

INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO AGUDA DE CREATINA SOBRE AS CONCENTRAÇÕES SANGUÍNEAS DE GLICOSE E LACTATO DE RATOS WISTAR

Renato Aparecido de Souza¹, Luis Eduardo Botossi¹, Roberto Mussolini dos Santos¹, Rodrigo Osorio Laso¹, Antonio Carlos Guimarães Prianti Júnior¹, José Carlos Cogo¹, Wellington Ribeiro¹

¹Universidade do Vale do Paraíba – UniVap, Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento – IP&D
Laboratório de Fisiologia e Farmacodinâmica.
Av. Shishima Hifumi, 2911 – Urbanova – 12244-400 São José dos Campos (SP)
renato@univap.br – gton@univap.br

Resumo – Investigou-se os efeitos da suplementação aguda de creatina (5g/kg - 5 dias) sobre as concentrações sanguíneas de glicose e lactato de ratos exercitados (natação a 80% da carga máxima tolerada) e sedentários. Vinte e quatro ratos Wistar machos (240 ± 12,5g) foram utilizados e divididos igualmente em 4 grupos experimentais (n=6): SED - ratos sedentários não suplementados; NAT - ratos exercitados não suplementados; CRE+SED - ratos sedentários e suplementados; CRE+NAT - ratos exercitados e suplementados. Ao final do experimento, os animais foram submetidos ao teste de carga máxima e os seguintes resultados obtiveram significância (p<0,05): incremento da carga máxima tolerada pelos animais suplementados (~5g), menores concentrações plasmáticas de glicose nos grupos CRE+SED e CRE+NAT (pré-teste:~85mg/dl e pós-teste: ~67mg/dl); menores concentrações plasmáticas de lactato CRE+SED e CRE+NAT (pós-teste: ~6 mmoL). Os achados deste estudo sugerem que o regime adotado de suplementação influenciou o perfil metabólico glicêmico, minimizou o acúmulo de lactato e, potencializou a máxima carga suportada nos animais suplementados.

Palavras-chave: suplementação de creatina, lactato, glicose, ratos Wistar

Área do Conhecimento: IV Ciências da Saúde

Introdução

O perfil metabólico e o estado energético das células musculares são alterados de acordo com mudanças no grau de atividade e na oferta de substratos energéticos que essas células apresentam [1]. Atualmente, o lactato sanguíneo é utilizado como importante verificador das condições bioenergéticas do músculo esquelético [2,3].

O papel fisiológico da creatina sobre o metabolismo energético muscular tem sido extensivamente investigado [4,5]. Vários estudos têm demonstrado que a suplementação oral de creatina pode exercer influência no perfil metabólico muscular [6,7]. Postula-se que esta interação ocorra principalmente devido a alterações no metabolismo periférico da glicose [8,9]. Neste aspecto, a literatura reporta taxas aumentadas de secreção insulínica [10], maior expressão de receptores GLUT-4 [11] e aumento na concentração intramuscular de glicogênio [12].

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho físico e a resposta metabólica periférica de ratos sedentários e exercitados submetidos à suplementação oral de creatina. Analisou-se para tanto, as concentrações sanguíneas de lactato e glicose durante o teste de

determinação da carga máxima suportada pelos animais.

Materiais e Métodos

O presente trabalho foi desenvolvido de acordo com os princípios de manuseio e cuidado com animais preconizados pelo COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal) e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da UniVap (Protocolo nº L022-2005-CEP).

Modelo Experimental: Foram utilizados 24 ratos (240 ± 12,5g) machos Wistar (*Rattus Norvegicus*), adultos jovens (10-12 semanas de idade), divididos igualmente em 4 grupos experimentais, conforme a Tabela 1.

