



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS
CURSO DE FARMÁCIA

MARIANA MACIEL CAVALCANTI

AVALIAÇÃO DO PERFIL BIOQUÍMICO DE CAMUNDONGOS SEDENTÁRIOS
EM USO DE SUPLEMENTAÇÃO COM CREATINA

FORTALEZA

2015

MARIANA MACIEL CAVALCANTI

**AVALIAÇÃO DO PERFIL BIOQUÍMICO DE CAMUNDONGOS SEDENTÁRIOS
EM USO DE SUPLEMENTAÇÃO COM CREATINA**

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Goretti Rodrigues de Queiroz.

Co-orientadora: Profa. Dra. Jamile Magalhães Ferreira.

FORTALEZA

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências da Saúde

-
- C366a Cavalcanti, Mariana Maciel.
Avaliação do perfil bioquímico de camundongos sedentários em uso de suplementação com creatina/ Mariana Maciel Cavalcanti. – 2015.
37 f.; il.
- Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem. Curso de Farmácia, Fortaleza, 2015.
Orientação: Profa. Dra. Maria Goretti Rodrigues de Queiroz.
1. Creatina. 2. Camundongos. 3. Suplementos Nutricionais. 4. Testes de Função Renal. I. Título.
CDD 615.1
-

MARIANA MACIEL CAVALCANTI

**AVALIAÇÃO DO PERFIL BIOQUÍMICO DE CAMUNDONGOS SEDENTÁRIOS
EM USO DE SUPLEMENTAÇÃO COM CREATINA**

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Farmácia.

Aprovada em 19/06/2015

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maria Goretti Rodrigues de Queiroz (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará – (UFC)

Prof. Dr. Daniel Freire de Sousa
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB)

Profa. Dra. Renata de Sousa Alves
Universidade Federal do Ceará – (UFC)

À Deus,

À minha filha, Júlia

Aos meus pais, Adriana e Caruso

Ao meu noivo, Victor Henrique.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por toda a força que sempre me deu para cumprir tarefas e alcançar todos os meus objetivos. Por nunca me deixar fraquejar e por me transmitir paz interior.

Aos meus pais, Adriana e Caruso, cada um com seu jeito único de me amar. Mãe sempre prestativa e pronta para ajudar a todos. Minha inspiração, como mãe, mulher e farmacêutica fantástica. Pai, agradeço por seu amor pela família e por perseverança em conseguir o melhor para todos. Ao Lucas, meu irmão, que apesar das diferenças, me ajuda em tudo. Está sempre presente.

À Júlia, minha vida, meu tudo. A pessoa que chegou e tornou meu mundo mais claro e cheio de alegrias. Minha maior companheira, aquela que está comigo em qualquer situação. E que me ganha, todos os dias, com aquele sorriso de menina feliz. Minha filha querida é a certeza de que nunca estarei só.

Ao meu maior companheiro, Victor Henrique, pessoa incrível que Deus colocou em minha vida. Agradeço por seu amor, compreensão e pelas doses de carinho diário, por ser um pai maravilhoso, por nunca me deixar desistir e sempre me mostrar que tudo será melhor no outro dia.

À minha família, pessoas especiais que estão todos os dias me incentivando e me apoiando na profissão e nos caminhos da vida. Em especial, a minha tia, Antônia, que me ajudou muito durante a realização do projeto.

Aos meus sogros, Iranilda e Tarcísio, pelo incentivo permanente.

Às minhas amigas de faculdade, pessoas maravilhosas que me ajudaram a seguir nesse caminho cheio de altos e baixos, com quem dividi angústias e alegrias que a Universidade nos trouxe.

Aos meus professores e, principalmente, a Jamile Magalhães que, além de qualquer coisa, é uma amiga maravilhosa. Obrigada por acreditar em mim e dedicar seu tempo para que esse sonho fosse realizado. Você é sensacional. À professora Goretti, pelo apoio dado a esse projeto. Às professoras Alcínia e Iêda, também por todos os ensinamentos nesse campo que tanto me fascina.

Aos membros da banca examinadora, pelas preciosas contribuições.

À Família Bioquímica, Kamilla, Giovanna, Mariana Dantas, Hector, Richard, Renata Monteiro e Daniel pessoas que me acolheram de uma maneira incrível. Obrigada a todos pelos ensinamentos e conselhos.

Aos parceiros do CEATOX, pelos ensinamentos durante o estágio.

“Aponta para a fé e rema”

(Marcelo Camelo)

RESUMO

O uso de suplementos nutricionais tem sido indiscriminado. Dentre esses, o único que possui efeito ergogênico comprovado é a creatina que ligada ao treinamento, é a mais utilizada para aumento de massa muscular. A creatina é obtida através da dieta ou síntese endógena, a partir dos aminoácidos. Esse composto fornece energia na forma de fosfato, proveniente da creatina fosfato, para o ADP, formando ATP. No Brasil, o uso de creatina é regulamentado pela RDC nº 18/2010. Essa legislação trata a creatina, como produto destinado a complementar os estoques endógenos de creatina e afirma que o uso do suplemento deve seguir as seguintes recomendações: O produto pronto para consumo deve conter de 1,5g a 3,0g de creatina por porção; Deve ser utilizada a creatina mono hidratada com grau de pureza mínima de 99,9%, dentre outros. Dessa forma, o presente trabalho objetiva avaliar os parâmetros bioquímicos (ALT, AST, Uréia, Creatinina, Colesterol Total, Triglicérides e Glicose) de camundongos submetidos à suplementação oral com creatina. Para isso, utilizaram-se 40 camundongos machos, divididos em grupos: Controle negativo (CN), creatina 1 (CR1), creatina 2 (CR2) e creatina 3 (CR3). O grupo CN recebeu ração padrão e água, enquanto que os demais grupos CR 1, CR 2 e CR 3 foram submetidos as seguintes doses, respectivamente, 25g/dia, 100g/dia e 150g/dia durante sete dias. Todas as doses foram calculadas baseando-se na RDC 18/2010 e na dose real utilizada pelos atletas. Ao final desse período, foi realizada coleta sanguínea. Em seguida, foram administradas, aos animais de cada grupo teste, doses de manutenção de creatina (25g/dia) por 28 dias. A seguir, foi realizada outra coleta sanguínea. Todos os valores obtidos foram expressos em média \pm erro padrão médio (E.P.M.) e para comparação das médias utilizou-se a ANOVA seguida de pós-teste de Tukey (significância $p < 0,05$). Com isso, observou-se que os níveis de glicose aumentaram 46,25%, 43,75% e 28,3% nos grupos CR1, CR2 e CR3, respectivamente, quando comparados ao grupo CN durante a sobrecarga. Já os níveis de colesterol total, triglicérides e das enzimas hepáticas não foram alterados. Na análise da função renal, a ureia teve diminuição de 19,27% na maior dose durante a sobrecarga e a creatinina aumentou 228,57%, 90,42% e 181,00% nos grupos CR1, CR2 e CR3, respectivamente, quando comparados ao controle negativo na sobrecarga. Já na manutenção, os níveis de creatinina aumentaram 43,65% e 42,55% em CR2 e CR3, respectivamente, quando comparados ao grupo CR1. Assim, pode-se verificar que a creatina pode promover alterações bioquímicas importantes, principalmente, quando utilizada em altas doses.

Palavras-chave: Creatina. Camundongos. Suplementos. Renal.

ABSTRACT

The use of nutritional supplements has been indiscriminate. Among these, the only one who has a proven ergogenic effect is creatine bound to training, is the most used to increase muscle mass. Creatine is obtained through the diet or endogenous synthesis from amino acids. This compound provides energy in the phosphate forms, from creatine phosphate to ADP, forming ATP. In Brazil, the use of creatine is regulated by RDC No. 18/2010. This legislation comes creatine, as a product intended to complement the endogenous creatine stock and claims that use of the supplement should follow these recommendations: The ready-to-eat product must contain from 1.5 g to 3.0 g of creatine per serving; The creatine monohydrate with a degree of purity of at least 99.9%, and others must be used. Thus, the present study aims to evaluate biochemical parameters (ALT, AST, UREA, creatinine, total cholesterol, triglycerides and glucose) of mice submitted to oral supplementation with creatine. For this, they used 40 male mice divided into groups (n=10): negative control (NC), creatine 1 (CR1), creatine 2 (CR2) and creatine 3 (CR3). The CN group received standard chow and water, while the other groups CR 1, CR 2 and CR 3 underwent the following doses respectively, 25 g/day/animal, 100g/day/animal and 150g/day/animal for seven days. All doses were calculated based on the RDC 18/2010 and the actual dose used by athletes. After this period, blood collection was performed. Then, were administered to the animals in each test group, maintenance doses of creatine (25g/day/animal) for 28 days. Next, another blood sample was collected. All values were expressed as mean \pm standard error (EPM) and to compare the means used to ANOVA followed by Tukey's post-test ($p < 0.05$). Thus, it was observed that glucose levels increased 46.25%, 43.75% and 28.3% in the groups CR1, CR2 and CR3, respectively, compared to the CN group during overcharging. Have total cholesterol levels, triglycerides and liver enzymes have not changed. In the analysis of kidney function, decreasing the urea had 19.27% at the highest dose during overcharging and creatinine increased 228.57%, 181.00% and 90.42% in the groups CR1, CR2 and CR3, respectively, compared to the negative control in overhead. In the maintenance, creatinine levels increased 43.65% and 42.55% in CR2 and CR3, respectively, compared to the CR1 group. Thus, it can be seen that creatine may promote significant biochemical changes, especially when used in high doses.

