

## EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM CREATINA E CAFEÍNA SOBRE A FORÇA DE FRATURA ÓSSEA EM RATOS SUBMETIDOS A EXERCÍCIO DE SALTOS VERTICAIS

### EFFECTS OF CREATINE AND CAFFEINE SUPPLEMENTATION ON THE BONE BREAKING FORCE IN RATS SUBJECTED TO VERTICAL JUMPING EXERCISE

Frederico Souzalima Caldoncelli Franco\*  
Neuza Maria Brunoro Costa\*\*  
Tânia Toledo Oliveira\*\*\*  
Gilton de Jesus Gomes\*\*\*\*  
Karina Ana da Silva\*\*\*\*  
Antônio José Natali\*\*\*\*\*

#### RESUMO

Este estudo investigou se a suplementação com creatina e cafeína, isoladamente ou combinadas, interfere na força de fratura óssea em ratos jovens exercitados. Os ratos foram divididos aleatoriamente em oito grupos: sedentários placebo, exercitado placebo, sedentário creatina, exercitado creatina, sedentário cafeína, exercitado cafeína, sedentário creatina + cafeína e treinado creatina + cafeína. Os grupos suplementados receberam creatina (carga: 0,430g/kg de peso corporal, por sete dias; e manutenção: 0,143g/kg, por 35 dias), cafeína (10mg/100g de peso corporal, por 35 dias) ou creatina+cafeína. Os grupos exercitados executaram saltos verticais na água (4x10 saltos com 1 minuto de intervalo entre séries, 5 dias/sem) por seis semanas. A ingestão de cafeína reduziu a espessura, o peso e a força de fratura do fêmur dos ratos, independentemente do exercício. A cafeína e a creatina+cafeína aumentaram a excreção urinária de cálcio. O exercício de saltos elevou a força de fratura, independentemente da suplementação, mas não alterou o peso e as dimensões do fêmur dos animais.

**Palavras-chave:** Atividade física. Saúde óssea. Recursos ergogênicos.

#### INTRODUÇÃO

No ambiente esportivo a ingestão de creatina tem sido utilizada para melhorar o desempenho físico e aumentar a massa muscular (BECQUE; LOCHMANN; MELROSE, 2000; GLAISTER et al., 2006). A suplementação com creatina pode reduzir o tempo de recuperação pós-fadiga (MCBRIDE; GREGORY, 2002; GLAISTER et al., 2006), aumentar a potência, a força muscular e a massa corporal magra (DELECLUSE; DIELS; GORIS, 2003; FRANCO et al., 2007). Ainda, a ingestão de creatina pode afetar a resistência óssea. Por

exemplo, ratos Sprague-Dawley jovens tratados com creatina apresentaram maior densidade mineral óssea (DMO) na coluna lombar e maior força de fratura femoral (ANTOLIC et al., 2007). A suplementação com creatina influencia positivamente a densidade e o conteúdo mineral ósseo em indivíduos idosos (CHILIBECK et al., 2005).

Da mesma forma, o uso da cafeína é bastante comum tanto entre atletas que visam à melhora no desempenho físico quanto aos que buscam o retardo da fadiga durante o exercício (MAGKOS; KAVOURAS, 2005; VAN THUYNE; ROELS; DELBEKE, 2005). A

\* Doutor. Professor do Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia, Rio Pomba-MG, Brasil.

\*\* Doutora. Professora do Departamento de Zootecnia e Economia Rural, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre-ES, Brasil.

\*\*\* Doutora. Professora do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil.

\*\*\*\* Mestrando do Programa de Pós-graduação em Educação Física da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil.

\*\*\*\*\* Doutor. Professor do Departamento de Educação Física da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brasil.

cafeína aumenta a sensibilidade dos miofilamentos ao cálcio, o que potencializa a produção de força muscular (HESPEL; OP'T EIJNDE; VAN LEEMPUTTE, 2002; JAMES; WILSON; ASKEW, 2004). Há evidências de que a cafeína aumenta o tempo até a fadiga durante a realização de exercícios de força (KALMAR; CAFARELLI, 1999; SMITH; SUTHERLAND; CHRISTOPHER, 2005), apesar de existirem resultados controversos (ASTORINO; ROHMANN; FIRTH, 2008; FIMLAND et al., 2010). Todavia, a ingestão de altas doses de cafeína tanto pode aumentar a taxa de reabsorção óssea como reduzir a DMO em seres humanos e animais (RAPURI et al., 2001; HEANEY, 2002). Estudos realizados com ratos Wistar jovens mostraram que a cafeína pode prejudicar o desenvolvimento normal do esqueleto (HUANG et al., 2002), mas pouco se sabe sobre as consequências destes efeitos deletérios da cafeína sobre a resistência à fratura óssea destes animais.

Em contrapartida, a carga mecânica do exercício sobre o osso aumenta a resposta osteoblástica e, conseqüentemente, a massa e a densidade mineral ósseas (ROBLING; CASTILLO; TURNER, 2006). Além disso, o aumento da massa muscular em resposta ao exercício promove maior tensão sobre a junção osteotendinosa, que resulta em maiores estímulos osteogênicos, com conseqüente aumento na deposição de minerais no tecido ósseo (IWAMOTO et al., 2005). Adaptações positivas do tecido ósseo a diferentes tipos de exercício físico têm sido observadas em ratos e ratas jovens (SHIGA et al., 2003; HONDA et al., 2003; HUANG et al., 2008) e em seres humanos jovens de ambos os sexos (LINDEN et al., 2006; TOURNIS et al., 2010). Diferentes modelos de exercício (corrida em esteira, natação contínua e salto em profundidade) causam efeitos positivos sobre a resistência óssea à fratura em ratos e ratas (HUANG et al., 2003; HONDA et al., 2003; WELCH et al., 2008), apesar de alguns resultados não corroborarem tais achados (BONNET et al., 2007). Por outro lado, não são conhecidos os efeitos do modelo de saltos verticais na água (OLIVEIRA; ROGATTO; LUCIANO, 2002) sobre a resistência óssea à fratura em ratos.