Tabela 1- Distribuição dos animais

Grupos Experimentais	(n)
Sedentário não suplementado (SED)	6
Natação não suplementado (NAT)	6
Creatina Sedentário (CRE+SED)	6
Creatina Natação (CRE+NAT)	6

Os animais foram mantidos individualmente em gaiolas de contenção no biotério do Laboratório de Fisiologia e Farmacodinâmica do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba, em condição padrão de temperatura (22-25°C), umidade relativa (40-60%)

e ciclo de 12 horas claro-escuro. Além disto, todos animais tiveram acesso à ração peletizada (Labcil[®]) e água *ad libitum*.

Suplementação de Creatina: A suplementação de creatina foi realizada nos grupos CRE+SED e CRE+NAT, por gavagem durante 5 dias [13]. Utilizou-se 5g de creatina micronizada (Integral Médica[®]), grau padrão cromatográfico, por cada quilograma de massa corporal do animal [14].

Protocolo de Atividade Física: Todos os ratos foram submetidos a um período de adaptação à natação (30 minutos diários sem carga, durante 5 dias consecutivos) para reduzir fatores ligados ao estresse promovido pela atividade do nado [15]. Durante este período a creatina não foi administrada. Após a adaptação, os animais foram individualmente submetidos ao teste de carga máxima [16]. Foram colocadas células de carga, correspondendo a 0%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5% e 6% do peso corporal total, até que o rato entrasse em exaustão, atingindo a carga máxima. A exaustão foi determinada pela incapacidade do animal manter-se abaixo da superfície da água por aproximadamente 8-10 segundos [16]. Este teste permitiu o ajuste da carga de trabalho para o treinamento físico a 80% da carga máxima obtida.

O treinamento físico a 80% da carga máxima foi realizado em grupos de 6 animais devido a promoção de exercício mais vigoroso quando comparado ao nado individual [15]. Este treinamento ocorreu somente nos grupos experimentais NAT e CRE+NAT. Foram utilizados coletes contendo pesos de chumbo e posicionados junto ao tórax de cada animal de modo confortável [2]. Esta etapa teve duração de 5 dias, com sessões diárias de treinamento de 30 minutos. Novo teste de carga máxima foi realizado após o período de treinamento.

Todo protocolo de natação foi realizado em um tanque de amianto com capacidade para 250L de água, mantidos a temperatura de $35 \pm 2^\circ\text{C}$ e controlada por um termostato [16].

Análises de Glicose e Lactato: As amostras sanguíneas (~25µl) foram obtidas através de punção da extremidade caudal de cada animal e colocadas em tiras-teste para a quantificação de glicose (Blood Glucose Sensor Electrode - Medisense[®]) e lactato (BM-Lactate[®]). Em seguida estas tiras-teste contendo as amostras foram introduzidas nos analisadores portáteis MediSense - Q.I.D. Precision[®] e Accutrend[®] Lactate para determinação das concentrações de glicose e lactato, respectivamente. Este procedimento foi realizado antes e imediatamente após o teste de carga máxima final.

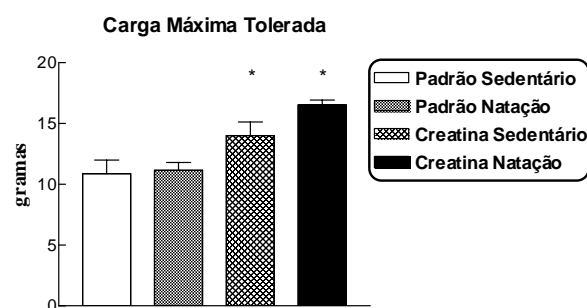
Análise Estatística: As análises estatísticas foram conduzidas utilizando o programa de informática GraphPad InStat[®], sendo os dados submetidos à análise de variância (ANOVA) seguido do teste de *Tukey*, quando necessário. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (média \pm E.P.M.), sendo que os

valores de $p \leq 0,05$ (5%) foram considerados significativos.

Resultados

A carga suportada pelos animais foi avaliada pelo teste de carga máxima realizado após os protocolos experimentais (exercício físico e suplementação). Ao analisarmos a Figura 1, podemos observar que os grupos suplementados apresentaram uma maior tolerância a carga máxima após 5 dias de experimento quando comparado com os grupos não suplementados ($16,52 \pm 0,41$ e $14 \pm 1,12$ para CRE+NAT e CRE+SED *versus* $11,15 \pm 0,63$ e $10,86 \pm 1,12$ para SED e NAT) ($p < 0,05$).

