

GABRIEL ELIAS OTA

**INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO COM CREATINA SOBRE O PERFIL
METABÓLICO SISTÊMICO E MARCADORES DE REMODELAÇÃO DO
MIOCÁRDIO DE RATOS SUBMETIDOS A EXERCÍCIO FÍSICO RESISTIDO**

Campo Grande
2017



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO UNIVERSIDADE
FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
SAÚDE E DESENVOLVIMENTO NA REGIÃO
CENTRO-OESTE



GABRIEL ELIAS OTA

**INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO COM CREATINA SOBRE O PERFIL
METABÓLICO SISTÊMICO E MARCADORES DE REMODELAÇÃO DO
MIOCÁRDIO DE RATOS SUBMETIDOS A EXERCÍCIO FÍSICO RESISTIDO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Faculdade de Medicina Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. *Silvio Assis de Oliveira Júnior*

Campo Grande

2017

DEDICATÓRIA

A meus pais, **Luiz Antônio Ota** e **Aparecida Maria de Freitas Elias**, que sempre me apoiaram em cada escolha. O apoio de vocês foi fundamental em cada etapa até aqui. Vocês são meus maiores exemplos. Devo a vocês minha formação moral e intelectual, e minha eterna gratidão.

A todos os meus familiares que torceram e me ajudaram nessa caminhada. Essa vitória é de todos nós.

Aos meus amigos que sempre me incentivaram e apoiaram em todos os momentos antes e durante esta fase.

À minha namorada, e parceira de mestrado, **Camila Souza de Moraes**, pelo incessante apoio, parceria e sobretudo paciência ao longo desses dois anos. Essa conquista é nossa!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por minha vida, saúde, a família que me deu e principalmente por todas as oportunidades que me ofereceu.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro durante todo o mestrado.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Silvio Assis de Oliveira Júnior, por todo o processo de orientação, ensino e cobranças. Agradeço também por todo apoio e confiança a mim depositados. O senhor foi fundamental no meu crescimento pessoal e profissional. Ao senhor, minha admiração e eterna gratidão!

À minha co-orientadora Prof^a. Dr. Paula Felipe Martinez por toda orientação, ensino e cobranças. A senhora foi fundamental no meu crescimento pessoal e profissional. A senhora, minha admiração e eterna gratidão!

Aos professores Prof. Dr. Rodrigo Juliano Oliveira e Prof^a. Dra. Elisvânia Freitas dos Santos pela colaboração técnica no desenvolvimento do estudo.

Ao Prof. Dr. José Antônio Braga Neto e toda equipe da UTASP-UFMS, por conceder o espaço e os equipamentos e ajuda necessária para a confecção da ração com creatina.

À Mix Nutri por oferecer a creatina, utilizada durante todo o experimento, a um preço mais acessível.

Ao Prof. Dr. Charles Taciro e a Prof^a. Dra. Elisvânia Freitas dos Santos por terem contribuído grandiosamente durante o Exame de Qualificação.

Ao Prof. Dr. Marcelo Diarcadia e o Prof Dr. Gustavo Christofolletti por aceitarem compor a banca de defesa e colaborar grandiosamente com o trabalho.

Aos funcionários do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, em especial à Áurea.

Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Faculdade de Medicina Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Ao Prof. Dr. Albert Schiaveto e o técnico Luiz, por fornecer seu laboratório e alguns equipamentos para a realização da eutanásia dos animais.

Aos professores e técnicos da Unidade de Pesquisa Experimental - UNESP/Botucatu, pelo auxílio na confecção das lâminas histológicas e análises bioquímicas, em especial à Mari Janini.

À toda equipe de servidores do Biotério Central-UT/CCBS da UFMS, por todo auxílio durante o período experimental.

Aos funcionários, da Unidade da Fisioterapia e da Clínica Escola Integrada (CEI), pela receptividade e auxílio durante este período.

Aos demais amigos e colegas de mestrado e doutorado do grupo dos professores Silvio e Paula: Camila Morais, Fernando Barbosa, Marianna Rabelo, Cleberson Lima, Dayanne Borges, Ellen Duarte, Mariana Budib, Carlos Tavares, Ana Priscila, Priscilla Gois, Nayara Muzili e Dayana das Graças, Bruna, Heloyse, Ana, Evelin e Aldo, muito obrigado!

Aos alunos de Iniciação Científica: Jair Júnior, Carol Castro, Arthur Fantesia, Paola Oliveira, Jéssica Maria e Maria Lua, vocês foram fundamentais para que eu chegasse ao fim do mestrado. Muito obrigado!

Aos meus sogros Cleverson Morais e Rosemeire Souza por todo apoio, incentivo e pela confecção da escada utilizada no experimento.

À dois grandes amigos Matheus Azambuja e Renata Medina que me incentivaram e apoiaram durante todo esse processo, muito obrigado.

EPÍGRAFE

“Muda, que quando a gente muda o mundo muda com a gente.

A gente muda o mundo na mudança da mente.

E quando a mente muda a gente anda pra frente.

E quando a gente manda ninguém manda na gente.

Na mudança de postura a gente fica mais seguro,

na mudança do presente a gente molda o futuro!”

Gabriel – O pensador

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Medidas descritivas da relação entre a carga (g) e o número de subidas, segundo condição (exercício físico), dieta e momento de avaliação..	27
Tabela 2. Composição e valor calórico das dietas experimentais.....	28
Tabela 3. Medidas descritivas da média semanal de ingestão hídrica (mL), segundo condição (exercício físico), dieta e momento de avaliação.....	29
Tabela 4. Medidas descritivas da ingestão alimentar (g), segundo condição (exercício físico), dieta e momento de avaliação.....	30
Tabela 5. Medidas descritivas da ingestão alimentar total (g), segundo condição (exercício físico), dieta e momento de avaliação.....	31
Tabela 6. Medidas descritivas da ingestão calórica diária (kcal/dia), segundo condição (exercício físico), dieta e momento de avaliação.....	31
Tabela 7. Medidas descritivas da ingestão calórica total (kcal/g), segundo condição (exercício físico), dieta e momento de avaliação.....	32
Tabela 8. Medidas descritivas da eficiência alimentar (g/kcal), segundo condição (exercício físico), dieta e momento de avaliação.....	33
Tabela 9. Medidas descritivas da massa corporal (g), segundo condição (exercício físico), dieta e momento de avaliação.....	33
Tabela 10. Medidas descritivas de taxa de ganho de massa corporal (g/kg), segundo condição (exercício físico), dieta e momento de avaliação.....	34
Tabela 11. Medidas descritivas da Adiposidade, IMC e Índice de Lee, segundo condição (exercício físico) e dieta.....	34
Tabela 12. Medidas descritivas de glicose (mg/dL), obtidas no teste de tolerância insulinêmica, segundo condição (exercício físico), dieta e momento de avaliação.....	36
Tabela 13. Medidas descritivas de glicose (mg/dL) obtidas no teste de tolerância glicêmica, segundo condição (exercício físico), dieta e momento de avaliação.....	38
Tabela 14. Perfil bioquímico sérico, segundo condição (exercício físico) e dieta.....	40
Tabela 15. Medidas descritivas das características morfológicas gerais do tecido cardíaco, segundo condição (exercício físico) e dieta	42
Tabela 16. Medidas descritivas do conteúdo relativo de água do tecido cardíaco, pulmão e fígado, segundo condição (exercício físico) e dieta.....	43

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Escada adaptada para a realização do protocolo de exercício físico resistido.....	20
Figura 2. Medidas descritivas de carga máxima final, segundo condição (exercício físico) e dieta.....	27
Figura 3. Variação da carga máxima (%), segundo condição (exercício físico) e dieta.....	28
Figura 4. Comportamento da glicemia sérica durante o teste de tolerância à insulina, segundo condição (exercício físico), dieta e momento de avaliação.....	36
Figura 5. Comportamento da glicemia sérica durante o teste de tolerância à glicose, segundo condição (exercício físico), dieta e momento de avaliação.....	38
Figura 6. Área sob a curva glicêmica do teste de tolerância à insulina, segundo condição (exercício físico) e dieta.....	39
Figura 7. Área sob a curva glicêmica do teste de tolerância à glicose, segundo condição (exercício físico) e dieta.....	40
Figura 8. Medidas descritivas da área seccional transversa cardiomiocitária (A); perímetro do cardiomiócito (B); fração intersticial de colágeno (C), segundo condição (exercício físico) e dieta.....	44
Figura 9. Cortes histológicos transversais do músculo cardíaco corados com hematoxilina-eosina (HE) 40x, segundo condição (exercício físico) e dieta.....	45
Figura 10. Cortes histológicos transversais do músculo cardíaco corados com picrosirius red 40x, segundo condição (exercício físico) e dieta.....	45

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

A - Átrio

A/MCF - Razão entre átrio e massa corporal final

A/tíbia - Razão entre átrio e o comprimento da tíbia

AKT - Proteína Quinase B

ATP - Adenosina trifosfato

C - Controle

COR/MCF - Razão entre coração e massa corporal final

COR/tíbia - Razão entre coração e o comprimento da tíbia

CCBS - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde

CCK - Colecistoquinina

CCT - Consumo calórico total

CEUA - Comitê de Ética no Uso de Animais

CNA - Comprimento naso-anal do animal

COBEA - Colégio Brasileiro de Experimentação Animal

COR – Massa do coração

CP - Creatina fosfato

CR - Creatina

CreaT - Transportador de creatina

EA - Eficiência alimentar

EF - Exercício físico

EF CR - Exercício físico + Creatina

EFR - Exercício físico resistido

H⁺ - Íons de Hidrogênio

HE - Hematoxilina – eosina

IMC - Índice de massa corporal

IR - Receptor de insulina

IRS 1 - Substrato do receptor de insulina 1

IRS 2 - Substrato do receptor de insulina 2

LDL - Lipoproteína de baixa densidade

MCF - Massa corporal final

MCI - Massa corporal inicial

PSR - *Picro-sirius red*

RPM - Rotações por minuto

TG - Triglicerídeos

TTG - Teste de tolerância à glicose

TTI - Teste de tolerância à insulina

UFMS - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

UTASP - Unidade de Tecnologia de Alimentos e Saúde Pública

VD - Ventrículo direito

VD/tíbia - Razão entre ventrículo direito e o comprimento da tíbia

VE - Ventrículo esquerdo

VE/MCF - Razão entre ventrículo esquerdo e massa corporal final

VE/tíbia - Razão entre ventrículo esquerdo e o comprimento da tíbia

VLDL - Lipoproteína de densidade muito baixa

RESUMO

OTA, GE. INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO COM CREATINA SOBRE O PERFIL METABÓLICO SISTÊMICO E MARCADORES DE REMODELAÇÃO DO MIOCÁRDIO DE RATOS SUBMETIDOS A EXERCÍCIO FÍSICO RESISTIDO. Campo Grande; 2016 [Dissertação – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul]

INTRODUÇÃO: Diversos estudos mostram os efeitos ergogênicos da suplementação com creatina quando associado ao exercício nos mais variados tecidos; entretanto, algumas evidências revelam que a suplementação com creatina desencadeia distúrbios metabólicos glicêmicos. Além disso, sua influência no músculo cardíaca ainda é pouco estudada. **OBJETIVO:** Analisar a influência da suplementação com creatina sobre o perfil metabólico sistêmico e marcadores de remodelação do miocárdio de ratos submetidos a exercício físico resistido. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Ratos *Wistar* (n=60) foram distribuídos em quatro grupos: Controle (C), Creatina (CR), Exercício Físico (EF) e Exercício Físico e Creatina (EFCR). Enquanto C e EF foram tratados diariamente com ração comercial padrão (3,61 Kcal/g) *ad libitum*, os grupos CR e EFCR receberam ração comercial com acréscimo de 2% de creatina monohidratada (3,68 Kcal/g) *ad libitum*. Os animais EF e EFCR foram submetidos a um protocolo de exercício físico resistido de escalada, três vezes por semana. Após 12 semanas, foram analisados o comportamento nutricional e murinométrico, capacidade funcional, perfil bioquímico sérico, assim como morfologia macroscópica e microscópica do ventrículo esquerdo. As variáveis de comportamento nutricional, murinométrico e tolerância glicêmica foram avaliadas pelo *Two-Way* ANOVA no modelo de medidas repetidas, seguido do teste de comparações múltiplas de *Bonferroni*. As demais variáveis foram avaliadas por meio de *Two-Way* ANOVA, complementada com teste de *Tukey*. Todas as conclusões estatísticas foram discutidas sob o nível de significância de 5%. **RESULTADOS:** Os ratos submetidos ao exercício resistido apresentaram maior capacidade funcional. O exercício, quando associado à suplementação com creatina, repercutiu em menor tolerância glicêmica. No contexto cardíaco, os ratos exercitados e submetidos à suplementação apresentaram maiores valores de massa do coração, átrio e ventrículo esquerdo, quando normalizados pela massa corporal final. **CONCLUSÃO:** A suplementação com creatina associada com o exercício resistido promoveu distúrbios metabólicos glicêmicos. No contexto morfológico, o exercício associado a suplementação acarretou remodelação cardíaca.

Palavras-chave: creatina, glicose, insulina, remodelação ventricular, exercício

ABSTRACT

OTA, GE. INFLUENCE OF CREATINE SUPPLEMENTATION ON THE SYSTEMIC METABOLIC PROFILE AND MARKERS OF MYOCARDIAL REMODELING IN RATS SUBMITTED TO RESISTANCE EXERCISE. Campo Grande; 2016. [Dissertation - Federal University of Mato Grosso do Sul]

INTRODUCTION: Several studies have showed different ergogenic effects of the creatine supplementation when associated with exercise in most varied tissues; however, some evidence have suggested that creatine intervention has been associated to glycemic metabolic disorders. Additionally, its influence on the cardiac muscle is still little studied. **OBJECTIVE:** To analyze the influence of creatine supplementation on the systemic metabolic profile and myocardial remodeling in rats submitted to resistive physical exercise. **MATERIALS AND METHODS:** Wistar rats (n = 60) were randomized into four groups: Control (C), Creatine (CR), Physical Exercise (EF), and Exercise plus Creatine (EFCR). While C and EF groups were treated with standard commercial feed (3.61 Kcal / g) *ad libitum*, CR and EFR groups received commercial chow supplemented with 2% of creatine monohydrate (3.68 Kcal / g). Moreover, EF and EFCR were also submitted to a resisted physical exercise protocol of climbing, three times a week. After 12 weeks, nutritional and murinometric behavior, functional capacity, serum biochemical profile, as well as macroscopic and microscopic morphology of the heart were analyzed. Nutritional, murinometric and glycemic tolerance variables were evaluated by Two-Way ANOVA in the repeated measures model, followed by the Bonferroni multiple comparisons test. Other variables were evaluated using Two-Way ANOVA, complemented with Tukey's test. All statistical conclusions were discussed under the significance level of 5%. **RESULTS:** Rats submitted to resistive exercise presented higher functional capacity. Exercise, when associated with creatine supplementation, reduced glycemic tolerance. In the cardiac context, EFCR group showed higher values of mass of the heart, atrium and left ventricle, when normalized by the final body mass. **CONCLUSION:** Creatine supplementation associated with resistive exercise promoted glycemic metabolic disorders. In the morphological context, exercise associated with creatine supplementation resulted cardiac remodeling.