Dessa forma, nossa hipótese é que as suplementações com creatina e com cafeína poderiam otimizar os efeitos do exercício e, além de contrapor os efeitos deletérios da cafeína, aumentar a força de fratura óssea. Em vista disto, este estudo foi planejado para verificar se a suplementação com creatina e cafeína, isoladamente ou em conjunto, interfere na força de fratura óssea em ratos jovens submetidos a exercício de saltos verticais.

## MÉTODOS

### Animais

Este estudo é a segunda parte do experimento que gerou os dados de Franco et al. (2011). Os ratos (*Rattus norvegicus* - Wistar) jovens (peso corporal de  $142,7 \pm 10,46$ g - média  $\pm$  DP - idade: 45 dias) foram distribuídos aleatoriamente em oito grupos com 10 animais em cada, a saber: sedentário placebo (SPI); sedentário creatina (SCr); sedentário cafeína (SCaf); sedentário creatina e cafeína (SCrCaf); exercitado placebo (EPI); exercitado creatina (ECr); exercitado cafeína (ECaf); e exercitado creatina+cafeína (ECrCaf). Os animais foram alojados em gaiolas individuais e mantidos em ambiente com temperatura de  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa de cerca de 60% e fotoperíodo de 12 horas claro-escuro. Os animais receberam diariamente de 15 a 20g de dieta AIN-93M (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993) e água destilada *ad libitum*. Os animais foram obtidos a partir do Biotério Central da Universidade Federal de Viçosa - MG (Brasil), e foram seguidas as normas de cuidados para experimentação com animais, conforme o Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). Os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética em Pesquisa com Animais do Departamento de Veterinária da UFV (protocolo 80/2007).

### Administração de creatina e cafeína

Diariamente os animais dos grupos SCr e ECr foram suplementados com creatina e os dos grupos SCrCaf e ECrCaf receberam suplementação de creatina e cafeína, adotando-se o procedimento de duas fases: carga e manutenção. A fase de carga durou sete dias e

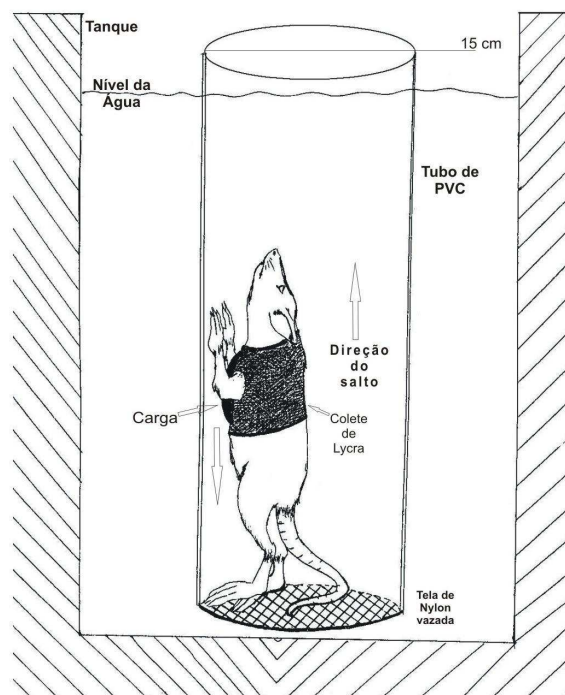
foi iniciada na primeira semana. Aos grupos SCr, ECr, SCrCaf e ECrCaf foi ministrada uma dose de creatina em pó (Sigma®, 0,430g/kg p.c.) por dia, misturada à dieta. A fase de manutenção foi iniciada na segunda semana e prolongou-se até a sexta semana. Nesta fase os grupos SCr, ECr, SCrCaf e ECrCaf receberam uma dose de creatina (0,143g/kg p.c.) por dia, misturada à dieta, suficiente para aumentar a quantidade de proteína muscular em ratos (FRANCO et al., 2007, 2011).

A suplementação com cafeína iniciou-se na segunda semana, na qual os grupos SCaf, ECaf, SCrCaf e ECrCaf receberam uma dose de cafeína em pó (Sigma®, 10mg/100g p.c.) por dia, misturada à dieta, dosagem suficiente para aumentar a excreção urinária de cálcio em ratos (GOMES et al., 2010). Esta dose corresponde à ingestão de 7g de cafeína por kg de massa corporal, se aplicada a um indivíduo com 70kg de massa corporal, e tem sido relatada em estudos com seres humanos (BRUCE et al., 2000). Os grupos SPI e EPI receberam apenas a dieta.

### Programa de saltos verticais

Foi utilizado o programa de saltos verticais na água descrito por Oliveira, Rogatto e Luciano (2002). Na primeira semana de experimento os animais dos grupos EPI, ECr e ECrCaf foram colocados, por 30 minutos diários, em um tanque retangular (60cm de largura, 75cm de comprimento e 120cm de profundidade) com a profundidade da água de 20cm e a temperatura mantida de  $31 \pm 1^\circ\text{C}$ . O propósito desta atividade foi adaptar os animais à temperatura e ao meio líquido e reduzir-lhes o estresse. A partir da segunda semana o programa de exercício consistiu em saltos verticais desde o fundo do tanque (apoio das patas) até a superfície da água (focinho fora d'água - Figura 1). Individualmente, os ratos realizaram os saltos em tubos de PVC cilíndricos com diâmetro de 20cm. A profundidade da água foi determinada por uma média do percentual do comprimento dos animais, medido pela maior distância entre as extremidades dos membros posteriores e as narinas. A sobrecarga do exercício foi determinada por uma média da porcentagem da massa corporal adicionada por meio de esferas de chumbo a um colete de laicra que vestia os

animais. A progressão da carga do exercício está especificada na Tabela 1. Há evidências de que o treinamento por seis semanas promove adaptações importantes em ratos (FRANCO et al., 2007, 2011)



**Figura 1** - Diagrama do modelo de salto vertical.

Fonte: Modificado de Oliveira, Rogatto e Luciano (2002).

