji pronaći povoljno rješenje kojim bi se utjecalo na neutralizaciju ovih produkata, a jedan od istraživanih načina jest uporaba antioksidanasa. Međutim, širok je spektar različitih vrsta antioksidanasa te ne funkcionira svaki u rješavanju određenoga patološkog stanja. Nadalje, osim uporabe egzogenih oblika antioksidanasa, iznimno su važni i endogeni sustavi antioksidativnog odgovora organizma aktiviraju se kroz transkripcijski faktor Nrf2. Posljedično, ekspresija gena endogenih antioksidativnih enzima je povećana, a kombinacijom obaju izvora postiže se najbolji odziv u borbi protiv oksidativnoga stresa.

Da bi se neki antioksidans sa sigurnošću mogao koristiti u svrhu ljudskog zdravlja, moraju biti zadovoljeni određeni kriteriji jer ne daje svaki antioksidans nužno pozitivne učinke. Karnozin je, tako, svojim predispozicijama ispunio sve zahtjeve idealnoga antioksidansa. On se sintetizira i nalazi u mišićnom i živčanom tkivu, lako se apsorbira u probavni trakt, može prijeći krvno-moždanu (hematoencefalnu) barijeru mozga te ima visoku bioraspoloživost i utjecaj na stabilizaciju membrane. Hidrofilni je antioksidans niske male molekulske mase, a sudjeluje i u zaštiti organizma od slobodnih radikala. Nadalje, karnozin ne izaziva ovisnost, nema opasnosti od predoziranja i ne nakuplja se u organizmu tijekom dugotrajne primjene. Jedina moguća nuspojava vezana za ovaj dipeptid jest karnozinemija; izrazito rijedak autosomno recesivni metabolički poremećaj koji se pojavljuje uslijed nedostatka enzima karnozinaze, a očituje povećanom koncentracijom karnozina u urinu, krvi i živčanom tkivu (Perry i sur., 1967)).

### 2.5.1. Anti-aging

Starenje jest kompleksan proces koji obuhvaća mnoge mehanizme djelovanja, a koji na organizam imaju trajne štetne učinke te mijenjaju staničnu homeostazu i homeostazu cijeloga organizma.

Iz biokemijske perspektive, starenje se obično smatra multifaktorskim procesom i time uključuje makromolekularnu disfunkciju, osobito štetne promjene u nukleinskim kiselinama, proteinima i lipidima koje se nakupljaju u ostarjelim tkivima, a isto tako, povezano je s

povećanom incidencijom somatskih mutacija, progresivnom homeostatskom disfunkcijom popraćenom modifikacijama proteina i reakcijama peroksidacije lipida.

Ovim normalnim fiziološkim procesom s vremenom se smanjuje replikacijska sposobnost stanica, odnosno broj dioba. Svakom diobom dolazi do skraćivanja telomera DNA te je karakteristično za smanjenje funkcionalnosti stanica. Stanice se mogu dijeliti dok ne dosegnu Hayflikovu granicu, odnosno maksimalan broj mogućih staničnih dioba. Većina stanica se regenerira nakon diobe na dvije kćeri stanice, a kad se dosegne Hayflikova granica, dolazi do starenja. Stanice koje stare proizvode adhezijske molekule koje uzrokuju zadebljanje zidova krvnih žila i posljedično mogu uzrokovati aterosklerozu te druge dodatne razarajuće enzime i protuupalne citokine. Stare stanice akumuliraju se u svim organima i tkivima gdje dolazi do apoptoze i degenerativnog procesa starenja, a upravo akumulacija starih stanica može biti razlog za povećanu incidenciju malignih bolesti kod starijih osoba. Epitet pluripotencije karnozina opravdavaju prvenstveno mehanizmi kojima karnozin djeluje na starenje i općenito zdravstveni status organizma te uključuju, uz antioksidativnu aktivnost, supresiju skraćivanja telomere (zbog progresivnog gubitka telomere koji prati svaku diobu stanice), antiglikacijsku aktivnost (hvatanje karbonila), supresiju glikolize, pojačanu regulaciju mitohondrijske aktivnosti, aktivaciju proteolize, inhibiciju rasta tumorskih stanica, apoptozu, proširenje Hayflikove granice, pomlađivanje senescentnih stanica. Uz to, karnozin utječe na fosforilaciju translacijskog inicijacijskog faktora te na mTOR i transformirajući faktor rasta (TGF)/Smad3. (Hipkiss i sur., 2016).

Dodatni dokazi korelacije koncentracije karnozina u organizmu i starenja vidljivi su i u prosječnom životnom vijeku mnogih istraživanih vrsta. Tako je koncentracija karnozina u ljudskim skeletnim mišićima dvadeset puta viša od koncentracije u miševa, deset puta viša od one u zečeva te tri puta viša od koncentracije pronađene u krava. Posljedično, što je veća koncentracija ovog endogenog dipeptida u organizmu, dulji je i životni vijek vrste. Novija su istraživanja na životinjama i ljudima zabilježila povoljne učinke suplementacije karnozinom u stanjima direktno povezanim sa starijom životnom dobi kao što su inzulinska rezistencija, dijabetesna bolest bubrega, ateroskleroza, Alzheimerova bolest (AD), Parkinsonova bolest (PD) kao i na zacjeljivanje rana.

Antioksidativno djelovanje karnozina posredovano je različitim mehanizmima koji uključuju keliranje metalnih iona i uklanjanje ROS i peroksil radikala koji su povezani s mnogim patološkim stanjima živih organizama. Karnozin mijenja reaktivnost superoksidnog aniona, a sam mehanizam reakcije proizlazi iz nastanka kompleksa za prijenos naboja čime se



manjuje reaktivnost kisikovih vrsta pri čemu nastaju stabilniji međuproducti. Nadalje, karnozin smanjuje učinkovitost hidroksilnih radikala, a jedan od mehanizama za zaštitu organizama od oksidativnog stresa jest i kelacija prijelaznih metala čime se onemogućava njihovo prisustvo u štetnim procesima koji uključuju ROS.

Antioksidativna aktivnost karnozina proučavana je na *in vivo* modelima koji obuhvaćaju dvije struje-antioksidativnu učinkovitost karnozina u fiziološkim uvjetima te u životinjskim modelima gdje je oksidativni stres uzrokovan ksenobioticima.

U fiziološkim uvjetima utvrđeno je da karnozin smanjuje oksidativno oštećenje, ali i poboljšava enzimsku i neenzimsku antioksidativnu aktivnost. Dodatak karnozina uzrokovao je smanjenje peroksidacije lipida u serumu, jetri i koži te pozitivno utjecao na lipidni profil u krvi. Dokazan je i tzv. štedni (regenerirajući) učinak prema drugim antioksidansima niske molekulske mase zbog čega je uočena povišena razina vitamin E, GSH i alfa-tokoferola u jetri. Kod oksidativnog stresa uzrokovanog ksenobioticima, ispitivani modeli ukazuju na sposobnost karnozina da sprječava ozljede pluća uzrokovane bleomicinom, a učinak se pripisuje sposobnosti karnozina da ukloni nastale superokside i peroksinitrite. Sličan je učinak zabilježen i kod kardiomiopatije izazvane adriamicinom te oštećenja bubrega uzrokovanog cis platinom. Antioksidativno djelovanje karnozina može biti značajno i u sportu. Normalna funkcija skeletnih mišića temelji se na dobroj ravnoteži oksidativnih i antioksidativnih procesa. Intenzivno vježbanje dovodi do stvaranja reaktivnih vrsta kisika (ROS) koji, ukoliko su u prihvatljivim razinama, imaju važnu ulogu u normalnoj proizvodnji snage te su važni za mišićne kontrakcije. Vježbanje utječe na poboljšanje antioksidativnog odgovora, međutim, tijekom produženog i ekstremnog oksidativnog stresa (npr. u stanju bolesti), slaba antioksidativna reakcija i povećana karbonilacija proteina uzrokuju gubitak mišićne mase. O povezanosti karnozina i sportske izvedbe detaljnije će biti riječi u daljnjim poglavljima rada.

