



Influência da suplementação aguda e crônica de creatina sobre as concentrações sanguíneas de glicose e lactato de ratos Wistar*

Renato Aparecido Souza, Roberto Mussoline dos Santos, Rodrigo Aléxis Lazo Osório, José Carlos Cogo, Antônio Carlos Guimarães Prianti Júnior, Rodrigo Álvaro Brandão Lopes Martins¹ e Wellington Ribeiro

RESUMO

Estudos recentes sugerem que a suplementação de creatina pode interferir com a captação de glicose e a produção de lactato durante a atividade física. O objetivo deste estudo foi investigar os efeitos da suplementação aguda ($5\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ durante uma semana) e crônica ($1\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ durante oito semanas) de creatina sobre as concentrações sanguíneas de glicose e lactato de ratos sedentários e exercitados (natação a 80% da carga máxima tolerada). Setenta e dois ratos Wistar machos ($240 \pm 10\text{g}$) foram utilizados e divididos igualmente em quatro grupos experimentais ($n = 18$): CON – ratos sedentários não suplementados; NAT – ratos exercitados não suplementados; CRE – ratos sedentários e suplementados; CRE + NAT – ratos exercitados e suplementados. As amostras sanguíneas foram obtidas antes e após o teste de determinação da carga máxima realizado semanalmente durante todo o experimento. Antes do teste de carga máxima, com exceção do grupo CRE-NAT (3-5 semanas), que apresentou concentrações plasmáticas de glicose inferiores em relação aos demais grupos, todos os outros resultados foram semelhantes entre os grupos experimentais. Após o teste de carga máxima todos os grupos experimentais apresentaram redução das concentrações plasmáticas de glicose e aumento das concentrações plasmáticas de lactato. Contudo, em relação à glicose, esta redução foi significativamente ($p < 0,05$) pronunciada nos grupos CRE (1-4 semanas) e CRE + NAT (1-8 semanas) e, em relação ao lactato, o aumento foi significativamente ($p < 0,05$) menor nos grupos CRE (1-2 semanas) e CRE + NAT (1-8 semanas). Os achados deste estudo sugerem que o regime adotado de suplementação influenciou o perfil metabólico glicêmico, minimizou o acúmulo de lactato e potencializou a máxima carga suportada nos animais suplementados.

ABSTRACT

Influence of the short and long term supplementation of creatine on the plasmatic concentrations of glucose and lactate in Wistar rats

Recent studies suggest that the creatine supplementation can interfere with glucose uptake and lactate production during the physical activity. The aim of this study was to investigate the effects of the short-term ($5\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ for 1 week) and long-term ($1\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ for 8 weeks) creatine supplementation on the plasmatic concentrations of glucose and lactate of sedentary and exercised (swimming to 80% of the tolerated maximum load) rats. Seventy two

* Universidade do Vale do Paraíba – UniVap, Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento – IP&D, Laboratório de Fisiologia e Farmacodinâmica. Av. Shishima Hifumi, 2.911 – Urbanova – 12244-400 – São José dos Campos, SP.

1. Universidade de São Paulo – USP – Instituto de Ciências Biomédicas I. Recebido em 24/11/05. Versão final recebida em 9/6/06. Aceito em 11/6/06.

Endereço para correspondência: Renato Aparecido de Souza, Rua João Nunes de Oliveira Jr., 140 – FOCH – 37550-000 – Pouso Alegre, MG. E-mail: tatosouza2004@yahoo.com.br

Palavras-chave: Suplementação de creatina. Recursos ergogênicos. Bioenergética. Ratos.

Keywords: Creatine supplementation. Ergogenic aid. Bioenergetic. Rats.

Palabras-clave: Suplementación de creatina. Recursos ergogênicos. Bioenergética. Ratonos.

male Wistar rats ($240 \pm 10\text{g}$) were used and divided equally in 4 experimental groups ($n = 18$): CON – sedentary rats without supplementation; NAT – exercised rats without supplementation; CRE – sedentary rats with supplementation; CRE + NAT – exercised rats with supplementation. The blood samples were obtained weekly before and after the maximum load test. Before the maximum load test, except for the group CRE-NAT (3-5 weeks), that presented lower level of plasma glucose concentration in relationship the other groups, all the other results were similar among the experimental groups. After the maximum load test, all of the experimental groups presented reduction of the plasma glucose concentration and increase of the plasma lactate concentration. However, in relation to the glucose, this reduction was significantly ($p < 0.05$) pronounced in the groups CRE (1-4 weeks) and CRE + NAT (1-8 weeks), and in relation to the lactate, the increase was significantly ($p < 0.05$) smaller in the groups CRE (1-2 weeks) and CRE + NAT (1-8 weeks). The findings of this study suggest that the adopted regime of supplementation influenced the metabolic glycemic profile, minimized the lactate accumulation and increased the maximum load supported in the animals supplemented.