Keywords: Creatine. Mice. Supplements. Renal

LISTAS DE GRÁFICOS

1. Níveis plasmáticos de glicose (mg/dL) após tratamento com doses de sobrecarga (1ª coleta) e manutenção (2ª coleta) de creatina por 7 dias e 28 dias, respectivamente.....24
2. Níveis plasmáticos de colesterol total (mg/dL) após tratamento com doses de sobrecarga (1ª coleta) e manutenção (2ª coleta) de creatina por 7 dias e 28 dias, respectivamente.....25
3. Níveis plasmáticos de triglicérides (mg/dL) após tratamento com doses de sobrecarga (1ª coleta) e manutenção (2ª coleta) de creatina por 7 dias e 28 dias, respectivamente.....26
4. Níveis plasmáticos de AST (U/L) após tratamento com doses de sobrecarga (1ª coleta) e manutenção (2ª coleta) de creatina por 7 dias e 28 dias, respectivamente.....27
5. Níveis plasmáticos de ALT (U/L) após tratamento com doses de sobrecarga (1ª coleta) e manutenção (2ª coleta) de creatina por 7 dias e 28 dias, respectivamente.....28
6. Níveis plasmáticos de ureia (mg/dL) após tratamento com doses de sobrecarga (1ª coleta) e manutenção (2ª coleta) de creatina por 7 dias e 28 dias, respectivamente.....29
7. Níveis plasmáticos de creatinina (mg/dL) após tratamento com doses de sobrecarga (1ª coleta) e manutenção (2ª coleta) de creatina por 7 dias e 28 dias, respectivamente.....30

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura molecular da creatina e fosfocreatina.....15

Figura 2: Quebra da fosfocreatina que leva a produção de ATP.....16

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADP Adenosina Difosfato
AGAT Glicina amidinotransferase
ALT Alanina aminotransferase
ANVISA Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AST Alanina aminotransferase
ATP Adenosina Trifosfato
CEPA Comissão de Ética em Pesquisa Animal
CN Grupo Controle Negativo
CR Creatina
CR1 Creatina 1
CR2 Creatina 2
CR3 Creatina 3
FDA United States Food and Drug Administration
GAMT GuanidinoacetatoMetiltransferase
HDL Lipoproteína de alta densidade
PCr Fosfocreatina
P Fosfato
RDC Resolução da Diretoria Colegiada
UFC Universidade Federal do Ceará
VLDL Very-low-densitylipoprotein

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 14 |
| 1.1 Suplementação esportiva..... | 14 |
| 1.2 Creatina..... | 15 |
| 1.3 Creatina e sua correlação com as funções metabólicas..... | 17 |
| 1.4 Creatina e sua possível problemática..... | 18 |
| 2. OBJETIVOS..... | 20 |
| 3. METODOLOGIA..... | 21 |
| 3.1 Animais e protocolo experimental..... | 21 |
| 3.2. Substâncias e reagentes utilizados..... | 22 |
| 3.3 Análises Bioquímicas..... | 22 |
| 3.4. Procedimentos analíticos..... | 22 |
| 3.5. Análise Estatística..... | 22 |
| 3.6. Aspectos Éticos..... | 23 |
| 4. RESULTADOS..... | 24 |
| 4.1 Metabolismo glicêmico de camundongos após os períodos de sobrecarga e manutenção de creatina..... | 24 |
| 4.2 Metabolismo lipídico dos camundongos após os períodos de sobrecarga e manutenção de creatina..... | 25 |
| 4.3 Atividade enzimática da aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) de camundongos após os períodos de sobrecarga e manutenção de creatina..... | 27 |
| 4.4 Função renal dos camundongos após os períodos de sobrecarga e manutenção de creatina..... | 29 |
| 5 DISCUSSÃO..... | 31 |
| 6 CONCLUSÃO..... | 36 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 37 |

1. INTRODUÇÃO

1. Suplementação esportiva

A imagem corporal exigida pela sociedade e a falta de tempo para treinamento adequado, aliada à impaciência em atingir os resultados esperados e ao desejo de aparentar o seu melhor, tornam algumas pessoas propensas a consumir qualquer substância que possua a proposta de atingir o padrão de beleza imposto, uma vez que a estética é um dos principais motivos da prática esportiva. A potência e a pureza dos agentes nutricionais não são bem conhecidas e ainda não há informações suficientes sobre os efeitos em longo prazo, mas mesmo assim, o uso de suplementos é popular, a ponto de atrair a atenção de especialistas e sociedades científicas (HIRSCHBRUCH et al., 2008).

Dessa forma, tem se verificado que a busca de um corpo esteticamente perfeito e a falta de uma cultura corporal saudável tem levado a população a usar de forma abusiva, substâncias que possam potencializar no menor espaço de tempo possível os seus desejos. Dentre essas substâncias, os suplementos nutricionais, mais especificamente os recursos ergogênicos, tem um destaque primordial (SANTOS & SANTOS, 2002).

A Medicina Esportiva estabelece um conceito para o termo "agente ergogênico" que abrange todo e qualquer mecanismo, que seja capaz de melhorar o desempenho nas atividades físicas esportivas. Assim, os agentes ergogênicos podem ser subdivididos em três grupos: fisiológicos, nutricionais e farmacológicos (NETO, 2001).

Os fisiológicos incluem todo o mecanismo ou adaptação fisiológica para melhorar o desempenho físico. Os agentes ergogênicos nutricionais caracterizam-se pela aplicação de estratégias e pelo consumo de nutrientes com grau de eficiência extremamente variável (NETO, 2001). Os farmacológicos são aqueles de cunho terapêutico, utilizados de forma errônea por atletas, como os anabolizantes esteroides.

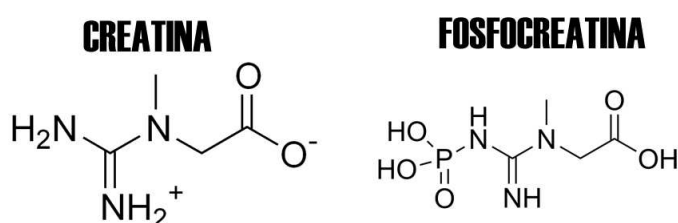
Entretanto, de todos os suplementos nutricionais encontrados no mercado, o único que possui efeito ergogênico comprovado cientificamente é a creatina, que ligada ao treinamento é atualmente a mais utilizada para aumento de massa muscular (NETO, 2001).

2. Creatina

O uso da creatina e seu salto em relação ao desempenho dos atletas se deram pela primeira vez nos Jogos Olímpicos de 1992, em Barcelona, quando o corredor britânico Linford Christie, ganhador da medalha de ouro nos 100 metros rasos, creditou sua vitória ao consumo da creatina (PERALTA *et. al.*, 2002). Desde então, a creatina tem sido utilizada em larga escala por atletas de diversas modalidades, mas principalmente do futebol e natação.

A utilização da creatina durante todos esses anos levou diversos pesquisadores a investigar o seu uso e possíveis efeitos, sejam eles benéficos ou maléficos. Atualmente, sabe-se que a creatina tem efeitos ergonômicos plenamente confirmados, principalmente em atividades de alta intensidade e curta duração (GUALANO *et. al.*, 2008).

A creatina (CR) (ácido α -metil guanidínico acético) (Figura 1) é um composto nitrogenado obtido através da dieta ou síntese endógena, a partir dos aminoácidos glicina, metionina e arginina. Assim, é formada a partir da transferência do grupo amidino da arginina, catalisada pela enzima AGAT (glicina amidinotransferase) para a glicina, levando a produção de L- ornitina e ácido guanidinoacético. O guanidino acetato sofre a ação de GAMT (guanidino acetatometiltransferase), sendo metilado a creatina, pela transferência do grupo metil da S-adenosilmetionina (WYSS, 2000).



Fonte: KREIDER, 1998

Figura 1: Estrutura molecular da creatina e fosfocreatina.

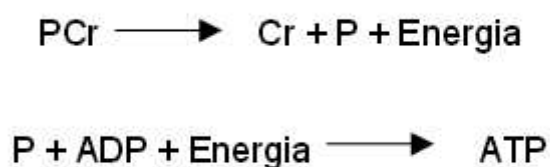
A creatina é sintetizada nos rins, fígado e pâncreas e, posteriormente, transportada para outros órgãos como músculo e cérebro, onde é fosforilada a fosfocreatina, através de reação catalisada pela enzima creatinoquinase. É um dos principais compostos de reserva de fosfato altamente energético necessário para o metabolismo muscular sendo, a interconversão de fosfocreatina e creatina uma característica particular do processo metabólico da contração muscular (GUALANO, 2008).

Em relação a sua absorção, a creatina é absorvida de forma intacta pelo trato gastrointestinal e entra facilmente na corrente sanguínea (WILLIAMS *et. al.*, 2000). Após a

sua absorção intestinal, a creatina presente no plasma é distribuída a vários tecidos, como coração, musculatura lisa e cérebro (HENRY, 2008).

Ainda de acordo com Henry, 2008, o armazenamento da creatina se dá sob forma livre ou fosforilada e a soma entre as duas frações resultam na quantidade total de creatina corporal no organismo humano. Sua desidratação é responsável pela formação do composto orgânico nitrogenado e não proteico denominado creatinina. A cada dia, 1 a 2% da creatina nos músculos é convertida em creatinina.

A creatina está envolvida em diversas funções de cunho metabólico, atuando no metabolismo energético, e exercendo sua principal função, onde na forma fosforilada, age como doadora de fosfato, após ser degradada em creatina e fosfato, para moléculas de ADP, ressintetizando o ATP que é degradado dentro da célula (Figura 2). Esse processo ocorre no sistema do fosfagênio, onde a fosfocreatina celular e o ATP proporcionam uma potência muscular máxima por um período de 8 a 10 segundos, quase o suficiente para uma corrida de 100 metros. Assim, observa-se um dos motivos para o uso de creatina como suplemento esportivo (HENRY, 2008; GUALANO 2008; SILVA, 2001).



Fonte: KREIDER, 1998

Figura 2: Quebra da fosfocreatina que leva a produção de ATP

Estudos recentes têm demonstrado que a suplementação de creatina pode ser benéfica em acometimentos neuromusculares, doenças crônico-degenerativas, como esclerose múltipla, Doença de Huntington e distrofias musculares de Duchenne e tolerância à glicose. Entretanto, as dúvidas acerca dos efeitos indesejáveis dessa substância são inúmeras, sobretudo no que tange à função renal e hepática (GUALANO, 2008).