Keywords: creatine, glucose, insulin, ventricular remodeling, exercise

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
3. OBJETIVOS	18
3.1. Objetivo geral	18
3.2. Objetivos específicos	18
4. MATERIAIS E MÉTODOS	19
4.1. Animais e protocolo de experimentação	19
4.2. Determinação da carga máxima e protocolo de exercício	19
4.3. Composição físico-química das dietas experimentais	21
4.4. Caracterização metabólica	21
4.4.1. <i>Teste de tolerância à glicose (TTG)</i>	21
4.4.2. <i>Teste de tolerância à insulina (TTI)</i>	22
4.5. Comportamento nutricional e murinométrico	22
4.6. Perfil bioquímico sérico	23
4.7. Caracterização morfológica e histológica do coração	23
4.7.1. <i>Análise morfológica</i>	23
4.7.2. <i>Análise histológica</i>	24
4.8. Procedimentos de análise estatística	24
5. RESULTADOS	26
5.1. Composição dos grupos	26
5.3. Composição físico-química das dietas experimentais	28
5.4. Comportamento nutricional	28
5.4.1- <i>Ingestão hídrica</i>	29
5.4.2. <i>Ingestão alimentar e calórica</i>	29
5.4.3. <i>Eficiência energética (Alimentar)</i>	32
5.5. Comportamento murinométrico	33
5.6. Comportamento glicêmico e bioquímico	35
5.7. Caracterização morfológica e umidade cardiopulmonar e hepática	41
6. DISCUSSÃO	46
7. CONCLUSÃO	52
REFERÊNCIAS	53

1. INTRODUÇÃO

A procura por intervenções nutricionais aplicadas ao esporte, principalmente por parte de atletas e praticantes de exercícios físicos em busca de um melhor desempenho funcional, tem crescido cada vez mais ⁽¹⁾. Dessa forma, suplementos alimentares têm sido utilizados não somente para suprir carências nutricionais como também, para melhora do desempenho físico, sob a premissa de reposição energética e/ ou auxílio na recuperação pós-esforço ^(2,3). Entre os mais diversos suplementos comercializados, a creatina é bastante popularizada entre atletas de diversas modalidades e praticantes de atividade física de diferentes faixas etárias ^(4,5).

A creatina é uma amina nitrogenada, quimicamente conhecida como ácido acético α -metilguanidina. É formada naturalmente pelo fígado e pelos rins, por intermédio dos aminoácidos glicina, arginina e metionina ^(6,7). Em humanos, cerca de 95% é armazenada no tecido muscular, enquanto o restante é encontrado no coração, cérebro, pulmões, testículos, fígado e rins ^(8,9). A captação celular de creatina é feita por meio de um transportador de membrana específico, o transportador de creatina (CreaT), que é membro da família de transportadores de neurotransmissores dependentes de Na^+/Cl^- ⁽¹⁰⁾. No músculo estriado de mamíferos, a expressão molecular de CreaT se dá por meio de duas isoformas, que se diferenciam pelo peso molecular, 55 kDa e 70kDa ⁽¹¹⁾, e podem ser encontradas na membrana plasmática e na membrana mitocondrial ⁽¹²⁾.

No músculo estriado esquelético, a creatina mostra-se envolvida com o processo de contração, servindo-se de substrato para o grupo fosfato; o composto resultante - fosfocreatina (CP) - é essencial como recurso energético em atividades de potência e velocidade, de curta duração ^(5,13). Entre seus efeitos ergogênicos, a suplementação com creatina promove aumento da disponibilidade de CP, ampliando a oferta de energia e a ressíntese de Trifosfato de Adenosina (ATP), além de proporcionar redução da acidez muscular ^(5,14). Dessa forma, a creatina é amplamente utilizada com o propósito de maximizar os efeitos do exercício físico resistido (EFR) sobre a massa muscular, contribuindo para a ocorrência de hipertrofia, e melhora da capacidade funcional da musculatura esquelética, especialmente na geração de força contrátil ^(4,15,16). Por outro lado, algumas evidências sugerem que a

creatina acarreta distúrbios no metabolismo glicêmico e insulinêmico ^(17,18,19), estimulando a secreção pancreática de insulina.

Cabe ainda ressaltar que o EFR é amplamente difundido como medida de promoção de saúde e prevenção de diferentes doenças metabólicas e cardiovasculares ^(20,21,22). Além da hipertrofia e ganho de força na musculatura esquelética, seus efeitos são representados por diferentes evidências de benefícios ao metabolismo glicêmico e insulinêmico no meio sistêmico e em diversos tecidos ^(20,23). No aspecto cardiovascular, a prática de EFR é extensamente relacionada à maior variabilidade da frequência cardíaca, aumento do débito cardíaco e do volume sistólico em humanos ^(24,25), e hipertrofia miocárdica em humanos ⁽²⁶⁾ e modelos animais ^(27,28). Essas modificações têm conferido subsídio para o processo de remodelação cardíaca de natureza fisiológica ⁽²⁹⁾. A ocorrência de modificações morfológicas, como hipertrofia e fibrose intersticial, consistem em importantes marcadores de remodelação cardíaca ⁽³⁰⁾. Não obstante, considerando-se esses efeitos histológicos, a influência do EFR em modelos animais ainda é pouco estudada.

Portanto, levando-se em conta que a suplementação crônica com creatina pode se associar a estados de hiperinsulinemia e resistência à insulina em modelos animais ^(17,18), como hipótese inicial do presente estudo, tem-se que a suplementação com creatina acarreta distúrbios de metabolismo glicêmico e insulinêmico, acompanhados de remodelação cardíaca. Tendo por base diferentes evidências de benefícios da prática de exercício físico ^(21,22), é possível se aventar a hipótese adicional de que as alterações metabólicas decorrentes da suplementação com creatina são amenizadas pela prática de EFR. No contexto cardíaco, postula-se que a intervenção com creatina potencialize a remodelação cardíaca derivada do EFR.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A creatina é quimicamente conhecida como ácido acético α -metilguanidina. É uma amina nitrogenada sintetizada no fígado, rins e pâncreas, a partir da combinação estrutural dos aminoácidos glicina, arginina e metionina ^(7,8). Além da produção endógena, também é possível obtê-la via alimentação, mediante a ingestão de carne vermelha e peixe ⁽³¹⁾. Do total de creatina disponível no corpo humano, aproximadamente 95% é alocada no músculo esquelético, sendo que o restante pode ser encontrado em órgãos como: coração, cérebro, pulmões e testículos ⁽⁴⁾. O composto pode ser encontrado em sua forma livre (60 a 70%) ou fosforilada (30 a 40%) ⁽³¹⁾.

O uso de creatina é indicado para exercícios que priorizam potência e velocidade e que sejam de curta duração, com destaque para o treinamento de força ^(5,13). Quando a suplementação ergogênica é associada à prática do exercício físico, seu efeito é mediado por diversos mecanismos fisiológicos, incluindo-se aumento do conteúdo intracelular de fosfocreatina, ampliação na ressíntese de ATP (*trifosfato de adenosina*), aumento da concentração de glicogênio muscular, melhora na via glicolítica, considerando-se o maior tamponamento de íons H^+ , e diminuição no tempo de relaxamento da musculatura esquelética ^(4,31). Além disso, há substanciais indícios que a combinação entre consumo de creatina e treinamento resistido promove maior hipertrofia e melhora da capacidade funcional da musculatura esquelética ⁽¹⁵⁾.

Os exercícios resistidos são caracterizados por exercícios que demandam de contrações voluntárias da musculatura esquelética de um determinado segmento corporal contra alguma resistência externa ⁽³²⁾.

Com razão, embora muitos estudos ^(4,5,13,14,15), artigos de revisão ^(7,31,33) e meta análises ^(34,35) tenham documentado os efeitos ergogênicos da creatina sobre a musculatura esquelética principalmente quando associado ao exercício, poucas investigações se voltaram para o músculo cardíaco. A remodelação cardíaca envolve modificações na expressão e composição de várias proteínas contráteis, peptídeos reguladores do trânsito de cálcio e componentes do citoesqueleto, além de respostas morfológicas, como hipertrofia e fibrose intersticial miocárdica ^(36,37,38,39). Durante circunstâncias crônicas, a exacerbação desses indicadores pode repercutir em alterações de função, eletrofisiologia e perfusão miocárdica, ampliando os riscos de

ocorrência de isquemia, insuficiência cardíaca, arritmias e morte súbita (36,37,38,39).

Por outro lado, algumas evidências apresentam que a creatina acarreta distúrbios no metabolismo glicêmico e insulinêmico (17,18,19), estimulando a secreção pancreática de insulina. Isto ocorre devido ao aminoácido presente em sua composição, a arginina. Estudos (40,41,42) mostram que o transporte de arginina para o meio intracelular ocasiona despolarização da membrana plasmática de células pancreáticas, conduzindo à abertura de canais de cálcio dependentes de voltagem, o que repercute em maior secreção de insulina. No entanto, a constante hipersecreção deste hormônio pode promover a hiperinsulinemia e conduzir a um quadro de resistência à insulina (43).

Costallat et al. (18) constataram que a administração de creatina (0,4 g/dia), durante quatro semanas, resultou em resistência à insulina e hiperinsulinemia em ratos. Souza et al. (9), por sua vez, suplementou ratos machos e jovens com creatina (aproximadamente 0,5 g/dia) no decorrer de oito semanas, e verificaram a ocorrência de reduções da glicose plasmática; os autores atribuíram esse achado à possível hiperinsulinemia decorrente da ingestão de creatina. Mais recentemente, Nicastro et al. (19) verificaram que a suplementação com creatina, *per se*, após sete dias (5g/ kg/ dia), induziu estados de hiperinsulinemia e hiperglicemia em ratos.

No aspecto clínico, em contrapartida, alguns estudos (7,44) documentaram que a suplementação com creatina não afetou o conteúdo de glicogênio muscular, níveis de glicose plasmática e as respostas a insulina durante o teste oral de tolerância à glicose em humanos saudáveis não treinados. Da mesma forma, mediante administração de doses baixas (2% da ingesta diária), alguns autores constataram que a suplementação com creatina por duas (17), quatro e oito semanas (17,45) não alterou o metabolismo de glicose e insulina no meio sistêmico de modelos animais. Portanto, é bem evidente que a relação entre suplementação com creatina e efeitos sobre o metabolismo sistêmico de glicose e insulina é inconsistente e não está plenamente esclarecida.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Analisar a influência da suplementação com creatina sobre o perfil metabólico sistêmico e marcadores de remodelação do miocárdio de ratos submetidos a exercício físico resistido

3.2. Objetivos específicos

- 1) Analisar a influência da suplementação com creatina e da prática de exercício físico resistido de escalada sobre a determinação da carga máxima suportada;
- 2) Descrever o comportamento da tolerância glicêmica e insulinêmica e lipidemia de ratos submetidos a suplementação com creatina e prática do exercício físico resistido;
- 3) Avaliar a ocorrência de remodelação cardíaca decorrente da combinação entre suplementação com creatina e exercício físico resistido, pautando-se em análises morfológicas macro e microscópicas.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Animais e protocolo de experimentação

Para a realização do estudo, foram utilizados 60 ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), com 60 dias de idade, procedentes do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas, sendo três animais por caixa, sob condições controladas de temperatura ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), umidade ($55 \pm 5\%$) e ciclos de iluminação (claro/escuro) de 12 por 12 horas. Inicialmente, os animais foram distribuídos em quatro grupos com 15 animais por grupo: Controle (**C**), Creatina (**CR**), Exercício Físico (**EF**) e Exercício Físico e Creatina (**EF**CR). Os grupos C e EF foram tratados diariamente com ração normocalórica comercial para roedores (Nuvilab®, Brasil), enquanto que os animais dos grupos CR e EF CR receberam dieta suplementada com creatina monohidratada a 2% do peso de ração diária, conforme dosagens citadas em estudos prévios ^(17,45,46,47,48). Todos os grupos receberam água *ad libitum*.

Além do suporte nutricional, os animais dos grupos EF e EF CR foram submetidos a um protocolo de exercício resistido, elaborado de acordo com estudos prévios ^(49,50,51). Os experimentos e procedimentos deste estudo seguiram as normas estabelecidas no “*Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*” ⁽⁵²⁾ e os Princípios Éticos na Experimentação Animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). O presente projeto de pesquisa foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA), da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS sob o nº 696/2015.

4.2. Determinação da carga máxima e protocolo de exercício

O protocolo de exercício físico resistido consistiu no modelo de escalada em escada (Figura 1), proposto por Hornberger e Farrar ⁽⁴⁹⁾ e já utilizado em outros estudos ^(50,51). A escada tem medida de 110 cm de altura, 2cm de espaço entre os degraus e 80° de inclinação. Durante as escaladas, foi fixada uma carga de resistência, que consistiu de pesos de chumbo colocados em tubos plásticos afixados com uma fita adesiva junto à região proximal da cauda.

O comprimento da escada obrigou o animal a realizar de 8 a 12 movimentos dinâmicos por escalada. No topo da escada, foi posicionada uma gaiola (20x20x20 cm), na qual o animal permaneceu por 120 segundos entre cada escalada.