**Tabela 1** - Dados da carga do programa de saltos verticais.

Semanas	Séries x saltos	Carga	Profundidade da Água
1	Adaptação	0	80%
2	4 x 10	20 - 25 %	120%
3	4 x 10	30 - 35 %	130%
4	4 x 10	40 %	140%
5	4 x 10	45 %	150%
6	4 x 10	50 %	150%

Carga: porcentagem do peso corporal; profundidade da água: porcentagem do comprimento do animal.

### Determinação do cálcio urinário

Na sexta semana de experimento os ratos foram colocados por 24 horas em gaiolas metabólicas, para a coleta de urina. O volume de urina coletado foi centrifugado durante quinze minutos a 4.000 rpm (Excelsa-Fanem®-Brasil),

sendo que alíquotas do sobrenadante foram utilizadas para a determinação do conteúdo de cálcio pelo método automatizado de espectrometria de UV/VIS, utilizando-se os kits BioClin<sup>®</sup> no equipamento ALIZÉ<sup>®</sup> (Biomérieux<sup>®</sup>-França) descrito por Henry, Cannon e Winkelman (1974).

#### Determinação do peso e das dimensões do fêmur

Após os tratamentos, os animais foram pesados e a eutanásia foi realizada por inalação de dióxido de carbono. O fêmur direito foi dissecado e pesado em balança de precisão (*Explorer Ohaus<sup>®</sup>*-Brasil). O comprimento do fêmur foi determinado pela distância da borda superior da cabeça até a borda inferior do côndilo medial e o diâmetro da diáfise óssea foi determinado no ponto intermédio do comprimento, usando-se um paquímetro inoxidável (Stainless Hardened - China).

#### Determinação da força de fratura óssea

A força de fratura do fêmur foi determinada por meio de um ensaio mecânico de flexão em três pontos (NAGASAWA et al., 2008; HONDA et al., 2003; TSANZI; LIGHT; TOU, 2008) usando-se um texturômetro (TA.HDi *Texture Analyser - Stable Micro System Inc.*-EUA) conectado a um microcomputador equipado com o programa *Texture Expert<sup>®</sup>*. Cada extremidade do osso ficou apoiada sobre uma haste inoxidável, separadas por dois centímetros de distância, em que uma terceira haste, apoiada sobre o ponto intermédio ósseo, realizou uma carga (carga: 0,25 N; velocidade do teste: 3 mm/seg; distância: 10 mm) capaz de promover a fratura óssea. A carga necessária para que o osso fraturasse foi registrada pelo equipamento.

#### Análise estatística

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade *Kolmogorov-Smirnov*. Em seguida os dados do peso corporal inicial e final dos grupos experimentais foram comparados usando-se a análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas do mesmo indivíduo, seguida do *post hoc Tukey*. Na comparação das variáveis conteúdo de cálcio urinário, peso e dimensões do fêmur e força de fratura do fêmur foi utilizada a ANOVA para avaliar os efeitos dos

tratamentos: exercícios (exercitados e sedentários) e suplementação (placebo, creatina, cafeína e creatina + cafeína). Para as análises de múltiplas comparações *post hoc* foi utilizado o teste de *Tukey*. Todas as análises foram realizadas no sistema SAS (*Statistical Analysis System, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA*) versão 9.2 licenciada para a UFV 2011.