Apesar de efeitos benéficos descritos, as consequências de eventuais superdosagens ou uso por períodos de tempo extremamente prolongados ainda requerem certo cuidado. A preocupação nestes casos não está restrita ao consumo por parte de atletas. O aumento de massa muscular promovido pela suplementação de creatina constitui-se em um efeito sedutor para os praticantes de exercícios com objetivos prioritariamente estéticos e que, muitas vezes, relegam a saúde a um plano secundário (NETO, 2001).

3. Creatina e sua correlação com as funções metabólicas.

Os efeitos da suplementação de creatina sobre a função renal são debatidos intensamente na literatura científica. Enquanto alguns pesquisadores posicionam-se cautelosamente quanto ao uso dessa substância, uma vez que estudos de caso têm sugerido efeitos deletérios à função renal, há autores que se debruçam sobre estudos longitudinais, que embora possuam sérias limitações metodológicas, indicam a segurança da suplementação de creatina. Diante da incerteza em torno do tema, a mídia e os órgãos reguladores de cada país têm tomado suas próprias posições acerca dos riscos desse suplemento (GUALANO, 2008).

É comum observar inúmeros especialistas da área de saúde condenando, veementemente, o consumo de creatina, sobretudo com a alegação de que esse suplemento é prejudicial à função renal. A dedução é simples e até mesmo lógica: a creatina é convertida espontaneamente a creatinina, a qual é excretada pelos rins. O excesso de creatina obtida pela suplementação geraria uma sobrecarga renal ao ser excretada (GUALANO et al. 2007).

A creatinina é um produto residual da creatina fosfato nos músculos, e geralmente é produzida em uma taxa constante no organismo. Uma fração constante diária de creatina (1%) e de fosfocreatina (2%) é convertida por um processo não enzimático em creatinina. Também pode haver a conversão enzimática de fosfocreatina em creatinina pela ação da creatinoquinase (cerca de 20 a 25%) (HORN et al. 1998; SODRÉ, 2007). Sabe-se que a creatinina é excretada por via renal. Assim, o uso de creatina pode gerar mudanças no metabolismo da creatinina, que seria um indicativo de alteração da função renal.

A ureia é o principal metabólito nitrogenado derivado da degradação de proteínas pelo organismo, sendo 90% excretados pelos rins e correspondendo a aproximadamente 75% do nitrogênio não proteico excretado. A ureia e creatinina séricas, quando alteradas, podem estar relacionadas à alteração da função renal (SODRÉ et al.,2007).

Atualmente, existem fortes discussões sobre o uso da creatina no que tange a alteração da função hepática. Sabe-se que o fígado é um órgão importante no metabolismo humano, exercendo diversas funções no organismo, dentre elas estão: a síntese proteica e de ácidos biliares, metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas e a desintoxicação das reações de metabolização. Alguns autores, afirmam que o uso da creatina pode estar relacionado ao desenvolvimento do quadro de hepatite em usuários do suplemento esportivo (GUYTON; HALL, 2011; VIEIRA, 2008).

No que diz respeito aos metabolismos glicêmicos e lipídicos, alguns pesquisadores acreditam que o uso de creatina melhora a tolerância a glicose, o perfil lipídico e a sensibilidade a insulina promovidas pelo exercício (GUALANO et. al, 2008).

5. Creatina e sua possível problemática

Santos e Santos, 2002 demonstraram que o uso do suplemento esportivo ocorre em cerca de 70% de alunos de uma determinada academia de ginástica, sendo a creatina utilizada por, praticamente, todos os atletas de todos os níveis de escolaridade. Assim, verifica-se que o uso de suplementos ocorre de maneira indiscriminada nas academias.

Outros estudos demonstram que o uso da creatina é mais disseminado entre os homens que frequentam a academia, diferentemente de mulheres, que afirmam pouco utilizar tal suplementação. Ainda assim, a creatina está entre um dos suplementos mais utilizados no esporte. Em um estudo com 201 jovens, observou-se que o consumo da creatina estava atrelado ao desejo de ganhar músculos, garantir desempenho e energia e, alguns utilizavam o composto sem saber qual a sua finalidade. Viu-se ainda, que o uso da creatina se dava principalmente por indivíduos leigos (HIRSCHBRUCH et al., 2008).

As quantidades ideais para uso da creatina são relatadas em modelos clássicos experimentais, como o usado por Aoki (2004), que relata um estudo realizado em duas fases: sobrecarga, onde são administradas de 20 a 30 gramas de creatina por 5 a 7 dias, e manutenção, onde são usadas de 2 a 5 gramas de creatina por um período de 5 a 10 semanas. A ingestão da sobrecarga aumenta a concentração intramuscular livre e de fosfocreatina em até 30% (AOKI, 2004; ALBANI, 2004).

O uso de creatina como suplemento esportivo é previsto em lei própria em cada país. No Brasil, a RDC nº 18/2010 que dispõe sobre alimentos para atletas, trata a creatina, em sua Seção III art. 4º, como produto destinado a complementar os estoques endógenos de creatina. Em seu art. 10º, dispõe sobre os requisitos ideais para o uso de tal suplemento: 1) O produto pronto para consumo deve conter de 1,5g a 3,0g de creatina por porção; 2) Deve ser utilizada na formulação do produto creatina mono hidratada com grau de pureza mínima de 99,9%; 3) O produto pode conter carboidratos adicionados; 4) O produto não pode ser adicionado de fibras alimentares (ANVISA, 2010).

Nos Estados Unidos, uso de suplementação alimentar é uma indústria multibilionária, onde a creatina vende mais de 4000 mil quilos e rende mais de 200 milhões de dólares por ano.

Nesse país, a creatina é classificada como suplemento nutricional ou dietético e, assim, é regulada pela United States Food and Drug Administration (FDA). Nesse país, os suplementos alimentares não têm que cumprir os mesmos requisitos de fabricação, testes clínicos e aprovação que são necessários para os medicamentos, antes de chegar ao mercado consumidor. Segundo a lei, um fabricante de suplemento dietético só precisa fazer notificações à FDA, quando as alegações de saúde específicas são feitas para o produto, sendo que a principal responsabilidade pela segurança do suplemento fica com o fabricante do suplemento do mesmo (ZEISEL, 1999).

Assim, o presente trabalho é relevante visto que a creatina é uma substância importante ao metabolismo energético e tem sido utilizada indevidamente ou sem acompanhamento nutricional por pessoas que praticam exercícios físicos, sejam elas atletas ou não. Diante desse cenário, verifica-se a importância da realização de estudos pré-clínicos com a creatina visando analisar as possíveis alterações bioquímicas que podem vir a ser desencadeadas, contribuindo para que ela seja utilizada de forma segura e racional.

2. OBJETIVOS

Objetivo Geral

- Avaliar os parâmetros bioquímicos de camundongos sedentários submetidos à suplementação oral com creatina.

Objetivos Específicos

- Avaliar os metabolismos glicêmico e lipídico dos camundongos sedentários em uso de suplementação oral de creatina;
- Avaliar a função hepática e renal dos camundongos sedentários em uso de suplementação oral creatina;
- Comparar os valores dos parâmetros bioquímicos das coletas dos períodos de sobrecarga e de manutenção

3. MATERIAIS E MÉTODOS

1. Animais e protocolo experimental

Utilizaram-se 40 camundongos *swiss* (~ 25 a 30g) albinos, adultos e machos, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará. Os animais foram acondicionados em caixas de polipropileno, aclimatizados entre $22 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, com ciclos de claro/escuro de 12 em 12h e circulação de ar controlados, recebendo ração padrão e água *ad libitum*.

Os animais foram divididos aleatoriamente nos seguintes grupos (n=10): controle negativo (CN), creatina dose 1 (CR 1), creatina dose 2 (CR 2) e creatina dose 3 (CR 3). As doses foram calculadas, considerando que o metabolismo dos animais em estudo é cinco vezes maior que o humano (ARAÚJO, 2013).

O grupo CN recebeu ração padrão e água, entretanto os demais grupos CR 1, CR 2 e CR 3 foram submetidos ao processo de gavagem diária de creatina, onde CR1, foi o grupo de menor dose (25g/dia/animal), o grupo CR2 recebeu dose intermediária (100g/dia/animal) e, por fim, os animais de CR3 receberam a maior dose (150g/dia/animal). As concentrações foram calculadas baseadas nos dados da RDC nº 18/2010 da ANVISA e nos modelos clássicos experimentais, onde o Grupo CR 1 recebeu o relativo a o que é preconizado pela Vigilância Sanitária (5g/70kg), já o Grupo CR 3 recebeu a uma dose relativa a quantidade real de sobrecarga ingerida pelos atletas e praticantes de exercícios físicos (30g/70kg) e o Grupo CR2 recebeu uma concentração intermediária (FRANCO, 2007, AOKI, 2002).

Inicialmente, os grupos CR1, CR2 e CR3 foram submetidos durante 7 dias a diferentes sobrecargas de creatina. Ao final desse período, foi realizada coleta sanguínea através do plexo retro orbital, mediante realização de jejum de sólidos de 6-8h e prévia anestesia. A seguir, foram administradas, aos animais de cada grupo, doses de manutenção, que se refere à dose padronizada ao grupo de menor dose (25g/dia), ou seja, aquela proposta pela ANVISA e que é considerada baixa dose de creatina suplementada já que se assemelha à quantidade consumida diariamente nos alimentos somada a produção endógena (GUALANO, 2008). Dessa forma, os grupos CR1, CR2 e CR3 foram tratados por 28 dias com a menor dose de creatina utilizada que foi a de 25g/dia. Ao final de quatro semanas, foi realizada uma segunda coleta sanguínea nos animais, mediante realização de jejum de sólidos de 6-8h.

2. Substâncias e reagentes utilizados

As substâncias e reagentes utilizados ao longo da execução do presente trabalho encontram-se listadas logo abaixo com seu respectivo fabricante/ marca.