RESUMEN

Influencia de la suplementación aguda y crónica de creatina sobre las concentraciones sanguíneas de glicosis y lactato en ratones Wistar

Estudios recientes sugieren que la suplementación de creatina puede interferir con la captación de glicosis y la producción de lactato durante la actividad física. El objetivo de este estudio ha sido el de investigar los efectos de la suplementación aguda ($5\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ durante 1 semana) y crónica ($1\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ durante 8 semanas) de creatina sobre las concentraciones sanguíneas de glicosis y lactato en ratones sedentarios y ejercitados (natación a 80% de carga máxima tolerada). Setenta y dos ratones Wistar machos ($240 \pm 10\text{g}$) fueron utilizados y divididos igualmente en 4 grupos experimentales ($n = 18$): CON – ratones sedentarios no suplementados; NAT – ratones ejercitados no suplementados; CRE – ratones sedentarios y suplementados; CRE + NAT – ratones ejercitados e suplementados. Las muestras sanguíneas se obtuvieron antes y después del test de determinación de carga máxima realizado semanalmente durante todo el experimento. Antes del test de carga máxima, con excepción del grupo CRE-NAT (3-5 semanas) que presentó concentraciones plasmáticas de glicosis inferiores en relación a los demás grupos, los demás resultados fueron semejantes entre los grupos experimentales. Después del test de carga máxima todos los grupos experimentales presentaron reducción en las concentraciones plasmáticas de glicosis y aumento en

las concentraciones plasmáticas de lactato. A pesar de esto, con respecto a la glicosis, esta reducción fue significativamente ($p < 0.05$) pronunciada en los grupos CRE (1-4 semanas) y CRE + NAT (1-8 semanas) y con respecto al lactato, el aumento fue significativamente ($p < 0.05$) menor en los grupos CRE (1-2 semanas) y CRE + NAT (1-8 semanas). Los resultados encontrados sugieren que el régimen adoptado de suplementación influyó el perfil metabólico glicémico, minimizó el acumulo de lactato y potenció la máxima carga suportada en los animales suplementados.

INTRODUÇÃO

A suplementação de creatina (Cr) tem sido amplamente adotada, especialmente por atletas, como estratégia nutricional que visa potencializar o rendimento físico⁽¹⁻²⁾. Os possíveis benefícios ergogênicos da suplementação de Cr estão relacionados ao seu papel bioquímico e fisiológico sobre a bioenergética do tecido muscular esquelético⁽³⁻⁴⁾. Diversos mecanismos foram propostos para demonstrar o envolvimento da suplementação de Cr com o desempenho físico melhorado⁽⁵⁾, dentre eles: aumento dos níveis de creatina fosfato (CP), servindo como tampão imediato do uso de adenosina trifosfato (ATP) durante o exercício; aumento dos níveis de Cr em repouso para aumentar a taxa de ressíntese da própria CP durante e após o exercício; redução da acidez muscular, uma vez que a CP atua consumindo um H⁺ no processo de ressíntese de ATP; aumento da atividade da citrato sintase (CS), um marcador da capacidade oxidativa, potencializando exercícios aeróbicos; aumento da capacidade de treinamento; e aumento da massa muscular, por ser a Cr uma substância osmoticamente ativa.

O perfil metabólico e o estado energético das células musculares são alterados de acordo com mudanças no grau de atividade e na oferta de substratos energéticos que essas células apresentam. Alguns estudos revelam que a suplementação de Cr interfere com o metabolismo periférico da glicose⁽⁶⁻⁷⁾. Neste aspecto, são reportadas taxas aumentadas de secreção insulínica⁽⁸⁾, maior expressão de receptores GLUT-4⁽⁹⁾ e aumento na concentração intramuscular de glicogênio⁽¹⁰⁾, após a suplementação. Acredita-se que por seu efeito hipoglicemiante a suplementação de Cr poderia ser benéfica para o tratamento de pacientes com diabetes tipo II⁽⁸⁾.

Atualmente, o lactato sanguíneo é utilizado como importante verificador das condições bioenergéticas do músculo esquelético⁽¹¹⁻¹²⁾. Pelo fato de a suplementação de Cr incrementar o metabolismo anaeróbico alático através da obtenção de energia pelo sistema ATP-CP, o acúmulo de lactato responsável pelo fenômeno da fadiga muscular poderia ser retardado⁽¹³⁾. Esta característica poderia beneficiar exercícios de longa duração. No entanto, são escassas na literatura pesquisas a respeito dos efeitos da suplementação de Cr sobre marcadores bioquímicos em atividades físicas de longa duração. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o desempenho físico aeróbico e a resposta metabólica periférica de glicose e lactato de ratos submetidos à suplementação aguda e crônica de creatina.

MÉTODOS

Modelo experimental – Foram utilizados 72 ratos (240 ± 10g) machos Wistar (*Rattus norvegicus*), adultos jovens (10-12 semanas de idade), obtidos da fazenda Bem-te-vi (Paulínia/SP). Os animais foram mantidos individualmente em caixas de polietileno no biotério do Laboratório de Fisiologia e Farmacodinâmica do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba com temperatura (22-25°C), umidade relativa (40-60%) e fotoperíodo (ciclo de 12 horas claro-escuro) controlados. Além disto, todos os animais tiveram acesso à ração peletizada (*Labci*[®]) e água *ad libitum*, ou seja, não houve restrição alimentar em nenhum momento do estudo.