## RESULTADOS

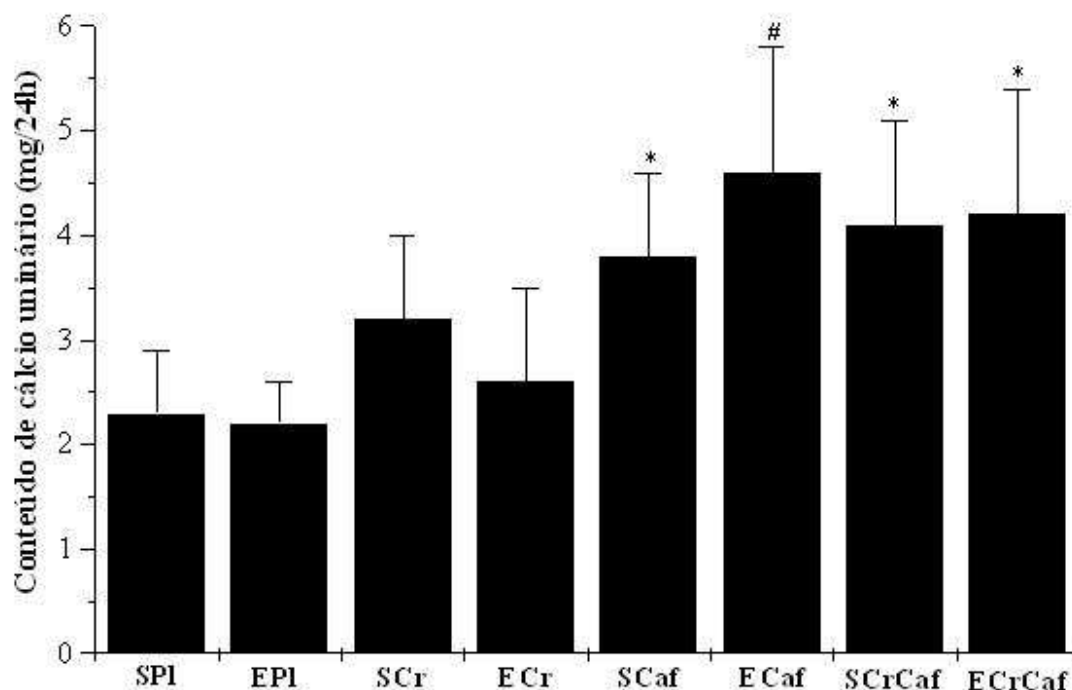
#### Peso corporal

Os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão. Não foi observada diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre o peso corporal inicial dos animais (SPI: 141,90 $\pm$ 8,38 g; SCR: 140,10 $\pm$ 9,88 g; SCaf: 142,80 $\pm$ 9,78 g; SCrCaf: 144,40 $\pm$ 9,10 g; EPI: 139,88 $\pm$ 13,34 g; ECR: 141,00 $\pm$ 13,19 g; ECaf: 144,10 $\pm$ 12,73 g; e ECrCaf: 143,10 $\pm$ 10,40 g). Ao final da sexta semana o fator suplementação não afetou o ganho de peso dos animais, porém os animais exercitados apresentaram menor ( $p < 0,05$ ) peso corporal se comparados aos animais sedentários (277,70 $\pm$ 27,80g *versus* 314,00 $\pm$ 14,50g, respectivamente).

#### Cálcio urinário

A Figura 2 mostra os resultados referentes ao cálcio urinário. Entre os animais sedentários, os grupos SCaf e SCrCaf apresentaram maior conteúdo de cálcio urinário se comparados ao grupo SPI. Entre os animais exercitados, os grupos ECaf e ECrCaf apresentaram maior conteúdo de cálcio urinário, quando comparados aos grupos EPI e ECR.

O fator suplementação, independentemente do exercício, afetou o conteúdo de cálcio urinário. Observou-se que os animais suplementados com cafeína (SCaf e ECaf: 4,20 $\pm$ 1,90 mg/24h) e creatina+cafeína (SCrCaf e ECrCaf: 4,12 $\pm$ 1,41 mg/24h) apresentaram maior ( $p < 0,05$ ) conteúdo de cálcio urinário quando comparados aos animais que receberam placebo (SPI e EPI: 2,21 $\pm$ 0,51 mg/24h); todavia o fator exercício, independentemente da suplementação, não afetou ( $p > 0,05$ ) o conteúdo de cálcio urinário (sedentários: 3,31 $\pm$ 1,12 mg/24h *vs.* exercitados: 3,32 $\pm$ 1,90 mg/24h).



**Figura 2** - Conteúdo de cálcio urinário dos animais dos grupos experimentais. Dados expressos como média  $\pm$  desvio padrão. SPI, sedentário placebo (n=10); SCr, sedentário creatina (n=10); SCaf, sedentário cafeína (n=10); SCrCaf, sedentário creatina+cafeína (n=10); EPI, exercitado placebo (n=10); ECr, exercitado creatina; ECaf, exercitado cafeína (n=10); ECrCaf, exercitado creatina+cafeína (n=10). \*, diferente significativamente de SPI e EPI; #, diferente significativamente de SPI, EPI e ECr ( $p < 0,05$ ; ANOVA).

### Peso e dimensões do fêmur

A Tabela 2 apresenta os valores do peso e das dimensões do fêmur dos animais. Foi verificada redução significativa do peso do fêmur dos animais do grupo ECaf se comparados aos do grupo ECr, mas não foi

observada diferença significativa no comprimento femoral entre os grupos ( $p > 0,05$ ). Por outro lado, observou-se redução significativa ( $p < 0,05$ ) na espessura do fêmur dos animais do grupo SCaf se comparados aos dos grupos SPI, SCr e ECr.

**Tabela 2** - Peso e dimensões do fêmur dos animais dos grupos experimentais.

Grupos	Peso (g)	Comprimento (cm)	Espessura (cm)
SPI	0,53 $\pm$ 0,03	3,07 $\pm$ 0,05	0,40 $\pm$ 0,02 <sup>#</sup>
EPI	0,52 $\pm$ 0,07	3,03 $\pm$ 0,02	0,39 $\pm$ 0,01
SCr	0,53 $\pm$ 0,04	3,09 $\pm$ 0,06	0,40 $\pm$ 0,00 <sup>#</sup>
ECr	0,57 $\pm$ 0,03*	3,06 $\pm$ 0,05	0,40 $\pm$ 0,00 <sup>#</sup>
SCaf	0,43 $\pm$ 0,10	3,09 $\pm$ 0,06	0,35 $\pm$ 0,01
ECaf	0,40 $\pm$ 0,02	3,12 $\pm$ 0,13	0,36 $\pm$ 0,02
SCrCaf	0,53 $\pm$ 0,04	3,05 $\pm$ 0,05	0,38 $\pm$ 0,03
ECrCaf	0,49 $\pm$ 0,09	3,04 $\pm$ 0,04	0,39 $\pm$ 0,02

Dados expressos como média  $\pm$  desvio padrão. SPI, sedentário placebo (n=10); SCr, sedentário creatina (n=10); SCaf, sedentário cafeína (n=10); SCrCaf, sedentário creatina+cafeína (n=10); EPI, exercitado placebo (n=10); ECr, exercitado creatina; ECaf, exercitado cafeína (n=10); ECrCaf, exercitado creatina+cafeína (n=10). \*, diferente significativamente de ECaf na mesma coluna; #, diferente significativamente de SCaf na mesma coluna ( $p < 0,05$ ; ANOVA).