- Creatina (Pura)– Midway[®].
- Kits de diagnóstico - Labtest[®], Brasil
- Heparina sódica - Cristália[®], Brasil

3. Análises bioquímicas

Para a obtenção dos resultados e análise dos parâmetros laboratoriais bioquímicos, utilizou-se cerca de 500 microlitros sangue coletados em microtubos do tipo Eppendorf[®] com 20 μ L de heparina sódica (500UI/mL). As amostras ficaram em repouso por no mínimo meia hora e no máximo 2 horas, antes da centrifugação (centrífuga Sigma[®] 4K15[®]) que foi realizada a 3500rpm, durante 15 minutos. Assim, utilizou-se o plasma obtido da coleta para realização dos exames bioquímicos dos animais.

4. Procedimentos analíticos

Após o procedimento de obtenção do plasma descrito, procedeu-se com as determinações laboratoriais. Os parâmetros bioquímicos analisados foram glicose, colesterol total, triglicerídeos, ureia, creatinina, aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT), que foram quantificados utilizando o equipamento semi-automático Labtest[®].

Todas as análises descritas foram realizadas no Laboratório de Bioquímica Clínica do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará.

5. Análises estatísticas

Os resultados das determinações bioquímicas foram tabulados e plotados nos programas Graphpad Prism 5.0 e Microsoft Office Excel 2007[®] para análise estatística e geração de gráficos.

Os valores obtidos foram expressos em média \pm erro padrão médio (E.P.M.). Para comparação entre as médias utilizou-se a análise de variância (ANOVA) seguida de pós-teste de Tukey. O critério de significância adotado foi de $p < 0,05$.

6. Aspectos éticos

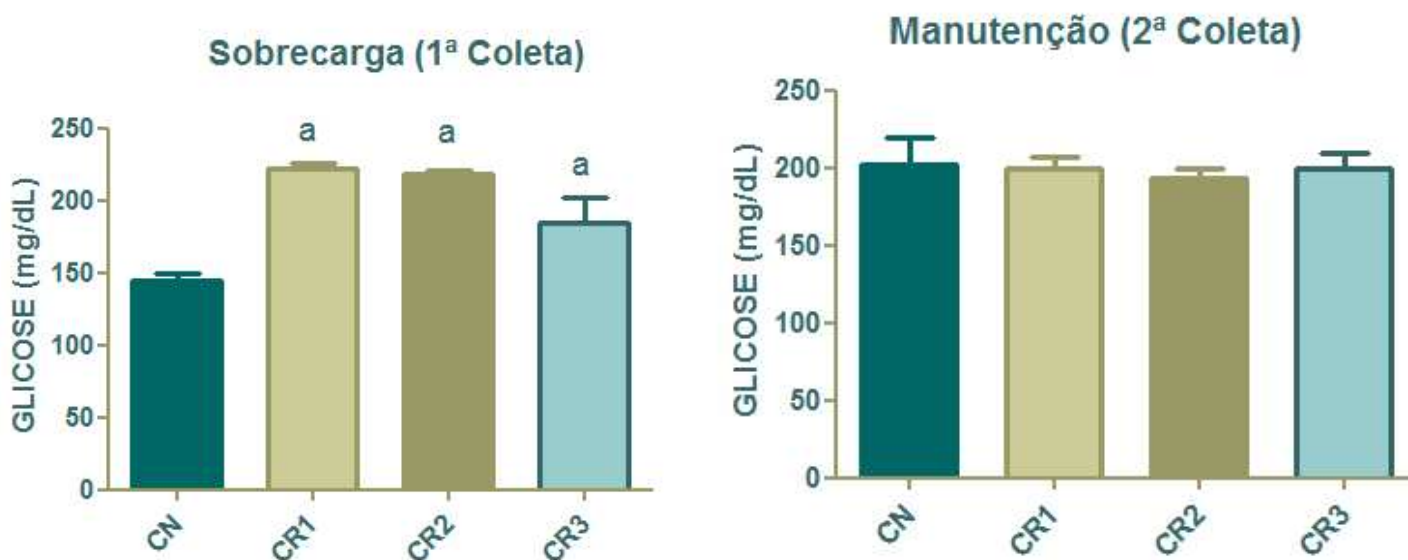
Todos os procedimentos adotados para a realização dos protocolos experimentais descritos estão de acordo com os preceitos éticos adotados pela comunidade científica nacional e internacional. De acordo com as normas exigidas para estudos com animais, o protocolo descrito foi devidamente submetido à Comissão de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) da Universidade Federal do Ceará com o número 119/2014.

4. RESULTADOS

1. Metabolismo glicêmico de camundongos após os períodos de sobrecarga e manutenção de creatina.

Após sete dias de tratamento, por via oral, dos animais com sobrecarga de creatina nas doses de 25g/dia/animal (CR1), 100g/dia/animal (CR2) e 150g/dia/animal (CR3), verificou-se que os níveis plasmáticos de glicose aumentaram 46,25%, 43,75% e 28,3% nos grupos CR1 ($222,3 \pm 3,6$ mg/dL), CR2 ($218,5 \pm 2,6$ mg/dL) e CR3 ($184,8 \pm 17,5$ mg/dL), respectivamente, quando comparado ao grupo controle negativo ($152,0 \pm 9,2$ mg/dL). Entretanto, após 28 dias de tratamento com a dose de manutenção, não foram visualizadas alterações importantes nas concentrações glicêmicas dos grupos tratados (Figura 3).

Figura 3 :Níveis plasmáticos de glicose (mg/dL) após tratamento com doses de sobrecarga (1ª coleta) e manutenção (2ª coleta) de creatina por 7 dias e 28 dias, respectivamente.



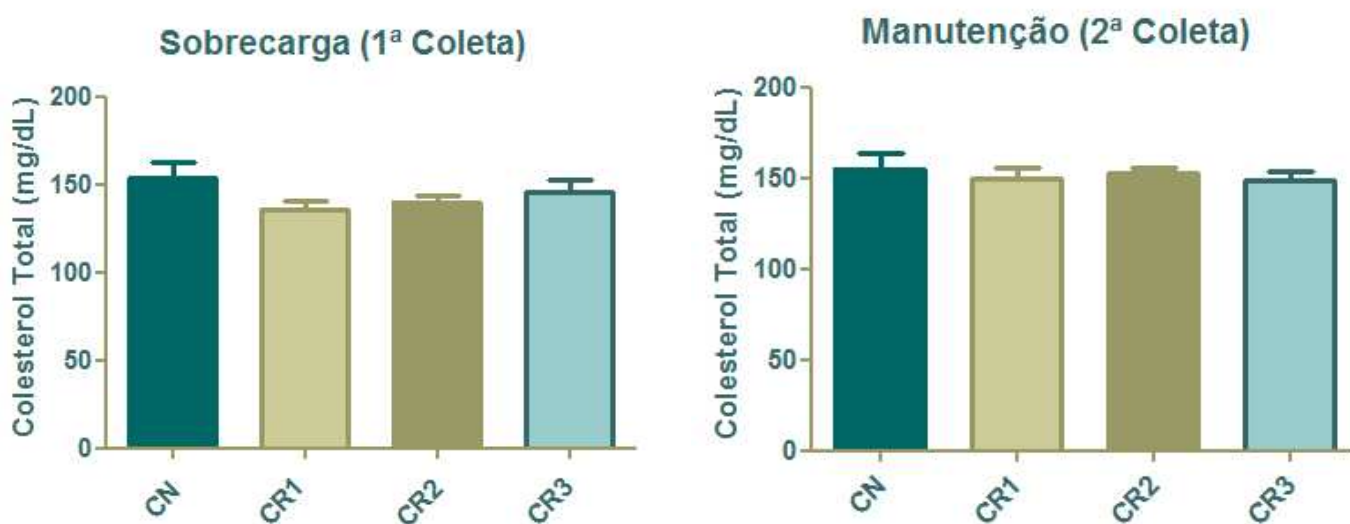
Os resultados dos grupos experimentais foram representados como média \pm erro padrão da média (E.P.M.), onde CN = controle negativo, CR1 = creatina 25g/dia, CR 2 = creatina 100g/dia, CR 3 = creatina 150g/dia, a = $p < 0,05$ em relação ao grupo CN (ANOVA e teste de Tukey)

2. Metabolismo lipídico dos camundongos após os períodos de sobrecarga e manutenção de creatina.

a. Níveis plasmáticos de colesterol total de camundongos após os períodos de sobrecarga e manutenção de creatina.

Decorridos sete dias de tratamento, a administração das doses de sobrecarga de creatina, a saber: 25g/dia/animal (CR1), 100g/dia/animal (CR2) e 150g/dia/animal (CR3) proporcionou níveis de colesterol total plasmáticos semelhantes entre os grupos tratados: CR1 ($136 \pm 4,63$ mg/dL), CR2 ($140,0 \pm 3,34$ mg/dL), CR3 ($145,8 \pm 6,50$ mg/dL), CN ($153,4 \pm 8,74$ mg/dL). O mesmo foi observado após o tratamento dos animais com a dose de manutenção de 25g/dia, CR1 ($149,7 \pm 6,27$ mg/dL), CR2 ($152,6 \pm 3,53$ mg/dL), CR3 ($148,7 \pm 4,80$ mg/dL), CN ($155,0 \pm 8,54$ mg/dL) (Figura 4).

Figura 4: Níveis plasmáticos de colesterol total (mg/dL) após tratamento com doses de sobrecarga (1ª coleta) e manutenção (2ª coleta) de creatina por 7 dias e 28 dias, respectivamente.