O estudo teve duração de oito semanas e os animais foram divididos igualmente em quatro grupos experimentais (n = 18): sedentário (CON): ratos sedentários não suplementados; exercitado (NAT): ratos exercitados não suplementados. Creatina sedentário (CRE): ratos sedentários e suplementados; creatina exercitado (CRE + NAT): ratos exercitados e suplementados.

Todos os procedimentos adotados neste estudo estavam de acordo com os princípios de manuseio e cuidado com animais de laboratório preconizados pelo Cobeia (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal) e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da UniVap (Protocolo nº L022-2005-CEP).

Protocolo de atividade física – Todos os animais foram submetidos a um período de adaptação à natação (30 minutos diários sem carga, durante cinco dias consecutivos) para reduzir fatores ligados ao estresse promovido pela atividade do nado⁽¹¹⁾. Durante este período a creatina não foi administrada. Após a adaptação, os animais foram individualmente submetidos ao teste de carga máxima (TCM)⁽¹⁴⁻¹⁵⁾. Foram colocadas células de carga, correspondendo a 0%, 1%, 2%, 3%, etc. da massa corporal total do animal até sua exaustão, atingindo a carga máxima tolerada. A exaustão foi determinada pela incapacidade de o animal manter-se abaixo da superfície da água por aproximadamente oito segundos⁽¹⁴⁻¹⁵⁾. Este teste permitiu o ajuste da carga de trabalho para o treinamento físico a 80% da carga máxima.

O treinamento físico a 80% da carga máxima foi realizado em grupos de seis animais devido à promoção de exercício mais vigoroso quando comparado com o nado individual⁽¹¹⁾. Este treinamento ocorreu cinco vezes por semana com sessões diárias de 30 minutos e somente nos grupos experimentais NAT e CRE + NAT. Foram utilizados coletes contendo pesos de chumbo e posicionados junto ao tórax de cada animal de modo confortável^(11,14-15). Ao final de cada semana experimental, novo TCM foi realizado para possíveis reajustes da carga de treinamento. O protocolo de natação foi realizado em um tanque de amianto com capacidade para 250 litros de água, mantidos à temperatura de 35 ± 2°C⁽¹⁴⁾.

Suplementação de creatina – A suplementação foi realizada por meio de uma sonda oro-esofágica (1mm de diâmetro; 3cm de comprimento) adaptada a uma seringa de 3ml, tendo a água como veículo de infusão. Este procedimento ocorreu diariamente após o período de adaptação ao nado duas horas antes do treinamento físico. Foi instituída durante a primeira semana do experimento (*loading phase*) a dose de 5g de Cr/kg de massa corporal do animal e, após a primeira semana (fase de manutenção), a dose de 1g de Cr/kg de massa corporal do animal para todos os animais suplementados (CRE e CRE + NAT)^(5,9,16).

Para facilitar a absorção do suplemento e minimizar qualquer risco de contaminação do produto foi utilizada creatina micronizada (*Integral Médica*[®]), grau padrão cromatográfico.

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

Análise estatística – Os resultados foram expressos como média ± desvio-padrão. Foi utilizada análise de variância (ANOVA) 4 x 4 para medidas repetidas entre os grupos experimentais nos diferentes períodos experimentais. O teste *post hoc* de Tukey, para comparações múltiplas, foi empregado para a identificação das diferenças específicas nas variáveis em que os valores de F encontrados foram superiores ao critério de significância estatística estabelecido ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS

Massa corporal total

Na figura 1 está representada a média da massa corporal total (g) dos animais ao final da primeira, quarta e oitava semanas. Após a primeira semana observamos um aumento estatisticamente significativo ($p < 0,05$) de massa corporal quando comparamos os grupos CRE-1 (294 ± 10) e CRE + NAT-1 (292 ± 13) versus os grupos CON-1 (273 ± 11) e NAT-1 (270 ± 12). Semelhante aumento foi obtido após a quarta semana ao compararmos os grupos CRE-4 (361 ± 13) e CRE + NAT-4 (352 ± 10) versus os grupos CON-4 (327 ± 12) e NAT-4 (330 ± 13). Novamente, ao final da oitava semana, observamos que a média da massa corporal dos animais nos grupos suplementados (CRE-8: 455 ± 13 e CRE + NAT-8: 440 ± 12) foi estatisticamente superior ($p < 0,05$) em relação os grupos não suplementados (CON-8: 410 ± 12 e NAT-8: 402 ± 11).

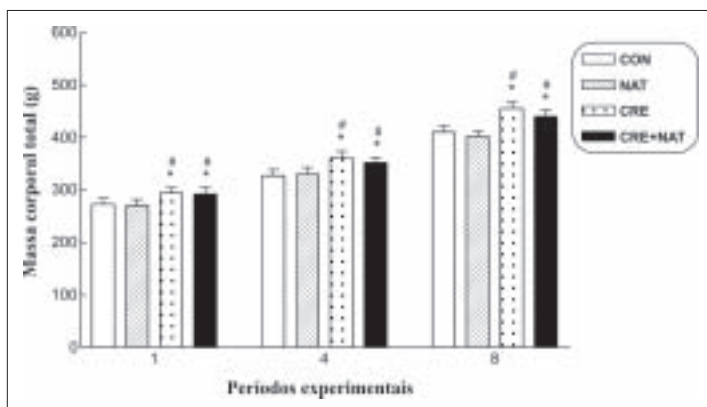


Figura 1 – Massa corporal total. Resultados expressos como média \pm desvio-padrão, $n = 18$ por grupo experimental, * $p < 0,05$ versus CON; # $p < 0,05$ versus NAT (ANOVA, seguido do teste de Tukey-Kramer de comparação múltipla).