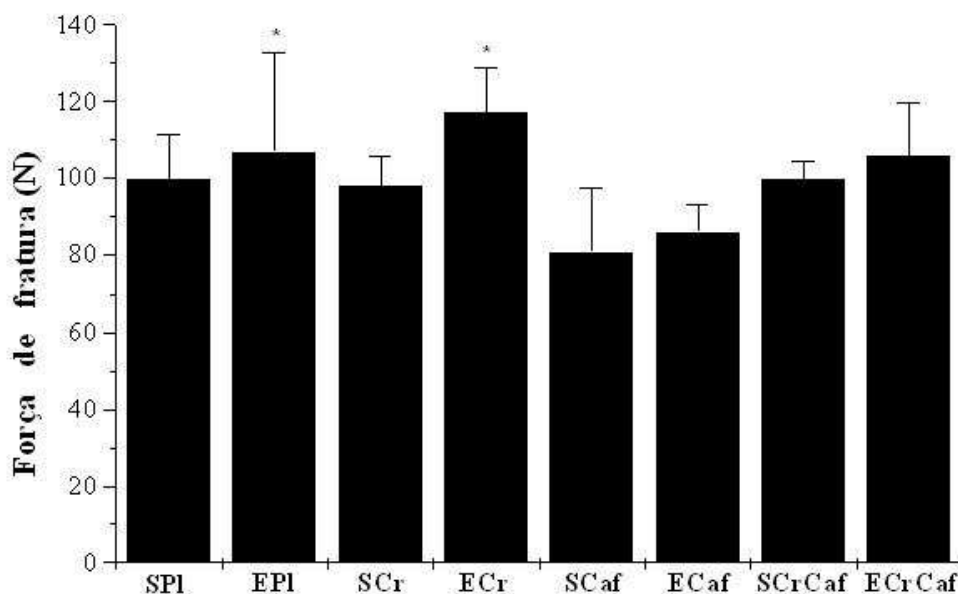
Considerando-se o fator suplementação, verificou-se que o peso do fêmur dos animais suplementados com cafeína foi menor ( $p < 0,05$ ) que o dos animais dos grupos placebo ( $0,41 \pm 0,07$  g vs.  $0,52 \pm 0,05$  g, respectivamente), creatina ( $0,41 \pm 0,07$  g vs.  $0,54 \pm 0,04$  g, respectivamente) e creatina+cafeína ( $0,41 \pm 0,077$  g vs.  $0,51 \pm 0,071$  g, respectivamente). Ainda, a espessura do fêmur dos animais suplementados com cafeína foi menor ( $p < 0,05$ ) que a dos animais dos grupos placebo ( $0,36 \pm 0,02$  cm vs.  $0,40 \pm 0,01$  cm, respectivamente), creatina ( $0,36 \pm 0,02$  cm vs.  $0,40 \pm 0,00$  cm, respectivamente) e creatina+cafeína ( $0,36 \pm 0,02$  cm vs.  $0,39 \pm 0,02$  cm, respectivamente). Além disso, não foi identificada diferença estatística em função do fator exercício ( $p > 0,05$ ) para o peso (sedentários:  $0,50 \pm 0,07$  g vs. exercitados:  $0,49 \pm 0,08$  g), comprimento (Sedentários:  $3,07 \pm 0,05$  cm vs. Exercitados:  $3,06 \pm 0,07$  g) e espessura do fêmur (sedentários:  $0,38 \pm 0,02$  cm vs. exercitados:  $0,39 \pm 0,02$  cm).

### Força de fratura do fêmur

A Figura 3 mostra os valores da força de fratura do fêmur. Os animais do grupo ECaf apresentaram menor força de fratura que os animais dos grupos EPI e ECr.

Considerando-se o fator suplementação, verificou-se que a força de fratura óssea dos animais suplementados com cafeína foi menor ( $p < 0,05$ ) que a dos animais dos grupos placebo ( $83,26 \pm 13,25$  N vs.  $103,27 \pm 19,40$  N, respectivamente), creatina ( $83,26 \pm 13,25$  N vs.  $106,05 \pm 13,12$  N, respectivamente) e creatina+cafeína ( $83,26 \pm 13,25$  vs.  $102,98 \pm 10,37$  N, respectivamente).

Por outro lado, o fator exercício promoveu efeito benéfico. Os animais dos grupos exercitados mostraram maior ( $p < 0,05$ ) força de fratura do fêmur quando comparados aos animais dos grupos sedentários ( $103,93 \pm 19,13$  N vs.  $94,56 \pm 13,57$  N, respectivamente).



**Figura 3** - Força de fratura do fêmur dos animais dos grupos experimentais. Dados expressos como média  $\pm$  desvio padrão. SPI, sedentário placebo (n=10); SCr, sedentário creatina (n=10); SCaf, sedentário cafeína (n=10); SCrCaf, sedentário creatina+cafeína (n=10); EPI, exercitado placebo (n=10); ECr, exercitado creatina; ECaf, exercitado cafeína (n=10); ECrCaf, exercitado creatina+cafeína (n=10). \*, diferente significativamente de SCaf e ECaf ( $p < 0,05$ ; ANOVA).

### DISCUSSÃO

Este estudo investigou se a suplementação com creatina e cafeína, isoladamente ou combinadas, interfere na força de fratura óssea

em ratos treinados com saltos verticais na água. Ficou demonstrado que os animais que ingeriram cafeína apresentaram menor força de fratura óssea, independentemente do fator exercício. Em consonância com estes resultados,

a espessura e o peso femoral dos animais suplementados com cafeína foram menores que os dos animais dos demais grupos, independentemente do exercício. A ingestão de creatina ou creatina+cafeína não afetou a força de fratura e os demais parâmetros ósseos; o programa de saltos verticais, por sua vez, elevou a força de fratura óssea, sem alterar o peso e as dimensões ósseas, independentemente do tipo de suplementação.