Figura 1- Valores médios da carga máxima tolerada pelos animais após o período experimental.* $p < 0,05$ *versus* SED e NAT



A Figura 2 apresenta valores médios das concentrações plasmáticas de glicose antes e após o teste de carga máxima final (pré-teste e pós-teste, respectivamente). As concentrações plasmáticas de glicose foram significativamente inferiores nos grupos CRE+SED (pré-teste: $85,50 \pm 2,25$; pós-teste: $68,66 \pm 1,86$) e CRE+NAT (pré-teste: $85,00 \pm 1,41$; pós-teste: $67,5 \pm 1,87$) em relação aos grupos SED (pré-teste: $89,16 \pm 3,37$; pós-teste: $77,33 \pm 1,63$) e NAT (pré-teste: $89,5 \pm 1,64$; pós-teste: $76,16 \pm 1,16$).

A figura 3 apresenta valores médios das concentrações plasmáticas de lactato antes e após o teste de carga máxima final. A análise das concentrações de lactato revelou diferença significativa apenas nos valores encontrados após o teste de carga máxima. Os grupos CRE+SED e CRE+NAT apresentaram valores inferiores ($6,86 \pm 0,36$ e $6,43 \pm 0,33$, respectivamente) em relação aos grupos SED e NAT ($8,23 \pm 0,35$ e $8,06 \pm 0,38$, respectivamente).

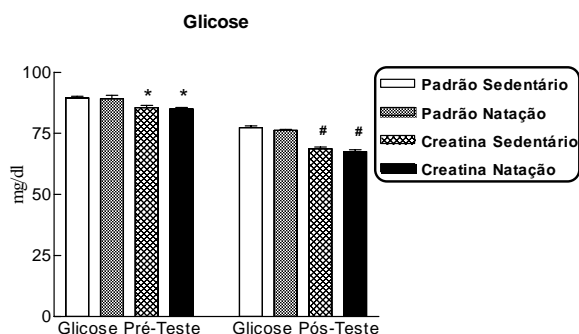


Figura 2- Valores médios das concentrações plasmáticas de glicose antes e após o teste de carga máxima final. * $p < 0,05$ versus SED e NAT (glicose pré-teste); # $p < 0,05$ versus SED e NAT (glicose pós-teste).

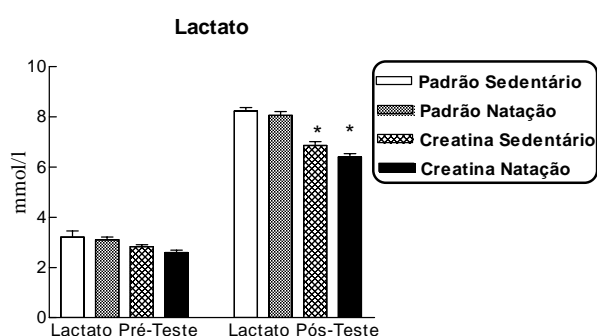


Figura 3- Valores médios das concentrações plasmáticas de lactato antes e após o teste de carga máxima final. * $p < 0,05$ versus PAD + SED e PAD + NAT (lactato pós-teste).

Discussão

Em humanos, a creatina é usualmente administrada por um regime de dosagem constituído pela fase de suplementação elevada (*loading phase*) de $20 \text{ g} \cdot \text{dia}^{-1}$ durante 5-7 dias, substituída logo em seguida, pela fase de manutenção ($3-5 \text{ g} \cdot \text{dia}^{-1}$) [4]. Neste estudo, utilizamos apenas a *loading phase* de creatina, já que alguns autores a consideram imprescindível para a eficácia ergogênica deste composto [6,7].