## **2.6. KELIRAJUĆI AGENS**

Jedan od mehanizama karnozina važnih u obrani protiv oksidativnog stresa jest njegova kelirajuća sposobnost zbog čega ima sposobnost reagirati sa singletnim kisikovim atomom, hvatati slobodne peroksidne i superoksidne radikale, umanjiti količinu produkata lipidne peroksidacije te djeluje kao antioksidans. Naime, karnozin može reagirati s ionima željeza i drugim prijelaznim metalima koji bi inače mogli stvarati slobodne radikale (npr. hidroksilni radikal u Fentonovoj reakciji), a isto tako i s nekim od dvovalentnih kationa (cink, bakar,

kobalt, kadmij, mangan, nikal) koji potencijalno mogu biti neurotoksični. Kompleksi s bakrom i cinkom najviše su istraživani zbog svojega biološkog značaja.

Kompleks cinka i karnozina, poznatiji kao Polaprezinc ili Z-103 značajnu je ulogu pokazao u zaštiti želučane sluznice u *in vivo* istraživanjima. Utvrđeno je da bi mogao povoljno djelovati u liječenju gastritisa uzrokovanog bakterijom *Helicobacter pylori*, a u želucu je stabilan te prianja na ulcerozna mjesta efikasnije od samostalnog cinka ili karnozina (Boldyrev i sur, 2012).

## 2.7. ANTIGLIKACIJSKA ULOGA

Neke su studije također ukazale na sposobnosti karnozina da spriječi nastanak štetnih krajnjih produkata procesa glikacije (AGE) i lipoksidacije (ALE) koji su uključeni u proces starenja te uključenih u etiologiju mnogih oboljenja kao što su dijabetes, ateroskleroza, Alzheimerova bolest i slično.

Glikacija ili neenzimska glikozilacija jest reakcija šećernih aldehida s amino skupinama proteina što rezultira umrežavanjem proteina i stvaranje spomenutih štetnih produkata. Jedan od najpoznatijih primjera neenzimske glikozilacije jest Maillardova reakcija koja se kao svakodnevna pojava javlja prilikom termičke obrade hrane.

Utvrđeno je kako spomenuti produkti, ukoliko su prisutni u suvišku, mogu glikirati proteine, DNA i aminolipide te tako uzrokovati starenje stanica. Iako se isprva smatralo da karnozin povoljno utječe na starenje isključivo zbog svojeg antioksidativnog statusa, daljnja istraživanja potvrdila su da posjeduje antiglikacijsko djelovanje. Tako ima sposobnost inhibirati glikaciju proteina i stvaranje AGE induciranih raznim reaktivnim aldehydima i karbonilnim spojevima (glukoza, deoksiriboza, riboza, fruktoza, dihidroksiaceton, malondialdehid, acetaldehid, formaldehid i metilglioksal).

Karnozin je također snažan inhibitor stvaranja ALE vjerojatno putem mehanizma gašenja reaktivnih karbonilnih spojeva (RCS). Izvori reaktivnih karbonila nisu samo uobičajeni šećeri koji posjeduju reaktivnu karbonilnu skupinu (glukoza, fruktoza, galaktoza, riboza i deoksiriboza) već i mnogi fosforilirani oblici ovih šećera-trioza fosfat, dihidroksiaceton fosfat I gliceraldehid-3-fosfat, a potonji se može dodatno razgraditi na toksični metilglioksal (MG) koji je direktno povezan sa starenjem.

Osim inhibicijskog djelovanja na stvaranje AGE i ALE, karnozin djeluje i na već formirane spomenute vrste. Prema Hipkissu i suradnicima (2016), može reagirati izravno s

karbonilnim skupinama proteina, tvoreći proteinske karbonil-karnozinske adukte ili "karnozilirane" proteine što sprječava unakrsno povezivanje s drugim proteinima.

Pokazalo se da kalorijska restrikcija također može imati povoljne učinke na odgodu starenja i razvoj bolesti povezanih sa starijom životnom dobi. Teorija proizlazi iz smanjene glikolitičke aktivnosti uslijed restrikcije, odnosno smanjenim glikolitičkim protokom uslijed supresije aktivnosti čimbenika rasta sličnog inzulinu (IGF) ili nemetabolizirane molekule šećera kao što je deoksiglukoza. Uz smanjeni glikolitički protok, povećava se mitohondrijska aktivnost što može rezultirati smanjenim potencijalom za stvaranje već spomenutog metilglioksala (MG) i pojačanom regeneracijom  $\text{NAD}^+$  iz  $\text{NADH}$  čime se osigurava učinkovit metabolizam glicerinaldehid-3-fosfata. Metilglioksal je vrlo reaktivan i štetan spoj jer puno lakše stvara kovalentne veze s ostalim biomolekulama i tako dovodi do nastajanja AGE (Szwergold i Miller, 2014).

Zbog toga je svojstvo karnozina da inhibira proces glikolize od velikog značaja, a generalno može selektivno inhibirati proliferaciju transformiranih stanica koje se temeljno oslanjaju na glikolizu kao glavni izvor ATP-a. Dodatno, pokazalo se da mitohondriji u mišićima koji ne vježbaju stvaraju više ROS od mitohondrija u mišićima aktivnijih organizama. Stoga prestanak glikolize može poboljšati aktivnost sinteze mitohondrijskog ATP-a i time potaknuti smanjenje stvaranja ROS-a.

Što se tiče mTOR, u sisavaca on predstavlja kontrolni element staničnog metabolizma. Inhibicija mTOR-a potiskuje glikolizu i regulira aktivnost mitohondrija, a postiže se rapamicinom, imunosupresorom čiji su učinci zabilježeni kod usporavanja starenja. Obzirom da je karnozin mimetik rapamicina, ovo je još jedan način supresije glikolize. TGF- $\beta$ /Smad3 signalni je put koji ima važnu ulogu u staničnom starenju zbog proizvodnje ROS. Općenito je uključen u mnoge stanične procese, staničnu homeostazu, rast i diferencijaciju, migraciju i apoptozu stanica. Starenje i kronične bolesti povezane sa starijom dobi povezane su s povećanom signalizacijom i ekspresijom TGF- $\beta$ /Smad3. Karnozin ima mogućnost suzbijanja proizvodnje TGF- $\beta$  najvjerojatnije inhibicijom ovoga puta (Hippkiss i sur.,2016)

## **2.8. ANTIINFLAMATORNI UČINAK (IMUNOMODULACIJA)**

Brojne su studije ukazale na povoljan učinak suplementacije karnozinom na lučenje citokina koji su značajni za upalne procese u organizmu te povezani s mnogim oboljenjima. Naime, povišene razine proupalnih citokina IL-6 (interleukina-6) i TNF- $\alpha$  (faktor nekroze

tumora alfa) obično su povezane s inzulinskom rezistencijom u bolesnika s dijabetesom te služe kao marker oštećenja bubrega kod dijabetičke nefropatije. Prekomjerna ekspresija proupalnog citokina IL-8, uz IL-6 i TNF- $\alpha$ , povezana je s upalnim procesima u probavnom sustavu i značajna za razvoj upalnih bolesti crijeva (IBD).

Suplementacija karnozinom i histidinom potiču supresiju lučenja ovih citokina i posljedično ublažavaju simptome i štite od razvoja bolesti. Na sličan način suplementacija karnozinom i histidinom pokazala je hepatoprotektivni učinak i značaj kod liječenja neurodegenerativnih poremećaja kao što su Alzheimerova (AD) i Parkinsonova bolest (PD) kod životinjskih modela, dok je u ljudi uočen pozitivan učinak na kognitivne funkcije u starijih osoba. Nadalje, potvrđeno je i pozitivno djelovanje oralne suplementacije karnozinom u liječenju osteoartritisa koje se pripisuje utjecaju na upalni interleukin IL-1 $\beta$  (Yang i sur.,2018)

## **2.9. KARNOZIN U SPORTU**

Tijekom intenzivnog rada mišića dolazi do akumulacije mliječne kiseline ( $H^+$  iona), javlja se značajno povećanje kiseline u mišićima što izaziva umor mišića, smanjenje snage i izdržljivosti, zajedno s usporenom regeneracijom. Karnozin značajno doprinosi ravnoteži kiselosti (puferiranjem) u skeletnim mišićima, održavajući acidobaznu ravnotežu tijekom intenzivnog rada mišića. Predstavlja 30% od ukupnog puferskog kapaciteta organizma. Iako nije uključen u klasične metaboličke puteve sinteze adenozin-trifosfata, ima značajnu ulogu u homeostazi kontrakcije mišića, osobito tijekom visoko anaerobne aktivnosti. Akumulacija mliječne kiseline u aktivnim mišićima izaziva smanjenje pH vrijednosti, tj. povećanje kiselosti što dovodi do zamora mišića. Smanjenje koncentracije karnozina tijekom života dovodi do suzbijanja mišićne snage i izdržljivosti. Stoga, suplementacija karnozinom može potaknuti brži oporavak, povećanje snage, otpornosti, izdržljivosti i ubranu regeneraciju.