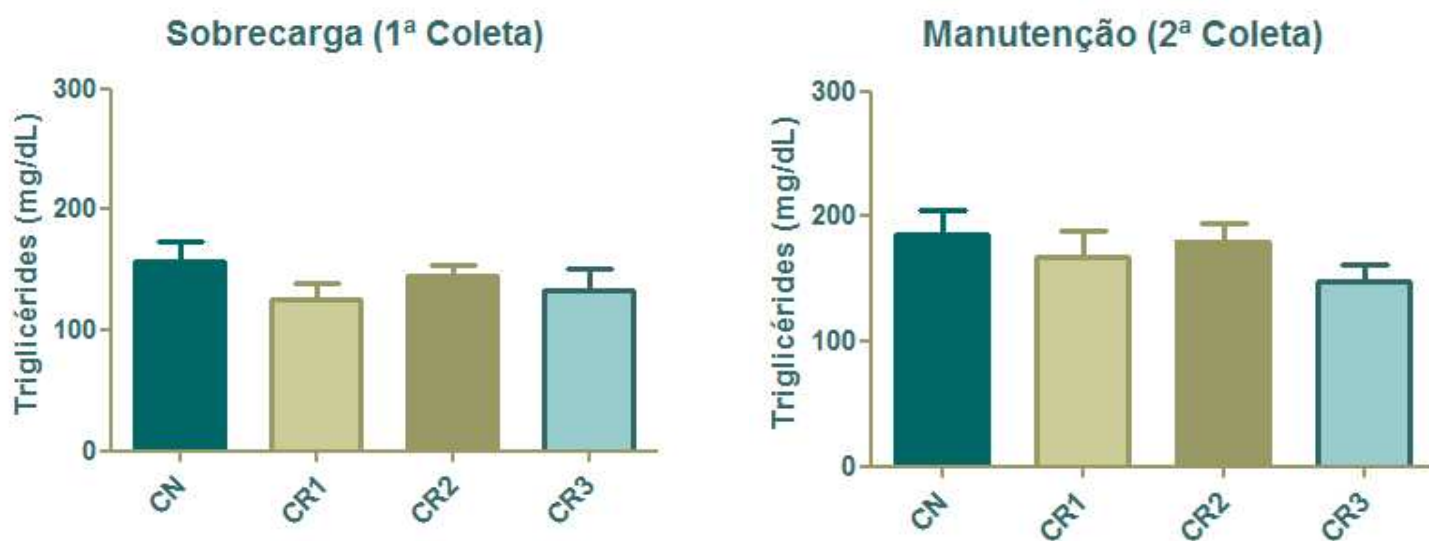


Os resultados dos grupos experimentais foram representados como média \pm erro padrão da média (E.P.M.), onde CN = controle negativo, CR1 = creatina 25g/dia, CR2 = creatina 100g/dia, CR3 = creatina 150g/dia (ANOVA e teste de Tukey).

b. Níveis plasmáticos de triglicerídeos de camundongos após os períodos de sobrecarga e manutenção de creatina.

Tanto após período de sobrecarga (7 dias) como o de manutenção (28 dias), o tratamento de creatina nas doses de 25g/dia/animal (CR1), 100g/dia/animal (CR2) e 150g/dia/animal (CR3) não foi capaz de promover alterações nos valores de triglicerídeos estatisticamente significantes nos grupos em estudo. O tratamento de creatina com a doses de sobrecarga demonstraram os seguintes valores de triglicerídeos: CR1 ($125,9 \pm 13,2$ mg/dL), CR2 ($144,7 \pm 9,92$ mg/dL), CR3 ($132,8 \pm 18,6$ mg/dL), CN ($157 \pm 16,4$ mg/dL), enquanto que o tratamento com dose de manutenção por 28 dias sobrecarga, proporcionou os seguintes níveis de triglicerídeos nos grupos CR1 ($167,2 \pm 21,84$ mg/dL), CR2 ($180,0 \pm 15,05$ mg/dL), CR3 ($147,8 \pm 13,70$ mg/dL), CN ($185,7 \pm 18,62$ mg/dL) (Figura 5).

Figura 5: Níveis plasmáticos de triglicérides (mg/dL) após tratamento com doses de sobrecarga (1ª coleta) e manutenção (2ª coleta) de creatina por 7 dias e 28 dias, respectivamente.



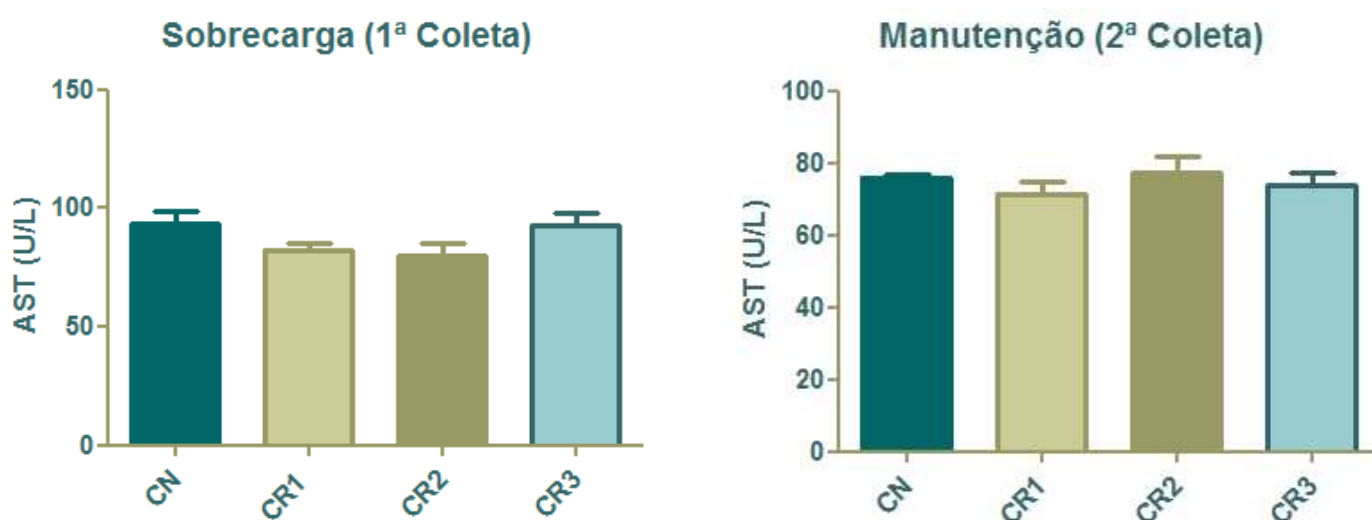
Os resultados dos grupos experimentais foram representados como média \pm erro padrão da média (E.P.M.), onde CN = controle negativo, CR1 = creatina 25g/dia, CR 2 = creatina 100g/dia, CR 3 = creatina 150g/dia (ANOVA e teste de Tukey).

3. Atividade enzimática da aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) de camundongos após os períodos de sobrecarga e manutenção de creatina.

A sobrecarga de creatina nas doses de 25g/dia/animal (CR1), 100g/dia/animal (CR2) e 150g/dia/animal (CR3), durante sete dias, bem como a dose de manutenção de 25g/dia não proporcionaram alterações nas atividades plasmáticas das enzimas AST e ALT dos grupos experimentais em estudo.

No que diz respeito à enzima AST, os grupos apresentaram os seguintes valores após o período de sobrecarga: CR1 ($82,5 \pm 2,83$ U/L), CR2 ($80,0 \pm 5,36$ U/L), CR3 ($93,0 \pm 4,97$ U/L), CN ($93,5 \pm 5,93$ U/L), verificando-se manutenção da atividade da enzima em questão com a administração das diferentes doses de creatina em estudo (Figura 6). Enquanto que após o tratamento de manutenção, os valores observados foram CR1 ($71,57 \pm 3,35$ U/L), CR2 ($77,43 \pm 4,27$ U/L), CR3 ($74,00 \pm 3,09$ U/L) e CN ($76,0 \pm 0,77$ U/L) (Figura 6).

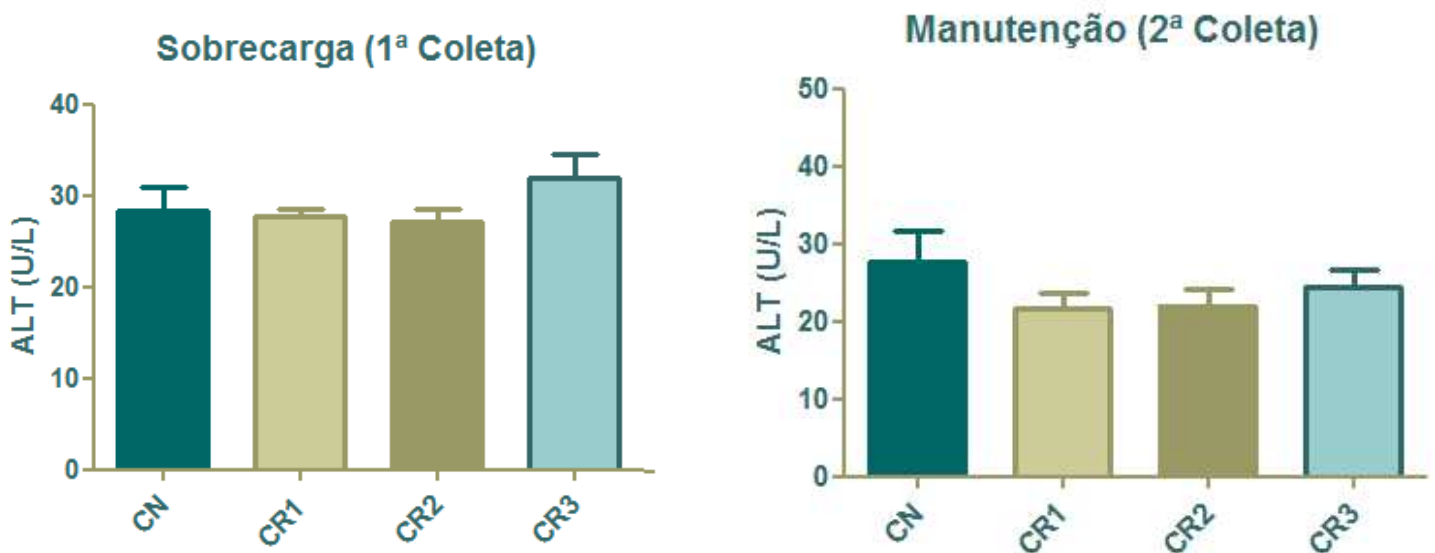
Figura 6: Níveis plasmáticos de AST (U/L) após tratamento com doses de sobrecarga (1ª coleta) e manutenção (2ª coleta) de creatina por 7 dias e 28 dias, respectivamente.