Carga máxima tolerada

Como pode ser observado na tabela 1, o teste de carga máxima revelou que desde a primeira semana os animais do grupo CRE + NAT toleraram significativamente mais carga que os animais dos outros grupos experimentais. Embora os achados do grupo CRE sejam superiores aos dos grupos não suplementados (CON e NAT), estes valores não se mostraram significativamente diferentes ($p > 0,05$). Além disso, a partir da quinta semana, os animais do grupo NAT suportaram mais carga que os animais dos grupos CON e CRE.

TABELA 1
Carga máxima tolerada

	Grupos experimentais			
	CON	NAT	CRE	CRE + NAT
Após adaptação (g)	10,5 \pm 2,1	10,3 \pm 1,9	10,8 \pm 2,6	10,2 \pm 1,5
1ª semana (g)	10,9 \pm 2,3	10,8 \pm 1,9	11,7 \pm 2,1	14,6 \pm 2,0 [#]
2ª semana (g)	11,7 \pm 2,1	11,8 \pm 1,7	12,6 \pm 2,4	15,6 \pm 1,9 [#]
3ª semana (g)	12,6 \pm 1,8	12,4 \pm 2,3	13,5 \pm 1,7	16,6 \pm 2,4 [#]
4ª semana (g)	13,4 \pm 2,4	13,2 \pm 2,5	14,4 \pm 1,9	17,5 \pm 2,3 [#]
5ª semana (g)	14,1 \pm 1,9	17,4 \pm 1,5	15,4 \pm 1,7	22,4 \pm 1,7 [#]
6ª semana (g)	14,8 \pm 2,1	18,1 \pm 1,9 [†]	16,3 \pm 2,3	23,7 \pm 1,9 [#]
7ª semana (g)	15,8 \pm 2,2	22,9 \pm 1,7 [*]	17,3 \pm 1,6	29,0 \pm 2,1 [#]
8ª semana (g)	16,4 \pm 1,9	24,1 \pm 2,1 [*]	18,2 \pm 1,9	35,2 \pm 2,4 [#]

Os resultados foram expressos como média \pm desvio-padrão, $n = 18$ por grupo experimental, * $p < 0,05$ versus CON, NAT e CRE; [†] $p < 0,05$ versus CON; # $p < 0,05$ versus CON e CRE (ANOVA, seguido do teste de Tukey-Kramer de comparação múltipla).

Glicose

A tabela 2 apresenta os valores médios das concentrações plasmáticas de glicose pré e após o teste de carga máxima. Antes do teste de carga máxima foi observada semelhança entre os resultados, com exceção do grupo CRE + NAT na terceira, quarta e quinta semanas. Contudo, todos os resultados encontrados nos animais do grupo CRE + NAT após o teste de carga máxima se mostraram diferentes significativamente dos grupos CON e NAT. Além disso, a partir da quinta semana experimental, os resultados do grupo CRE + NAT também foram estatisticamente superiores aos encontrados no grupo CRE.

TABELA 2
Glicose pré e pós-teste de carga máxima

	Grupos experimentais			
	CON	NAT	CRE	CRE + NAT
Após adaptação				
Glicose pré-teste (mg/dl)	93 \pm 3	95 \pm 5	91 \pm 6	92 \pm 4
Glicose pós-teste (mg/dl)	77 \pm 4	79 \pm 3	76 \pm 3	80 \pm 5
1ª semana				
Glicose pré-teste (mg/dl)	89 \pm 3	89 \pm 4	85 \pm 2	85 \pm 3
Glicose pós-teste (mg/dl)	77 \pm 4	76 \pm 2	68 \pm 4 [#]	67 \pm 5 [#]
2ª semana				
Glicose pré-teste (mg/dl)	88 \pm 2	90 \pm 5	89 \pm 4	85 \pm 3
Glicose pós-teste (mg/dl)	80 \pm 4	82 \pm 3	73 \pm 5 [#]	71 \pm 2 [#]
3ª semana				
Glicose pré-teste (mg/dl)	92 \pm 3	91 \pm 3	88 \pm 3	75 \pm 4 [#]
Glicose pós-teste (mg/dl)	90 \pm 5	86 \pm 4	70 \pm 2 [#]	68 \pm 3 [#]
4ª semana				
Glicose pré-teste (mg/dl)	95 \pm 6	95 \pm 4	90 \pm 4	80 \pm 2 [#]
Glicose pós-teste (mg/dl)	88 \pm 3	86 \pm 4	74 \pm 5 [#]	71 \pm 5 [#]
5ª semana				
Glicose pré-teste (mg/dl)	97 \pm 4	93 \pm 4	93 \pm 3	85 \pm 2 [#]
Glicose pós-teste (mg/dl)	85 \pm 5	80 \pm 3	79 \pm 4	68 \pm 6 [#]
6ª semana				
Glicose pré-teste (mg/dl)	94 \pm 5	93 \pm 6	89 \pm 4	89 \pm 5
Glicose pós-teste (mg/dl)	85 \pm 3	79 \pm 3	79 \pm 4	70 \pm 2 [#]
7ª semana				
Glicose pré-teste (mg/dl)	89 \pm 3	90 \pm 5	91 \pm 4	89 \pm 3
Glicose pós-teste (mg/dl)	82 \pm 2	81 \pm 3	80 \pm 2	72 \pm 2 [#]
8ª semana				
Glicose pré-teste (mg/dl)	92 \pm 4	94 \pm 3	92 \pm 5	90 \pm 3
Glicose pós-teste (mg/dl)	85 \pm 3	90 \pm 3	83 \pm 4	74 \pm 5 [#]