Karnozin utječe na funkciju kalcij pumpe u sarkoplazmatskom retikulumu stanica mišića i održava otvorene kanale kalcija. Uslijed nedostatka karnozina, kanali kalcija se zatvaraju kao posljedica povećanja kiselosti, povećanja lipidne peroksidacije i akumulacije malondialdehida (MDA). Karnozin sprječava razvoj ovih štetnih reakcija i predstavlja idealan dodatak za sportaše, ali i rekreativce. Također sudjeluje u detoksikaciji reaktivnih aldehida koje formira lipidna peroksidacija tijekom rada mišića, što je izraženije kod anaerobnih aktivnosti (kao što je bodybuilding), a uz to, dozvoljena je supstanca te se ne smatra dopingom.

Minimalna količina koja izaziva prestanak lipidne peroksidacije iznosi 2.5 mM i 1.0 mM za sprječavanje karbonilacije. Spomenute je koncentracije moguće postići nakon nekoliko mjeseci suplementacije karnozinom.

Karnozin se može transportirati kao netaknuti dipeptid kroz plazmatsku membranu transporterima oligopeptida vezanih uz proton (PEPT1, PEPT2, PHT). Metabolizam karnozina povećava se kontrakcijom mišića, odnosno tjelesnom aktivnošću, što je i dokazano povećanom koncentracijom u aktivnih pojedinaca. Dakle, vježbanje povećava aktivnost enzima karnozinaze u plazmi i smanjuje izlučivanje karnozina što dovodi do veće koncentracije karnozina u mišićima. S druge strane, postoji teorija da je oslobađanje karnozina iz mišića reguliran proces povezan s pojavom acidoze prilikom vježbanja čime se potiče aktivnost transportera PEPT2.

Suplementacija karnozinom pokazala je poboljšanu izvedbu u vježbama visokoga intenziteta i kod pojedinaca koji su bili u treningu i kod netreniranih pojedinaca. Utvrđeno je da sportaši koji se bave anaerobnim sportovima primjerice sprinteri i bodybilderi imaju veće intramuskularne koncentracije karnozina. Sprinteri pokazuju izrazito visoku razinu mišićnog karnozina, ali akutni učinak je nakon nekoliko tjedana treninga ograničen. Visoke koncentracije nalaze se u osoba s visokim udjelom brzotrzajućih vlakana koja mogu pohraniti veće količine ovoga dipeptida. Time se poboljšavaju performanse vježbanja visokog intenziteta, povećava mišićna masa i maksimalni VO<sub>2</sub> (aerobni kapacitet) te ubrzava adaptacija na trening.

Sadržaj karnozina u mišićima manji je kod žena, opada s godinama i vjerojatno je niži kod vegetarijanaca, čija je prehrana lišena beta-alanina. Beta-Alanin se brzo razvija kao popularni ergogeni dodatak prehrani za sportaše diljem svijeta.

### 2.9.1. Beta-alanin

Karnozin je u mišiću sintetiziran *in situ* te, kako je već spomenuto, količina nastalog karnozina ovisi o dostupnosti limitirajućeg beta-alanina iz prehrane. Kada govorimo o dostupnosti u živčanom sustavu, beta-alanin ima sposobnost prolaska kroz hematoencefalnu barijeru mozga pomoću Na<sup>+</sup> ovisnog beta-aminokiselinskog transportnog sustava te tamo sudjelovati u sintezi karnozina (homokarnozina) ili djelovati kao neuromodulator/neurotransmitter.

Beta-alanin također može biti proizveden i endogeno u jetri degradacijom uracila, ali i alternativno sintezom u crijevima i bubrezima.

Utvrđeno je da dodaci prehrani koji sadrže beta-alanin ili karnozin poboljšavaju mišićne performanse u ljudi (Slika 3). Također, utvrđena je korelacija između korištene doze i trajanja suplementacije te je ustanovljen prosječan porast razine karnozina u rasponu 40-80% nakon provedene mišićne biopsije. Apsolutni porast koncentracije karnozina možemo opisati kao funkciju ukupne konzumirane količine beta-alanina u odnosu na dozu pomnoženu s trajanjem suplementacije (Stellingwerff i sur., 2012).

Iako je sadržaj karnozina veći u brzim mišićnim vlaknima, dodatnom se suplementacijom utječe na oba tipa vlakana. Usporedno sa suplementacijom kreatina, beta-alanin ne utječe na povećanje tjelesne mase. Dodatak beta-alanina smatra se jednim od najznačajnijih supstanci koje utječu na koncentraciju i sintezu karnozina. Dnevne doze 4,8–6,4 g mogu podići sadržaj karnozina za 60% u 4 tjedna i 80% u 10 tjedana, a također je efikasnije od konzumacije ekvimolarne količine suplementiranoga čistog karnozina (Derave i sur., 2010).

Jedine dosad zabilježene nuspojave konzumacije beta-alanina uključuju paraesteziju (jednokratne visoke doze: > 10mg/kg TM) odnosno simptome trnaca, peckanja, žarenja koji se javljaju unutar 10-20 minuta od konzumacije, no oni se lako izbjegnu raspoređenim unosom manjih količina ove aminokiseline u više navrata. Daleko najveći značaj suplementacije beta-alaninom povezuje se s proučavanjem njegovih učinaka na tjelesne performanse i kapacitet mišićnog rada.

Ipak, nisu sva istraživanja vezana za sportske performanse imala nužno iskazane benefite. Naime, uspješnost povećanja stope nastanka karnozina uvelike ovisi o trajanju i tipu provedene aktivnosti te rezultati mogu odstupati obzirom na metode provedenih mjerenja. U meta-analizi (Hobson i sur., 2012) zaključeno je da je suplementacija beta-alaninom učinkovita u aktivnostima visokoga intenziteta u trajanja između 60 i 240 sekundi. Najveći značaj za ergogeni učinak dodatka beta-alanina jest povećanje kapaciteta puferiranja mišića uslijed povećanja koncentracije karnozina. Međutim, postoje i drugi potencijalni mehanizmi uključujući pojačanu osjetljivost na kalcij i potencijalni antioksidativni učinak, a ukupni ergogeni učinak možemo pripisati složenoj reakciji svih navedenih mehanizama istovremeno. Iako se zasad navedene uloge karnozina u skeletnim mišićima smatraju najznačajnije, istražuju se i ostale potencijalne uloge ove molekule kao što su aktivacija miozinske ATPaze, učinci na glikolizu, neuromuskularni spoj i mitohondrijsko disanje.

## 2.9.2. Poboljšanje performansi

Kako je poboljšanje u performansama ispitanika nakon suplementacije beta-alaninom uočeno prilikom provođenja anaerobnih vježbi, ti se rezultati mogu direktno povezati s povećanom razinom karnozina u mišićima, uz dodatnu ulogu u smanjenju umora, odnosno prethodno spomenuti “Severinov fenomen”. Dodatni značaj za poboljšanje performansi svakako se pripisuje i svojstvu karnozina kao funkcionalnog pH pufera kojim se smanjuje acidoza uzrokovana vježbanjem.

Drugi mehanizam koji je uključen u smanjenje mišićnoga umora jest oslobađanja  $\text{Ca}^{2+}$  iz sarkoplazmatskog retikuluma. Karnozin povećava osjetljivost kanala za oslobađanje  $\text{Ca}^{2+}$  te može smanjiti inhibitorni učinak niske koncentracije  $\text{Mg}^{+}$  (Jukić i sur., 2021).

### 2.9.3. Praktično korištenje

Kako je prethodno navedeno, sadržaj karnozina među pojedincima varira ovisno o mnoštvu čimbenika. U svakom slučaju, preporučljiva je što veća koncentracija karnozina u skeletnim mišićima, osobito kod sportaša gdje uvelike utječe na performanse u vježbama visokoga intenziteta.