Os benefícios ergogênicos da suplementação de creatina estão relacionados ao seu papel na bioenergética muscular [1]. As células musculares apresentam limitadas fontes de energia imediata, e necessitam de mecanismos regeneradores para manter o trabalho muscular continuado [5]. A creatina desempenha importante papel neste aspecto [4] e diversos mecanismos foram propostos para elucidar como a suplementação de creatina poderia potencializar o desempenho físico [17,18,19]. Estes mecanismos envolvem o aumento intramuscular de creatina livre e creatina-fosfato (CP) disponível em repouso [17,18]; redução da acidez muscular, pelo consumo de H^+ no processo de ressíntese de ATP [19]; aumento da atividade da citrato sintase [17]; e, aumento da capacidade de treinamento [18].

A suplementação de creatina promove alterações homeostáticas no perfil metabólico da glicose [20]. Segundo alguns autores, a creatina exerce um efeito hipoglicêmico por meio de incrementos na secreção insulínica e/ou maior expressão de receptores GLUT-4 em músculos esqueléticos frente à suplementação [8,10,11,12]. Estes efeitos resultam em aumento do conteúdo de glicogênio intramuscular [13, 20]. A elevação do glicogênio muscular melhora o processo de oxidação glicolítica durante atividades físicas prolongadas e, desta forma, reduz a produção de lactato sanguíneo [2,3]. Além disto, a suplementação de creatina facilita a oxidação do lactato, reduzindo seu acúmulo [4].

Neste estudo, observamos menor acúmulo de lactato ($\sim 6 \text{ mmol/L}$), concentrações plasmáticas de glicose reduzidas (~ 85 : repouso; ~ 67 : pós-teste) e maior resistência e tolerância física ($\sim 5 \text{ g}$) nos animais suplementados. Todos estes achados estão de acordo com a literatura supracitada. Nossos resultados foram atribuídos exclusivamente à suplementação de creatina, já que os animais sedentários e submetidos ao esforço físico apresentaram respostas semelhantes. Justificamos esta semelhança pelo fato da atividade física só promover importantes adaptações orgânicas e metabólicas a partir do final do primeiro mês de treinamento [21]. Sendo a creatina o mais popular recurso ergogênico utilizado pela população mundial [1], futuros estudos devem ser realizados para esclarecer os principais efeitos desta substância no organismo humano.

Conclusão

Nosso estudo demonstra que 5 dias de suplementação oral de creatina diminui o acúmulo de lactato sanguíneo, reduz os níveis plasmáticos de glicose e aumenta a carga máxima suportada pelos animais suplementados.

Referências

- [1] TOKISH, J.M.; KOCHER, M.S.; HAWKINS, R.J. Ergogenic aids: a review of basic science, performance, side effects, and status in sports. **Am. J. Sports Med.** V. 32, n.6, p.1543-1553, 2004.
- [2] VOLTARELLI, F.A.; GOBATTO, C.A.; MELLO, M.A.R. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research.** V. 35, p.1389-1394, 2002.
- [3] BROOKS, G.A. Intra- and extracellular lactate shuttles. **Medicine and Science in Sports and Exercise.** V. 32, p.790-799, 2000.