Os resultados foram expressos como média \pm desvio-padrão, $n = 18$ por grupo experimental, * $p < 0,05$ versus outros resultados da mesma linha (ANOVA, seguido do teste de Tukey-Kramer de comparação múltipla).

Já o grupo CRE apresentou valores diferentes ($p < 0,05$) em relação aos grupos não suplementados, apenas nas quatro primeiras semanas de estudo. Neste período, os valores obtidos pós-teste no grupo CRE foram semelhantes aos obtidos no grupo CRE + NAT.

Lactato

Na tabela 3 estão demonstrados os valores médios das concentrações plasmáticas de lactato, pré e após o teste de carga máxima. Foi observado que após as duas primeiras semanas experimentais, os grupos suplementados CRE e CRE + NAT apresentaram valores significativamente inferiores de lactato após o teste de carga máxima em relação aos grupos não suplementados. Após este período, os resultados encontrados nos animais do grupo CRE + NAT, após o teste de carga máxima, foram inferiores também em relação ao grupo CRE. Além disso, a partir da sexta semana, o grupo NAT apresentou, após o teste de carga máxima, resultados que diferiram significativamente dos resultados obtidos nos grupos CON e CRE.

TABELA 3
Lactato pré e pós-teste de carga máxima

	Grupos experimentais			
	CON	NAT	CRE	CRE + NAT
Após adaptação				
Lactato pré-teste (mmol/l)	2,5 ± 0,9	2,2 ± 0,5	2,2 ± 0,7	2,3 ± 0,6
Lactato pós-teste (mmol/l)	8,0 ± 0,5	7,9 ± 0,6	8,1 ± 0,5	8,2 ± 0,8
1ª semana				
Lactato pré-teste (mmol/l)	2,8 ± 0,9	2,6 ± 0,7	2,4 ± 0,9	2,6 ± 1,0
Lactato pós-teste (mmol/l)	8,0 ± 0,8	8,2 ± 0,6	6,8 ± 0,8 [#]	6,4 ± 0,7 [#]
2ª semana				
Lactato pré-teste (mmol/l)	2,5 ± 0,8	2,4 ± 1,0	2,3 ± 0,7	2,0 ± 0,9
Lactato pós-teste (mmol/l)	8,2 ± 0,9	8,1 ± 0,8	7,1 ± 0,6 [#]	6,8 ± 0,8 [#]
3ª semana				
Lactato pré-teste (mmol/l)	2,8 ± 0,9	3,1 ± 0,7	2,6 ± 0,9	2,1 ± 0,8
Lactato pós-teste (mmol/l)	7,7 ± 0,7	7,9 ± 0,8	7,3 ± 0,7	6,5 ± 1,0 [#]
4ª semana				
Lactato pré-teste (mmol/l)	2,5 ± 0,7	3,0 ± 0,6	2,6 ± 0,5	2,4 ± 0,7
Lactato pós-teste (mmol/l)	8,5 ± 0,8	8,0 ± 0,9	7,9 ± 0,8	6,4 ± 0,7 [#]
5ª semana				
Lactato pré-teste (mmol/l)	2,7 ± 1,0	2,8 ± 0,7	2,5 ± 1,0	2,5 ± 0,6
Lactato pós-teste (mmol/l)	8,3 ± 0,6	7,9 ± 0,8	8,3 ± 0,6	6,8 ± 0,9 [#]
6ª semana				
Lactato pré-teste (mmol/l)	2,7 ± 0,9	3,0 ± 0,7	2,6 ± 0,7	2,7 ± 0,9
Lactato pós-teste (mmol/l)	8,5 ± 0,7	7,7 ± 0,9*	8,7 ± 0,6	6,3 ± 0,9 [#]
7ª semana				
Lactato pré-teste (mmol/l)	2,5 ± 0,8	2,7 ± 0,8	2,4 ± 0,6	2,7 ± 0,8
Lactato pós-teste (mmol/l)	8,4 ± 0,9	7,0 ± 0,8*	8,3 ± 0,8	5,7 ± 1,0 [#]
8ª semana				
Lactato pré-teste (mmol/l)	3,1 ± 0,7	3,0 ± 0,7	2,8 ± 0,9	2,6 ± 0,6
Lactato pós-teste (mmol/l)	8,5 ± 0,7	6,9 ± 0,6*	8,4 ± 0,9	5,7 ± 1,0 [#]

Os resultados foram expressos como média ± desvio-padrão, n = 18 por grupo experimental, [#] p < 0,05 versus outros resultados da mesma linha; * p < 0,05 versus CON e CRE (ANOVA, seguido do teste de Tukey-Kramer de comparação múltipla).