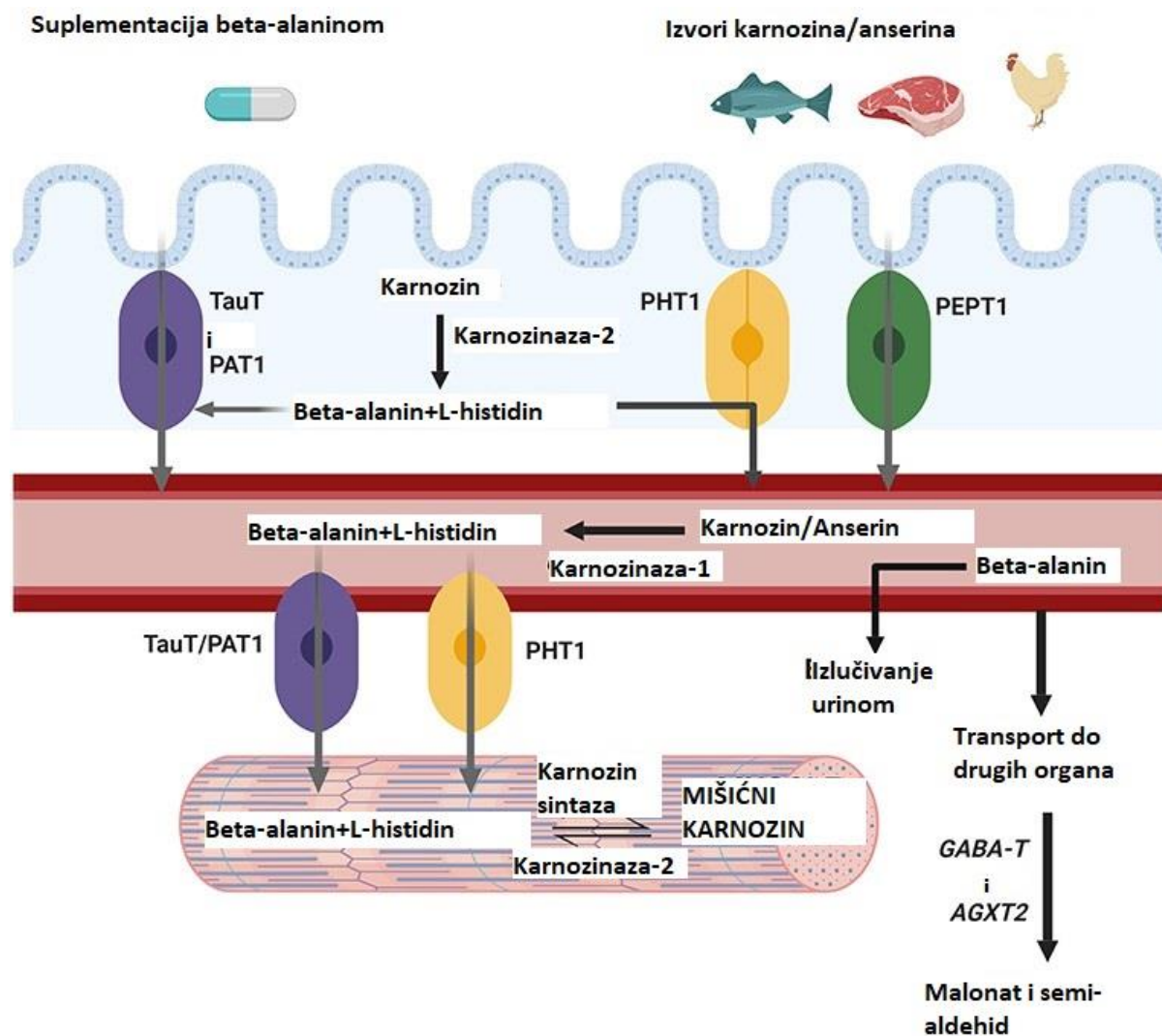
Oralni je dodatak beta-alanina najučinkovitiji način povećanja razine karnozina iako se njegova direktna i izražajna uloga ne može zamijetiti tek kratkotrajnijom konzumacijom već kroničnom suplementacijom kojom se utječe na značajniju sintezu karnozina. Također, u usporedbi s kreatinom, postoje temeljne razlike koje karnozin stavljaju na prvo mjesto. Naime, punjenje karnozinom traje dulji vremenski period (više tjedana), dok je početna faza punjenja kod kreatina jedan tjedan, no brzina ispiranja time je i brža kod kreatina. Stoga je karnozin u mišićima znatno stabilniji.

Kako za karnozin nisu navedene značajnije nuspojave, nema granične vrijednosti konzumacije, a najveće prijavljeno opterećenje mišića izazvano suplementacijom je značajno veće za karnozin nego za kreatin. Konačno, suplementacija beta-alanina, za razliku od kreatina, ne rezultira povećanjem tjelesne mase što može imati velik značaj kod određenih sportova koji imaju, na primjer, težinske kategorije.

Ako pak uspoređujemo suplementaciju beta-alanina s bikarbonatom (obzirom na zajedničku ulogu u sprječavanju acidoze nastale prilikom vježbanja), možemo utvrditi temeljne razlike.

Tako natrijev bikarbonat ili citrat treba uzimati u jednokratnoj dozi prije započinjanja vježbanja te on uzrokuje akutnu metaboličku alkalozu. Uz to, može uzrokovati gastrointestinalne tegobe.

S druge strane, beta-alanin zahtijeva dugotrajniju suplementaciju, ne utječe na pH krvi te ne uzrokuje nikakve probavne tegobe (Derave i sur., 2010)



Slika 3. Metabolizam mišićnog karnozina (Perim i sur., 2019))

## 2.10. TERAPEUTSKI UČINCI KARNOZINA

Usljed spomenute pluripotentnosti karnozina koja je opisana kroz mnoge prethodno navedene učinke ovoga dipeptida, nije čudno što se njegova primjena nastoji sve više iskoristiti u terapijske svrhe, osobito kroz „pametne lijekove“ koji mogu istovremeno djelovati na više meta. Karnozin (i srodne molekule manje osjetljive na enzim karnozinazu kao npr. karnicin) bi mogao imati izrazito velik značaj u budućnosti zbog svog značajnog potencijala posebice u



kontroli sekundarnih komplikacija povezanih s dijabetesom (kataraktogeneza, ateroskleroza) uslijed utjecaja dipeptida na glikaciju proteina i proizvodnju AGE. Njegova bi sposobnost moduliranja toksičnosti amiloidnih peptida mogla biti značajna i u liječenju Alzheimerove bolesti, a razmatra se i utjecaj na kontrolu rasta tumora u kombinaciji s aminopeptidaznim inhibitorom bestatinom.

Mnogi autori navode već započeto uvođenje karnozina u medicinske svrhe. Tako je isprva stvoren injekivni pripravak namijenjen liječenju infektivnog i reumatskog poliartritisa te ulkusa gastrointestinalnog trakta, pokazalo se kako značajan učinak ima i u zarastanju rana (posebno kod plućnih oboljenja), koristi se u kombinaciji s radioterapijom kod karcinoma zbog sposobnosti ublažavanja nuspojava zračenja i jača imunitet, a pokazao se učinkovitim i za prevenciju kaheksije uzrokovane kemoterapijom u terapiji raka. Nadalje, razmatra se mogućnost inhibicije rasta tumorskih stanica.

Karnozin se već koristi i za liječenje sezonskog alergijskog rinokonjunktivitisa čime se može umanjiti potreba za antihistaminicima, a uspješno se primjenjuje i u kardiološkoj praksi, a poznato je kako posjeduje i nefroprotektivna svojstva.

#### 2.10.1. Šećerna bolest tipa 2

Šećerna bolest tipa 2 (*Diabetes mellitus*) jedan je od vodećih javnozdravstvenih problema u svijetu te je broj novooboljelih, ali i neotkrivenih slučajeva u stalnome porastu. Unatoč svim metodama liječenja, koje su često nedostatne, šećerna je bolest povezana s mnogim drugim kroničnim oboljenjima te posljedično povećanim razvojem od kardiovaskularnih bolesti, bubrežnih bolesti, amputacija te uključuje mnoge druge komplikacije koje narušavaju zdravstveno stanje današnje populacije.

