

ASPECTOS HEMODINÂMICOS DE RATOS TREINADOS E COM SUPLEMENTAÇÃO DE CREATINA

Christoffer Novais de Farias Silva* (IC), Rodrigo Martins de Miranda (IC), Patrícia Maria Ferreira (PQ), Ruy de Souza Lino Junior (PQ), Lílian Fernanda Pacheco Moreira de Souza (PQ)

cnfs94@gmail.com

Universidade Estadual de Goiás UnU ESEFFEGO

Resumo: A creatina é um suplemento alimentar que pode influenciar no desempenho físico nos exercícios anaeróbios. Objetivamos avaliar aspectos hemodinâmicos de ratos tratados com creatina e submetidos ao treinamento de força a fim de entender seus efeitos na função renal. Trata-se de um estudo experimental com 24 ratos no total, subdivididos igualmente em 4 grupos: Sedentário (S), Somente Creatina (SC), Treinados (T) e Treinados com suplementação de creatina (SC). Os animais do grupo T e TC foram submetidos ao treinamento de força com o protocolo de 10 saltos, os grupos SC e TC foram suplementados em todos os dias de experimentos, e ambos os grupos tiveram a pesagem dos dias de intervenção. Após o procedimento experimental, foi feita a coleta de urina e sangue e a cirurgia para a retirada dos rins, tibia, coração, baço e fígados com o fim de análises bioquímicas e histológica. Como conclusão do estudo, foi achado que a suplementação de creatina sozinha não trouxe deletérios a função renal, em contrapartida, em associação com o treinamento, análises mostram uma possível lesão nos rins.

Palavras-chave: *Função Renal. Creatinina. Treinamento.*

Introdução

A creatina se trata de um suplemento alimentar, que segundo Carvalho, Molina e Fontana (2011), pode influenciar no desempenho físico nos exercícios anaeróbios. Esse fato se dá por conta da potencialização que a creatina tem de resintetizar a adenosina trifosfato proporcionando uma maior oferta de energia e força.

Mesmo sendo um suplemento que vem sendo muito utilizado e que em vários estudos vem mostrando sua capacidade benéfica ao desempenho humano, ainda faltam evidências científicas mostrando concretamente qual sua real influência na função renal. No estudo de Vieira et al. (2008), por exemplo, eles trazem alguns casos que a suplementação de creatina causou efeitos colaterais sobre os rins.

No entanto, Carvalho et al. (2011) ao avaliarem a função renal em adultos praticantes de musculação encontraram que a suplementação de creatina nas doses de 0,03g/kg e 5g/dia não alteraram as funções renal e hepática.

Desse modo, se perfaz de suma importância que se estude e comprove o quanto de força a creatina pode proporcionar aos ratos e até que quantidade pode ser indicado não causando deletérios na função renal do animal.

OBJETIVO

Avaliar aspectos hemodinâmicos de ratos tratados com creatina e submetidos ao treinamento de força.

Material e Métodos

Foram 24 ratos Wistar machos do biotério do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás (ICB UFG) com peso entre 180 a 200 g. Os ratos ficaram no biotério setorial do ICB com temperatura e ciclo claro/escuro controlados. A alimentação foi por ração comercial própria para ratos e os ratos não tinham restrição de comida e água.

Protocolos experimentais

Administração de creatina

Para o desenvolvimento deste protocolo os ratos foram divididos em 4 grupos (seis ratos em cada grupo) experimentais:

Um grupo foi sedentário, não foi submetido ao treino de força e não teve a suplementação de creatina (S).

Outro foi sedentário com a suplementação de creatina e não foi submetido ao treinamento de força (SC).

O terceiro foi o grupo treinado que não teve a suplementação de creatina (T).

E o grupo com ratos treinados e com suplementação de creatina (TC).