Os resultados dos grupos experimentais foram representados como média \pm erro padrão da média (E.P.M.), onde CN = controle negativo, CR1 = creatina 25g/dia, CR 2 = creatina 100g/dia, CR 3 = creatina 150g/dia (ANOVA e teste de Tukey).

O mesmo comportamento pode ser observado nos valores enzimáticos de ALT que, após o período de sete dias de sobrecarga, também não apresentaram alterações significativas nos grupos experimentais CR1 ($27,6 \pm 0,91$ U/L), CR2 ($27,1 \pm 1,31$ U/L), CR3 ($31,8 \pm 2,57$ U/L), CN ($28,3 \pm 2,66$ U/L), bem como o tratamento de manutenção proporcionou os seguintes valores CR1 ($21,71 \pm 1,91$ U/L), CR2 ($22,0 \pm 2,24$ U/L), CR3 ($24,5 \pm 2,04$ U/L) e CN ($27,6 \pm 4,17$ U/L) (Figura 7).

Figura 7: Níveis plasmáticos de ALT (U/L) após tratamento com doses de sobrecarga (1ª coleta) e manutenção (2ª coleta) de creatina por 7 dias e 28 dias, respectivamente.



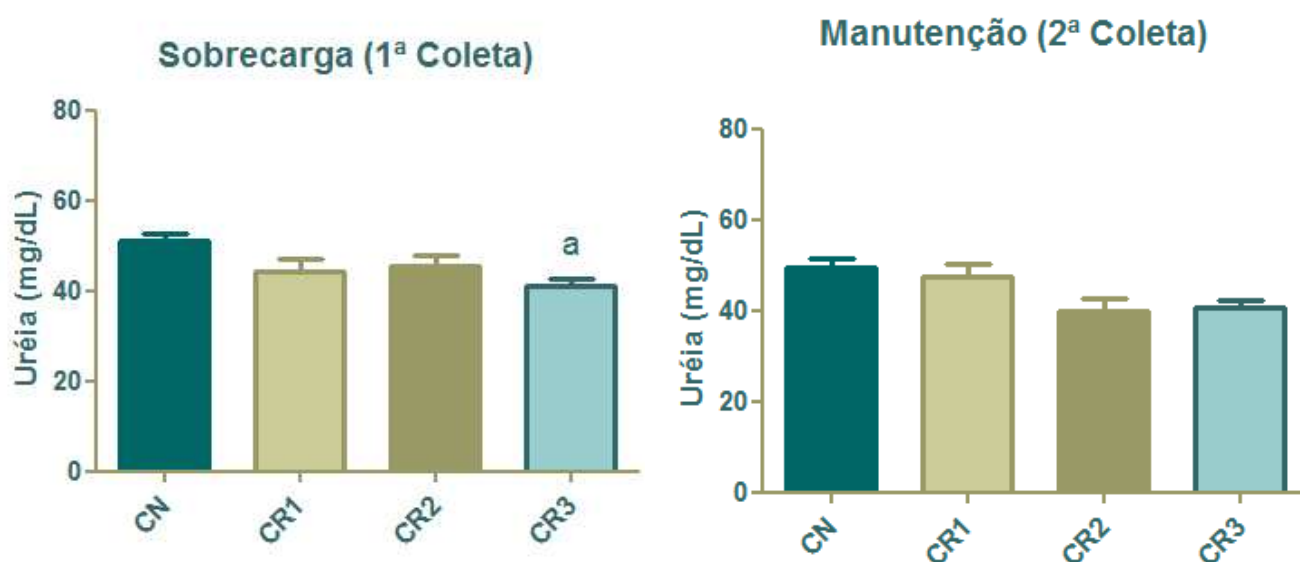
Os resultados dos grupos experimentais foram representados como média \pm erro padrão da média (E.P.M.), onde CN = controle negativo, CR1 = creatina 25g/dia, CR 2 = creatina 100g/dia, CR 3 = creatina 150g/dia (ANOVA e teste de Tukey).

4. Função renal dos camundongos após os períodos de sobrecarga e manutenção de creatina.

a. Níveis plasmáticos de ureia de camundongos após os períodos de sobrecarga e manutenção de creatina.

Após sete dias de tratamento, por via oral, dos animais com sobrecarga de creatina nas doses de 25g/dia/animal (CR1), 100g/dia/animal (CR2) e 150g/dia/animal (CR3), verificou-se que os níveis plasmáticos de ureia diminuíram 19,27% no grupo CR3 ($41,17 \pm 1,53$ mg/dL) quando comparado ao grupo controle negativo ($51,0 \pm 1,69$ mg/dL). Enquanto que após o período de manutenção com administração de creatina na dose de 25g/dia para todos os animais, exceto o grupo CN, não foram observadas alterações significativas nos grupos CR1 ($47,33 \pm 2,76$ mg/dL), CR2 ($39,67 \pm 3,08$ mg/dL) e CR3 ($40,67 \pm 1,78$ mg/dL) quando comparados ao CN ($49,33 \pm 2,15$ mg/dL) (Figura 8).

Figura 8: Níveis plasmáticos de ureia (mg/dL) após tratamento com doses de sobrecarga (1ª coleta) e manutenção (2ª coleta) de creatina por 7 dias e 28 dias, respectivamente.

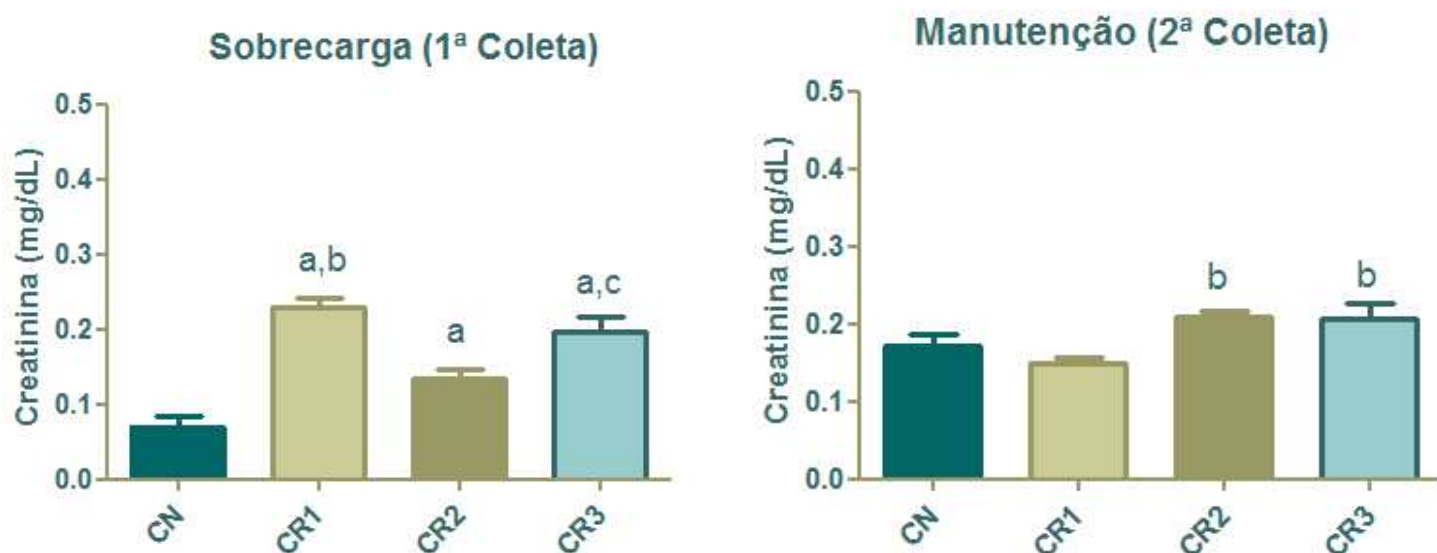


Os resultados dos grupos experimentais foram representados como média \pm erro padrão da média (E.P.M.), onde CN = controle negativo, CR1 = creatina 25g/dia, CR 2 = creatina 100g/dia, CR 3 = creatina 150g/dia, a = $p < 0,05$ em relação ao CN (ANOVA e Teste de Tukey).

b. Níveis plasmáticos de creatinina de camundongos após os períodos de sobrecarga e manutenção de creatina.

Nos grupos tratados durante sete dias com doses de sobrecarga de creatina, a saber: 25g/dia/animal (CR1), 100g/dia/animal (CR2) e 150g/dia/animal (CR3), verificou-se que os níveis plasmáticos de creatinina aumentaram 228,57%, 90,42% e 181,00% nos grupos CR1 (0,230 ± 0,011mg/dL), CR2 (0,133 ± 0,012mg/dL) e CR3 (0,1967 ± 0,019mg/dL), respectivamente, quando comparados ao controle negativo (0,070 ± 0,013 mg/dL). Ainda no protocolo de sobrecarga, observou-se que houve um aumento significativo de 76,92% e 46,10% em CR1 e CR3, respectivamente, quando comparados ao grupo CR2. Após o período de vinte e oito dias de tratamento, por via oral, dos animais com manutenção de creatina na dose de 25g/dia (CR1, CR2 e CR3), verificou-se que os níveis plasmáticos de creatinina aumentaram 43,65% e 42,55% em CR2 (0,208 ± 0,009 mg/dL) e CR3 (0,206 ± 0,020 mg/dL), respectivamente, quando comparados ao grupo CR1 (0,145 ± 0,007mg/dL) (Figura 9).

Figura 9: Níveis plasmáticos de creatinina (mg/dL) após tratamento com doses de sobrecarga (1ª coleta) e manutenção (2ª coleta) de creatina por 7 dias e 28 dias, respectivamente.



Os resultados dos grupos experimentais foram representados como média ± erro padrão da média (E.P.M.), onde CN = controle negativo, CR1 = creatina 25g/dia, CR 2 = creatina 100g/dia, CR 3 = creatina 150g/dia, a = p<0,05 em relação ao grupo CN, b = p< 0,05 em relação ao grupo CR2, c = p< 0,05 em relação ao grupo CR2 (ANOVA e Teste de Tukey).