Incidencija komplikacija povezanih sa šećernom bolesti pod utjecajem je mnoštva čimbenika, a jednim od glavnih uzročnika smatra se dugotrajno akumulirano oštećenje stanica uzrokovano stvaranjem štetnih produkata glikacije (AGE) koji su karakteristični za stanja poput kronične hiperglikemije te povezani s nastankom slobodnih radikala izazivajući tako oksidativni stres, morfološke funkcionalne promjene stanica i sistemske upale. Poznat kao prirodni antioksidans, karnozin je eksperimentalno korišten na različitim životinjskim modelima dijabetesa gdje je pokazao pozitivan utjecaj na metaboličku kontrolu i zaštitne učinke na razvoj kroničnih komplikacija dijabetesa. U štakora hranjenih namirnicama bogatim mastima i ugljikohidratima (što je pogodno za razvoj metaboličkog sindroma),

suplementacija karnozinom smanjila je abdominalnu pretilost, vrijednosti krvnoga tlaka, razine glukoze te je povoljno utjecala na regulaciju ukupnog kolesterola i smanjenje količine lipoproteina niske gustoće (LDL). Također, suplementacija karnozinom smanjuje proteinuriju i oštećenje bubrega kod dijabetičkih miševa, inhibira proizvodnju fibronektina i TGF  $\beta$  u bubrežnih stanica, snižava kreatinin i razinu uree (Jukić i sur., 2021).

Provedene su i humane studije koje su dodatno potvrdile navedene pozitivne učinke suplementacije karnozinom. Zapaženo je značajno smanjenje masne mase, glukoze u krvi natašte, glikiranog hemoglobina i razine triglicerida u serumu (Houjehani i sur.,2018).

### 2.10.2. Karnozin i vaskularna funkcija

Dušikov oksid (NO) je ključni inter- i intracelularni posrednik koji igra važnu ulogu u održavanju vaskularnog tonusa, agregacije trombocita i vitalnosti endotela. Karnozin pak može izraziti inhibicijski i stimulacijski učinak na proizvodnju i metabolizam dušikovog oksida ovisno o vaskularnom sustavu. Nadalje, sudeći po obećavajućim rezultatima eksperimenata provedenih na mnogim životinjskim modelima, suplementacija karnozinom ili farmakološka inhibicija karnozinaze mogla bi biti učinkovit pristup za smanjenje krvnog tlaka u liječenju hipertenzije, ali i ateroskleroze.

Budući da su povećana razina oksidativnog stresa te endotelna upala glavni krivci za razvoja endotelne disfunkcije koja je jedan od najranijih znakova razvoja kardiovaskularnih bolesti, mogućnosti suplementiranog karnozina mogle bi se potencijalno koristiti za usporavanje/sprječavanje bolesti (Jukić i sur., 2021).

### 2.10.3. Karnozin u kardiovaskularnim poremećajima

Kardiovaskularne bolesti i dalje su vodeći uzrok smrti i invaliditeta u svijetu. Više od 17,5 milijuna ljudi svake godine umre od ovoga tipa oboljenja što navodi na izrazitu nužnost poticanja svijesti o važnosti ovoga problema. Ishemijska srčana bolest (npr. srčani udar) je odgovorna za 7,3 milijuna od ukupnog broja kardiovaskularnih smrti, a cerebrovaskularne bolesti (npr. moždani udar) su odgovorne za 6,2 milijuna smrti. Mnogi su čimbenici povezani s kardiovaskularnim poremećajima, kao što su hiperkolesterolemija, dijabetes melitus, metabolički sindrom, hipertenzija, starenje (uznapredovali krajnji proizvodi glikacije), oksidativni stres, proupalni citokini, itd.

Stoga, posjedovanjem svojih protuupalnih, antioksidativnih, antiglikacijskih, antiishemijskih i kelirajućih uloga u tijelu, karnozin može biti koristan u liječenju kardiovaskularnih bolesti.

Makrofagi imaju ključnu funkciju kod raznih bolesti povezanih s oksidativnim stresom (ateroskleroza, dijabetes), a navodi se da karnozin ima povoljan učinak na stanice makrofaga u uvjetima oksidativnog stresa i u procesima starenja. Karnozin također potencijalno sprječava stvaranje kateholaldehida, uobičajenih uzročnih čimbenika u etiologiji neurodegenerativnih bolesti i oštećenja uzrokovanih ishemijom i dijabetesom.

Intravenskom injekcijom karnozina na životinjskim modelima potvrđen je i pozitivan učinak u snižavanju krvnoga tlaka, odnosno tzv. hipotenzivni i antihipertenzivni učinak što se opravdava vazodilatacijskom sposobnošću karnozina. Smatra se kako, ne samo egzogeni, već i endogeno sintetizirani karnozin sudjeluje u normalnoj hemodinamskoj regulaciji organizma. Dodatnu povezanost sa srčanim oboljenjima karnozin ispoljava svojim utjecajem na kalcijevu pumpu važnu za same kontrakcije srca te povećanim puferskim kapacitetom koji je od velike važnosti za srčane stanice i njihovo funkcioniranje.

#### 2.10.4. Karnozin i neurološki poremećaji

Prekomjerna proizvodnja reaktivnog kisika (ROS) i dušikovih vrsta (RNS) te loša ravnoteža endogene antioksidativne obrane doprinose oksidaciji mitohondrijskih proteina, lipida, deoksiribonukleinskih/ribonukleinskih kiselina, a time i utječe na razvoj neurodegenerativnih bolesti. Stoga je karnozin potaknuo veliko zanimanje uslijed potencijalne djelotvornosti na razne neurološke i mentalne poremećaje (Alzheimerova bolest, akutni ishemijski moždani udar, shizofrenia, depresija i sl.). Već je prethodno navedeno da karnozin karakterizira endogena antioksidativna zaštita organizma. Uz to, povećanje aktivnosti superoksid dismutaze u eritrocitima, smanjenje hidroperoksida u lipoproteinima plazme, povećanje otpornosti lipoproteina male gustoće i vrlo niske gustoće na Fe<sup>2+</sup> induciranu oksidaciju, kao i smanjenje količine oksidiranih proteina u krvnoj plazmi, dodatno utječe na ublažavanje neuroloških simptoma te poboljšava kognitivne funkcije kod oboljelih osoba (Jukić i sur., 2021 ).

Oksidativni je stres zaslužan za razvoj mnogih neuroloških i mentalnih poremećaja kao što su Parkinsonova i Alzheimerova bolest, akutni ishemijski moždani udar, shizofrenija, depresija, poremećaji ovisnosti, alkoholizam i slično. Stanice živčanog sustava vrlo su

osjetljive na oksidaciju slobodnih radikala zbog visokog intenziteta metaboličkih procesa i visoke razine potrošnje kisika; velike količine lipida s polinezasićenim masnim kiselinama; povećanog sadržaja vezanih iona željeza (induktori oksidacije); formiranja ROS tijekom staničnog metabolizma sekundarnih glasnika u neuronima; sudjelovanja slobodnih radikala u neuroregulaciji, kao i niske razine antioksidativne zaštite u usporedbi sa stanicama drugih organa (Prokopieva i sur., 2016).

Zbog navedenog mnoštva čimbenika, izuzetno je važno osigurati zaštitu živčanog sustava, čemu se nastoji doskočiti primjenom dipeptida karnozina obzirom da može prodrijeti kroz krvno-moždanu barijeru.

Dosadašnja su istraživanja koja su uključivala suplementaciju karnozinom dala obećavajuće rezultate, bilo to kroz kombinaciju uz originalnu tradicionalnu terapiju (npr. kod Parkinsonove bolesti) ili samostalnom primjenom karnozina. Poboljšanja su uočena kod koordinacije pokreta, kognitivnog napretka, ali i utvrđenim smanjenjem razine hidroperoksida u krvnoj plazmi, otpornosti lipoproteina niske i vrlo niske gustoće na Fe<sup>2+</sup>-induciranu oksidaciju i smanjenjem količine oksidiranih proteina u krvnoj plazmi. Dodatkom karnozina u liječenju Parkinsonove bolesti utječe se na inhibiciju oligomerizacije alfa-sinukleina; presinaptičkog neuronskog proteina koji je genetski i neuropatološki povezan s Parkinsonovom bolešću. Alfa-sinuklein može doprinijeti patogenezi PD na brojne načine te ima štetne učinke na susjedne stanice što doprinosi širenju bolesti (Stefanis, 2012).

Razmatra se i utjecaj karnozina kod shizofrenije, a dosad je utvrđeno poboljšanje u nekim od kognitivnih testova kao što je test detekcije strateškog cilja. Na sintezu karnozina može utjecati trauma (npr. trauma u djetinjstvu) što uzrokuje povećanu metilaciju gena karnozin sintaze te smanjenje sinteze karnozina. Trauma je povezana je s psihopatologijom, ubrzanom metilacijom DNA i shizofrenijom. Naime, eitrociti shizofreničara pokazuju povećanu glikaciju proteina pa suplementacija karnozinom može imati povoljne učinke kod shizofreničara uslijed njegove antiglikacijske aktivnosti.