Os grupos SC e TC receberam suplementação de creatina monohidratada e micronizada HPLC (Probiótica, São Paulo/Brasil) (VIEIRA et al., 2008) durante todo o procedimento de treinamento. A dose usada foi de 0,430g/kg do peso corporal/dia. Esta dose foi equivalente à dose de 30g considerando um homem de 70 kg (FRANCO et al., 2007). A creatina foi diluída em 15 ml de água e ministrada via gavagem (BARACHO et al., 2015).

Treinamento de força

O treinamento de força foi executado de acordo com o protocolo de Oliveira et al., (2002) com as adaptações realizadas pelo laboratório de Fisiologia da UFG. Foi calculada a altura do animal considerando a distância da cauda até o focinho para que assim possa ser calculada a profundidade da água que foi de 10 cm acima da altura de cada animal. O treino foi dentro de tubos de PVC (diâmetro: 30 cm e altura: 55 cm) fechado em sua extremidade inferior.

Para além do peso corporal, foi usado como sobrecarga (20% a 50% do peso corporal), pequenas esferas de chumbo que foram colocadas em saquinhos plásticos e amarradas no corpo do animal. O treinamento de força consistiu no salto vertical do animal até que a narina ficasse para fora da água, sendo este realizado dez vezes. O treinamento foi realizado três vezes na semana, com um total de oito semanas.

Cirurgia

Depois do treinamento de força, os ratos individualmente ficaram em gaiolas metabólicas por 24 horas, para poder ser medido logo após o volume de urina (24h), a ingestão de água, ingestão de ração e o peso dos animais. Após medir o volume urinário (ml/24h), a urina coletada foi centrifugada 3000 rpm por 5 minutos e uma alíquota de 1 ml foi transferida para tubo de microcentrífuga, etiquetado e congelado. Essas amostras foram submetidas às dosagens de creatinina plasmática e urinária e a proteinúria.

Em seguida, foi aplicado nos animais a anestesia com tiopental sódico (30 mg/Kg, ip). Os animais foram colocados na mesa de cirurgia onde ficaram em posição de decúbito dorsal para que fosse feita a abertura em seu abdômen de modo que as paredes abdominais sejam rebatidas. Aproximadamente, um ml de sangue foi coletado por punção da veia cava. O sangue foi colocado em tubo de microcentrífuga heparinizado e centrifugado a 3000rpm por 5 minutos. O plasma sobrenadante foi então transferido para outro tubo de microcentrífuga, etiquetado e congelado. Estas amostras de plasma foram usadas para a determinação de creatinina.

Após cirurgia, com auxílio de uma tesoura cirúrgica, o rim direito foi removido e pesado. O órgão foi colocado em solução de formol tamponado a 10%. O rim esquerdo também foi extirpado e pesado. Os rins direitos foram encaminhados para o Laboratório de patologia da UFG, onde foram submetidos às técnicas convencionais de coloração (eosina-hematoxilina) para análise histopatológica e verificação de infiltração de mononucleares indicadores de processos inflamatórios.

Dosagens

Creatinina

A creatinina plasmática e urinária foi usada para obtenção dos valores do ritmo de filtração glomerular (RFG). Foi usado kit Kovalente WS.

Quantidade de proteína na urina

A determinação da proteinúria foi feita por espectrofotometria a partir da utilização do Kit Doles e foi expressa em mg/dl.

Análise estatística

Todos os dados foram mostrados como média $\pm$ erro padrão da média ($X \pm$ EPM). O teste estatístico usado foi t de students. O programa estatístico utilizado foi o Graph Pad Prism 6.0 (Graph Pad Software, San Diego, CA/USA).

Aspectos éticos

Esse estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Goiás (Número do parecer: 012.16).

Resultados e Discussão

A partir da presente pesquisa, buscou-se conhecer os efeitos que a utilização de creatina monohidratada associada ao treino de força pode acarretar ao sistema renal de ratos Wistar adultos.

Peso corporal, peso dos rins, coração, relação baço-peso corporal e relação ventrículo esquerdo-peso corporal

O peso corporal dos ratos aumentou durante o período de treinamento, porém não houve diferença significativa entre os grupos pesquisados.