Figura 1 - Escada adaptada para a realização do protocolo de exercício físico resistido.
Fonte: O autor.

Como procedimento inicial, foi realizada uma familiarização com o protocolo de exercício. Uma semana antes do início do protocolo, foram realizadas três sessões, sendo cada qual com uma sessão diária com carga equivalente a 10% da massa corporal. Neste período foram selecionados os ratos com melhor desempenho na escalada para os grupos de exercício.

Após a familiarização com a escada, os animais foram submetidos a um teste incremental para determinação da carga máxima suportada. Esta primeira sessão do exercício de escalada foi realizada contra uma resistência equivalente a 75% da massa corporal do animal. Após descanso de 120 segundos, a cada nova escalada completada, uma carga de 30 gramas era adicionada ao aparato de resistência. O teste foi finalizado quando o animal chegou ao limite de carga suportada, impedindo que o animal exercesse outra subida ou, de outra forma, quando totalizadas oito séries de escalada, concluindo assim a primeira sessão do treinamento. Com isso, a maior carga carregada até o topo da escada foi considerada como a resistência máxima

suportada pelo animal na execução do exercício de escalada ⁽⁴⁹⁾.

O protocolo de exercício resistido em escada teve frequência de três vezes por semana, perdurando por 12 semanas. Cada sessão de exercício consistiu de séries de quatro a nove escaladas. Durante as primeiras quatro repetições, os animais realizaram esforços contra cargas a 50%, 75%, 90% e 100% da resistência máxima alcançada. Durante as subidas subsequentes, foi adicionado 30 gramas de carga de forma progressiva, até o limite de nove repetições por sessão diária ⁽⁴⁹⁾.

Ao final das 12 semanas de intervenção, os grupos C e CR reproduziram o teste de esforço inicial, sendo a primeira escalada a 75% da massa corporal e a cada nova escalada executada, procedeu-se com um acréscimo de 30 gramas até exaustão ou limite de oito subidas. Já para os grupos exercitados, EF e EFCR, foi proposto um novo modelo para determinação da carga máxima. O teste iniciou-se com a resistência de 75% da carga máxima alcançada na última sessão de treinamento, seguido de 100% da última carga alcançada e acréscimo de 30 gramas a cada nova escalada até exaustão do animal.

4.3. Composição físico-química das dietas experimentais

As análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Físico-Química da Unidade de Tecnologia de Alimentos e Saúde Pública (UTASP) da UFMS. As seguintes determinações foram realizadas, em triplicata: *Umidade*: determinada em estufa (105 °C) ⁽⁵³⁾; *Cinzas*: analisadas em mufla (550 °C) ⁽⁵³⁾; *Lipídios totais*: pelo método de extração a frio; *Proteínas*: avaliadas através do teor de nitrogênio total da amostra, pelo método Kjeldahl (nível semimicro com fator de conversão de nitrogênio de 6,25) ⁽⁵³⁾; *Carboidratos*: calculados teoricamente (por diferença) nos resultados das triplicatas, conforme a fórmula: $\% \text{ Carboidratos} = 100 - (\% \text{ umidade} + \% \text{ proteína} + \% \text{ lipídios} + \% \text{ cinzas} + \% \text{ fibras})$; *Valor calórico*: foi calculado utilizando-se os seguintes valores: lipídios (9 kcal/g), proteína (4 kcal/g) e carboidratos (4 kcal/g) ⁽⁵⁴⁾.

4.4. Caracterização metabólica

4.4.1. Teste de tolerância à glicose (TTG)

Ao término do período experimental, foi também realizado o TTG. Os

animais foram colocados em jejum durante um intervalo entre 8 a 12 horas. Após a mensuração glicêmica inicial, foi realizada administração intraperitoneal de solução de glicose com concentração a 20% (glicose monohidratada, Campo Grande, Brasil), a qual é equivalente a três gramas por quilo de massa corporal. As demais aferições foram realizadas em 15, 30, 60, 90, 120 e 180 minutos, contados a partir da administração da glicose. Para a medição, foi utilizado um glicosímetro da marca ACCU-CHEK GO KIT (Roche Diagnostic Brazil Ltda, SP, Brasil) ⁽⁵⁵⁻⁵⁷⁾.

4.4.2. Teste de tolerância à insulina (TTI)

Após o término do TTG, passados quatro dias realizado o teste de tolerância à insulina. Após jejum de seis a oito horas, foi realizada aferição da glicemia basal, seguida por administração intraperitoneal de insulina regular (Novolin ®, Novo Nordisk, Bagsvaerd, Denmark), em dosagem equivalente a 1,5 UI/kg. Posteriormente, amostras sanguíneas foram obtidas nos momentos de 5, 10, 15, 20, 25 e 30 minutos após a administração hormonal, e foram utilizadas para a mensuração dos níveis de glicose. Novamente, foi utilizado um glicosímetro da marca ACCU-CHEK GO KIT (Roche Diagnostic Brazil Ltda, SP, Brasil) para a análise glicêmica ⁽⁵⁸⁾.

4.5. Comportamento nutricional e murinométrico

O consumo de ração e a ingestão hídrica foram mensurados diariamente e a massa corporal dos animais foi aferida semanalmente. A caracterização nutricional foi determinada pelo cálculo da ingestão calórica e eficiência energética. A ingestão calórica foi calculada pela seguinte fórmula: média da ingestão alimentar semanal multiplicada pelo valor calórico de cada dieta. Com o propósito de analisar a capacidade de conversão de energia alimentar consumida em massa corporal, foi estimado a eficiência alimentar (EA), resultante da relação entre variação ponderal total (g) e a energia total ingerida pelos animais: $\text{ganho de peso (massa corporal final - massa corporal inicial)} \times 100 / \text{Ingestão Alimentar}$ ^(55,56,60). Estas foram analisadas mensalmente, estabelecendo-se, portanto, três momentos de análise, ao final da 4^a, 8^a e 12^a semana de experimentação.

A composição murinométrica abrangeu o comportamento da massa

corporal (g), índice de massa corporal (IMC), taxa de ganho de massa, índice de Lee e adiposidade. A massa corporal foi mensurada semanalmente, utilizando-se uma balança digital. O Índice de Lee foi calculado ao final do período experimental, a partir da relação entre raiz cúbica da massa corporal (g) e comprimento naso-anal do animal (CNA) [$3\sqrt{\text{Peso (g)}/\text{CNA(cm)}}$] ⁽⁶¹⁾. A taxa específica de ganho de massa (g/kg) foi determinada a partir da relação entre o ganho de massa corporal durante o período experimental e a massa corporal inicial ⁽⁶¹⁾.

Concluídos os procedimentos *in vivo*, os animais foram colocados em jejum por um período de oito horas e submetidos a anestesia intraperitoneal com Tiopental (30mg/kg; CRISTÁLIA – Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda – Itapira, São Paulo, Brasil). Após a eutanásia por decapitação, foram feitas toracotomia e laparotomia mediana para remoção dos fragmentos cardiopulmonares e do tecido adiposo branco dos compartimentos retroperitoneal e epididimal ^(56,62). A taxa relativa de adiposidade (%) foi calculada pela relação entre a soma dos depósitos de gordura e a massa corporal (g), multiplicado por 100.

4.6. Perfil bioquímico sérico

Amostras sanguíneas foram coletadas no momento da eutanásia e submetidas à centrifugação (3000 rpm) durante 10 minutos e, em seguida, foram armazenadas em freezer, sob temperatura de -20°C. Posteriormente, foram avaliadas as concentrações séricas de triglicerídeos (TG), colesterol total, lipoproteínas de baixa densidade (LDL), lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL), proteínas totais, albumina e glicose por método enzimático com kit específico (Kovalent diagnosis, Kovalent do Brasil Ltda., Rio de Janeiro/RJ) ⁽⁵⁵⁻⁵⁷⁾.

4.7. Caracterização morfológica e histológica do coração

4.7.1. Análise morfológica

Após a remoção e dissecação do coração, foram mensuradas as massas dos átrios (MA), ventrículos direito (MVD), e esquerdo (MVE), em valores absolutos e por meio de relações com a massa corporal final (MCF) e o

comprimento da tíbia ⁽⁵⁹⁾.

4.7.2. Análise histológica

Para análise do tamanho de cardiomiócitos e da fibrose intersticial miocárdica, foi feito o estudo histológico. Para o preparo das lâminas histológicas, fragmentos do ventrículo esquerdo foram imersos em solução tamponada de formol a 10% durante 48 horas, seguido de banho de água corrente e imergidos em solução de etanol a 70% por mais 48 horas. Posteriormente, os materiais foram inclusos em blocos de parafina ⁽⁵⁹⁾. Cortes histológicos de 4 a 7µm de espessura foram submetidas a coloração com técnica de hematoxilina-eosina (HE) e *picro-sirius red* (PSR).

Considerando-se as medidas de áreas seccionais, foram amostrados de cada animal, um mínimo de 100 cardiomiócitos. As lâminas coradas por PSR foram utilizadas somente para a quantificação do conteúdo de colágeno do meio intersticial miocárdico. Fixado o campo de imagem, os componentes do tecido cardíaco foram identificados, segundo a cor realçada. Os filamentos de colágeno refletiram a cor vermelha enquanto os cardiomiócitos revelaram a coloração amarela. A fração intersticial de colágeno correspondeu à medida relativa (%) do conteúdo de colágeno sob toda a extensão tecidual. Um mínimo de 20 campos foi utilizado e regiões perivasculares foram desconsideradas.

Como instrumental analítico, os cortes histológicos foram projetados em aumento de 40 vezes com o auxílio de microscópio (LEICA DM LS), acoplado a uma câmera de vídeo que projeta imagens digitais em um microcomputador IBM, equipado com programa analisador de imagens *Image Pro-plus* (Media Cybernetics, Silver Spring, Maryland, USA).

4.8. Procedimentos de análise estatística

Os resultados foram expressos na forma descritiva, utilizando-se de medidas de centralidade e variabilidade. As variáveis de comportamento nutricional, murinométrico e tolerância glicêmica e insulinêmica, em função do período experimental, foram avaliadas por *Two-Way* ANOVA e modelo de medidas repetidas, seguido do teste de comparações múltiplas de *Bonferroni*. As demais variáveis foram avaliadas por meio de *Two-Way* ANOVA, complementada com *post hoc* de *Tukey*. Todas as conclusões estatísticas

foram discutidas sob nível de significância de 5%. Todas as análises estatísticas foram analisadas no *software SigmaStat 3.5*.

5. RESULTADOS

5.1. Composição dos grupos

No decorrer do período experimental, duas unidades experimentais, sendo um do grupo Controle (C) e um do grupo Controle Creatina (CR) foram removidos e descartados da pesquisa por desenvolvimento de doença, restando 14 no grupo C e 14 no grupo CR. Obteve-se então a seguinte distribuição de animais segundo o grupo:

- **Grupo Controle (C):** 14 animais;
- **Grupo Controle Creatina (CR):** 14 animais;
- **Grupo Exercício Físico (EF):** 15 animais;
- **Grupo Exercício Físico Creatina (EFCR):** 15 animais;

Portanto, para todas as análises, foi considerada esta constituição amostral.

5.2. Determinação da carga máxima

Na Tabela 1, são exibidos as medidas descritivas da relação entre a carga (g) e o número de subidas obtidas durante o teste de esforço inicial e final. No teste de esforço inicial não foi observado diferença na comparação entre tratamento e condição. No teste de esforço final, o grupo EFCR apresentou maiores valores quando comparado ao grupo EF. Na comparação entre condição, os grupos exercitados apresentaram maiores valores quando comparados a seus respectivos controles. Considerando o efeito dos momentos, todos os grupos apresentaram maiores valores ao final do protocolo.

Tabela 1. Medidas descritivas da relação entre a carga e número de subidas, segundo condição (exercício físico), dieta e momento de avaliação

Grupo	Momento	
	Inicial	Final
C	752±177 ^{Aaα}	1154±182 ^{Aaβ}
CR	738±142 ^{Aaα}	1531±368 ^{Aaβ}
EF	1064±252 ^{Aaα}	3890±718 ^{Abβ}
EFCR	1002±178 ^{Aaα}	4588±678 ^{Bbβ}

C: Controle; CR: Controle + Creatina; EF: Exercício Físico; EFCR: Exercício Físico + Creatina. Valores expressos por média ± desvio padrão. A, B: $p < 0,05$ para comparações entre tratamento a, b: $p < 0,05$ para comparações entre condições; α , β : $p < 0,05$ para comparações entre momentos, fixado o grupo; caracteres distintos revelam diferenças estatisticamente significantes; *Two-Way* ANOVA, modelo de medidas repetidas, complementada com teste de Bonferroni.

Na Figura 2, são apresentadas as medidas descritivas da carga máxima final. No momento inicial, os grupos submetidos a exercício físico mostraram maior desempenho funcional, quando comparado a seus respectivos controles (**C**: 251 ± 24; **CR**: 249 ± 45; **EF**: 284 ± 36; **EFCR**: 279 ± 37g) (Dados não apresentados).

Ao término do protocolo, não foram verificadas diferenças significativas entre os grupos C e CR. Ambos os grupos exercitados EF e EFCR revelaram maiores medidas de desempenho, quando comparados aos respectivos controles C e CR. Entre os grupos exercitados, o grupo EFCR mostrou maior sustentação de carga em comparação ao EF (**C**: 366 ± 23; **CR**: 403 ± 22; **EF**: 1185 ± 69; **EFCR**: 1351 ± 72g).

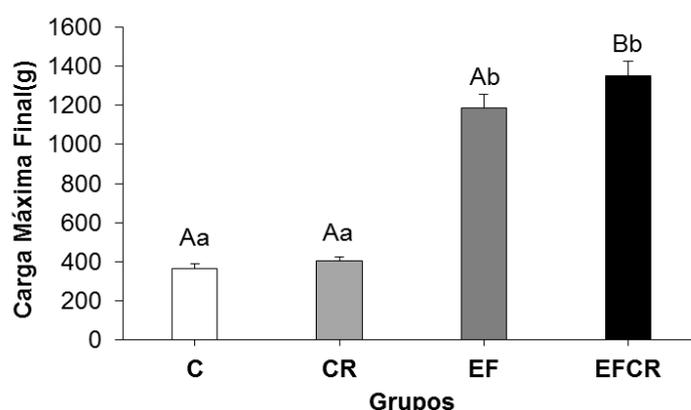


Figura 2. Medidas descritivas de carga máxima final, segundo condição (exercício físico) e dieta; C: Controle; CR: Controle + Creatina; EF: Exercício Físico; EFCR: Exercício Físico + Creatina. Valores expressos por média ± desvio-padrão A, B: $p < 0,05$ para comparações entre tratamento a, b: $p < 0,05$ para comparações entre condições. *Two-Way* ANOVA, complementada com teste de Tukey.