Kada govorimo o utjecaju na Alzheimerovu bolest, karnozin svoju citoprotektivnu ulogu iskazuje kelirajućom sposobnosti da reagira sa cinkovim i bakrovim ionima što utječe na inhibiciju agregacije i oligomerizacije amiloida koji je toksičan za stanicu te se smatra jednim od temeljnih uzročnika za razvoj ove bolesti.

Kod djece s poremećajima autističnog spektra, suplementacija karnozinom uzrokovala je statistički značajna poboljšanja na Gilliamovskoj ljestvici autizma, kao i na testu receptivnog slikovnog vokabulara jedne riječi.

#### 2.10.5. Karnozin u alkoholičara

U osoba koje konzumiraju alkohol u prekomjernim količinama primijećena je povećana tendencija oksidativnog stresa koja se pripisuje prevelikom unosu etanola kao i naknadnom toksičnom metabolitu etanol-acetaldehidu koji nastaje dugotrajnom alkoholnom intoksikacijom. Kao rezultat oksidativnog stresa javljaju se mnoge somatske komplikacije, poremećaj imunološkog sustava, indukcija apoptoze te stvaranje “povoljne” podloge za razvoj drugih bolesti. Spomenuti acetaldehid veže se s mnogim biološkim molekulama (proteini plazme, hemoglobin, faktori zgrušavanja krvi, lipidi itd.), tvoreći s njima aldehidne produkte koji se nakupljaju u različitim tkivima (jetra, mozak, srce, mišići, crijeva). Jedna od posljedica alkoholizma je povišena razina hemolize eritrocita i kronična anemija (Chi i Wu, 1991; Bizzaro i sur., 1993.).

Alkoholna hemoliza utječe na transportne sustave iona membrane eritrocita te promjene u fluidnosti membrane uslijed unosa etanola. U eksperimentima *in vitro*, zabilježena je sposobnost ovog dipeptida da štiti biomolekule protiv izravnih toksičnih učinaka etanola i njegovih metabolita (Prokopieva i sur., 2016).

Karnozin, kako je već spomenuto, zbog svojih antioksidacijskih svojstava, može smanjiti razinu slobodnih radikala, a njegova zaštitna uloga prema membrani eritrocita, koji su u alkoholičara oštećeni uslijed kroničnog oksidativnog stresa, smatra se kombinacijom ovoga i drugih učinaka karnozina kao što je izravna interakcija s komponentama membrane ili modulacija aktivnosti enzima eritrocita, koji su komponente sustava za popravak membrane. Da bi se mehanizmi u potpunosti razjasnili, potrebna su daljnja istraživanja.

#### 2.10.6. Karnozin i maligne bolesti

Karnozin u kombinaciji s radioterapijom smanjuje nuspojave zračenja, ozljede kože i intoksikacije organizma, povećava imunitet, smanjuje razinu kisikovih reaktivnih vrsta (ROS) te povećava aktivnost mitohondrijske superoksid dismutaze u tumorskim stanicama. Poznato je da stanice raka imaju veliku ovisnost o glikolizi za njihovu proizvodnju adenozin trifosfata (ATP), dok karnozin ima sposobnost inhibicije glikolize čime je vidljiv njegov antitumorski učinak. Inhibicija glikolize potencijalno je postignuta utjecajem na glikolitičke enzime, metaboličkim regulatornim aktivnostima, glikacijom proteina, aktivnošću glikoksalaze,

apoptozom, ekspresijom gena i odgađanjem nastanka metastaza.

Glavna hipoteza, povezana sa spomenutim utjecajem karnozina na glikolitičke enzime, temelji se na sposobnosti karnozina da iscrpi intermedijere glikolize (gliceraldehid fosfat i dihidroxiacetonfosfat) što posljedično uzrokuje smanjenu produkciju ATP-a. Većina tumorskih stanica za svoju aktivnost treba upravo ATP pa se zbog toga karnozinu pripisuje svojstvo antineoplastičnosti.

Karnozin također utječe na invaziju i migraciju kancerogenih stanica, ali neizravno aktivacijom ekspresije antimetastatskog gena (nm23-H1) koji potom inhibira ekspresiju gena MMP-9. Ovaj enzim pripada klasi matriksnih metaloproteinaza te direktno utječe na invaziju tumora i metastaze (Hipkiss, 2009).

## **2.11. SUPLEMENTACIJA - FUNKCIONALNA HRANA**

Danas na tržištu veliku pozornost privlači funkcionalna hrana, odnosno hrana koja osim svoje osnovne prehrambene funkcije ima dokazane zdravstvene predispozicije koje utječu na smanjenje rizika od određenih kroničnih bolesti ili ima ciljane blagotvorne učinke na zdravlje. Tržište peptidnih lijekova i dalje je u porastu posljednjih godina, no korištenje bioaktivnih peptida iz mesa i mesnih proizvoda ne prati taj trend u farmaceutskoj i prehrambenoj industriji. Ovdje na scenu stupa karnozin koji svojim brojnim benefitima može imati veliku ulogu u razvoju budućih lijekova i obogaćene funkcionalne hrane. Također, neka od njegovih svojstava, npr. činjenica da je povoljan antioksidans, mogu biti korisna u prehrambenoj industriji.

### **2.11.1. Piletina**

Suplementacija karnozinom predložena je kao potencijalna strategija za prevenciju kroničnih bolesti što je bio poticaj za stvaranje proizvoda obogaćenih ovim dipeptidom. Kako je poznato da su prirodni i glavni izvori karnozina meso i perad, upravo su ove namirnice bile prve na listi mogućih modifikacija i potencijalnog povećanja koncentracije karnozina, posebno zbog činjenice da upravo mišići u tijelu predstavljaju najveće „skladište“ karnozina. Koncentracija karnozina u mesu može se modificirati putem prehrane životinja. Naime, dodavanjem amino kiselina (beta-alanin i L-histidin) izravno se utječe na proteinski sastav mesa, ali također i na tehnološka svojstva važna prilikom daljnje obrade. Tako je ova strategija prvo isprobana na peradi. Pileće meso je podložno oksidativnim procesima koji mogu

negativno utjecati na boju, okus i miris, stoga dodatak karnozina može utjecati na oksidaciju lipida, održavanje kvalitete mesa te osigurati dulje skladištenje uslijed svog antioksidativnog djelovanja, tretman hranjenja životinja uvelike utječe na tehnološka svojstva mesa i koncentraciju karnozina u krajnjem proizvodu (Jukić i sur., 2021).

### 2.11.2. Sevitin

U novije se vrijeme, na ruskome tržištu pojavio karnozin u formi tabletiranoga dodatka pod nazivom Sevitin, a koji se koristi u medicinske svrhe obzirom na to da pospješuje cerebralnu cirkulaciju kod kronične discirkulatorne encefalopatije te ima regulacijski učinak na aktivnost imunološkog sustava.

Trenutne su studije također orijentirane na stvaranje i testiranje nanokompleksa koji sadrži karnozin uključen u strukturu fosfolipida kako bi se osigurala otpornost karnozina na djelovanje karnozinaze tijekom metabolizma i time poboljšalo iskorištenje i učinak (Prokopieva i sur., 2016).

## 2.12. KARNOZIN U KOZMETIČKOJ INDUSTRIJI

Mnoštvo čimbenika, poput genetskog nasljeđa, patoloških i histoloških abnormalnosti te vanjskih uvjeta, uzrokuju starenje i oštećenja kože te pojavu bora. Jedan od najznačajnijih vanjskih čimbenika je tzv. fotostarenje uzrokovano prekomjernom izlaganju ultraljubičastom zračenju. Ono uzrokuje nastanak niza reaktivnih kisikovih vrsta poput hidrokisidnih, superoksidnih, singletnih iona te vodikovog peroksida u dermalnom sloju kože. Tako se s vremenom narušava dermalna struktura kože, smanjuje sinteza kolagena, elastičnost vlakana i u konačnici rezultira nastankom bora. Karnozin se povezuje s anti-ageingom i dugovječnosti stanica kombinacijom njegovih antiglikacijskih, antioksidativnih i kelacijskih aktivnosti. Svojim antioksidativnim djelovanjem, karnozin i srodni imidazolni peptidomimetici, štite stanice kože od oksidativnog stresa uzrokovanog UVA-UVB zračenjem, ali i enzime tkiva poput superoksid dismutaze (SOD) važne u razgradnji superoksidnog radikala. Također je poznato kako tijekom peroksidacije lipida nastaju hidroperoksidi koji doprinose autooksidaciji te su povezani s nastankom očne katarakte i kožnih problema, a karnozin i karcinin ih reduciraju u odgovarajući alkohol čime se inhibira lančana reakcija.

