

A SUPLEMENTAÇÃO DE CREATINA ALTERA PARÂMETROS DA FUNÇÃO RENAL EM RATOS TREINADOS?

Rodrigo Martins de Miranda* (IC), Christoffer Novais de Farias Silva (IC), Patrícia Maria Ferreira (PQ), Ruy de Souza Lino Junior (PQ), Lílian Fernanda Pacheco Moreira de Souza (PQ)
rodrigommartins04@gmail.com

Universidade Estadual De Goiás

Resumo: A creatina é um ergogênio eficaz no aumento de reservas de energia muscular durante o treinamento físico. Porém, ainda existem discordâncias científicas em relação aos possíveis efeitos colaterais à função renal. Assim, nosso objetivo foi avaliar os parâmetros da função renal de ratos suplementados com creatina e submetidos ao treinamento de força. Sendo um estudo com 24 ratos Wistar que foram divididos em grupos dos quais: Sedentário(S), Sedentário com creatina (SC), Treinados (T), Treinado com creatina (TC). O treinamento de força e a suplementação de creatina foram feitos durante 8 semanas. Após esse procedimento, foi feita a coleta de urina e com a cirurgia, foi feita a coleta de sangue e retirada dos rins, do baço e do coração para as análises necessárias. Foi observado que, o treinamento de força associado ao uso de creatina alterou alguns parâmetros de osmolaridade urinária, osmolaridade plasmática e clearance de água livre, indicando alterações no balanço hídrico e possíveis modificações na função renal.

Palavras-chave: Suplemento esportivo. Função Renal. Treino de Força.

Introdução

A creatina (Cr) tem sido um auxílio para muitos atletas que, buscam de forma rápida e intensa um melhor desempenho na atividade física, pois é um ergogênico potente no aumento das reservas de energia muscular, quando adaptado a treinamento de alta intensidade e de pouca duração (Peralta et al, 2002). Ainda que muito utilizada, não há concordância científica de seus efeitos colaterais relacionados à função renal.

Estudos mostram que a suplementação de creatina em ratos não treinados, pode resultar em impactos negativos na função hepática e renal, diferente quando em ratos submetidos ao treino. Torna-se claro que a atividade física pode evitar o surgimento de efeitos colaterais com o consumo da creatina.

Assim, é considerável que mais estudos sejam necessários para comprovar a eficácia da creatina quanto ao aumento de força dos ratos e seus possíveis efeitos ocasionais, permitindo relacionar metodicamente o uso da Cr pelo animal.

Material e Métodos

Foram utilizados 24 ratos Wistar machos procedentes do Centro de Bioterismo (CEBIO) do ICB da Universidade Federal de Goiás. Todos os procedimentos foram conduzidos de acordo com os princípios éticos da Experimentação Animal elaborado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e após aprovação pelo COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CoEP / UFG.

Não foram usados agentes infecciosos nesse estudo.

PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS

Administração de creatina

Os ratos foram divididos em 4 grupos sendo: sedentário (S) não foi treinado e não receberam suplementação de creatina, sedentário + creatina (SC) não foi treinado mas receberam a suplementação de creatina, treinado (T) foi treinado porém não receberam suplementação de creatina, treinado + creatina (TC) foi treinado e receberam suplementação de creatina. Usou-se creatina monohidratada e micronizada HPLC (Probiótica, São Paulo/Brasil) (VIEIRA et. al., 2008) diariamente durante todo o procedimento. 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: os ratos foram colocados dentro de tubos de PVC (diâmetro: 30cm e altura: 55cm) fechado em sua extremidade inferior. Para se anexar a sobrecarga (20 a 50% do peso

corporal) necessária para a realização do treinamento de força, pequenas esferas de chumbo foram colocadas em saquinhos plásticos e amarradas no corpo do animal. A profundidade da água foi de 10 cm acima da altura de cada animal, sendo, a altura calculada considerando a cauda e o focinho. O treinamento consistiu em 10 saltos de impulsão vertical até que a narina do animal fique para fora da água. Os exercícios foram realizados por 8 semanas, três vezes por semana.

Ganho de peso corporal e peso renal

Os animais foram pesados semanalmente para avaliação do ganho de peso corporal ao longo dos experimentos e do peso renal após os procedimentos cirúrgicos.

Procedimento cirúrgico

Ao término do período de treinamento de força (saltos verticais) os ratos foram colocados, individualmente, em gaiolas metabólicas por 24 horas. Após esse período o volume de urina (24h), a ingestão de água e o peso dos animais foram medidos. 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 proteinúria e osmolaridade.