DISCUSSÃO

Os estudos em humanos envolvendo a suplementação de Cr são usualmente divididos em duas fases: (1) fase inicial com a suplementação de doses elevadas de Cr (20 a 30g/dia) durante 5 a 7 dias (fase de carregamento), substituída logo em seguida, (2) pela fase de manutenção, com doses de Cr reduzidas a 1/5 da dose inicial (4 a 6g/dia), durante várias semanas⁽¹⁾. No entanto, como utilizamos ratos neste estudo e a taxa do metabolismo basal, conversão e assimilação de compostos orgânicos é bem mais intensa nestes animais, houve a necessidade de extrapolação das doses de Cr para a real atividade e necessidade metabólica da população estudada. A escolha do regime adotado para a dosagem da suplementação de Cr neste estudo foi feita a partir dos trabalhos realizados em ratos^(5,9,16). Estes estudos observaram que as doses de 5g e 1g de Cr por cada quilograma de massa corporal do animal promoveram efeitos ergogênicos associados a incrementos intramusculares de Cr, equivalentes aos encontrados em humanos nas fases de carregamento e de manutenção, respectivamente.

A literatura apresenta inúmeros trabalhos relacionados ao potencial efeito da Cr sobre o metabolismo anaeróbico, justamente pela característica bioenergética deste composto^(1-3,5). No entanto, poucos estudos discutem os efeitos da suplementação de Cr sobre a resistência metabólica aeróbica. Neste estudo, o interesse foi avaliar justamente o aspecto aeróbico, já que é pouco compreendido. Assim, a carga de trabalho para o treinamento físico foi ajustada individualmente a 80% da suportada durante o teste de carga máxima. Nesta faixa de treinamento, os animais realizariam uma atividade física predominantemente aeróbica⁽¹⁷⁾. Mudanças adaptativas associadas ao treinamento aeróbico podem ser ob-

servadas por alterações em dimensão e em número de mitocôndrias de células musculares, as quais favorecem a produção de ATP aerobicamente e beneficiam exercícios de longa duração⁽¹⁸⁾. Em nosso estudo, pela avaliação da carga máxima tolerada, observamos que mudanças significativas relacionadas ao treinamento (grupo NAT) aconteceram a partir da sexta semana experimental. Além disso, observamos que a suplementação de Cr associada à atividade física poderia beneficiar o desempenho aeróbico já a partir da primeira semana desta associação. Estes achados admitem a possibilidade de a Cr ser ergogênica também em atividades aeróbicas, como já relatado na literatura^(5,13). No entanto, parece haver a necessidade de interação da atividade física com a suplementação de Cr para ganhos mais efetivos no desempenho⁽¹⁻²⁾.

Em adição ao papel de tampão energético anaeróbico gerado pela suplementação de Cr, tem sido proposto que a Cr e a CP atuam como moléculas mensageiras entre as mitocôndrias e os sítios subcelulares de produção e hidrólise de ATP e desta forma possam auxiliar atividades aeróbicas⁽³⁻⁴⁾. No sítio mitocondrial, a ATP sintetizada entra no espaço intermembranoso mitocondrial, onde uma parte é utilizada pela Mi-CQ (creatina quinase mitocondrial) para a formação de ADP e CP. A ADP resultante está, então, favoravelmente situada para ser transportada por uma translocase ao interior da matriz mitocondrial na troca pela ATP da matriz. A CP formada, ao contrário da ADP, difunde-se até a banda M miofibrilar, onde serve localmente para repor ATP, tendo a MM-CQ (creatina quinase miofibrilar) como agente catalisador. A Cr resultante retorna ao espaço intermembranoso mitocondrial para continuar o ciclo⁽³⁻⁴⁾. O aumento do *pool* de Cr, gerado por sua suplementação, favoreceria a perpetuação deste ciclo de formação de ATP e explicaria o melhor rendimento e tolerância à carga nos animais suplementados.

Uma outra possível fundamentação para a suplementação de Cr em exercícios aeróbicos está relacionada com o auxílio da Cr em tamponar as elevações de ADP⁽¹⁹⁾. Relata-se que elevações consideráveis da ADP exercem um efeito inibitório sobre as ATPases celulares, resultando em redução no ciclo de acoplamento das pontes cruzadas dos filamentos musculares⁽¹⁹⁾. Nos sarcômeros em que grandes quantidades de ATP são hidrolisadas, a refoforilação imediata do ADP pela MM-CQ, quando da suplementação, mantém uma baixa concentração de ADP evitando a inativação de miosinas ATPases e não bloqueando a geração de ATP rapidamente^(3-4,19).