Zaštitni učinak učinkovit je i za hidrofилne (proteini, enzimi...) i za lipofilne (nezasićene masne kiseline, membranski fosfolipidi...) molekule. Dobra prihvaćenost u *ex vivo* uvjetima opravdava sve veću zainteresiranost za korištenjem ovih spojeva u borbi protiv starenja, ali još važnije, u medicinskim intervencijama tretmana kože te oftamologiji gdje je primjena l-karnozina za liječenje površinskih opekлина epiderme, zacjeljivanja rana i raznih upalnih procesa već ukorijenjena.

Što se tiče estetskih značajki, na tržištu su već prisutne neke od nekirurških tehnika u rješavanju ovoga problema poput presađivanja masti, injekcija botulinum toksina, hijaluronskih filera i slično. Međutim, ovakvi su tretmani često kratkoga vijeka te se tom problemu nastoji doskočiti dodatkom karnozina u proizvode što je posebno proučavano kroz spomenute filere. Jedan je takav proizvod već pronašao svoje mjesto u svakodnevnoj uporabi pod nazivom Hearty, razvijen od strane Imeik Technology Development Co. te odobren od kineske Nacionalne uprave za medicinske proizvode (Wang I sur., 2021). Karnozin se sve češće može pronaći kao sastojak i drugih kozmetičkih otopina, krema, emulzija, gelova i sličnih formulacija.

### **2.13. KARNOZIN I COVID-19**

COVID-19 akutna je virusna bolest uzrokovana koronavirusom SARS-CoV-2 koji pripada rodu Betacoronavirus. Bolest se očituje povišenom tjelesnom temperaturom i kašljem. U težim slučajevima može se razviti upala pluća s otežanim disanjem i nedostatkom zraka, a u određenom postotku dolazi do smrtonosnog ishoda. Prenosi se bliskim kontaktom sa zaraženom osobom ili životinjom, površinskim izlaganjem, respiratornim kapljicama ili tjelesnim tekućinama.

Tijekom 2020. i 2021. godine cijela je farmaceutska i medicinska industrija bila fokusirana isključivo na rješavanje problema globalne pandemije koronavirusa. Osim rada na potencijalnom cjepivu, proučavala se i sigurnost primjene i učinkovitost lijekova odobrenih za liječenje drugih bolesti, ili lijekova u fazi ispitivanja kao što su lopinavir i ritonavir (HIV-bolest), klorokin i hidroksiklorokin (malarija i neke autoimune bolesti, npr. reumatoidni artritis), interferoni za sistemsku primjenu poput interferona  $\beta$  (multipla skleroza). Ovdje je svoje mjesto pronašao i karnozin kao relativno neistražen dipeptid čija su pozitivna svojstva mnogobrojna i izrazito povezuje sa simptomima aktualne bolesti.

Zajedničko obilježje svih bolesti uzrokovanih virusom je kontinuirano povećanje razina iNOS i dušikovog oksida (NO), a poznato je da NO reagira sa slobodnim radikalima kisika i



proizvodi visoko reaktivne peroksinitrite, koji oštećuju tkivo i DNK. Karnozin može smanjiti koncentraciju peroksinitrita u ljudskom tijelu te pomoći imunološkom sustavu u borbi protiv infekcije.

Dokazano je kako karnozin ima sposobnost pomlađivanja kultiviranih ljudskih fibroblasta pluća te zbog antiupalnih svojstava smanjuje infektivnost RNA virusa kod plućnih bolesti, a može igrati važnu ulogu u smanjenju oštećenja plućnog tkiva povezanog s infekcijom SARS-CoV-2. Uz to, djeluje i kao inhibitor dipeptidil-peptidaze 4 (CD26), enzima koji je značajan u imunoregulaciji te enzima koji konvertira angiotenzin (ACE-2), a koji su poznati kao stanični receptori na koje se veže spomenuti koronavirus. Nadalje, kelirajuća svojstva karnozina u tvorbi kelatnog kompleksa s cinkom mogu inhibirati aktivnost ovoga virusa, odnosno utjecati na smanjenje replikacijskih sposobnosti.

Antiglikacijsko svojstvo karnozina također se može uzeti kao potencijalan benefit u liječenju Covida. Naime, utvrđeno je kako koronavirus uzrokuje hiperkoagulacijsko stanje u pacijenata koje može nastati zbog povišene koncentracije metilgliksilata (MG) kao glikolitičkog produkta. Tako se smanjenjem stope glikacije može izbjeći hiperkoagulacijski simptom koji je direktno povezan s povećanom smrtnošću.

Nadalje, protuupalni učinci karnozina mogu pomoći u suzbijanju postinfekcijske upalne reakcije i fibroze. Postoje tvrdnje i o smanjenju simptoma gubitka osjeta mirisa s obzirom na činjenicu da je značajna i prisutnost karnozin u olfaktornom režnju (Hipkiss, 2020).

## **2.14. PROBLEM ORALNE SUPLEMENTACIJE**

Metabolizam karnozina nakon unosa u organizam karakterizira reakcija razgradnje pod utjecajem enzima karnozinaze. Kako je razgradnja relativno brza, karnozin u svojem prvotnom obliku ne ostaje dugo u organizmu. Osobit problem predstavlja serumska karnozinaza, koja iako inače nema štetan utjecaj, kod ciljanog liječenja karnozinom može otežavati i ograničavati funkcionalnost procesa.

Tome se nastoji doskočiti promjenom svojstava suplementa, a jedan od alternativnih načina disperzije karnozina može biti nazalnom primjenom u obliku aerosola ili praha. Time se nastoji eliminirati ili reducirati aktivnost serumske karnozinaze. Takav bi način primjene karnozina mogao uvelike olakšati liječenje mnogih bolesti i stanja koja su prethodno navedena, a poseban značaj može imati u liječenju aktualnog virusa Covid-19.

### 3. ZAKLJUČAK

Dipeptid karnozin je, dakle, svestrana pluripotentna molekula s mnogobrojnim svojstvima koja može imati pozitivne učinke na ljudsko zdravlje. Iako je svaki pojedini učinak opisan zasebno, smatra se da je potpuni učinak rezultat kombiniranih mehanizama koji su potom usmjereni na pojedini sustav u organizmu.

Mogućnosti njegove primjene, od prevencije i liječenja u zdravstvene i kliničke svrhe, ergogenosti i benefita u sportu pa do svih ostalih svakodnevnih funkcija, opravdavaju sve veću zainteresiranost znanstvenih krugova u istraživanju karnozina. Tako se broj istraživanja posljednjih godina znatno povećao, a njegov značaj uzima se u obzir i kod liječenja novih stanja i bolesti, kao što je bio slučaj kod pandemije Covid-19. Posebna pozornost pridaje se i njegovoj ulozi u liječenju karcinoma kao jednog od aktualnih dominantnih uzročnika smrtnosti u svijetu, ali i kod kroničnih i drugih oboljenja.

Nastoji se konstruirati obogaćene proizvode ili izolirane dodatke prehrani koji će biti dostupni široj javnosti. Dosadašnji parametri upućuju na isključivo pozitivne strane ove multifunkcionalne molekule stoga se očekuje njena svijetla budućnost. Ipak, kako se radi o relativno malo istraženom dipeptidu, pogotovo u usporedbi sa sličnim komponentama kao što je kreatin, potrebno je nastaviti sa istraživanjima karnozina.