- [4] BEMBEN, M.G.; LAMONT, H.S. Creatine supplementation and exercise performance: recent findings. **Sports Med.** V. 35, n.2, p.107-125, 2005.
- [5] KREIDER, R.B. Effects of creatine supplementation on performance and training adaptations. **Mol. Cell Biochem.** V. 244, n.2, p.89-94, 2003.
- [6] BRANNON, T.A.; ADAMS, G.R.; GONNIFF, C.L.; BALDWIN, K.M. Effects of creatine loading and training on running performance and biochemical properties of rat skeletal muscle. **Medicine and Science in Sports and Exercise.** V. 29, p.489-495, 1997.
- [7] HARRIS, R.C.; SODERLUND, K.; HULTMAN, E. Elevation of creatine in resting and exercised muscle of normal subjects by creatine supplementation. **Clinical Science.** V. 83, p.367-374, 1992.
- [8] FERRANTE, R.J.; ANDREASSEN, O.A.; JENKINS, B.D.; DEDEOGLU, A.; KUEMMERLE, S.; KUBILUS, J.K.; KADDURAH-DAOUK, R.; HERSCH, S.M.; BEAL, M.F. Neuroprotective effects of creatine in a transgenic mouse model of Huntington's disease. **J. Neuroscience.** V. 15, p.4389-4397, 2000.
- [9] ROBINSON, T.M.; SEWELL, D.A.; HULTMAN, E.; GREENHAFF, P.L. Role of submaximal exercise in promoting creatine and glycogen accumulation in human skeletal muscle. **J. Appl. Physiol.** V. 87, p.598-604, 1999.
- [10] GEMPEL, K.; BRDIZYCZKA, D.; KADDURAH-DAOUK, R.; WALLIMANN, T.; KAUFHOLD, P.; GERBITZ, K.D. The creatine analog cyclocreatine increases insulin secretion in INS-1 cells via K⁺ channel independent mechanism. **Diabetologia.** V. 39, p. 31-37, 1996.
- [11] OP'T EIJNDE, B.; URSO, B.; RICHTER, E.A.; GREENHAFF, P.L.; HESPEL, P. Effect of oral supplementation on human muscle GLUT4 protein content after immobilization. **Diabetes.** V. 50, p.18-23, 2001.
- [12] YOUNG, J.C.; YOUNG, R.E. The effect of creatine supplementation on glucose uptake in rat skeletal muscle. **Life Sci.** V. 71, p. 1731-1737, 2002.
- [13] ÖÖPIK, V.; TIMPMANN, S.; MEDIJAINEN, L.; ALEKSEJEVA, T. Effect of creatine administration on blood urea level and postexercise glycogen repletion in liver and skeletal muscle in rats. **Ann. Nutr. Metab.** V. 40, p.359-363, 1996.
- [14] IPSIROGLU, S.O.; STROMBERGER, C.; ILAS, J.; HÖGER, H.; MÜHL, A.; IPSIROGLU-STOCKLER, S. Changes of tissue creatine concentrations upon oral supplementation of creatine-monohydrate in various animal species. **Life Science.** V. 69, p.1805-1815, 2001.
- [15] MORIFUJI, M.; SAKAI, K.; SANBONGI, C.; SUGIURA, K. Dietary whey protein increases liver and skeletal muscle glycogen levels in exercise-trained rats. **Br. J. Nutr.** V. 93, n.4, p.439-445, 2005.
- [16] OSORIO, R.A.; SILVEIRA, V.L.; MALDJIAN, S.; MORALES, A.; CHRISTOFANI, J.S.; RUSSO, A.K.; SILVA, A.C.; PICARRO, I.C. Swimming of pregnant rats at different water temperatures. **Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.** V. 135, n.4, p.605-611, 2003.
- [17] SAHLIN, K. Metabolic changes limiting muscle performance. **Medicine and Science in Sports and Exercise.** V. 28, p.323-343, 1998.
- [18] GREENHAFF, P.L. The nutritional biochemistry of creatine. **Journal of Nutritional Biochemistry.** V. 11, p.610-618, 1997.
- [19] PEYREBRUNE, M.C.; NEVILL, M.E.; DONALDSON, F.J.; COSFORD, D.J. The effects of oral creatine supplementation on performance in single and repeated sprint swimming. **Journal of Sports Science.** V. 16, p.271-279, 1998.
- [20] KHANNA, G.L.; MANNA, I. Supplementary effect of carbohydrate-electrolyte drink on sports performance, lactate removal & cardiovascular response of athletes. **Indian J. Med. Res.** V. 121, n.5, p.665-669, 2005.
- [21] GOTO, K.; ISHII, N.; KIZUKA, T.; TAKAMATSU, K. The impact of metabolic stress on hormonal responses and muscular adaptations. **Med. Sci. Sports Exerc.** V. 37, n.6, p.955-63, 2005.