Apesar da utilização de ratos jovens com consumo de 100% da recomendação de cálcio, o presente estudo observou redução na força de fratura do fêmur dos animais suplementados com cafeína. A redução da força de fratura nos animais suplementados com cafeína aqui demonstrada pode ter ocorrido em função do menor peso e espessura do fêmur nestes animais. Estas reduções de peso e espessura óssea são coerentes com nossos dados de excreção de cálcio urinário, segundo os quais há maior perda urinária de cálcio nos ratos suplementados com cafeína ou creatina+cafeína. Há evidências de que a cafeína pode aumentar a excreção de cálcio (ASHIZAWA et al., 1997; MASSEY; SUTTON, 2004) e interferir negativamente em seus estoques corporais (HUANG et al., 2002; MASSEY; SUTTON, 2004) e, por consequência, reduzir a densidade mineral e a massa óssea (LLOYD et al., 1998; HEANEY, 2002). Tal ação da cafeína pode ser explicada por alguns mecanismos, como o aumento na carga de filtração de cálcio renal e a redução da reabsorção de cálcio ao nível dos túbulos proximais renais (ASHIZAWA et al., 1997; MASSEY; SUTTON, 2004). Isto sugere que o cálcio excretado na urina seria proveniente dos ossos dos animais, uma vez que a redução de peso ósseo em resposta à ingestão de cafeína está associada à redução do conteúdo total de cálcio e da DMO em ratos e em humanos (HUANG et al., 2002; DEW, DAY, MORGAN, 2007; WETMORE et al., 2008). Ressalta-se que o baixo consumo de cálcio reduz a resistência óssea à fratura em ratos (WELCH et al., 2008) e que o consumo de bebidas cafeinadas (330 mg cafeína/dia), se somado a baixa ingestão de cálcio (< 700

mg/dia), parece estar associado ao aumento no risco de fratura óssea em mulheres adultas (TSANZI; LIGHT; TOU, 2008). Nossos achados alertam para os efeitos negativos do consumo excessivo de cafeína, inclusive na juventude.

Resultado importante do presente estudo foi que o programa de saltos verticais na água aumentou a força de fratura do fêmur independentemente do tipo de suplementação, apesar de não aumentar o peso e as dimensões ósseas. Um dos possíveis mecanismos para a maior resistência à fratura é a maior taxa de deformação da matriz óssea em resposta ao exercício. Tal efeito aumenta o fluido no sistema de rede lacunar-canalicular, que, por sua vez, estimula os osteócitos a desencadear uma cascata de eventos celulares, potencializando, assim, o efeito osteogênico (TURNER; ROBLING, 2005). Outra possibilidade é que o maior número de contrações musculares realizado nas sessões de exercício, somado aos impulsos do animal no fundo do tanque com os membros pélvicos, eleva o estímulo osteogênico, por proporcionar maior a força de tração e carga sobre o osso durante o período de treinamento de saltos e, conseqüentemente, aumentar a osteogênese e a resistência óssea (DALY, et al., 2004; HUANG et al., 2003; WELCH et al., 2008; GOMES et al., 2010). O aumento de massa muscular pode ser um indicativo do aumento da força de tração sobre o osso. Apesar de não termos avaliado a massa muscular no presente estudo, em trabalhos anteriores de nosso grupo (FRANCO et al., 2007, 2011) observou-se que o modelo de saltos verticais na água aumenta o conteúdo de proteína na massa magra de ratos. O ganho de massa muscular em ratos em resposta ao treinamento de força, confirmado pelo aumento do conteúdo de proteína muscular, foi demonstrado por outros (VOLTARELLI et al., 2008).

Em relação à suplementação com creatina, verificamos no presente estudo que a ingestão desse composto proteico isoladamente, ou em combinação com cafeína, não afetou a força de fratura e as dimensões do fêmur nestes animais. Como a suplementação com creatina pode

afetar a resistência óssea à fratura, possivelmente, tanto a dose quanto o tempo de suplementação adotados no presente estudo podem não ter sido suficientes para influenciar a força de fratura femoral destes animais. Há evidências de que a suplementação com doses mais altas de creatina (2% peso corporal) por oito semanas (tempo superior ao usado no presente estudo) foi capaz de aumentar a DMO na coluna lombar e a força de fratura femoral em ratos Sprague-Dawley jovens (ANTOLIC et al., 2007), sem alterar as massas magra e corporal total dos animais.

Por fim, o presente estudo apresenta algumas limitações. A mensuração do conteúdo intramuscular de creatina poderia confirmar se foi ou suficiente a dosagem usada para aumentar a creatina intramuscular. Mais especificamente, a mensuração da densidade e do conteúdo mineral ósseo e a análise morfométrica do fêmur poderiam auxiliar na explicação dos achados deste estudo. Em futuras pesquisas, estas análises podem ser realizadas aplicando-se o modelo de saltos verticais na água em ratos com e sem consumo da recomendação dietética de cálcio e também com doses mais elevadas de creatina por um tempo maior de suplementação.

## CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos com as dosagens e tempo de suplementação usados neste estudo pudemos concluir que: a) a suplementação com cafeína diminuiu a força de fratura óssea e ao mesmo tempo aumentou a excreção urinária de cálcio e reduziu a espessura e o peso do fêmur dos animais; b) as suplementações com creatina e com creatina+cafeína não influenciaram a força de fratura e os demais parâmetros ósseos avaliados; e c) o programa de saltos verticais na água, por sua vez, aumentou a força de fratura óssea nestes animais.

Estes resultados acrescentam informações importantes ao conhecimento acerca da ingestão de cafeína e creatina e da prática de atividade física para a saúde óssea.

## Agradecimentos

Autores agradecem à FAPEMIG (CDS – 973/2004) e à CAPES (PIQDTEC 320.440.1-1) pelo apoio financeiro e bolsas outorgadas; e ao Laboratório BIOCLIN<sup>®</sup> pelos kits para análises de cálcio. Antonio Jose Natali é pesquisador nível 2 do CNPq.