Considerando-se a variação da carga máxima (Figura 3), o grupo **C** apresentou aumento de 46 ± 14%, enquanto o grupo **CR** demonstrou aumento

de $66 \pm 29\%$. Já o grupo **EF** exibiu aumento de $322 \pm 52\%$ e o grupo **EFCR** $391 \pm 64\%$ em relação às medidas iniciais. Na comparação entre os grupos sedentários não foi observado diferença significativa. Quando observamos o efeito do exercício, verificamos maior variação de carga nos grupos exercitados na comparação com seu respectivo controle. Já na comparação entre os grupos exercitados, o grupo **EFCR** apresentou maior variação de carga.

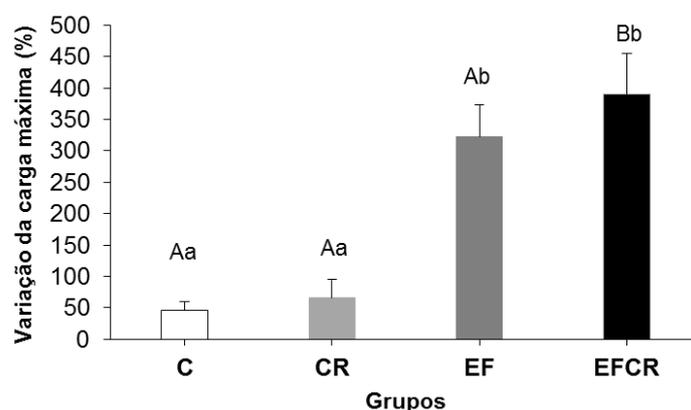


Figura 3. Variação da carga máxima (%), segundo condição (exercício físico) e dieta; **C:** Controle **CR:** Creatina; **EF:** Exercício Físico; **EFCR:** Exercício Físico e Creatina. Valores expressos por média \pm desvio-padrão **A, B:** $p < 0,05$ para comparações entre tratamento **a, b:** $p < 0,05$ para comparações entre condições. *Two-Way ANOVA*, complementada com teste de Tukey.

5.3. Composição físico-química das dietas experimentais

As análises físico-químicas foram realizadas para definição da composição nutricional das dietas utilizadas no presente estudo. Na Tabela 2, são apresentados os resultados obtidos na composição centesimal, acompanhada do valor calórico de cada dieta.

Tabela 2. Composição e valor calórico das dietas experimentais

Composição	Valores	
	Ração Padrão	Ração com creatina
Umidade (%)	9,28 \pm 0,08	7,96 \pm 0,03
Cinzas (g.100g ⁻¹)	7,10 \pm 0,04	6,82 \pm 0,02
Lipídeos (g.100g ⁻¹)	5,43 \pm 0,05	5,46 \pm 0,05
Proteínas (g.100g ⁻¹)	21,10 \pm 0,35	23,93 \pm 0,14
Carboidratos (g.100g ⁻¹)*	57,10 \pm 0,35	55,83 \pm 0,10
Valor calórico (kcal.100g ⁻¹)**	361,67 \pm 0,16	368,20 \pm 0,32

Valores expressos em média \pm desvio padrão. * Determinação de carboidratos realizada por diferença. ** Calculado pela soma: (proteínas x 4 kcal) + (lipídeos totais x 9 kcal) + (carboidratos x 4 kcal).

5.4. Comportamento nutricional

5.4.1- Ingestão hídrica

Na Tabela 3, são expostos os valores da média de ingestão hídrica semanal, segundo grupo e momento de avaliação. Em relação ao efeito da dieta, os grupos submetidos a suplementação com creatina apresentaram valores significativamente superior aos respectivos controles, em todos os momentos de análise.

Já em relação ao efeito do exercício, o grupo EFCR mostrou valores mais altos de ingestão hídrica em comparação ao CR, no decorrer do primeiro mês de experimentação. Considerando-se o efeito de momento, o grupo C apresentou maior ingestão de água no segundo mês, enquanto que o CR exibiu maiores valores de ingestão hídrica no primeiro momento de acompanhamento. Além disso, os grupos EF e EFCR exibiram maiores valores de ingestão no primeiro mês e, no decorrer dos momentos, apresentou significativa redução de ingestão hídrica.

Tabela 3. Medidas descritivas da média semanal de ingestão hídrica (mL), segundo condição (exercício físico), dieta e momento de avaliação

Grupo	Momento		
	1ºMês	2ºMês	3ºMês
C	39,0±1,9 ^{Aaα}	39,8±6,5 ^{Aaβ}	34,0±2,0 ^{Aaα}
CR	45,2±2,7 ^{Baβ}	44,0±3,3 ^{Baα}	40,6±3,2 ^{Baα}
EF	41,1±3,8 ^{Aaε}	37,8±3,2 ^{Aaβ}	33,1±1,3 ^{Aaα}
EFCR	49,0±2,3 ^{Bbε}	44,0±2,2 ^{Baβ}	38,7±2,9 ^{Baα}

C: Controle; CR: Controle + Creatina; EF: Exercício Físico; EFCR: Exercício Físico + Creatina. Valores expressos por média ± desvio padrão. A, B: p<0,05 para comparações entre tratamento a, b: p<0,05 para comparações entre condições; α, β, ε: p<0,05 para comparações entre momentos, fixado o grupo; caracteres distintos revelam diferenças estatisticamente significantes; *Two-Way* ANOVA, modelo de medidas repetidas, complementada com teste de Bonferroni.

5.4.2. Ingestão alimentar e calórica

Na Tabela 4, estão apresentados os resultados da média de ingestão alimentar semanal, segundo grupo e momento de avaliação. Em relação ao efeito da dieta, ambos os grupos CR e EFCR mostraram menores valores de ingestão alimentar em comparação ao C e EF, respectivamente, nos três momentos de análise.

Ao verificar o efeito do exercício, o grupo EF apresentou menor ingestão alimentar no segundo mês de experimentação quando comparado ao grupo C, comportamento que se perdurou até o final do experimento. Ademais, não foram constatadas diferenças entre CR e EFCR em momento algum analisado.

Em relação à progressão cronológica, o grupo C exibiu maiores valores de ingestão conforme o decorrer dos meses, enquanto o CR exibiu maior consumo durante o segundo mês de avaliação. Já os grupos exercitados mostraram um aumento na ingestão alimentar no segundo momento, que se perdurou até o final do experimento.

Tabela 4. Medidas descritivas de ingestão alimentar (g), segundo condição (exercício físico), dieta e momento de avaliação

Grupo	Momento		
	1ºMês	2ºMês	3ºMês
C	21,95±1,01 ^{Aaα}	24,35±0,90 ^{Aaβ}	25,07±0,95 ^{Aa€}
CR	20,36±1,17 ^{Baα}	21,51±1,18 ^{Ba€}	20,97±1,34 ^{Baβ}
EF	21,88±0,64 ^{Aaα}	23,03±0,70 ^{Abβ}	22,64±0,48 ^{Abβ}
EFCR	19,85±1,13 ^{Baα}	21,20±1,16 ^{Baβ}	20,86±1,67 ^{Baβ}

C: Controle; CR: Controle + Creatina; EF: Exercício Físico; EFCR: Exercício Físico + Creatina. Valores expressos por média ± desvio padrão. A, B: p<0,05 para comparações entre tratamento a, b: p<0,05 para comparações entre condições; α, β, €: p<0,05 para comparações entre momentos, fixado o grupo; caracteres distintos revelam diferenças estatisticamente significantes; *Two-Way* ANOVA, modelo de medidas repetidas, complementada com teste de Bonferroni.

Na Tabela 5, são expressos os valores da ingestão alimentar total segundo grupo e momento de avaliação. Em relação ao efeito da dieta, o grupo CR apresentou valores menores do que o C, nos três momentos de análise. Da mesma forma, constataram-se menores valores de ingestão de ração no grupo EFCR em relação ao EF, durante todo o período experimental.

Ao analisar o efeito do exercício, o grupo EF apresentou menores valores de ingestão do que o C, no segundo mês de experimentação. Já os grupos CR e EFCR revelaram valores similares de ingestão alimentar em todos os momentos avaliados. Considerando-se o efeito do momento, todos os grupos mostraram aumento progressivo da ingestão alimentar no decorrer do experimento.

Tabela 5. Medidas descritivas de ingestão alimentar total (g), segundo condição (exercício físico), dieta e momento de avaliação

Grupo	Momento		
	1ºMês	2ºMês	3ºMês
C	614±28 ^{Aaα}	682±25 ^{Aaβ}	702±26 ^{Aa€}
CR	575±23 ^{Baα}	602±33 ^{Baβ}	624±22 ^{Ba€}
EF	612±18 ^{Aaα}	644±19 ^{Abβ}	685±15 ^{Aa€}
EFCR	555±31 ^{Baα}	593±32 ^{Baβ}	632±50 ^{Ba€}

C: Controle; CR: Controle + Creatina; EF: Exercício Físico; EFCR: Exercício Físico + Creatina. Valores expressos por média ± desvio padrão. A, B: p<0,05 para comparações entre tratamento a, b: p<0,05 para comparações entre condições; α, β, €: p<0,05 para comparações entre momentos, fixado o grupo; caracteres distintos revelam diferenças estatisticamente significantes; *Two-Way* ANOVA, modelo de medidas repetidas, complementada com teste de Bonferroni.

Na Tabela 6, são apresentados os valores médios da ingestão calórica diária, segundo grupo e momento de avaliação. O grupo CR e EFCR apresentaram menor ingestão energética em comparação aos seus respectivos controles, durante todo o período experimental. Em relação ao efeito do exercício, a partir do segundo mês, o grupo EF mostrou menor valor de ingestão calórica quando comparado ao C.

Nas comparações entre os grupos CR e EFCR, não se verificou alteração significativa do consumo calórico, em quaisquer momentos avaliados. Considerando-se a progressão cronológica, a ingestão calórica do grupo C foi progressivamente ampliada ao longo do período experimental. Os grupos CR, EF e EFCR apresentaram ampliação da ingestão calórica no segundo mês de análise, o que não perdurou no terceiro mês.

Tabela 6. Medidas descritivas da ingestão calórica diária (kcal/dia), segundo condição (exercício físico), dieta e momento de avaliação

Grupo	Momento		
	1ºMês	2ºMês	3ºMês
C	79,4 ± 3,6 ^{Aaα}	88,1 ± 3,2 ^{Aaβ}	90,6±3,4 ^{Aa€}
CR	74,9 ± 4,3 ^{Baα}	79,2 ± 4,3 ^{Ba€}	77,2±4,9 ^{Baβ}
EF	79,1 ± 2,3 ^{Aaα}	83,2 ± 2,5 ^{Abβ}	81,8±1,7 ^{Abβ}
EFCR	73,1 ± 4,1 ^{Baα}	78,1 ± 4,3 ^{Baβ}	76,8±6,1 ^{Baβ}

C: Controle; CR: Controle + Creatina; EF: Exercício Físico; EFCR: Exercício Físico + Creatina. Valores expressos por média ± desvio padrão. A, B: p<0,05 para comparações entre tratamento a, b: p<0,05 para comparações entre condições; α, β, €: p<0,05 para comparações entre momentos, fixado o grupo; caracteres distintos revelam diferenças estatisticamente significantes; *Two-Way* ANOVA, modelo de medidas repetidas, complementada com teste de Bonferroni.

Na Tabela 7, são apresentadas as medidas descritivas da ingestão calórica total segundo grupo e momentos. Em relação ao efeito da

suplementação os grupos CR e EFCR apresentaram valores significativamente mais baixos durante todo o período experimental quando comparados aos grupos C e EF, respectivamente.

Já em relação ao efeito do exercício, comparando os grupos C e EF, foi observado valores significativamente superior no grupo C a partir do segundo mês, perdurando até o final do experimento. Na comparação entre EFCR e CR não foi constatado diferença significativa entre os grupos. Considerando a progressão dos meses, a ingestão calórica total do grupo C aumentou de forma proporcional até o final do período experimental. O grupo CR apresentou acréscimo de ingestão no segundo mês, seguido de decréscimo no último mês de avaliação. Nos grupos EF e EFCR observou aumento da ingestão calórica a partir do segundo mês que se perdurou até o final do experimento.

Tabela 7. Medidas descritivas da ingestão calórica total (kcal/g), segundo condição (exercício físico), dieta e momento de avaliação

Grupo	Momento		
	1ºMês	2ºMês	3ºMês
C	2225±102 ^{Aaα}	2468±92 ^{Aaβ}	2541±96 ^{Aa€}
CR	2098±121 ^{Baα}	2216±121 ^{Ba€}	2161±138 ^{Baβ}
EF	2218±65 ^{Aaα}	2334±71 ^{Abβ}	2295±49 ^{Abβ}
EFCR	2045±116 ^{Baα}	2184±120 ^{Baβ}	2150±172 ^{Baβ}

C: Controle; CR: Controle + Creatina; EF: Exercício Físico; EFCR: Exercício Físico + Creatina. Valores expressos por média ± desvio padrão. A, B: $p < 0,05$ para comparações entre tratamento a, b: $p < 0,05$ para comparações entre condições; α, β, €: $p < 0,05$ para comparações entre momentos, fixado o grupo; caracteres distintos revelam diferenças estatisticamente significantes; *Two-Way* ANOVA, modelo de medidas repetidas, complementada com teste de Bonferroni.

5.4.3. Eficiência energética (Alimentar)

Na Tabela 8, são apresentados os valores da eficiência energética, segundo grupo e momento de avaliação. Em relação ao efeito da suplementação dietética, apenas no primeiro momento do experimento o grupo EFCR apresentou maior eficiência energética em relação ao EF. Em relação ao efeito do exercício, o grupo EFCR apresentou menores valores de medida de eficiência energética quando comparado ao grupo CR no momento dois, seguido de maiores valores ao final do experimento.