5. DISCUSSÃO

Na análise bioquímica do metabolismo glicêmico pode-se observar que os animais dos grupos Creatina 1 (CR1 = 25g/dia), Creatina 2 (CR2= 100g/dia) e Creatina 3 (CR3= 150g/dia) apresentaram aumento da glicemia, quando comparados ao grupo Controle Negativo (CN) durante o período de sobrecarga. Além disso, pode-se observar uma tendência de aumento da glicemia do grupo controle negativo, que foi atribuída, possivelmente, ao estresse sofrido pelos animais.

Costallat e colaboradores (2007) encontraram resultados semelhantes, observando que a dieta suplementar de creatina levou ao aumento da glicemia do grupo estudo, que foi suplementado com 0,4 gramas de creatina para 30 mL de água por rato/dia, em relação ao grupo controle, que recebeu apenas água após 28 dias de experimento, mostrando, assim, que a suplementação oral de creatina em ratos levou ao desenvolvimento de resistência à insulina decorrente do uso crônico de creatina, que causa hipersecreção da insulina, o que, por sua vez, seria responsável pela própria resistência à insulina (FERRANNINI, 1997).

Entretanto, estudos realizados por Gualano e colaboradores (2007) observaram que, em humanos saudáveis em uso de suplementação com creatina (10 gramas por dia durante três meses) e em pleno exercício aeróbio, apresentaram melhora da tolerância á glicose. Já Freire e colaboradores (2008) realizaram estudo com ratos Wistar divididos em quatro grupos (controle sedentário, controle treinado, suplementação treinado e suplementação sedentário) em dieta de ração com 2% de creatina monohidratada, durante quatro e oito semanas, e observaram que não houve resultados significativos entre os grupos em relação a melhora da tolerância a glicose.

Ainda em animais, Paes et al. (2003) estudaram camundongos suplementados com creatina e animais controle no protocolo de uma semana de sobrecarga (10mg/mL de água) e manutenção por cinquenta dias (2,5 mg/ml de água) e observaram que as concentrações plasmáticas de glicose não diferiram entre os grupos.

Demonstra-se que em animais, o aumento da glicemia se dá em longo prazo em doses padrão de creatina, porém, no presente estudo, utilizaram-se doses de sobrecarga durante a primeira semana, o que mostrou alteração da glicemia em curto período, efeito esse não visualizado quando foi realizado o tratamento com a dose de manutenção (25g/dia) nos grupos CR1, CR2 e CR3. Observa-se ainda que os estudos diferem em muitos pontos, quando se trata da relação entre o uso da creatina e a glicemia.

Ao observar os parâmetros colesterol total e triglicérides, verificou-se que nas doses e esquemas de tratamento propostos (sobrecarga e manutenção), o uso da suplementação com creatina não alterou o perfil lipídico.

Arciero e colaboradores (2001) encontraram resultados semelhantes em um estudo com 28 pacientes divididos em grupos suplementados com creatina e realizando exercício; suplementados com creatina e sedentários e em uso de placebo e realizando exercício. Após 28 dias, observou-se diminuição do colesterol total em pacientes realizando exercícios físicos e suplementados, já no grupo apenas suplementado com creatina não foi observada alteração nos níveis de colesterol total.

Além disso, Gualano e colaboradores (2008), em um estudo duplo-cego, envolvendo 22 sujeitos divididos em grupo suplementado com creatina e grupo placebo, ambos exercitados, observaram a redução dos níveis de triglicérides e VLDL bem como aumento de HDL, porém viram que a melhora do perfil lipídico não estava associada à suplementação com creatina e sim ao treinamento aeróbico que foi potencializado pelo uso do suplemento, o qual é utilizado para melhoria do desempenho ergonômico.

Dentre os resultados com animais encontrados na literatura, podem-se destacar os de Paes e colaboradores (2003) que estudaram camundongos suplementados com creatina e animais do grupo controle, constataram um aumento nos níveis de colesterol total, o qual os autores não atribuíram ao uso de creatina e sim aos valores desse parâmetro que já se encontravam aumentados nos animais. Também foi observado que a suplementação de creatina não alterou os níveis de triglicérides no grupo estudo.

Dos resultados dos estudos descritos anteriormente, pode-se inferir que os níveis de colesterol total e triglicérides melhoraram devido à realização do exercício físico e não pelo uso de creatina propriamente dita, uma vez que se sabe que há relação dose-resposta entre o volume de treinamento físico e o de lipídios, sugerindo que o exercício pode alterar favoravelmente os níveis de lipídios no sangue em baixos volumes de treinamento (DURSTINE, 2001).

Dessa forma, os animais do presente estudo não obtiveram alterações no perfil lipídico, visto que os mesmos não estavam realizando treinamento físico e foram apenas submetidos a suplementação com creatina em doses de sobrecarga (CR1=25g/dia, CR2= 100g/dia e CR3=150g/dia) e de manutenção (CR1, CR2, CR3=25g/dia).

Analisando a função hepática dos camundongos durante os períodos de tratamento propostos (sobrecarga e manutenção) e nas doses padronizadas nesse estudo, observou-se que não houve alterações significativas das enzimas relacionadas à função hepática (AST e ALT).

Sabe-se que a alanina aminotransferase (ALT) é uma enzima específica do tecido hepático, apresentando-se em baixas concentrações em outros tecidos. Além disso, é encontrada no citoplasma e mitocôndrias dos hepatócitos. Enquanto, a aspartato aminotransferase (AST) pode ser encontrada em concentrações variadas em outros órgãos, como coração, rins, cérebro e músculo esquelético e está presente principalmente na mitocôndria dos hepatócitos (ANDRADE, 2014, MOTTA, 2009). Assim, observa-se a importância na dosagem das enzimas para caracterização da lesão hepática, principalmente, de ALT.

Vieira e colaboradores (2008) realizaram um estudo realizado com animais submetidos à suplementação com creatina (0,5g/kg/dia) e animais controle por 14 dias. O estudo avaliou a função hepática através da dosagem de enzimas hepáticas (ALT e AST), proteínas totais, albumina e colesterol total, além da realização da histologia hepática dos animais. Após o período de tratamento, observou-se que não houve alterações significativas na atividade das enzimas hepáticas, apesar de uma tendência no aumento de ALT no grupo que recebeu as doses supracitadas de creatina. No presente estudo, observou-se uma tendência no aumento de ALT durante o período de sobrecarga (sete dias) no grupo em uso de maior dose de creatina (CR3=150g/dia), de modo, que se tal período fosse estendido poderia haver um aumento significativo da atividade enzimática de ALT.

Em relação a estudos com humanos, Robinson *et al.* (2000), avaliaram a função hepática de 48 indivíduos jovens e saudáveis, que realizavam atividades físicas aleatórias e em uso de suplementação de creatina em esquemas de sobrecarga (20g/dia por 5 dias) e manutenção (3g/dia por 9 semanas) e observaram que todos os índices de função hepática estavam dentro dos limites normais antes e após a carga de creatina.

Carvalho e colaboradores (2011) observaram que não houve alteração significativa da função hepática de indivíduos saudáveis e submetidos à musculação, que usaram creatina durante oito semanas, seguindo esquema de sobrecarga (20g/dia por sete dias) e manutenção (0,03g/kg e 5g/dia por 53 dias).

Assim, pode-se considerar que, possivelmente, o metabolismo hepático da creatina se comporta de maneira semelhante entre humanos e animais de laboratório. E que a creatina, quando administrada conforme o esquema previsto em lei, ou seja, 1,5g a 3,0g de creatina por porção, não gera danos hepáticos significativos em indivíduos saudáveis.

No que tange a função renal, alguns parâmetros são utilizados para tal avaliação, dentre eles os valores plasmáticos de ureia e creatinina. A ureia é o principal metabólito nitrogenado derivado da degradação de proteínas pelo organismo, sendo 90% excretados pelos rins e

correspondendo a aproximadamente 75% do nitrogênio não-proteico excretado, sendo por isso utilizada na avaliação da função renal. Sabe-se que a ureia tem principal utilidade clínica quando em conjunto com os valores de creatinina (SODRÉ, 2007).

A creatinina é um produto residual da creatina filtrada livremente no glomérulo. Sua dosagem, sérica ou plasmática, dá informações sobre a taxa de filtração glomerular. Assim, a quantidade de creatinina removida do sangue depende da capacidade de filtração dos glomérulos e do fluxo de sangue para os rins (KIRSZTAJN, 2009).

Avaliando-se os parâmetros de função renal (ureia e creatinina), verificou-se que a ureia apresentou alterações significativas somente no grupo submetido à sobrecarga maior de creatina (150g/dia). Por outro lado, destacam-se as alterações visualizadas nos valores plasmáticos de creatinina de todos os grupos em estudo após o tratamento de sobrecarga por 7 dias, resultado esse também observado no período de manutenção com 25g/dia para os grupos de dose intermediária (CR2) e elevada (CR3).

Carvalho e colaboradores (2011) encontraram resultados semelhantes, em um estudo envolvendo 35 praticantes de musculação divididos em três grupos aleatórios (Creatina 1 (CRE1), Creatina 2 (CRE 2) e Placebo, que receberam doses de sobrecarga (20g/dia por sete dias) e de manutenção (0,03g/kg e 5g/dia por 53 dias). Quando analisados os valores de ureia, observaram que a mesma diminuiu após o uso de creatina no grupo creatinina 2 (5g/dia). Além disso, quando foram analisados os valores de creatinina nos grupos (CRE1 e CRE2) foi visto que ocorreu um aumento de 12,2% e 9,0%, respectivamente, em relação ao grupo placebo.

Robinson et al (2000) também realizaram estudos semelhantes, onde 48 indivíduos receberam doses de sobrecarga (20g/dia por cinco dias) e manutenção (3g/dia por nove semanas). Nesse estudo, observa-se que durante as seis primeiras semanas houve uma leve diminuição dos valores de ureia no soro. Já a creatinina teve aumentos significativos, principalmente, durante o período de sobrecarga.