Na relação do peso do rim direito com o peso corporal do animal, houve um maior aumento dos ratos treinados ($0,35 \pm 0,008$) quando comparados com os sedentários ($0,32 \pm 0,008$) e sedentários suplementados ($0,31 \pm 0,003$), assim como os do grupo TC ($0,36 \pm 0,009$) comparados ao grupo S ($0,32 \pm 0,008$) e SC ($0,31 \pm 0,003$).

Já na relação do rim esquerdo o grupo SC ($0,30 \pm 0,006$) teve valores significativamente menores quando comparados com o grupo T ($0,35 \pm 0,01$) e TC ($0,35 \pm 0,01$).

Quanto ao peso do coração do animal, o grupo sedentário ($1,29 \pm 0,04$) apresentou maior ganho de peso comparado ao grupo sedentário com creatina ($1,17 \pm 0,02$) conforme pode ser visto na tabela 1.

Vemos que nossos resultados entram de acordo com outros estudos, assim como os de Ferreira et al. (2005), Taes et al. (2003), e Vieira et al. (2008) onde é observado que o peso corporal entre os grupos de treinamento, suplementados e sedentários não tem diferença significativa.

Tabela 1- Peso corporal, peso dos rins, coração, relação baço-peso corporal e relação ventrículo esquerdo-peso corporal em ratos ao longo de oito semanas de treinamento de força e suplementação com creatina.

Parâmetro	Grupos			
	S (n=6)	SC (n=6)	T (n=6)	TC (n=6)
Peso corporal (g)	380,8 $\pm$ 14,16	368,9 $\pm$ 10,8	353,3 $\pm$ 13,76	349,1 $\pm$ 10,16
	5			
Peso rim direito/peso corporal*100	0,32 $\pm$ 0,008	0,31 $\pm$ 0,003	0,35 $\pm$ 0,008 [#]	0,36 $\pm$ 0,009 ^{##}
			&	&
Peso rim esquerdo/peso corporal*100	0,32 $\pm$ 0,001	0,30 $\pm$ 0,006	0,35 $\pm$ 0,01 ⁺	0,35 $\pm$ 0,01 ⁺
Peso do coração (g)	1,29 $\pm$ 0,04	1,17 $\pm$ 0,02*	1,20 $\pm$ 0,05	1,18 $\pm$ 0,05

Peso Baço/peso corporal *100	0,195± 0,005	0,21±0,01	0,19± 0,01	0,20± 0,005
VE/Peso corporal *100	0,25± 0,010	0,23± 0,008	0,26±0,010	0,25± 0,007

Resultados expressos como média e desvio padrão. *, +, #, & = p<0.05.

Fluxo urinário, Ingestão de água e de ração

A tabela 2 mostra a ingestão de água, ingestão de ração e o fluxo urinário durante as oito semanas de treinamento. Pode-se observar que o fluxo urinário do grupo TC (13,2 ± 1,0) foi menor quando comparado ao grupo SC (16,5 ± 1,1) e que a ingestão de ração foi menor no grupo T (18,2 ± 0,7) em relação ao SC (20,0 ± 0,37).

É observado então que a creatina pode ter influenciado no fluxo urinário em relação ao grupo que foi suplementado com a creatina. De acordo com Silva e Bracht (2001), a ingestão de água dos animais aumentam por conta da retenção hídrica intracelular que acontece durante a suplementação da creatina, e nesse período o fluxo urinário também diminui consequentemente.

Tabela 2- Fluxo urinário, Ingestão de água e de ração em ratos ao longo de oito semanas de treinamento de força e suplementação com creatina.

Parâmetro	Grupos			
	S (n=6)	SC (n=6)	T (n=6)	TC (n=6)
Fluxo urinário (ml/24h)	13,5 ± 1,6	16,5 ± 1,1	13,0 ± 1,6	13,2 ± 1,0*
Ingestão de água (ml/24h)	36,5 ± 2,3	34,2 ± 6,56	28,7 ± 4,6	28,7 ± 4,51
Ingestão ração (g/24h)	21,0 ± 1,6	20,0 ± 0,37	18,2 ± 0,7 ⁺	20,7 ± 1,7

Resultados expressos como média e desvio padrão. *, + = p<0.05.