Considerando-se o momento de avaliação, nos grupos C e CR, foram encontradas medidas significativamente elevadas de eficiência energética no primeiro mês, a qual se reduziu no decorrer do experimento. No grupo EF, foi observado maiores valores apenas no primeiro mês de experimento. Já no

EFCR apresentou maiores valores no primeiro mês, com declínio no segundo e um substancial aumento no final do experimento.

Tabela 8. Medidas descritivas da eficiência alimentar (%), segundo condição (exercício físico), dieta e momento de avaliação

GRUPO	Momento		
	1º Mês	2º Mês	3º Mês
C	2,35±0,34 ^{Aa€}	1,03±0,30 ^{Aaβ}	0,48±0,23 ^{Aaα}
CR	2,62±0,37 ^{Aa€}	1,43±0,63 ^{Aaβ}	0,64±0,70 ^{Aaα}
EF	1,97±0,28 ^{Aaβ}	0,99±0,43 ^{Aaα}	0,86±0,18 ^{Aaα}
EFCR	2,41±0,58 ^{Ba€}	0,75±0,42 ^{Abα}	1,14±0,22 ^{Abβ}

C: Controle; CR: Controle + Creatina; EF: Exercício Físico; EFCR: Exercício Físico + Creatina. Valores expressos por média ± desvio padrão. A, B: p<0,05 para comparações entre tratamento a, b: p<0,05 para comparações entre condições; α, β, €: p<0,05 para comparações entre momentos, fixado o grupo; caracteres distintos revelam diferenças estatisticamente significantes; *Two-Way* ANOVA, modelo de medidas repetidas, complementada com teste de Bonferroni.

5.5. Comportamento murinométrico

Na Tabela 9, são expostos os valores médios da massa corporal segundo grupo e momento de avaliação. Em relação ao efeito da suplementação, não foram verificadas alterações significativas em ambas as comparações, C x CR e EF x EFCR. Da mesma maneira, levando-se em conta o efeito do exercício físico resistido, foram constatadas respostas similares entre C e EF, assim como entre CR e EFCR. Por sua vez, considerando-se o momento de avaliação, todos os grupos, em geral, apresentaram um aumento progressivo da massa corporal no decorrer do período experimental.

Tabela 9. Medidas descritivas da massa corporal (g), segundo condição (exercício físico), dieta e momento de avaliação

Grupo	Momento			
	Inicial	1º Mês	2º Mês	3º Mês
C	259±14 ^{Aaα}	312±20 ^{Aaβ}	376±26 ^{Aa€}	408±29 ^{Aa£}
CR	270±22 ^{Aaα}	325±27 ^{Aaβ}	390±40 ^{Aa€}	416±38 ^{Aa£}
EF	272±15 ^{Aaα}	316±12 ^{Aaβ}	370±12 ^{Aa€}	406±26 ^{Aa£}
EFCR	268±28 ^{Aaα}	317±29 ^{Aaβ}	364±42 ^{Aa€}	398±45 ^{Aa£}

C: Controle; CR: Controle + Creatina; EF: Exercício Físico; EFCR: Exercício Físico + Creatina. Valores expressos por média ± desvio padrão. A, B: p<0,05 para comparações entre tratamento a, b: p<0,05 para comparações entre condições; α, β, €, £: p<0,05 para comparações entre momentos, fixado o grupo; caracteres distintos revelam diferenças estatisticamente significantes; *Two-Way* ANOVA, modelo de medidas repetidas, complementada com teste de Bonferroni.

Na Tabela 10, são expressas as taxas de ganho de massa corporal segundo grupo e momento de análise. Em relação ao efeito da dieta, o grupo EFCR apresentou valores significativamente mais altos do que o EF, no

primeiro mês de experimento. Em relação ao efeito do exercício, foram encontrados valores significativamente mais baixos no grupo EF em relação ao C, no 1º mês experimental. Por outro lado, na comparação entre os grupos CR e EFCR foi visto valores mais baixos no segundo mês. Considerando-se o momento de avaliação, todos os grupos mostraram maior ganho de massa durante o primeiro mês de análise.

Tabela 10. Medidas descritivas de taxa de ganho de massa corporal (g/kg), segundo condição (exercício físico), dieta e momento de avaliação

Grupo	Momento		
	1ºMês	2ºMês	3ºMês
C	10,78 ± 3,06 ^{Aaβ}	2,02 ± 1,13 ^{Aaα}	0,46 ± 0,36 ^{Aaα}
CR	11,43 ± 2,85 ^{Aaε}	3,41 ± 3,00 ^{Aaβ}	1,13 ± 1,43 ^{Aaα}
EF	7,20 ± 2,04 ^{Abβ}	1,84 ± 1,50 ^{Aaα}	1,05 ± 0,42 ^{Aaα}
EFCR	9,44 ± 4,60 ^{Baβ}	1,01 ± 0,84 ^{Abα}	1,64 ± 0,72 ^{Aaα}

C: Controle; CR: Controle + Creatina; EF: Exercício Físico; EFCR: Exercício Físico + Creatina. Valores expressos por média ± desvio padrão. A, B: p<0,05 para comparações entre tratamento a, b: p<0,05 para comparações entre condições; α, β, ε: p<0,05 para comparações entre momentos, fixado o grupo; caracteres distintos revelam diferenças estatisticamente significantes; *Two-Way* ANOVA, modelo de medidas repetidas, complementada com Teste de Bonferroni.

Na Tabela 11, são expostas as medidas descritivas de adiposidade corporal, índice de massa corporal (IMC) e Índice de Lee. Em relação ao efeito da suplementação, o grupo CR não revelou diferenças, quando comparado ao grupo C. Entre os grupos exercitados, foram verificados menores valores de adiposidade no grupo EFCR, comparado ao EF. Levando-se em conta o efeito do exercício, o grupo C apresentou maiores medidas de IMC, em relação ao grupo EF. Por sua vez, o grupo EFCR mostrou menores resultados de adiposidade, IMC e Índice de Lee, em comparação ao CR.

Tabela 11. Medidas descritivas da adiposidade, índice de massa corporal (IMC) e Índice de Lee, segundo condição (exercício físico) e dieta

Grupo	Variáveis		
	Adiposidade (%)	IMC (g/cm ²)	Índice de Lee (g/cm ³)
C	3,502±0,449 ^{Aa}	0,651±0,044 ^{Aa}	0,295±0,008 ^{Aa}
CR	3,662±0,665 ^{Aa}	0,638±0,035 ^{Aa}	0,293±0,006 ^{Aa}
EF	3,498±0,430 ^{Aa}	0,611±0,037 ^{Ab}	0,289±0,008 ^{Aa}
EFCR	3,085±0,569 ^{Bb}	0,591±0,047 ^{Ab}	0,284±0,008 ^{Ab}

C: Controle; CR: Controle + Creatina; EF: Exercício Físico; EFCR: Exercício Físico + Creatina. Valores expressos por média ± desvio padrão. A, B: p<0,05 para comparações entre tratamento a, b: p<0,05 para comparações entre condições; *Two-Way* ANOVA, complementada com teste de Tukey.

5.6. Comportamento glicêmico e bioquímico

Na Tabela 12, são apresentados os valores de glicemia durante o teste de tolerância à insulina (TTI). Em relação ao efeito da suplementação, o grupo CR apresentou maiores níveis glicêmicos do que o C, nos dois primeiros momentos de avaliação. Já nas comparações entre EF e EFCR, o grupo EFCR exibiu maiores valores de glicemia na maior parte dos instantes de coleta ($p < 0,05$), exceto nas mensurações de 15 e 20 minutos.

Considerando-se o efeito do exercício, o grupo EFCR apresentou maiores valores de glicemia aos 10 minutos de acompanhamento na comparação com CR. Nos demais momentos e nas comparações entre C e EF, não foram encontradas alterações significativas entre os grupos. Quanto ao momento de análise, todos os grupos apresentaram diminuição dos níveis glicêmicos após 15 minutos de avaliação. Vale dizer que o grupo CR revelou reduções progressivas da glicemia desde o 5º minuto de análise ($p < 0,05$).

Tabela 12. Medidas descritivas de glicose (mg/dL), obtidas no teste de tolerância insulinêmica, segundo condição (exercício físico), dieta e momento de avaliação

Grupo	Momento (min)						
	M0	5	10	15	20	25	30
C	82,88±4,96 ^{Aa£}	88,56±8,57 ^{Aa£}	80,44±12,30 ^{Aa£}	65,11±14,80 ^{Aaβ}	54,11±9,27 ^{Aaα}	55,78±11,28 ^{Aaαβ}	49,33±6,24 ^{Aaα}
CR	94,67±3,04 ^{BaØ}	98,78±7,05 ^{BaØ}	82,89±12,44 ^{Aa£}	70,44±14,85 ^{Aaβ}	62,89±15,30 ^{Aaαβ}	56,11±13,30 ^{Aaα}	54,67±13,23 ^{Aaα}
EF	80,00±5,17 ^{Aa£}	87,78±9,85 ^{Aa£}	77,78±9,85 ^{Aa£}	63,33±11,34 ^{Aaαβ}	57,33±5,00 ^{Aaαβ}	49,89±5,95 ^{Aaα}	43,22±2,91 ^{Aaα}
EFCR	94,00±1,50 ^{Ba£}	99,11±7,36 ^{Ba£}	93,78±8,24 ^{Bb£}	72,89±8,55 ^{Aaαβ}	65,00±8,15 ^{Aaαβ}	60,11±8,13 ^{Baα}	54,22±6,82 ^{Baα}

C: Controle; CR: Controle + Creatina; EF: Exercício Físico; EFCR: Exercício Físico + Creatina. Valores expressos por média ± desvio padrão. A, B: p<0,05 para comparações entre tratamento a, b: p<0,05 para comparações entre condições; α, β, £, Ø: p<0,05 para comparações entre momentos, fixado o grupo; caracteres distintos revelam diferenças estatisticamente significantes; *Two-Way* ANOVA, modelo de medidas repetidas, complementada com teste de Bonferroni.

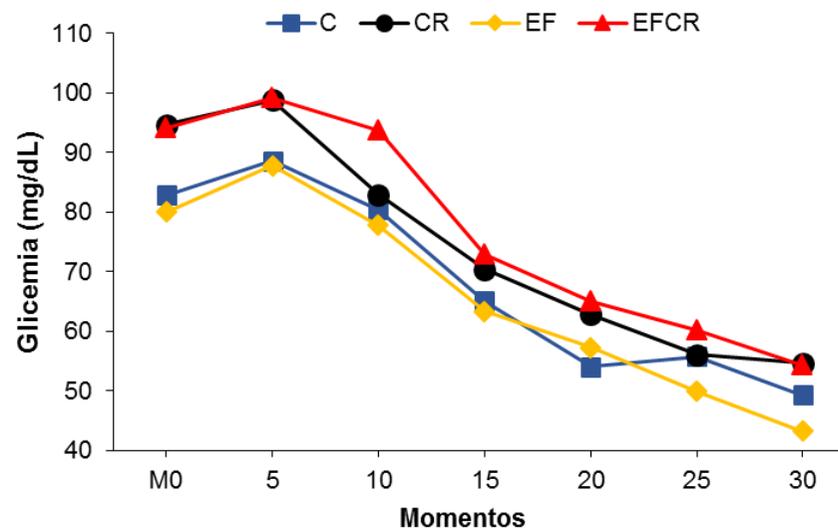


Figura 4. Comportamento da glicemia sérica durante o teste de tolerância à insulina, segundo condição (exercício físico), dieta e momento de avaliação; C: Controle; CR: Controle + Creatina; EF: Exercício Físico; EFCR: Exercício Físico + Creatina.

Na Tabela 13, são expressos os valores de glicemia durante o teste de tolerância à glicose (TTG). Considerando-se os momentos de avaliação, todos os grupos apresentaram elevação da glicemia já aos 15 minutos de monitoramento. Os grupos C, EF e EFCR apresentaram normalização da resposta glicêmica após 90 minutos ($p < 0,05$).

Em relação ao efeito da suplementação, comparando-se C e CR, assim como EF e EFCR, não foram verificadas mudanças significativas no decorrer do teste. Já em relação ao efeito do exercício, foi encontrado diferença significativa na comparação entre CR e EFCR aos 15 minutos de teste; o grupo EFCR apresentou menores valores de glicemia. Por sua vez, não foram encontradas diferenças entre C e EF.

Tabela 13. Medidas descritivas de glicose (mg/dL), obtidas no teste de tolerância glicêmica, segundo condição (exercício físico), dieta e momento de avaliação

G	Momentos (min)						
	MO	15	30	60	90	120	180
C	91,78±5,09 ^{Aαα}	179,78±33,73 ^{Aαε}	187,78±28,43 ^{Aαε}	160,11±23,17 ^{Aαε}	128,89±23,71 ^{Aααβ}	107,00±22,12 ^{Aαα}	94,33±12,63 ^{Aαα}
CR	94,33±5,29 ^{Aαα}	192,11±47,69 ^{Aαε}	177,78±32,97 ^{Aαε}	140,89±21,57 ^{Aααβ}	123,89±24,70 ^{Aααβ}	104,44±15,21 ^{Aαα}	99,67±5,85 ^{Aαα}
EF	86,11±5,01 ^{Aαα}	155,56±36,85 ^{Aααβ}	156,33±38,40 ^{Aααε}	136,56±26,42 ^{Aααβ}	124,00±16,03 ^{Aααβ}	111,00±12,91 ^{Aαα}	91,22±8,79 ^{Aαα}
EFCR	91,67±6,10 ^{Aαα}	155,56±34,72 ^{Aβαβ}	155,11±26,22 ^{Aααβ}	139,44±22,84 ^{Aααβ}	112,44±14,00 ^{Aαα}	107,78±10,21 ^{Aαα}	90,22±4,44 ^{Aαα}

C: Controle; CR: Controle + Creatina; EF: Exercício Físico; EFCR: Exercício Físico + Creatina. Valores expressos por média ± desvio padrão. A, B: $p < 0,05$ para comparações entre tratamento a, b: $p < 0,05$ para comparações entre condições; α , β , ϵ , λ , $p < 0,05$ para comparações entre momentos, fixado o grupo; caracteres distintos revelam diferenças estatisticamente significantes; *Two-Way ANOVA*, modelo de medidas repetidas, complementada com teste de Bonferroni.