Em seguida, os animais foram anestesiados com tiopental sódico (30mg/Kg, ip) e mantidos em decúbito dorsal em mesa cirúrgica e foi feita uma incisão longitudinal no abdômen do animal de modo que as paredes abdominais sejam rebatidas. Aproximadamente, 1 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 da osmolaridade.

Em seguida, 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 Histologia - ICB/UFG, onde foram submetidos às técnicas

convencionais de coloração (eosina-hematoxilina) para análise histopatológica e verificação de infiltração de mononucleares indicadores de processos inflamatórios.

Para a avaliação efetiva do treinamento de força o ventrículo esquerdo foi pesado.

Determinação das Osmolaridades plasmática e urinária

A determinação das osmolaridades plasmática e urinária foi feita através de osmometria de congelamento, usando padrões com osmolaridades apropriadas para as amostras de urina e plasma (100, 290 e 500 mOsm/Kg). Conhecendo-se as osmolaridades plasmática e urinária, alguns parâmetros podem ser quantitativamente avaliados, conforme as equações: $C_{osm}(ml/min) = [Osmolaridade_{urina}(\mu Osm/ml) / Osmolaridade_{plasmática}(\mu Osm/ml)] \times FU (ml/min)$ / $CH_2O(ml/min) = Fu (ml/min) - C_{osm}(ml/min)$.

C.'clearance'; osm,osmolar.

Análise estatística

Os resultados foram apresentados como média $\pm$ erro padrão da média ($X \pm EPM$). O teste estatístico usado foi teste t de *student* e o programa estatístico foi o GraphPadPrism 6.0 (GraphPad Software, San Diego, CA/USA)

Resultados e Discussão

Os resultados aqui apresentados referem-se aos efeitos que a utilização de creatina monohidratada associada ao treino de força pode acarretar ao sistema renal de ratos Wistar adultos.

Fluxo urinário, Ingestão de água e de ração

Em relação ao fluxo urinário, os ratos do grupo TC ($13,2 \pm 1,0$) apresentaram significativamente menor volume urinário quando comparado ao grupo SC ($16,5 \pm 1,1$).

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

Tabela 1- Fluxo urinário (ml/24h), ingestão de água (ml/24h) e ingestão de ração (g/24h) em oito semanas de treinamento. S- (Sedentário-Controle); SC (sedentário e creatina); T, treinado, TC- treinado com creatina. * **TC vs SC**; +**T vs SC**.

Peso corporal, coração, rim e baço

A tabela 2 mostra os valores referentes o peso corporal, do coração, rins e baço de ratos tratados com creatina e submetidos ao treinamento de força por 8 semanas.

Parâmetro	Grupos			
	S (n=6)	SC (n=6)	T (n=6)	TC (n=6)
Peso corporal (g)	380,8±14,16	68,9±10,85	53,3 ± 13,76	349,1±10,16
Peso do coração (g)	1,29 ± 0,04	,17± 0,02*	1,20± 0,05	1,18± 0,05
Peso ventrículo esquerdo (g)	0,98 ± 0,03	,87± 0,02	0,93± 0,04	0,88± 0,03
Peso rim direito/peso corporal*100	0,32 ± 0,008	,31 ± 0,003	,35± 0,008#;&	36± 0,009##;&
Peso rim esquerdo/ peso corporal*100	0,32±0,001	,30±0,006	0,35±0,01+	0,35±0,01+
Peso Baço/peso corporal *100	0,195± 0,005	0,21±0,01	0,19± 0,01	0,20± 0,005

Tabela 2- Peso corporal (g), coração (g), rins direito e esquerdo (g) e baço (g) em ratos ao longo de 8 semanas de treinamento. S-(Sedentário-Controle); SC-(sedentário e creatina); T-(treinado); TC-(treinado com creatina). *S vs SC (p=0,02); #S vs T (p=0,024); ## S vs TC (p= 0,007); & SC vs T (p=0,0009); & SC vs TC (p= 0,0004) (RIM DIREITO) + T vs SC; + TC vs SC (RIM ESQUERDO).