Com a ocorrência da hidrólise de ATP durante a contração muscular, são liberados prótons (H⁺). Tem-se sugerido que o aumento dos íons hidrogênio (e diminuição concomitante do pH) durante o exercício intenso contribui para a fadiga. A ressíntese de ATP pela CP acontece consumindo um H⁺. Conseqüentemente, aumentar a capacidade celular de refoforilar imediatamente o ADP e tamponar o H⁺ pode servir para incrementar o rendimento físico de longa duração. Novamente, a suplementação de Cr poderia contribuir neste processo⁽²⁰⁾.

Alguns autores observaram que a suplementação de Cr pode modificar a utilização e formação de substratos energéticos, como a glicose e o lactato, e possivelmente melhorar o desempenho físico durante exercícios prolongados que utilizem preferencialmente o metabolismo aeróbico^(1-2,5,20). Desconhecemos estudos que observem a utilização de glicose concomitantemente à geração de lactato durante atividade física de alta intensidade em populações suplementadas com creatina, um composto que interfere diretamente sobre o metabolismo energético muscular. Em um estudo recente, a influência da suplementação de Cr sobre o metabolismo da glicose e a formação de lactato foi caracterizada detalhadamente⁽²¹⁾. Foi observado que a suplementação de Cr incrementou a expressão do receptor de Cr (CT-1) e dos receptores da glicose (GLUT-4). Com isto, o conteúdo intramuscular de glicogênio e de Cr foi aumentado. Por um mecanismo ainda desconhecido as altas concentrações celulares de Cr e CP atenuaram a ativi-

dade da lactato desidrogenase (LDH), diminuindo a formação de lactato. Além disto, a glicose armazenada sob a forma de glicogênio foi utilizada preferencialmente via glicólise aeróbica (oxidação mitocondrial), haja vista que a atividade da citrato sintase (CS), um marcador da capacidade aeróbica, estava aumentada.

Em nosso estudo também observamos que a suplementação de Cr interferiu com a resposta periférica de glicose e lactato. No entanto, reconhecemos que podemos inferir somente sobre a ocorrência de alterações de formação de lactato e consumo de glicose sem concluirmos como de fato isto ocorreu. Com relação à glicose, observamos redução dos níveis plasmáticos deste nutriente após o teste de carga máxima em todos os grupos experimentais. A literatura reporta que durante atividade física de longa duração e alta intensidade a glicose plasmática contribui substancialmente como substrato energético e assim sua concentração sanguínea pode ser reduzida⁽²²⁾. No entanto, somente os animais do grupo CRE + NAT apresentaram significativas reduções da glicose plasmática após o teste de carga máxima durante todo o estudo. Atribuímos este achado ao fato de a suplementação de Cr poder estimular a secreção de insulina^(8,22) e aumentar a expressão de receptores GLUT-4^(9,22), ambos efeitos hipoglicemiantes. É interessante notar que os animais que foram apenas suplementados (CRE) apresentaram menores concentrações de glicose após o teste de carga máxima até a quarta semana de estudo. Tem sido proposto que a suplementação de Cr a longo prazo pode induzir o mecanismo de *down regulation* para os receptores CT-1 de Cr⁽²³⁾; isto poderia impedir o influxo adicional deste composto para as células musculares e explicar a ausência de redução significativa da glicose plasmática, a partir da quinta semana experimental. Por outro lado, a própria atividade física, fator não presente neste gru-

po (CRE), poderia estimular a expressão dos receptores GLUT-4 e contribuir para os efeitos hipoglicemiantes⁽²⁴⁾. No entanto, como o grupo NAT não apresentou alterações hipoglicêmicas, esta justificativa deve ser melhor compreendida através de estudos futuros que avaliem intensidade e frequência de atividade física diferentes, pois isoladamente não promoveu a queda nas concentrações de glicose após o teste de carga máxima.

O acúmulo de lactato sanguíneo tem sido descrito como um dos fatores responsáveis pelo fenômeno da fadiga muscular e, desta forma, limitador do rendimento físico de longa duração⁽²⁵⁾. Na análise das concentrações plasmáticas de lactato observamos que a suplementação de Cr associada ao exercício físico reduziu o acúmulo de lactato. A suplementação de Cr incrementa o sistema de obtenção de energia dos fosfagênios e diminui a necessidade da utilização de glicólise anaeróbica, a qual gera lactato⁽¹⁻³⁾. Além disto, como descrito anteriormente, parece haver uma inibição da LDH que desviaria a oxidação da glicose para o metabolismo aeróbico⁽²¹⁾. Este fato associado ao incremento do ciclo de renovação de ATP pelas mitocôndrias após a suplementação de Cr justifica uma menor utilização da glicólise anaeróbica e, como consequência, menor produção de lactato^(3,4).

Assim, concluímos que a suplementação de Cr associada ao exercício físico regular de longa duração e intensidade poderia (1) beneficiar o rendimento de atividades físicas predominantemente aeróbicas; (2) reduzir o acúmulo de lactato sanguíneo retardando o aparecimento da fadiga muscular e favorecendo a recuperação após o esforço físico.