No presente estudo, a redução dos níveis de ureia no grupo de maior aporte de creatina (CR3=150g/dia) durante a sobrecarga, pode ser atribuída à elevada atividade de ALT no mesmo grupo, visto que a ureia é formada no fígado através da reação da amônia com bicarbonato e ATP pela ação da enzima carbamoil-fosfato-sintetase. O grupo carbamoil oriundo do carbamoil-fosfato é transferido para a ornitina para a formação de citrulina que é condensada ao aspartato formando argininossuccinato. Esse por sua vez sofre clivagem e fornece arginina e fumarato. A enzima arginase, produzida somente pelo fígado, catalisa a hidrólise da arginina produzindo ureia e regenerando ornitina (LEHNINGER, 2006). A ureia

é então transportada até os rins, onde é excretada na urina. Assim, pode-se sugerir que a redução de ureia observada no grupo CR3 pode ter sido devido a uma provável disfunção hepática que se mostrou transitória, visto que a função hepática em todos os grupos (CR1, CR2, CR3) encontrou-se preservada após o período de manutenção (25g/dia de creatina).

Os autores supracitados atribuíram o aumento da creatinina nos primeiros dias de suplementação, principalmente, devido ao aumento do aporte de creatina dado aos participantes dos estudos. O mesmo pode ser observado no presente estudo, onde os animais receberam doses de sobrecarga por sete dias (CR1=25g/dia, CR2=100g/dia e CR3=150g/dia) e apresentaram um aumento da creatinina plasmática, que se manteve nos grupos CR2 e CR3 no período de manutenção (25g/dia). Sabe-se que a cada dia, 1 a 2% da creatina é convertida em creatinina, o que explica a alteração significativa observada durante os períodos de tratamento.

Ferreira et al. (2005) investigaram os efeitos da suplementação de creatina em ratos saudáveis submetidos ou não a treinamento. Foram estudados quatro grupos durante 10 semanas: creatina combinada ao exercício, creatina isolada, placebo combinado ao exercício e placebo isolado. Apenas o grupo que recebeu creatina isoladamente apresentou deterioração na filtração glomerular e no fluxo plasmático renal, avaliados por meio de clearances de inulina e paraminohipurato. Porém alguns autores consideraram tal experimento impreciso, visto que não foi realizado o teste de pureza na creatina utilizada.

Em pesquisa com ratos com doença renal policística induzida por modelo experimental em uso de creatina (2g/Kg da dieta por sete dias, seguidos por 0,48g/kg da dieta por 35 dias), Edmunds et al. (2001) observaram que o uso da creatina agravou o dano renal dos animais.

Assim, pode-se sugerir que em caso de doença renal pré existente, o uso da creatina pode gerar uma progressão da patologia, visto que o uso do suplemento pode sobrecarregar a função renal, impedindo a sua metabolização correta. O mesmo não pode ser dito quanto a indivíduos saudáveis exercitados ou não.

6. CONCLUSÃO

Conclui-se, portanto, que a creatina em diferentes doses de sobrecarga pode acarretar em aumento da glicose. Os parâmetros renais avaliados foram alterados, onde a creatinina elevou-se tanto em doses de sobrecarga quanto em doses de manutenção e a ureia teve uma redução no grupo que recebeu maior dose de sobrecarga de creatina. O mesmo não ocorreu com os parâmetros da função hepática e lipídica, que não sofreram alteração significativa com as doses administradas de creatina nos tempos estudados.

Dessa forma, o suplemento creatina deve ser utilizado com cautela e com o acompanhamento de profissionais de saúde e de educação física, principalmente, nos pacientes que já possuem alguma patologia base como diabetes e disfunções renais, haja vista possíveis alterações metabólicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- ALBANI D. et al, A Suplementação de Creatina no Treinamento de Força – Uma revisão de Literatura, 2004.
- ANDRADE A. Avaliação enzimática da função hepática. **Labor News** **220**, 2004.
- AOKI, M.S. Suplementação de creatina e treinamento de força: efeito do tempo de recuperação. **Rev. Bras. Ci.e Mov.** 12(4): 39-44, 2004.
- ARAÚJO M. et al. Creatine Supplementation and oxidative stress in rat liver. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, 10:54, 2013.
- ARCIERO et al. Comparison of creatine ingestion and resistance training on energy expenditure and limb blood flow. **Metabolism: clinical and experimental**, Vol.50(12), pp.1429-34, 2001.
- BRASIL, RDC Nº. 18, DE 27 DE ABRIL DE 2010 – ANVISA.
- CARVALHO et al. Suplementação com Creatina Associada ao Treinamento Resistido Não Altera as Funções Renal e Hepática. **Rev Bras Med Esporte** – Vol. 17, N 4 – Jul/Ago, 2011.
- COSTALLAT B et al. Resistência a insulina com a suplementação de creatina em animais de experimentação. **Rev Bras Med Esporte**– Vol 13, N 1 – Jan/Fev 2007.
- DURSTINE JL et al. Blood lipid and lipoprotein adaptations to exercise: a quantitative analysis. **Sports Med**, 31 (15): 1033-1062, 2001.
- EDMUNDS et al. Creatine supplementation increases renal disease progression in Han:SPRD-cy rats. **Am J Kidney Dis.** 37: 73-8, 2001
- FERRANNINI E et al. Insulin resistance and hypersecretion in obesity. European Group for Study of Insulin Resistance (EGIR). **J Clin Invest**;100:1166-73, 1997.
- FERREIRA, L.G. et al. Effects of creatine supplementation on body composition and renal function in rats. **Med Sci Sports Exerc**, v.37, n.9, Sep, p.1525-9, 2005.
- FRANCO F.S.C et al. Efeitos da Suplementação de Creatina e do Treinamento de Potência sobre a Performance e a Massa Corporal Magra de Ratos. **Rev Bras Med Esporte** **Vol 13**, 2007.
- FREIRE et al. Effects of creatine supplementation on glucose uptake in rats submitted to exercise training. **Rev Bras Med Esporte**, vol.14 no.5 Niterói Sept./Oct, 2008

GUALANO B., ARTIOLI G.G., LANCHI A.H. Efeitos da suplementação de creatina no metabolismo glico-lipídico: possíveis aplicações terapêuticas. **Rev. Mackenzie de Educação Física e Esporte**. vol. 7. pp. 149-159, 2008.

GUALANO B., UGRINOWITSCH C., SEGURO A.C. LANCHI J. A suplementação de creatina prejudica a função renal? **Rev. Brasileira de Medicina do Esporte**, vol 14 nº 1 Jan/Fev, 2008.

GUALANO B. et al. Does creatine supplementation improve the plasma lipid profile in healthy male subjects undergoing aerobic training? **J Int Soc Sports Nutr**. 2008.

GUALANO B., ARTIOLI G., JUNIOR A., Suplementação de Creatina e Metabolismo da Glicose: Efeitos Terapêuticos ou Adversos? **Rev. Brasileira de Medicina do Esporte**, vol 14 nº 5 Set-Out, 2008

GUYTON A.C. & HALL J.E. - **Tratado de Fisiologia Médica** - 12ª Ed. 2011

HIRSCHBRUCH M.D, FISBERG M., MOCHIZUKI L. Consumo de Suplementos por Jovens Freqüentadores de Academias de Ginástica em São Paulo. **Rev Bras Med Esporte** – Vol. 14, Nº 6 – Nov/Dez, 2008.

HORN M. et al. Effects of chronic dietary creatine feeding on cardiac metabolism and on creatine content in heart, skeletal muscle, brain, liver and kidney. **J Moll Cell Cardiol**, 30: 277-84, 1998.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger princípios de bioquímica**. 4ª ed. São Paulo: Sarvier, 1202p, 2006.

KIRSZTAJN GM. Avaliação de Função Renal. **J Bras Nefrol**, 31 (Supl 1):14-20, 2009.

NETO T.L.B. A Controvérsia dos Agentes Ergogênicos: Estamos Subestimando os Efeitos Naturais da Atividade Física?. **Arq Bras Endocrinol Metab**, vol 45 nº 2 Abril, 2001.

PAES AAM et al. Efeitos da Suplementação dietética com creatina em análises bioquímicas de camundongos exercitados. **Cad. Pesq.** São Luís v. 14, n.2, p 51-63, jul./dez. 2003.

PERALTA, J.& AMANCIO, O. M. S. A creatina como suplemento ergogênico para atletas. **Rev. Nutr.**, vol.15, n.1, pp. 83-93, 2002.

PRITCHARD et al. Renal dysfunction accompanying oral creatine supplements. **The Lancet**, Vol 351, 1998.

ROBINSON TM et al. Dietary creatine supplementation does not affect some haematological indices, or indices of muscle damage and hepatic and renal function. **Br J Sports Med**, 34:284-288, 2000.

SANTOS M.A.A & SANTOS R.P. Uso desuplementosalimentares como forma de melhorar a performance nos programas de atividade física em academias de ginástica. **Rev. paul. Educ. Fís.**, São Paulo, jul./dez. 2002.

SILVA E.G.B, BRACHT A.M.K. Creatina: Função energética, metabolismo e suplementação no esporte. **Revista de Educação Física/UEM**. Maringá, v. 12, n. 1, p. 27-33, 1. sem, 2001.

SODRE, F. L.; COSTA, J. C. B.; LIMA, J. C. C.. Avaliação da função e da lesão renal: um desafio laboratorial. **J. Bras. Patol. Med. Lab**. Rio de Janeiro, v. 43, n. 5, 2007.

VALTER MOTTA. Bioquímica Clínica para o laboratório – Princípios e Interpretações, 5ª Ed. 2009

VIEIRA F.P et al. Efeitos da suplementação oral com creatina sobre o metabolismo e a morfologia hepática em ratos. **Rev. Brasileira de Medicina do Esporte**, vol 14 nº 1 Jan-Fev ,2008.

WILLIAMS H., KREIDER B.R., BRANCH D.J. Creatine: The Power Supplement- 1ª ed- Manole, 2000.

WYSS, KADDURAH-DAOUK. Creatine and creatinine metabolism. **Physiol Rev**. 2000.

ZEISEL SH. Regulation of “nutraceuticals”. **Science**. 1999.