---

## EFFECTS OF CREATINE AND CAFFEINE SUPPLEMENTATION ON THE BONE BREAKING FORCE IN RATS SUBJECTED TO VERTICAL JUMPING EXERCISE

### ABSTRACT

This study investigated whether supplementation with high doses of creatine and caffeine, alone or in combination, affects the bone breaking force of exercised rats. Rats were randomly divided into 8 groups: Sedentary or Exercised (placebo, creatine, caffeine or creatine plus caffeine). The supplemented groups received creatine (load: 0.430 g/kg body weight, for 7 days; and maintenance: 0.143 g/kg for 35 days), caffeine (10 mg/100g body weight, for 35 days) or creatine plus caffeine. The exercised groups underwent a vertical jump training in water (4 sets of 10 jumps interspersed with 1 min resting intervals, 5 days/wk), for 6 weeks. Caffeine ingestion reduced the femur's width, weight and breaking force, independently of exercise. Caffeine and creatine plus caffeine increased the urinary calcium excretion. Jumping exercise increased the bone breaking force independently of supplementation; nevertheless it did not change the weight and dimensions of the femur of the animals.

**Keywords:** Physical activity. Bone health. Ergogenic aids.

---

## REFERÊNCIAS

ANTOLIC, A. et al. Creatine monohydrate increases bone mineral density in young sprague-dawley rats. **Medicine and science in sports and exercise**, Saint Louis, v. 39, no. 5, p. 816-820, 2007.

ASHIZAWA, N. et al. A bout of resistance exercise increases urinary calcium independently of osteoclastic activation in men. **Journal of applied physiology**, Bethesda, v. 83, no. 4, p. 1159-1163, 1997.

ASTORINO, T. A.; ROHMANN, R. L.; FIRTH, K. Effect of caffeine ingestion on one repetition-maximum muscular strength. **European journal of applied physiology**, Berlin, v. 102, p.127-132, 2008.

BECQUE, M.D.; LOCHMANN, J.D.; MELROSE, D.R. Effects of oral creatine supplementation on muscular strength and body composition. **Medicine and science in sports and exercise**, Saint Louis, v. 32, no. 3, p. 654-658, 2000.



- BONNET, N. et al. Combined effects of exercise and propranolol on bone tissue in ovariectomized rats. **Journal of bone and mineral research**, Baltimore, v. 22, no. 4, p. 578-588, 2007.
- BRUCE, C.R. et al. Enhancement of 2000-m rowing performance after caffeine ingestion. **Medicine and science in sports and exercise**, Saint Louis, v. 32, no. 11, p. 1958-1963, 2000.
- CHILIBECK, P.D. et al. Creatine monohydrate and resistance training increase bone mineral content and density in older men. **Journal of nutrition, health & aging**, Paris, v. 9, no. 5, p. 352-355, 2005.
- DALY, R. M. et al. The relationship between muscle size and bone geometry during growth and in response to exercise. **Bone**, Boston, v. 34, no. 2, p. 281-287, 2004.
- DELECLUSE, C.; DIELS, R.; GORIS, M. Effect of creatine supplementation on intermittent sprint running performance in highly trained athletes. **Journal of strength and conditioning research**, Lincoln, v. 17, no. 3, p. 446-454, 2003.
- DEW, T. P.; DAY, A. J.; MORGAN, M. R. A. Bone mineral density, polyphenols and caffeine: a reassessment. **Nutrition research reviews**, Cambridge, v. 20, p. 89-105, 2007.
- DOHERTY, M. et al. Caffeine is ergogenic after supplementation of oral creatine monohydrate. **Medicine and science in sports and exercise**, Saint Louis, v. 34, no. 11, p. 1785-1792, 2002.
- FIMLAND, M. S. et al. No effect of prior caffeine ingestion on neuromuscular recovery after maximal fatiguing contractions. **European journal of applied physiology**, Berlin, v. 108, p. 123-130, 2010.
- 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. **Revista brasileira de medicina do esporte**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 5, p. 297-302, 2007.
- FRANCO, F. S. C. et al. The effects of a high dosage of creatine and caffeine supplementation on the lean body mass composition of rats submitted to vertical jumping training. **Journal of the international society of sport nutrition**, London, v. 8, no. 3, 2011. Disponível em: <<http://www.jissn.com/content/pdf/1550-2783-8-3.pdf>>. Acesso em: 15 jul. 2011.
- GLAISTER, M. et al. Creatine supplementation and multiple sprint running performance. **Journal of strength and conditioning research**, Lincoln, v. 20, no. 2, p. 273-277, 2006.
- GOMES, G. J. et al. Suplementação com alta dosagem de cafeína não afeta resistência à fratura óssea em ratos submetidos a treinamento com saltos verticais. **Revista brasileira de ciências do esporte**, Campinas, SP, v. 21, p. 201-216, 2010.
- HEANEY, R. P. Effects of caffeine on bone and the calcium economy. **Food and chemical toxicology**, Andover, v. 40, no. 9, p. 1263-1270, 2002.
- HENRY, R. J.; CANNON, D. C.; WINKELMAN, J. W. **Clinical chemistry and technics**. 2. ed. New York: Harper & Row, 1974.
- HESPEL, P.; OP'T EIJNDE, B.; VAN LEEMPUTTE, M. Opposite actions of caffeine and creatine on muscle relaxation time in humans. **Journal of applied physiology**, Bethesda, v. 92, no. 2, p. 513-518, 2002.
- HONDA, A. et al. High-impact exercise strengthens bone in osteopenic ovariectomized rats with the same outcome as Sham rats. **Journal of applied physiology**, Bethesda, v. 95, no. 3, p. 1032-1037, 2003.
- HUANG, T.H. et al. Effects of caffeine and exercise on the development of bone: a densitometric and histomorphometric study in young Wistar rats. **Bone**, Boston, v. 30, no. 1, p. 293-299, 2002.
- HUANG, T.H. et al. Effects of different exercise modes on mineralization, structure, and biomechanical properties of growing bone. **Journal of applied physiology**, Bethesda, v. 95, p. 300-307, 2003.
- HUANG, T.H. et al. Endurance treadmill running training benefits the biomaterial quality of bone in growing male Wistar rats. **Journal of bone and mineral metabolism**, Baltimore, v. 26, no. 4, p. 350-357, 2008.
- IWAMOTO, M. et al. Effects of caffeine treatment on aged porcine oocytes: parthenogenetic activation ability, chromosome condensation and development to the blastocyst stage after somatic cell nuclear transfer. **Zygote**, Cambridge, v. 13, no. 4, p. 335-345, 2005.
- JAMES, R. S.; WILSON, R. S.; ASKEW, G. N. Effects of caffeine on mouse skeletal muscle power output during recovery from fatigue. **Journal of applied physiology**, Bethesda, v. 96, no. 2, p. 545-552, 2004.
- KALMAR, J. M.; CAFARELLI, E. Effects of caffeine on neuromuscular function. **Journal of applied physiology**, Bethesda, v. 87, no. 2, p. 801-808, 1999.
- LINDEN, C. et al. A school curriculum-based exercise program increases bone mineral accrual and bone size in prepubertal girls: two-year data from the pediatric osteoporosis prevention (POP) study. **Journal of bone and mineral research**, Maryland, v. 21, no. 6, p. 829-835, 2006.
- LLOYD, T. et al. Dietary caffeine intake is not correlated with adolescent bone gain. **Journal of the american college of nutrition**, Clearwater, v. 17, no. 5, p. 454-457, 1998.
- MAGKOS, F.; KAVOURAS, S. A. Caffeine use in sports, pharmacokinetics in man, and cellular mechanisms of action. **Critical reviews in food science and nutrition**, Philadelphia, v. 45, no. 7-8, p. 535-562, 2005.
- MASSEY, L. K.; SUTTON, R. A. Acute caffeine effects on urine composition and calcium kidney stone risk in calcium stone formers. **Journal of urology**, Linthicum, v. 172, no. 2, p. 555-558, 2004.
- MCBRIDE, T. A.; GREGORY, M. A. Effect of creatine supplementation during high resistance training on mass, strength, and fatigue resistance in rat skeletal muscle. **Journal of strength and conditioning research**, Lincoln, v. 16, no. 3, p. 335-342, 2002.
- Nagasawa, S. et al. Effects of low-repetition jump exercise on osteogenic response in rats. **Journal of bone and mineral metabolism**, Baltimore, v. 26, no. 3, p. 226-230, 2008.