Todos os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

REFERÊNCIAS

1. Bembem MG, Lamont HS. Creatine supplementation and exercise performance: recent findings. *Sports Med.* 2005;35:107-25.
2. Kreider RB. Effects of creatine supplementation on performance and training adaptations. *Mol Cell Biochem.* 2003;244:89-94.
3. Greenhaff PL. The nutritional biochemistry of creatine. *Journal of Nutritional Biochemistry.* 1997;11:610-8.
4. Walker JB. Creatine: biosynthesis, regulation and function. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol.* 1979;50:177-242.
5. Brannon TA, Adams GR, Gonniff CL, Baldwin KM. Effects of creatine loading and training on running performance and biochemical properties of rat skeletal muscle. *Med Sci Sports Exerc.* 1997;29:489-95.
6. Ferrante RJ, Andreassen OA, Jenkins BD, Dedeoglu A, Kuemmerle S, Kubilus JK, et al. Neuroprotective effects of creatine in a transgenic mouse model of Huntington's disease. *J Neurosci.* 2000;15:4389-97.
7. Robinson TM, Sewell DA, Hultman E, Greenhaff PL. Role of submaximal exercise in promoting creatine and glycogen accumulation in human skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 1999;87:598-604.
8. Gempel K, Brdizycza D, Kaddurah-Daouk R, Wallimann T, Kaufhold P, Gerbitz KD. The creatine analog cyclocreatine increases insulin secretion in INS-1 cells via K⁺ channel independent mechanism. *Diabetologia.* 1996;39:31-7.
9. Op'T Eijnde B, Urso B, Richter EA, Greenhaff PL, Hespel P. Effect of oral creatine supplementation on human muscle GLUT-4 protein content after immobilization. *Diabetes.* 2001;50:18-23.
10. Young JC, Young RE. The effect of creatine supplementation on glucose uptake in rat skeletal muscle. *Life Sci.* 2002;71:1731-7.
11. Voltarelli FA, Gobatto CA, Mello MAR. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. *Braz J Med Biol Res.* 2002;35:1389-94.
12. Brooks GA. Intra- and extracellular lactate shuttles. *Med Sci Sports Exerc.* 2000;32:790-9.
13. Stroud MA, Holliman D, Bell D, Green AL, Macdonald I, Greenhaff PL. Effect of oral creatine supplementation on respiratory gas exchange and blood lactate accumulation during steady-state incremental treadmill exercise and recovery in man. *Clin Sci (Colch).* 1994;87:707-10.
14. Osorio RA, Silveira VL, Maldjian S, Morales A, Christofani JS, Russo AK, et al. Swimming of pregnant rats at different water temperatures. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* 2003;135:605-11.
15. Osorio RA, Christofani JS, D'Almeida V, Russo AK, Picarro IC. Reactive oxygen species in pregnant rats: effects of exercise and thermal stress. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol.* 2003;135:89-95.
16. Tarnopolsky MA, Bourgeois JM, Snow R, Keys S, Roy BD, Kwiecein JM, et al. Histological assessment of intermediate and long-term creatine monohydrate supplementation in mice and rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2003;285:762-9.
17. Sampaio-Barros MM, Farias-Silva E, Grassi-Kassisse DM, Spadari-Bratfisch RC. Effect of swimming session duration and repetition on metabolic markers in rats. *Stress.* 2003;6:127-32.
18. Bizeau ME, Willis WT, Hazel JR. Differential responses to endurance training in subsarcolemmal and intermyofibrillar mitochondria. *J Appl Physiol.* 1998;85:1279-84.
19. McMillnen J, Donovan CM, Messer JI, Willis WT. Energetic driving forces are maintained in resting rat skeletal muscle after dietary creatine supplementation. *J Appl Physiol.* 2001;90:62-6.
20. Vandenbergue K, Goris M, Van Hecke P, Van Leemputte M, Van Gerven L, Hespel P. Long-term creatine intake is beneficial to muscle performance during resistance training. *J Appl Physiol.* 1997;83:2055-63.
21. Ceddia RB, Sweeney G. Creatine supplementation increases glucose oxidation and AMPK phosphorylation and reduces lactate production in L6 rat skeletal muscle cells. *J Physiol.* 2004;555:409-21.
22. Rooney K, Bryson J, Phuyal J, Denyer G, Caterson I, Thompson C. Creatine supplementation alters insulin secretion and glucose homeostasis in vivo. *Metabolism.* 2002;51:518-22.
23. Guerrero-Ontiveros ML, Wallimann T. Creatine supplementation in health and disease. Effects of chronic creatine ingestion in vivo: down regulation of the expression of creatine transporter isoforms in skeletal muscle. *Mol Cell Biochem.* 1998;184:427-37.
24. Kraniou GN, Cameron-Smith D, Hargreaves M. Effect of short-term training on GLUT-4 mRNA and protein expression in human skeletal muscle. *Exp Physiol.* 2004;89:559-63.
25. Khanna GL, Manna I. Supplementary effect of carbohydrate-electrolyte drink on sports performance, lactate removal & cardiovascular response of athletes. *Indian J Med Res.* 2005;121:665-9.