A partir dos dados apresentados temos que, o peso corporal (PC) dos animais do grupo S (380,8±14,16) não apresentou diferença significativa quando comparado ao grupo T (353,3 ± 13,76). Diferentemente o estudo de Amadeu (2011) junto a outros experimentos mostra que, os ratos submetidos ao treinamento aeróbio obtiveram menor PC que os ratos sedentários justificando então que, a intensidade no

treinamento usado em diferentes protocolos pode proporcionar resultados diferentes como no atual estudo.

Contudo, o acompanhamento frequente do ganho/perda de PC é importante para esse experimento uma vez que, facilita na explicação de outras variáveis como a massa cardíaca. E esse atual experimento, não encontrou entre os grupos diferença significativa quanto à massa cardíaca relacionada ao PC ou comprimento da tíbia, por consequência de treinamento de força e a suplementação de creatina. Amadeu (2011) apresenta em seu estudo com ratos hipertensos o caso de hipertrofia cardíaca após treinamento físico, especificamente o aumento do ventrículo esquerdo, portanto, nos ratos normotensos não foi encontrado nenhum dado relevante de hipertrofia cardíaca, assim destaca-se o treinamento físico como forma de prevenção de hipertrofia cardíaca em situação patológica.

Embora não tenha sido observado aumento significativo do ventrículo esquerdo nos ratos treinados, outros indícios indicam que o treinamento foi efetivo, como menor ganho de peso corporal pelos animais treinados.

Sobre o peso dos rins relacionados ao peso corporal obtivemos um resultado significativamente menor do rim direito do grupo SC ($0,31 \pm 0,003$) em relação aos grupos T ($0,35 \pm 0,008$) e TC ($0,36 \pm 0,009$) o que pode ser explicado pelo estudo de Souza et al (2009), onde um grupo de ratos suplementados com creatina durante 8 semanas sem treinamento físico, tiveram algumas alterações estruturais indicando possíveis danos renais. Portanto, o presente estudo não pôde comprovar alterações específicas por falta de análise histológica dos referidos órgãos.

Osmolaridade urinária e plasmática

Os parâmetros aqui apresentados relatam que, os grupos S e SC apresentaram menores condições nas funções de balanço hídrico quando comparados aos grupos TC e SC, perante análise da osmolaridade do plasma e da osmolaridade da urina.

Parâmetro	Grupos			
	S (n=6)	SC (n=6)	T (n=6)	TC (n=6)

Osmolaridade urinária (mOsm/Kg)	1300 ±197,3	1734 ± 71	1890 ± 209	2042 ± 101*
Osmolaridade plasmática (mOsm/Kg)	307,8 ± 4,42	301,8 ± 9,5	324 ± 5,37+	332 ± 6,0#

Tabela 3- Osmolaridade urinária (mOsm/Kg) e Osmolaridade plasmática (mOsm/Kg) de ratos submetidos a 8 semanas de treinamento. S-(Sedentário-Controle); SC-(sedentário e creatina); T-(treinado), TC-(treinado com creatina). *TC vs SC (p=0,03); *T vs S (p=0,04).

Clearence osmolar

O gráfico 1 mostra o clearence osmolar que, quando comparado entre os grupos S e SC teve-se um resultado significativo, assim como nos grupos T e S.

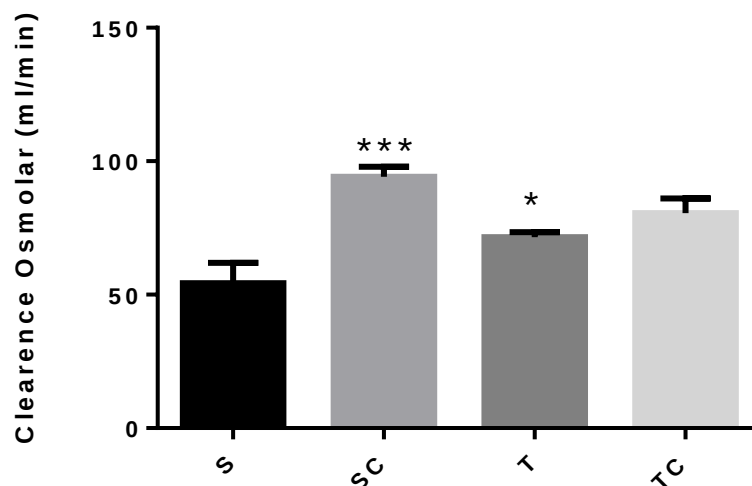


Figura 1- Clearence de Osmolar (ml/min) em ratos ao longo de 8 semanas de treinamento. S- (Sedentário-Controle); SC (sedentário e creatina); T-(treinado); TC-(treinado com creatina). * p = 0,0008 S vs SC ; *p= 0,05 T vs S.**

Clearence de água livre

No que diz respeito ao *clearence* de água livre, o grupo T consideravelmente apresentou menor valor quando comparado com o grupo S e com grupo TC, assim é apresentado na figura 2.