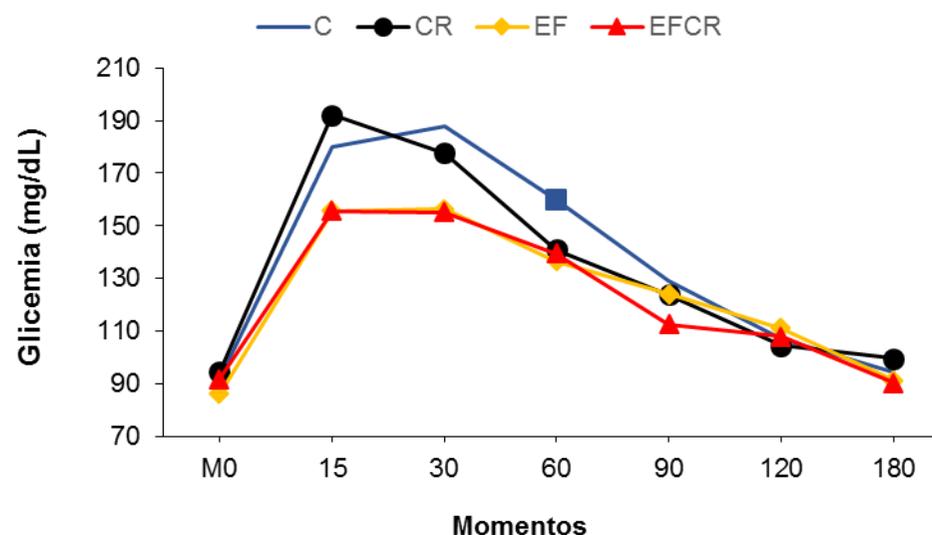


Figura 5- Comportamento da glicemia sérica durante o teste de tolerância à glicose, segundo condição (exercício físico), dieta e momento de avaliação; C: Controle; CR: Controle + Creatina; EF: Exercício Físico; EFCR: Exercício Físico + Creatina.

Na Figura 6, são expressas as respostas de tolerância à glicose, avaliada por meio da área sob a curva glicêmica, obtida no teste oral de tolerância à insulina (ITT). A prática do exercício físico associado à suplementação com creatina resultou em maiores valores de área no grupo EFCR, quando comparado com o EF. (**C**: 2050 ± 273 ; **CR**: 2228 ± 289 ; **EF**: 1988 ± 179 ; **EFCR**: 2325 ± 176 mg/dL).

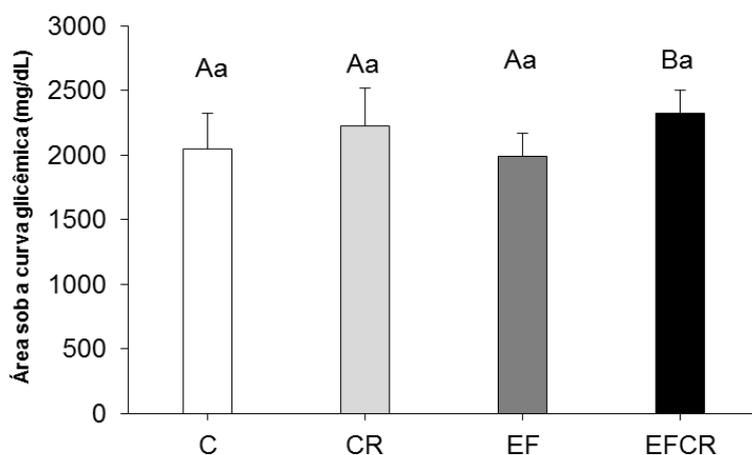


Figura 6 - Área sob a curva glicêmica do teste de tolerância à insulina, segundo condição (exercício físico) e dieta. C: Controle; CR: A, B: $p < 0,05$ para comparações entre tratamento a, b: $p < 0,05$ para comparações entre condições; Two-Way ANOVA, complementada com teste de Tukey.

Na Figura 7, são expressas as respostas de tolerância à glicose, avaliada por meio da área sob a curva glicêmica obtida no teste oral de tolerância à glicose (GTT). Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos (**C**: 23925 ± 3119 ; **CR**: 23212 ± 2948 ; **EF**: 22045 ± 2920 ; **EFCR**: 21624 ± 2389 mg/dL).

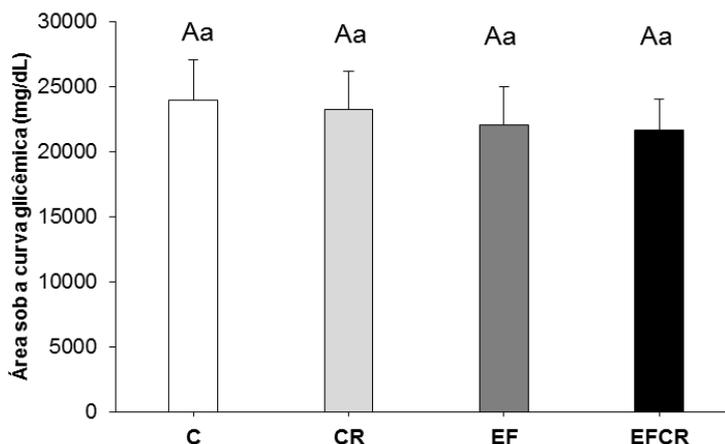


Figura 7 - Área sob a curva glicêmica do teste de tolerância à glicose, segundo condição (exercício físico) e dieta. C: Controle; CR: Controle + Creatina; EF: Exercício Físico; EFCR: Exercício Físico + Creatina. Valores expressos por média \pm desvio padrão A, B: $p < 0,05$ para comparações entre tratamento a, b: $p < 0,05$ para comparações entre condições; *Two-Way* ANOVA, complementada com teste de Tukey.

Na Tabela 14, são expostas as medidas descritivas da caracterização bioquímica. Em relação ao efeito da suplementação de creatina, o grupo CR apresentou valores significativamente menores de proteínas totais em relação ao C. Não foram encontradas diferenças nas demais comparações e também em relação às demais variáveis estudadas.

Tabela 14. Perfil bioquímico sérico, segundo condição (exercício físico) e dieta

Variáveis	GRUPOS			
	C	CR	EF	EFCR
Glicose	147 \pm 20 ^{Aa}	131 \pm 19 ^{Aa}	139 \pm 22 ^{Aa}	138 \pm 17 ^{Aa}
Colesterol	59,0 \pm 8,4 ^{Aa}	55,5 \pm 7,3 ^{Aa}	56,8 \pm 10,2 ^{Aa}	53,4 \pm 4,1 ^{Aa}
Triglicérides	47 \pm 17 ^{Aa}	49 \pm 18 ^{Aa}	43 \pm 12 ^{Aa}	49 \pm 14 ^{Aa}
Proteínas Totais	6,40 \pm 0,18 ^{Aa}	6,16 \pm 0,21 ^{Ba}	6,28 \pm 0,26 ^{Aa}	6,15 \pm 0,20 ^{Aa}
Albumina	2,95 \pm 0,07 ^{Aa}	2,85 \pm 0,14 ^{Aa}	2,89 \pm 0,15 ^{Aa}	2,88 \pm 0,10 ^{Aa}
VLDL	9,6 \pm 3,4 ^{Aa}	9,8 \pm 3,7 ^{Aa}	8,5 \pm 2,6 ^{Aa}	9,8 \pm 2,8 ^{Aa}

C: Controle; CR: Controle + Creatina; EF: Exercício Físico; EFCR: Exercício Físico + Creatina. Valores expressos por média \pm desvio padrão. A, B: $p < 0,05$ para comparações entre tratamento a, b: $p < 0,05$ para comparações entre condições; *Two-Way* ANOVA, complementada com teste de Tukey.

5.7. Caracterização morfológica e umidade cardiopulmonar e hepática

Na Tabela 15, são apresentados os valores de morfologia macroscópica do coração. Em relação ao efeito da suplementação, comparando-se os grupos C e CR, não foram encontradas diferenças significativas entre os mesmos em todas as variáveis analisadas. Entre os grupos exercitados, o grupo EFCR apresentou maiores valores de A/MCF, VE/MCF e C/MCF, comparado ao EF. Fixando-se a intervenção, o EFCR mostrou maiores medidas de A/MCF, VE/MCF e C/MCF, em comparação ao CR.

Tabela 15. Medidas descritivas das características morfológicas gerais do tecido cardíaco, segundo condição (exercício físico) e dieta

Variáveis	Grupo				Fatores (Valor de p)		
	C	CR	EF	EFCR	Condição	Dieta	Interação
Átrio (g)	0,066±0,014 ^{Aa}	0,070±0,009 ^{Aa}	0,070±0,018 ^{Aa}	0,080±0,015 ^{Aa}	0,072	0,052	0,532
A/MCF (mg/g)	0,161±0,032 ^{Aa}	0,166±0,025 ^{Aa}	0,175±0,043 ^{Aa}	0,207±0,036 ^{Bb}	0,004	0,036	0,211
A/Tíbia (mg/mm)	1,54±0,32 ^{Aa}	1,62±0,22 ^{Aa}	1,63±0,41 ^{Aa}	1,86±0,34 ^{Aa}	0,082	0,051	0,536
VD (g)	0,157±0,028 ^{Aa}	0,164±0,019 ^{Aa}	0,159±0,018 ^{Aa}	0,162±0,017 ^{Aa}	0,967	0,255	0,561
VD/MCF (mg/g)	0,383±0,069 ^{Aa}	0,388±0,033 ^{Aa}	0,398±0,042 ^{Aa}	0,419±0,042 ^{Aa}	0,078	0,247	0,665
VD/Tíbia (mg/mm)	3,66±0,65 ^{Aa}	3,83±0,41 ^{Aa}	3,70±0,41 ^{Aa}	3,75±0,36 ^{Aa}	0,829	0,283	0,519
VE (g)	0,492±0,029 ^{Aa}	0,514±0,043 ^{Aa}	0,484±0,049 ^{Aa}	0,505±0,054 ^{Aa}	0,443	0,084	0,946
VE/MCF (mg/g)	1,201±0,084 ^{Aa}	1,199±0,060 ^{Aa}	1,212±0,118 ^{Aa}	1,298±0,098 ^{Bb}	0,029	0,087	0,084
VE/Tíbia (mg/mm)	11,50±0,72 ^{Aa}	11,84±0,96 ^{Aa}	11,27±1,15 ^{Aa}	11,67±1,10 ^{Aa}	0,412	0,139	0,981
Coração (g)	0,715±0,047 ^{Aa}	0,749±0,056 ^{Aa}	0,714±0,064 ^{Aa}	0,748±0,076 ^{Aa}	0,880	0,036	0,929
Cor/MCF (mg/g)	1,74±0,11 ^{Aa}	1,76±0,09 ^{Aa}	1,78±0,14 ^{Aa}	1,92±0,14 ^{Bb}	0,004	0,016	0,094
Cor/Tíbia (mg/mm)	16,71±1,07 ^{Aa}	17,44±1,28 ^{Aa}	16,60±1,43 ^{Aa}	17,29±1,52 ^{Aa}	0,644	0,039	0,863

C: Controle; CR: Controle + Creatina; EF: Exercício Físico; EFCR: Exercício Físico + Creatina. A/MCF: razão entre a massa dos átrios e da massa corporal final; A/tíbia: razão entre a massa dos átrios e do comprimento da tíbia; VD: massa do ventrículo direito; VD/MCF: razão da massa do ventrículo direito com a massa corporal final; VD/Tíbia: razão da massa do ventrículo direito com o comprimento da tíbia; VE: massa do ventrículo esquerdo; VE/MCF: razão da massa do ventrículo esquerdo com a massa corporal final; VE/Tíbia: razão entre a massa do ventrículo esquerdo com o comprimento da tíbia; Cor/MCF: razão entre a massa do coração e a massa corporal final; Cor/Tíbia: razão entre a massa do coração e o comprimento da tíbia. Valores expressos por média ± desvio padrão. A, B: p<0,05 para comparações entre tratamento a, b: p<0,05 para comparações entre condições; Two-Way ANOVA, complementada com teste de Tukey.

Na Tabela 16, são expostas as medidas descritivas do conteúdo relativo de água do tecido cardíaco, pulmão e fígado. Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos nas variáveis analisadas.

Tabela 16. Medidas descritivas do conteúdo relativo de água do tecido cardíaco, pulmão e fígado, segundo condição (exercício físico) e dieta

Variáveis	Grupos			
	C	CR	EF	EFCR
Átrios	73,0±5,5 ^{Aa}	74,4±3,2 ^{Aa}	73,3±4,0 ^{Aa}	76,1±6,1 ^{Aa}
Ventrículo Direito	74,8±1,5 ^{Aa}	74,4±1,8 ^{Aa}	75,0±1,2 ^{Aa}	74,5±9,3 ^{Aa}
Ventrículo Esquerdo	75,3±1,9 ^{Aa}	75,0±1,0 ^{Aa}	72,1±8,7 ^{Aa}	72,7±9,0 ^{Aa}
Pulmão	78,9±2,5 ^{Aa}	78,7±1,5 ^{Aa}	78,5±2,6 ^{Aa}	78,1±2,5 ^{Aa}
Fígado	66,8±5,8 ^{Aa}	66,1±5,1 ^{Aa}	67,7±0,8 ^{Aa}	68,0±3,3 ^{Aa}

C: Controle; CR: Controle + Creatina; EF: Exercício Físico; EFCR: Exercício Físico + Creatina. Valores expressos por média ± desvio padrão A, B: p<0,05 para comparações entre tratamento a, b: p<0,05 para comparações entre condições; *Two-Way* ANOVA, complementada com teste de Tukey.