Proteinúria

A Figura 1 mostra que o grupo TC (26,38±1,94) teve valores maiores em vista dos grupos SC (9,59±1,84) e T (11,33±1,00). Podendo então o treinamento ter

aumentado em associação com a creatina a quantidade de proteinúria, que é um marcador comum de doenças renais.

No grupo que somente teve a suplementação de creatina, assim como no estudo de Taes et al. (2003), não demonstrou nenhum deletério renal e mudanças nas concentrações de proteinúria, já que o corpo sem necessidade de uso da creatina o elimina do corpo. Já em associação com o exercício, a concentração de creatina intramuscular aumenta por causa da demanda muscular no uso total da fosfocreatina para geração de energia.

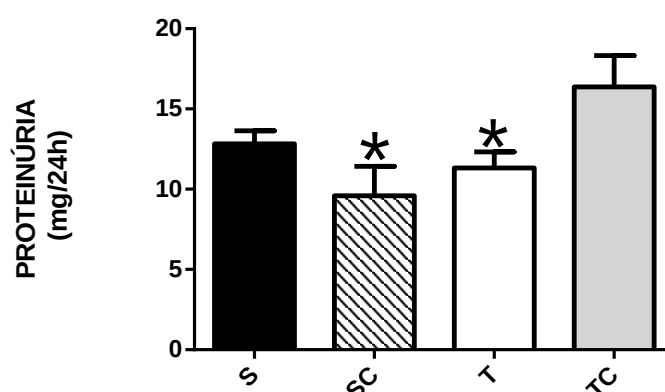


Figura 1. Proteinúria em ratos ao longo de oito semanas de treinamento. S (Sedentário-Controle); SC (sedentário e creatina); T (treinado), TC (treinado com creatina). * $p < 0,05$ vs TC.

Ritmo de filtração glomerular

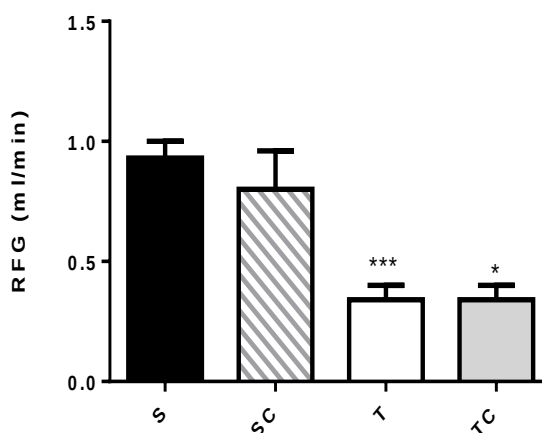


Figura 2. Ritmo de Filtração Glomerular em ratos ao longo de oito semanas de treinamento. S (Sedentário-Controle); SC (sedentário e creatina); T (treinado); TC (treinado com creatina). * $p < 0,05$.

Conforme é mostrado na figura 2, o RFG do grupo T ($0,34 \pm 0,06$) foi menor que o grupo S ($0,93 \pm 0,07$), assim como o grupo TC ($0,34 \pm 0,06$) comparado ao grupo SC ($0,80 \pm 0,16$).

No presente estudo vemos que assim como estudo de Taes et al. (2003), não houve diminuição acentuada do RFG do grupo com a suplementação de creatina quando comparado ao grupo sedentário e não suplementado.

No estudo de Ferreira et al. (2005) o grupo suplementado teve uma diminuição do RFG quando comparado ao grupo controle, e o grupo dos animais que se exercitaram e foram suplementados com a creatina, tiveram o RFG maior que o grupo sedentário após o experimento. Em contrapartida, nesse estudo os grupos que tiveram o treinamento com ou sem a suplementação apresentaram o RFG baixo em comparação ao sedentário e ao que teve a suplementação de creatina.