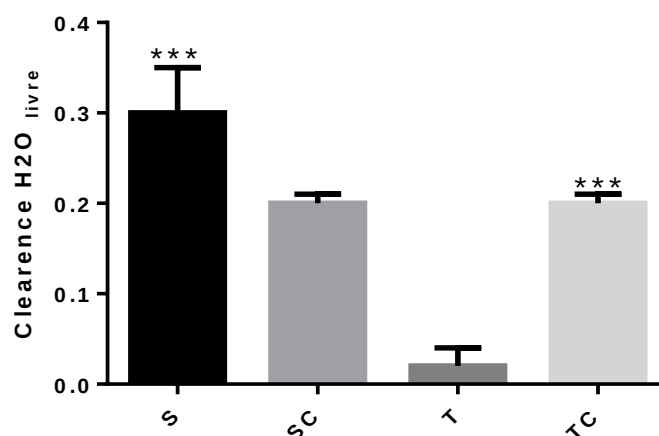


Figura 2- Clearance de água livre (ml/min) em ratos ao longo de 8 semanas de treinamento. S- (Sedentário-Control); SC- (sedentário e creatina); T-(treinado); TC-(treinado com creatina). *** p = 0,0004 S vs T ; ***p= 0,0001 T vs TC

Ao analisar outras variáveis como o fluxo urinário e clearance osmolar e de água livre, que por sua vez são fatores relevantes para o entendimento funcional dos rins, temos que o grupo SC apresentou maiores índices de clearance osmolar e de fluxo urinário, o que traz como resultado positivo a cerca da funcionalidade dos rins. Diferentemente do estudo de Souza et al (2009) os ratos sedentários suplementados com creatina apresentaram possíveis distúrbios renais após 8 semanas, porém, trata-se de uma suplementação suprafisiológica diferente do atual experimento.

Embora, vários estudos atestem o consumo da creatina como um composto ergogênico potente, principalmente na intensificação de performance de atletas de alto rendimento, há muitos estudos com animais que tentam comprovar seus efeitos deletérios sobre a função renal e hepática, em contrapartida alguns estudos feitos com humanos mostram que a creatina não causou nenhum dano à função renal, considerando que seja um composto habitual do ser humano e não está inerente a dieta dos animais estudados.

Considerações Finais

A partir dos achados nesse trabalho, podemos concluir que o treinamento pôde promover alterações relacionadas à função renal e que a associação entre treinamento e creatina alterou parâmetros como osmolaridade tanto urinária quanto plasmática. No entanto, a análise histológica se faz necessária para que a avaliação da estrutura renal possa confirmar as possíveis alterações morfológicas decorrentes

do uso de creatina. Quanto à efetividade do treinamento de força, embora o ventrículo esquerdo dos animais treinados não tenha sido significativamente maior, outros parâmetros indicam que o treinamento foi eficiente.

A análise de outros marcadores da função renal é necessária para melhor elucidar as possíveis alterações que o uso da creatina associada ou não ao treinamento pode promover.

Agradecimentos

Quero agradecer a UnU ESEFFEGO, pela oportunidade de participar desse projeto de iniciação científica com incentivo da bolsa, e dizer ainda que sou muito grato a Professora Lílian Fernanda Pacheco Moreira de Souza pois, fazendo jus ao seu papel de professora-pesquisadora, me orientou durante todo trabalho com muita paciência, carinho e dedicação, mostrando grandes possibilidades através da pesquisa.

Referências

AMADEU, M.A. Expressão de microRNAs no coração de ratos espontaneamente hipertensos (SHR) submetidos á treinamento físico aeróbio. **Dissertação de mestrado apresentada ao curso de Pós-Graduação da Escola Superior de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo.** São Paulo-2011.

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.

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.

SOUZA, A.R. et al. Effects of high-dose creatine supplementation on kidney and liver responses in sedentary and exercised rats. **Journal of Sports Science and Medicine**, (2009) 8, 672-681.

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.

PERALTA, J; OLGA, M.S.A. A creatina como suplemento ergogênico para atletas. **Revista de Nutrição**, v.15, n.1, p. 84-90, 2002.