Na Figura 8 (A, B e C), são mostradas as medidas de área seccional transversa (**C**: 247±42; **CR**: 250±58; **EF**: 242±42; **EFCR**: 261±66 μm^2), o perímetro dos cardiomiócitos (**C**: 65±7; **CR**: 64±7; **EF**: 62±6; **EFCR**: 65±10 μm) e o conteúdo de colágeno intersticial do miocárdico em porcentagem (**C**: 0,70±0,29; **CR**: 0,75±0,35; **EF**: 0,90±0,37; **EFCR**: 0,69±0,23%), respectivamente, e não foram observadas diferenças estatísticas nessas variáveis.

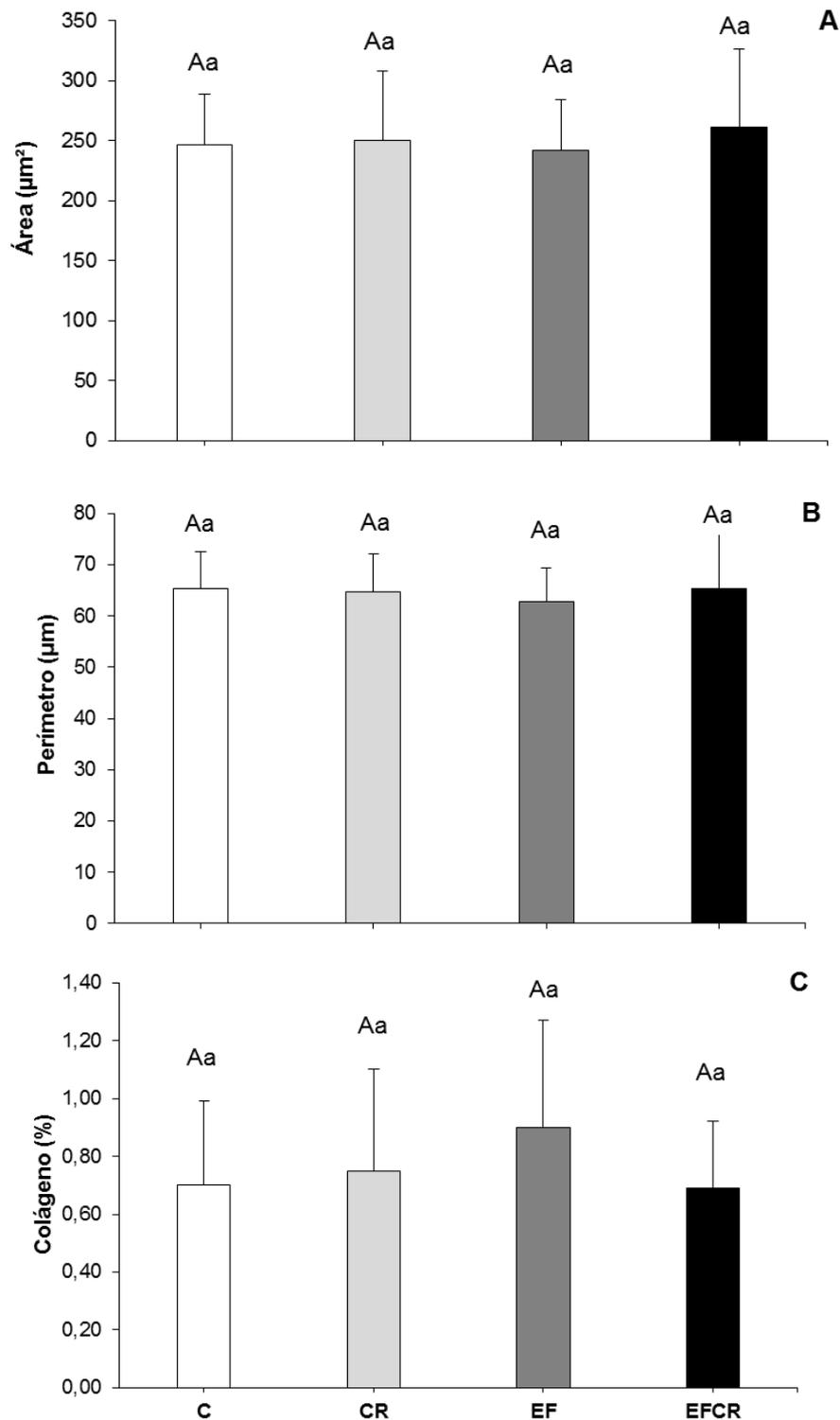


Figura 8 - Medidas descritivas da área seccional transversa cardiomiocitária (A), perímetro do cardiomiócito (B) e fração intersticial de colágeno (C), segundo condição (exercício físico) e dieta; C: Controle CR: Creatina; EF: Exercício Físico; EFCR: Exercício Físico e Creatina. Valores apresentados em média \pm desvio-padrão; A, B: $p < 0,05$ para comparações entre tratamento a, b: $p < 0,05$ para comparações entre condições, *Two-Way ANOVA*, complementada com teste de Tukey.

Na Figura 9 e 10 são demonstrados as imagens representativas de cortes histológicos teciduais da parede do ventrículo esquerdo, caracterizando a área seccional transversa dos cardiomiócitos e o conteúdo de colágeno intersticial miocárdico, respectivamente.

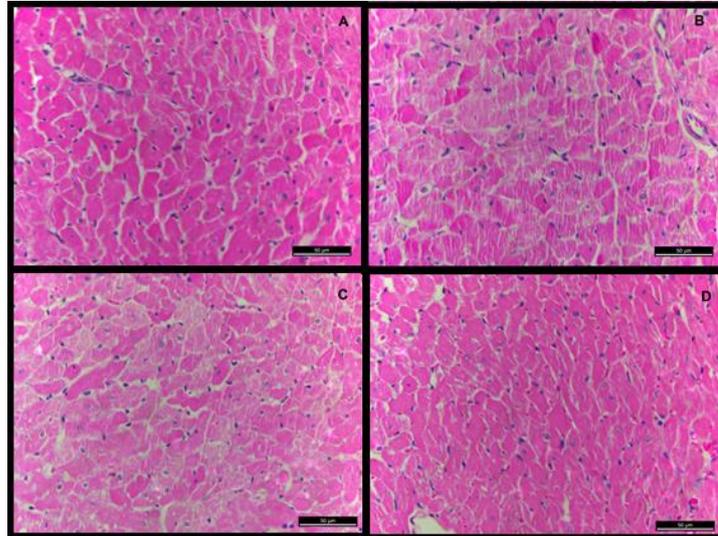


Figura 9 - Cortes histológicos transversais do músculo cardíaco corados com hematoxilina-eosina (HE) 40 X, segundo condição (exercício físico) e dieta; A: Controle; B: Creatina; C: Exercício Físico; D: Exercício Físico + Creatina

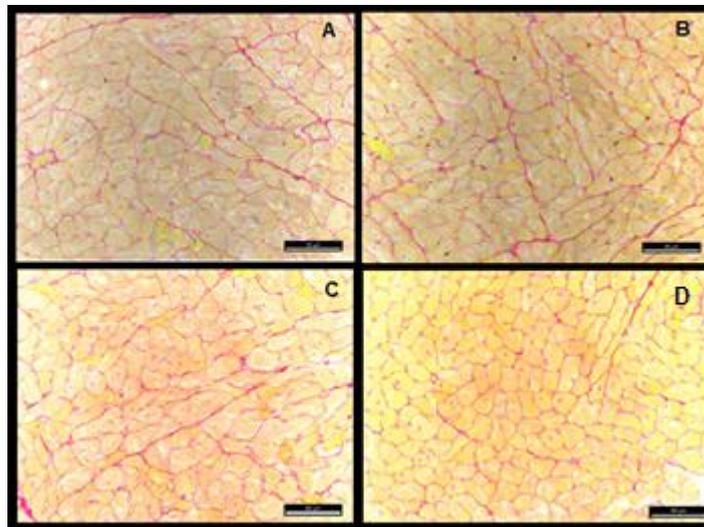


Figura 10. Cortes histológicos transversais do músculo cardíaco corados com picro-sirius red 40 X, segundo condição (exercício físico) e dieta; A: Controle; B: Creatina; C: Exercício Físico; D: Exercício Físico + Creatina

6. DISCUSSÃO

Sob a hipótese inicial de que a suplementação com creatina resulta em alterações metabólicas sistêmicas e da morfologia cardíaca, e que o exercício resistido de escalada atenua essas desordens, a proposta do presente trabalho foi analisar a influência da combinação entre suplementação com creatina e prática de exercício físico resistido sobre a capacidade funcional ao esforço, tolerância glicêmica e insulinêmica, perfil bioquímico sérico e indicadores morfológicos de remodelação cardíaca. No contexto metabólico, a suplementação com creatina, quando associada ao exercício físico resistido, promoveu desordens de tolerância glicêmica. Já no aspecto cardiovascular, a associação da suplementação com creatina e exercício físico acarretou remodelação cardíaca.

Em relação ao modelo de experimentação animal, a suplementação com creatina tem sido estudada com o propósito de entender os mecanismos fisiológicos pelos quais a creatina contribui para o aumento da massa magra corporal, força e resistência ^(4,5,14). Contudo, algumas evidências demonstraram que a suplementação com creatina é capaz de modular a homeostase glicêmica, podendo conduzir ao quadro de hiperinsulinemia e/ ou hiperglicemia ^(17,18). Portanto, ainda que a suplementação com creatina possa trazer alguns benefícios quando associada a prática do exercício físico, há também consequências indesejáveis ao metabolismo.

Nessa perspectiva, foi encontrado que a suplementação com creatina pode induzir ao quadro de resistência à insulina ^(17,18). Levando-se em conta que essas enfermidades podem ser acompanhadas de remodelação cardíaca ⁽⁵⁹⁾, foi elaborada a primeira hipótese do presente estudo: a suplementação com creatina promoveria desordens metabólicas e alterações morfológicas no coração. Considerando-se o potencial da prática do exercício físico como intervenção para amenizar ou reduzir riscos de doenças metabólicas e cardiovasculares ⁽²⁰⁻²³⁾, a segunda parte da hipótese do presente estudo foi que o exercício físico atenuaria as desordens decorrentes da suplementação com creatina. Neste sentido o protocolo de exercício físico integrou o protocolo de exercício resistido de escalada, com predomínio de metabolismo anaeróbio.

Em geral, os programas de treinamento de exercício físico resistido podem ser considerados uma das maneiras mais eficazes para a finalidade de gerar

adaptações que determinam a melhora da capacidade funcional do sistema neuromuscular ⁽⁶³⁾. Entre seus mais variados efeitos, alguns estudos mostraram que o exercício físico resistido promove aumentos no desempenho físico e na capacidade de gerar força ^(63,64); isso justifica nossos achados após o protocolo de experimentação, sendo que a carga carregada pelos grupos exercitados foi superior àquela dos grupos sedentários (Figura 2). Na comparação entre grupos exercitados, o grupo submetido a suplementação com creatina apresentou capacidade de tolerância à carga superior ao grupo EF (Figura 2). A suplementação com creatina mostra-se envolvida com o processo de contração, servindo-se de substrato para o grupo fosfato; o composto resultante - fosfocreatina (CP) - é essencial como recurso energético em atividades de potência e velocidade, de curta duração ⁽⁵⁾. Entre seus efeitos ergogênicos, a suplementação com creatina promove aumento da disponibilidade de CP, ampliando a oferta de energia e a ressíntese de ATP ⁽⁵⁾, o que justifica esses achados.

Levando-se em conta o comportamento nutricional e murinométrico, os grupos submetidos ao protocolo de suplementação apresentaram maior consumo hídrico, além de menores valores de ingestão alimentar, ingestão calórica, e não foram observadas alterações nas medidas de massa corporal. Os maiores valores de ingestão hídrica (Tabela 3) apresentados pelos grupos submetidos a suplementação podem ser explicados pelo maior conteúdo de proteína contido na composição da ração. O alto consumo de proteínas é capaz de alterar o consumo hídrico ^(65,66). Por meio de uma alimentação hiperproteica, ocorre produção de corpos cetônicos decorrentes da oxidação lipídica e dos aminoácidos cetogênicos ⁽⁶⁷⁾. Assim, conduzem ao aumento da osmolaridade plasmática e desencadeiam a sensação de sede e, conseqüentemente, o maior consumo hídrico ⁽⁶⁷⁾. Resultados similares foram apresentados por Júnior et al. ⁽⁶⁸⁾, que observaram que ratos submetidos a suplementação com creatina exibiam maior consumo hídrico.

Similarmente, os menores valores de ingestão alimentar (Tabela 4 e 5) e calórica (Tabela 6 e 7) decorrentes da suplementação com creatina podem ser explicados pelo maior conteúdo de proteína contido na composição da ração. De forma geral, as proteínas repercutem efeito na saciedade, possivelmente por uma maior liberação de hormônios inibidores de apetite pelas células intestinais em decorrência da ingestão de proteína ⁽⁶⁹⁾, o que poderia explicar os menores valores de ingestão alimentar e calórica dos grupos suplementados. Após o processo

digestivo, a presença de proteína e o aumento da concentração de aminoácidos no lúmen intestinal estimulam a secreção de colecistoquinina (CCK), esta que auxilia na liberação do peptídeo YY (contribui para a redução da ingestão alimentar) e reduz a liberação de grelina (aumento da sensação de fome), o que conduz a uma maior sensação de saciedade ⁽⁷⁰⁾. Corroborando nossos achados, Júnior et al. ⁽⁶⁸⁾ verificaram que ratos submetidos a suplementação com creatina apresentaram menores valores de ingestão alimentar.

Por sua vez, os valores de massa corporal (Tabela 9) não se distinguiram entre grupos durante os momentos de avaliação. Entretanto, o grupo EFCR apresentou menores valores de adiposidade quando comparado ao EF e menores valores de IMC e Índice de Lee na comparação com CR. Além disso, o grupo EF exibiu menores valores de IMC na comparação com o grupo controle (Tabela 11). Portanto, o exercício físico parece ter influência nessas variáveis murinométricas na comparação com os grupos sedentários. A prática do treinamento físico pode promover modificações tanto agudas como crônicas no gasto energético total; as respostas agudas incluem o próprio custo energético utilizado para a realização da atividade e na fase de recuperação. Os efeitos crônicos derivam do ganho de massa magra, que pode acarretar alterações na taxa metabólica de repouso ⁽⁷¹⁾, o que poderia explicar os menores valores de IMC apresentados pelos grupos exercitados. Entretanto, a alteração da massa corporal em virtude da suplementação de creatina tem mostrado efeitos contraditórios, pois alguns autores relatam aumento ⁽⁵⁾ enquanto outros não observaram alteração alguma ^(45,72).