- OLIVEIRA, C. A. M.; ROGATTO, G. P.; LUCIANO, E. Efeitos do treinamento físico de alta intensidade sobre os leucócitos de ratos diabéticos. **Revista brasileira de medicina do esporte**, Rio de Janeiro, v. 8, n. 6, p. 219-224, 2002.
- RAPURI, P.B. et al. Caffeine intake increases the rate of bone loss in elderly women and interacts with vitamin D receptor genotypes. **American journal of clinical nutrition**, Bethesda, v. 74, no. 5, p. 694-700, 2004.
- REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **Journal of nutrition**, Bethesda, v. 123, no. 11, p. 1939-1951, 1993.
- ROBLING, A. G.; CASTILLO, A. B.; TURNER, C. H. Biomechanical and molecular regulation of bone remodeling. **Annual review of biomedical engineering**, Palo Alto, v. 8, p. 455-498, 2006.
- SHIGA, K. et al. Ingestion of difructose anhydride III and voluntary running exercise independently increase femoral and tibial bone mineral density and bone strength with increasing calcium absorption in rats. **Journal of nutrition**, Bethesda, v. 133, no. 12, p. 4207-4211, 2003.
- SMITH, A.; SUTHERLAND, D.; CHRISTOPHER, G. Effects of repeated doses of caffeine on mood and performance of alert and fatigued volunteers. **Journal of psychopharmacology**, London, v. 19, no. 6, p. 620-626, 2005.
- TOURNIS, S. et al. Effect of rhythmic gymnastics on volumetric bone mineral density and bone geometry in premenarcheal female athletes and controls. **Journal of clinical endocrinology and metabolism**, Chevy Chase, v. 95, no. 6, p. 1-8, 2010.
- TSANZI, E.; LIGHT, H. R.; TOU, J. C. The effect of feeding different sugar-sweetened beverages to growing female Sprague-Dawley rats on bone mass and strength. **Bone**, Boston, v. 42, no. 5, p. 960-968, 2008.
- TURNER, C. H.; ROBLING, A. G. Mechanisms by which exercise improves bone strength. **Journal of bone and mineral metabolism**, Baltimore, v. 23, p. 16-22, 2005.
- VANDENBERGHE, K. et al. Caffeine counteracts the ergogenic action of muscle creatine loading. **Journal of applied physiology**, Bethesda, v. 80, no. 2, p. 452-457, 1996.
- VAN THUYNE, W.; ROELS, K.; DELBEKE, F. T. Distribution of caffeine levels in urine in different sports in relation to doping control. **International journal of sports medicine**, Stuttgart, v. 26, p. 714-718, 2005.
- VOLTARELLI, F.A. et al. Administração de Insulina Associada ao Treinamento de Força: Efeitos sobre o Músculo Esquelético de Ratos. **Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício**, São Paulo, v.2, p.623 - 628, 2008.
- WELCH, J. M. et al. High impact exercise is more beneficial than dietary calcium for building bone strength in the growing rat skeleton. **Bone**, Boston, v. 42, no. 4, p. 660-668, 2008.
- WETMORE, C. M. et al. Association between caffeine intake and bone mass among young women: potential effect modification by depot medroxyprogesterone acetate use. **Osteoporos international**, Germantown, v. 19, no. 4, p. 519-527, 2008.

Recebido em 18/01/2011

Revisado em 19/04/2011

Aceito em 20/05/2011

---

**Endereço para correspondência:** Antonio Jose Natali. Departamento de Educação Física, Universidade Federal de Viçosa. Av. Peter Henry Rolfs, s/nº, CEP: 35.570-00.0, Viçosa-MG, Brasil. E-mail: anatali@ufv.br