Creatinina plasmática e urinária

Na tabela 3 mostra a creatinina plasmática aumentada do grupo TC ($0,36 \pm 0,01$) em relação aos grupos S ($0,21 \pm 0,04$), SC ($0,20 \pm 0,02$) e T ($0,28 \pm 0,02$).

Na creatinina urinária o S ($17,5 \pm 2,1$) teve o valor maior que os grupos SC ($12,7 \pm 1,49$) e T ($11,7 \pm 1,6$).

Nos dados da tabela 3, é mostrado novamente que o grupo que somente teve a suplementação da creatina não teve deletérios renais pelos baixos valores na quantidade de creatinina. Porém, no grupo que teve a suplementação e o treinamento de força teve valores maiores em comparação aos demais grupos. Gualano et al. (2008) mostra que não somente pode ser uma indicação de lesão renal quando os valores são altos, mas também a massa magra pode influenciar na quantidade de creatinina por esse ser produto da degradação em uma proteína muscular. Deste modo, o valor alto do grupo TC em relação aos demais, também pode ser explicado pelo treinamento efetivo no ganho de massa magra.

Tabela 3- Concentração plasmática e urinária de creatinina (mg/dl) em ratos ao longo de oito semanas de treinamento de força e suplementação com creatina

Parâmetro	Grupos			
	S (n=6)	SC (n=6)	T (n=6)	TC (n=6)
Creatinina plasmática (mg/dl)	0,21 ± 0,04**	0,20 ± 0,02***	0,28 ± 0,02**	0,36 ± 0,01
Creatinina urinária (mg/dl)	17,5 ± 2,1	12,7 ± 1,49 [#]	11,7 ± 1,6 [#]	13,2 ± 2,22

Resultados expressos como média e desvio padrão. *: # = p<0.05.

Considerações Finais

Apesar de vários estudos mostrarem que a creatina pode trazer deletérios à função renal, este estudo vem para corroborar com o fato de somente a suplementação da creatina não prejudicar os rins. Porém é achado que a creatina em associação com o treinamento de força altera os valores da proteinúria, creatinina e RFG encaminhando nesse processo de 8 semanas para uma lesão renal.

Agradecimentos

Agradeço a minha orientadora, Professora Dra. Lílian Fernanda Pacheco Moreira de Souza pela amizade, companheirismo, compreensão, paciência e compromisso profissional na orientação deste trabalho. Agradeço a Universidade Federal de Goiás pela disponibilização do local para a coleta de dados e a todos os colegas que contribuíram de alguma forma para a realização da pesquisa.

Por fim, agradeço a Universidade Estadual de Goiás pela bolsa fornecida e pelo incentivo à pesquisa.

Referências

BARACHO, N. C. V. et al. Study of renal and hepatic toxicity in rats supplemented with creatine. **Acta Cirurgica Brasileira** [online], v.30, n.5, pp. 313-318, 2015.

CARVALHO, A. P. P. F.; MOLINA, G. E.; FONTANA K. E. Suplementação com Creatina Associada ao Treinamento Resistido não Altera as Funções Renal e

Hepática. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**. Vol. 17, Nº 4 – Jul/Ago, 2011.

FERREIRA, L. G. Effects of creatine supplementation on body composition and renal function in rats. **Med. Sci. Sports Exerc.** 2005; 37: 1525-9.

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**, v.13, n. 5, p.297-302, 2007.

GUALANO, B. et al. A Suplementação de Creatina Prejudica a Função Renal? **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 14, p.68-73, 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**, v.8, n. 6, p. 1-6, 2002.

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

TAES, Y. E. et al. Creatine supplementation does not affect kidney function in an animal model with pre-existing renal failure. **Nephrol Dial Transplant** 2003; 18: 258-64.

VIEIRA, R. P. et al. Efeitos da suplementação oral com creatina sobre o metabolismo e a morfologia hepática em ratos. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 14, n. 1, p. 38-41, 2008.