#### 4. POPIS LITERATURE

- Akbarian M, Khani A, Eghbalpour S, Uversky VN (2022) Bioactive Peptides: Synthesis, Sources, Applications, and Proposed Mechanisms of Action. *Int. J. Mol. Sci* **23**, 1445. <https://doi.org/10.3390/ijms23031445>
- Aldini G, de Courten B, Regazzoni L, Gilardoni E, Ferrario G, Baron G, Altomare A, i sur. (2021) Understanding the antioxidant and carbonyl sequestering activity of carnosine: direct and indirect mechanisms. *Free Radic Res* **55(4)**:321-330. <https://doi.org/10.1080/10715762.2020.1856830>
- Artioli GG, Sale C, Jones RL (2019) Carnosine in health and disease. *Eur J Sport Sci*. **19(1)**:30-39. <https://doi.org/10.1080/17461391.2018.1444096>
- Babizhayev MA (2006) Biological activities of the natural imidazole-containing peptidomimetics n-acetylcarnosine, carbinine and L-carnosine in ophthalmic and skin care products. *Life Sci*. **78(20)**:2343-57. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.09.054>
- Bellia F, Vecchio G, Cuzzocrea S, Calabrese V, Rizzarelli E (2011) Neuroprotective features of carnosine in oxidative driven diseases. *Mol. Aspects Med*. **32**, 258–266. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2011.10.009>
- Bellia F, Vecchio G, Rizzarelli E (2012) Carnosine derivatives: new multifunctional drug-like molecules. *Amino Acids* **43(1)**:153-63. <https://doi.org/10.1007/s00726-011-1178-6>
- Boldyrev AA (2012) Carnosine: new concept for the function of an old molecule. *Biochemistry (Mosc)* **77(4)**:313-26. <https://doi.org/10.1134/S0006297912040013>
- Boldyrev AA, Aldini G, Derave W (2013) Physiology and pathophysiology of carnosine. *Physiol Rev* **93(4)**:1803-45. <https://doi.org/10.1152/physrev.00039>.
- Boldyrev AA, Gallant SC, Sukhich GT (1999) Carnosine, the protective, anti-aging peptide. *Biosci Rep* **19(6)**:581-7. <https://doi.org/10.1023/A:1020271013277>
- Culbertson J. Y., Kreide R. B., Greenwood M., Cooke M. (2010) Effects of beta-alanine on muscle carnosine and exercise performance: a review of the current literature. *Nutrients* **2(1)**, 75–98. <https://doi.org/10.3390/nu2010075>
- Derave W, Everaert I, Beeckman S, Baguet A (2010) Muscle carnosine metabolism and beta-alanine supplementation in relation to exercise and training. *Sports Med* **40(3)**:247-63. <https://doi.org/10.2165/11530310-000000000-00000>

- Gardner ML, Illingworth KM, Kelleher J, Wood D (1991) Intestinal absorption of the intact peptide carnosine in man, and comparison with intestinal permeability to lactulose. *J Physiol* **439**:411-22. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1991.sp018673>
- Guiotto A, Calderan A, Ruzza P, Borin G (2005) Carnosine and carnosine-related antioxidants: a review. *Curr Med Chem* **12(20)**:2293-315. <https://dx.doi.org/10.2174/0929867054864796>
- Hipkiss AR (2020) COVID-19 and Senotherapeutics: Any Role for the Naturally-occurring Dipeptide Carnosine? *Aging Dis.* **11(4)**:737-741
- Hipkiss AR (2009) Carnosine and its possible roles in nutrition and health. *Adv Food Nutr Res* **57**:87-154. [https://doi.org/10.1016/S1043-4526\(09\)57003-9](https://doi.org/10.1016/S1043-4526(09)57003-9)
- Hipkiss AR, Baye E, de Courten B (2016) Carnosine and the processes of ageing. *Maturitas* **93**:28-33. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2016.06.002>
- Hipkiss AR, Cartwright SP, Bromley C, Gross SR, Bill RM (2013) Carnosine: can understanding its actions on energy metabolism and protein homeostasis inform its therapeutic potential? *Chem Cent J* **7(1)**:38. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-7-38>
- Hobson RM, Saunders B, Ball G, Harris RC, Sale C (2012) Effects of  $\beta$ -alanine supplementation on exercise performance: a meta-analysis. *Amino Acids.* **43(1)**:25-37. <https://doi.org/10.1007/s00726-011-1200-z>
- Houjehani S, Kheirouri S, Faraji E, Jafarabadi MA (2018) L-Carnosine supplementation attenuated fasting glucose, triglycerides, advanced glycation end products, and tumor necrosis factor- $\alpha$  levels in patients with type 2 diabetes: a double-blind placebo-controlled randomized clinical trial. *Nutr Res.* **49**:96-106. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2017.11.003>
- Jukić I, Kolobarić N, Stupin A, Matić A, Kozina N, Mihaljević Z i sur. (2021) Carnosine, Small but Mighty-Prospect of Use as Functional Ingredient for Functional Food Formulation. *Antioxidants (Basel)* **10(7)**:1037. <https://doi.org/10.3390/antiox10071037>
- Kim MY, Kim EJ, Kim YN, Choi C, Lee BH (2011) Effects of  $\alpha$ -lipoic acid and L-carnosine supplementation on antioxidant activities and lipid profiles in rats. *Nutr. Res. Pract* **5**, 421
- Mannion AF, Jakeman PM, Dunnett M, Harris RC, Willan PL (1992) Carnosine and anserine concentrations in the quadriceps femoris muscle of healthy humans. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* **64(1)**:47-50. <https://doi.org/10.1007/BF00376439>

- Parkhouse WS, McKenzie DC, Hochachka PW, Ovalle WK (1985) Buffering capacity of deproteinized human vastus lateralis muscle. *J Appl Physiol.* **58**:14–17. <https://doi.org/10.1152/jappl.1985.58.1.14>
- Peñafiel R, Ruzafa C, Monserrat F, Cremades A (2004) Gender-related differences in carnosine, anserine and lysine content of murine skeletal muscle. *Amino Acids.* **26**(1):53-8. <https://doi.org/10.1007/s00726-003-0034-8>
- Perim P, Marticorena FM, Ribeiro F, Barreto G, Gobbi N, Kerksick C, Dolan E and Saunders B (2019) Can the Skeletal Muscle Carnosine Response to Beta-Alanine Supplementation Be Optimized? *Front. Nutr.* **6**:135 <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00135>
- Perry TL, Hansen S, Tischler B, Bunting R, Berry K (1967) Carnosinemia. A new metabolic disorder associated with neurologic disease and mental defect. *N Engl J Med.* **277**(23):1219-27. <https://dx.doi.org/10.1056/NEJM196712072772302>
- Prokopieva VD, Bohan NA, Johnson P, Abe H, Boldyrev AA. Effects of carnosine and related compounds on the stability and morphology of erythrocytes from alcoholics. *Alcohol Alcohol* **35**(1):44-8. <https://doi.org/10.1093/alcalc/35.1.44>
- Prokopieva VD, Yarygina EG, Bokhan NA, Ivanova SA (2016) Use of Carnosine for Oxidative Stress Reduction in Different Pathologies. *Oxid Med Cell Longev.* **2016**:2939087. <https://doi.org/10.1155/2016/2939087>
- Sale C, Artioli GG, Gualano B, Saunders B, Hobson RM, Harris RC (2013) Carnosine: from exercise performance to health. *Amino Acids* **44**(6):1477-91. <https://doi.org/10.1007/s00726-013-1476-2>
- Spelnikov D, Harris RC (2019) A kinetic model of carnosine synthesis in human skeletal muscle. *Amino Acids* **51**(1):115-121. <https://doi.org/10.1007/s00726-018-2646-z>
- Stefanis L (2012)  $\alpha$ -Synuclein in Parkinson's disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* **2**(2):a009399. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a009399>
- Stellingwerff T, Decombaz J, Harris RC, Boesch C. Optimizing human in vivo dosing and delivery of  $\beta$ -alanine supplements for muscle carnosine synthesis. (2012) *Amino Acids.* **43**(1):57-65. <https://doi.org/10.1007/s00726-012-1245-7>
- Uenoyama R, Miyazaki M, Miyazaki T, Shigeno Y, Tokairin Y, Konno H, Yamashita T (2019) LC-ESI-MS/MS quantification of carnosine, anserine, and balenine in meat

samples. *J Chromatogr B* **1132**, 121826.  
<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2019.121826>

- Yang Y, Wang Y, Kong Y, Zhang X, Zhang H, Gang Y, Bai L (2018) Carnosine Prevents Type 2 Diabetes-Induced Osteoarthritis Through the ROS/NF- $\kappa$ B Pathway. *Front Pharmacol* **9**:598. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00598>
- Wang S, Niu H, Liu Y, Tan Y, Gao H, Ren S, Wang L (2021) Clinical Efficacy and Safety of Non-Cross-Linked Hyaluronic Acid Combined with L-carnosine for Horizontal Neck Wrinkles Treatment. *Aesthetic Plast Surg.* **45(6)**:2912-2917.

## Izjava o izvornosti

Ja                     Matea Kosinec                     izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

  
\_\_\_\_\_  
Matea Kosinec