No contexto metabólico, o teste de tolerância glicêmica (TTG) apresentou uma sutil melhora do grupo CR aos 60 minutos de teste, o que não se materializou na análise da área sob a curva glicêmica (Tabela 13; Figura 7). Já no teste de tolerância à insulina (TTI), os grupos suplementados com creatina apresentaram valores glicêmicos mais altos nos dois primeiros momentos do teste na comparação com os controles. Já o grupo EFCR só não exibiu valores mais altos na comparação com EF nos momentos 15 e 20 da avaliação (Tabela 12). Portanto, a suplementação com creatina mostrou ser capaz de modular o metabolismo glicêmico visto a partir da análise da área sob a curva glicêmica do teste de tolerância à insulina, verificado na comparação entre os grupos exercitados, sendo que o grupo EFCR apresentou menor tolerância glicêmica (Figura 6). Costallat et al. ⁽¹⁸⁾ em seu estudo encontraram que a suplementação com creatina foi capaz de induzir uma possível resistência à

insulina em seus ratos, sustentada por anormalidades no comportamento glicêmico entre o 14° e o 28° dia de experimentação, mostrando que a suplementação com creatina é capaz de promover maior liberação de insulina pelas células β pancreáticas.

Nessa perspectiva, embora a glicose configure o principal agente incitador de secreção de insulina pelas células β pancreáticas, diferentes fatores podem afetar a secreção de insulina, incluindo-se agentes inflamatórios, fármacos, ácidos graxos e aminoácidos, como a arginina ⁽⁷³⁾ um dos componentes da estrutura molecular de creatina. O processo de estimulação da insulina pela arginina consiste em seu transporte para o interior de células β pancreáticas, levando à despolarização da membrana, o que induz abertura de canais de cálcio dependentes de voltagem e, conseqüentemente, estimula a secreção de insulina ⁽⁴²⁾. Barbosa et al. ⁽⁷⁴⁾ administraram arginina a ratos durante quatro semanas e os resultados demonstraram uma possível resistência à insulina, em razão da alta concentração sérica do hormônio insulina associada à redução da taxa de decaimento glicêmico ao teste de tolerância à insulina. Em outro estudo, Barbosa et al. ⁽⁷⁵⁾ investigaram a expressão de proteínas envolvidas na sinalização da insulina no músculo esquelético, tecido adiposo e no fígado de ratos suplementados com arginina por quatro semanas e, embora a expressão de subunidades β do receptor sarcolemal de insulina (IR) não tenha sido afetada, o conteúdo dos substratos do IR (IRS 1/2) e do peptídeo AKT, com localização pós-receptor, mostraram-se reduzidos nos tecidos analisados, indicando prejuízo na sinalização de insulina em localização pós-receptor, o que poderia justificar nossos resultados. Entretanto, Júnior et al. ⁽⁶⁸⁾, ao suplementar seus ratos com creatina durante 10 dias não observou alteração no comportamento glicêmico.

Embora nossos achados demonstram que a suplementação com creatina a 2% acarreta distúrbios metabólicos glicêmicos, outros estudos com intervenções a 13% não encontraram alteração ⁽⁶⁸⁾ ou, inclusive, melhoraram a tolerância glicêmica ⁽⁶⁶⁾. Sendo assim, há uma certa imprecisão entre os protocolos de suplementação, pois a administração tem sido variável entre oferta de creatina na ração ^(17,45), em solução aquosa ^(18,19) e, inclusive, na gelatina ⁽⁷⁶⁾, o que confere uma imprecisão à determinação da dosagem e a forma de como é administrada. Portanto, os resultados divergentes são, provavelmente, decorrentes das variações entre protocolos de suplementação com creatina.

Já na caracterização bioquímica (Tabela 14), foram observados menores valores de proteínas totais no grupo CR, quando comparado ao grupo C. Nossos achados são contrários a outros estudos ^(72,77), os quais demonstraram que não houve alteração decorrente da suplementação com creatina em relação às medidas de proteína total. Ademais, e correspondente aos nossos outros resultados, Vieira et al. ⁽⁷²⁾ e Baracho et al. ⁽⁷⁷⁾ demonstraram que a suplementação com creatina não induz alterações nas variáveis bioquímicas analisadas.

Em relação à remodelação cardíaca, trata-se de um processo considerado predisponente para a ocorrência de eventos cardiovasculares, e é constituído por alterações a nível molecular, celular e intersticial, que se manifestam por alterações no tamanho, forma e função do coração ⁽⁷⁸⁾. Levando-se em conta a importância de se investigar melhor a ocorrência deste processo devido ao alto índice de doenças cardiovasculares, decorrentes de sobrecarga hemodinâmica, ativação neuro-hormonal e diferentes condições nutricionais, nosso estudo analisou aspectos estruturais e morfológicos do miocárdio e sua relação com a suplementação com creatina.

Em relação aos valores estimados de morfologia macroscópica do coração, a combinação entre suplementação com creatina e exercício resistido resultou em maiores valores de A/Tíbia, VE/MCF e C/MCF, quando comparado a seu grupo controle e ao grupo EF (Tabela 15).

Esses achados podem ser explicados, possivelmente, pelo efeito osmótico decorrente da maior ingestão hídrica encontrada nos grupos suplementados, o que ocasionou aumento da volemia ⁽¹⁶⁾. Efeito que está relacionado a um maior retorno venoso, o que contribui para o aumento da dilatação e da massa do coração ⁽⁷⁸⁾. Essas manifestações estão associadas a hipertrofia cardíaca excêntrica ⁽⁷⁸⁾.

Já o modelo de treinamento utilizado neste trabalho, representa o treinamento resistido, o qual se associa com a hipertrofia cardíaca concêntrica. A hipertrofia cardíaca concêntrica decorrente do exercício é caracterizada pelo aumento da espessura da parede do ventrículo esquerdo, porém sem mudanças na dimensão da cavidade. Esse tipo de hipertrofia induz a adição de novos sarcômeros em paralelo, o qual resulta em aumento da largura do cardiomiócito ⁽⁷⁹⁾.

Apesar dos nossos achados só demonstrarem aumento da massa cardíaca no grupo EFCR, alguns trabalhos evidenciam que o exercício resistido isoladamente é capaz de promover alterações morfométricas nos cardiomiócitos. Baraúna et al.

⁽²⁷⁾, encontraram maiores valores de massa do ventrículo esquerdo e razão entre ventrículo esquerdo e massa corporal nos grupos submetidos ao exercício físico resistido durante quatro semanas. Similarmente, Melo et al. ⁽⁸⁰⁾ encontraram remodelação cardíaca na razão entre a massa do ventrículo esquerdo pela massa corporal no grupo submetido ao treinamento resistido por oito semanas.

Contudo, nossos resultados de medidas morfométricas do miocárdio não indicaram alterações na mensuração da área e perímetro dos cardiomiócitos, e na concentração de colágeno (Figura 8). Em contraste, Melo et al. ⁽⁸⁰⁾ demonstraram que o treinamento de resistência por oito semanas foi capaz de induzir alterações na massa do ventrículo esquerdo, além de aumentar o volume, largura e comprimento do miócito. Nessa perspectiva, para avaliar a ocorrência de hipertrofia miocárdica, usualmente utiliza-se a mensuração da área do miócito, coradas com hematoxilina – eosina em procedimentos específicos e já estabelecidos ⁽⁵⁶⁾. Entretanto, este método possui limitações que podem induzir a interpretações errôneas. Dentre esses fatores, inclui-se a variabilidade do ângulo de corte dos tecidos, neste caso, conduzindo a uma superestimação da área miocitária ⁽⁹⁴⁾. Portanto, outros indicadores de análise da ocorrência de hipertrofia ventricular podem conferir maior precisão de medidas, incluindo-se a avaliação do menor diâmetro celular e a mensuração do volume do núcleo ^(81,82).

7. CONCLUSÃO

Em conclusão, a suplementação com creatina promoveu desordens no metabolismo glicêmico. Além disso quando associada ao exercício promoveu melhora da capacidade funcional, além de hiperinsulemia. No músculo cardíaco, o treinamento físico, *per se*, não promoveu alterações morfológicas e morfométricas. Porém quando associada a suplementação com creatina resultou em remodelação cardíaca.

REFERÊNCIAS

1. Theodoro H, Ricarde S. Avaliação Nutricional e Autopercepção Corporal de praticantes de musculação em academias de Caxias do Sul-RS. *Rev. Bras Med Esporte*. 2009;15(4): 292-295.
2. Rebollo, M. Suplementos Nutricionais em Pediatria. *Rev.Chil Nutr*. 2002; 29(3): 294-299.
3. Molinero O, Márquez S. Fatores de uso de suplementos nutricionais no esporte: riscos, conhecimento e comportamentais relacionados. *Nutr Hosp*. 2009 24(2): 128-134.
4. Terjung R, Clarkson P, Eichner ER, Greenhaff P, Hespel P, Israel R, Kraemer WJ, Meyer R, Spriet L, Tarnopolsky M, Wagenmakers A, Williams M. The physiological and health effects of oral creatine supplementation. *Medicine & Science in Sport & Exercise*. 2000; 32(3): 706-717.
5. Williams MH, Kreider RB, Branch JD. *Creatina*. 1º edição. São Paulo: Manole; 2000.
6. Bemben M, Lamont H. Creatine supplementation and exercise performance: recent findings. *Sports Med*. 2005; 35(2):107-125.
7. Gualano B, Grinowitsch C, Seguro A, Lancha A. A suplementação de creatina, prejudica a função renal?. *Rev. Bras Med Esporte*. 2008;14(1): 68-73.
8. Ipsiroglu O, Stromberger C, Ilas J, Hoger H, Muhl A, Ipsiroglu S. Changes of tissue creatine concentrations upon oral supplementation of creatine-monohydrate in various animal species, *Life Sci*. 2001; 69(15):1805-1815.
9. Souza RA, Santos RM, Osório RAL, Cogo JC, Júnior ACGP, Martins RABL, Ribeiro W. Influência da suplementação aguda e Crônica de creatina sobre as concentrações sanguíneas de glicose e lactato de ratos Wistar *Rev. Bras Med Esporte*. 2006;12(6):361-365.
10. Longo N, Ardon O, Vanzo R, Schwartz E, Pasquali M. Disorders of Creatine Transport and Metabolism. *Am J Med Genet Part C: Semin Med Genet*. 2011;157(1):72-78.
11. Wallimann T, Schlattner U, Guerrero L, Dolder M. The phosphocreatine circuit and creatine supplementation, both come of age! "In": Mori A, Ishida M, Clark JF (eds). *Guanidino Compounds*. 8 Blackwell Science Asia 1994.117–129.
12. Snow RJ, Murphy RM. Creatine and creatine transporter: a review. *Mol Cell Biochem*. 2001; 244(1-2):169-191.
13. Clark JF. Creatine: A review of its nutritional applications in sports. *Nutr*. 1998; 14(3): 332-324.
14. Hoffman J, Ratamess N, Kang J, Mangine G, Faigenbaum A, Stout J. Effect of creatine and β -Alanine supplementation on performance and endocrine responses in strength/power athletes. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2006; 16(4): 430-446.
15. Volek JS, Duncan ND, Mazzetti SA, Staron RS, Putukian M, Gomez AL, Pearson DR, Fink WJ, Kraemer WJ. Performance and muscle fiber adaptations to creatine supplementation and heavy resistance training. *Med Sci Sports Exerc*. 1999;31:1147-1156.
16. Franco FSC, Natali AJ, Costa NMB, Lunz W, Gomes GJ, Junior MAC, Oliveira TT. Efeitos da suplementação de creatina e do treinamento de potência sobre a performance e a massa corporal magra de ratos. *Rev Bras Med Esporte*. 2007; 13(5): 297-302.
17. Rooney K, Bryson J, Phuyal J, Denyer G, Caterson I, Thompson C. Creatine supplementation alters insulin secretion and glucose homeostasis in vivo. *Metab*, 2002; 51(4):518-522.
18. Costallat BL, Miglioli L, Silva PAC, Novo NF, Duarte JLG. Resistência à insulina com a suplementação de creatina em animais de experimentação. *Rev Bras Med Esporte*. 2007;13(1):22-26.
19. Nicastro H, Gualano B, de Moraes WM, de Salles Painelli V, da Luz CR, Dos Santos

- Costa A, Salvi GF, Medeiros A, Brum PC, Lancha AH. Effects of creatine supplementation on muscle wasting and glucose homeostasis in rats treated with dexamethasone. *Amino Acids* 2012; 42(5):1695-1701
20. Paffenbarger RS, Hale WE. Work activity and coronary heart mortality. *N Engl J Med*. 1975;292(11): 545-555.
 21. Paulson DJ, Kopp SJ, Peace G, Tow JP. Myocardial adaptation to endurance exercise training in diabetic rats. *Am J Physiol*. 1987;252(6 Pt2):1073-1081.
 22. Ciolac EG, Guimarães GV. Exercício físico e síndrome metabólica. *Rev Bras Med Esporte*. 2004; 10(4): 319-324.
 23. Francischi RP, Pereira LO, Lancha Jr AH. Exercício, comportamento alimentar e obesidade: revisão dos efeitos sobre a composição corporal e parâmetros metabólicos. *Rev Paul Educ Fís*. 2001;15(2):117-140.
 24. Forjas CI, Rezk CC, Cardoso CF. J. In: Negrão CE, Pereira BAC (eds.) *Cardiologia do exercício: do atleta ao cardiopata*. São Paulo: Manole; 2005
 25. Araújo CGS. Fisiologia do exercício físico e hipertensão arterial. Uma breve introdução. *Revista Hipertensão*, 2001:78-83.
 26. Beckers PJ, Denollet J, Possemiers NM, Wuyts FL, Vrints C, Conraads VM. Combined endurance-resistance training vs. endurance training in patients with chronic heart failure: a prospective randomized study. *Eur Heart J*. 2008; 29(15):1858-1866.
 27. Barauna VG, Junior ML, Costa RLF, Casarini DE, Krieger JE, Oliveira EM. Cardiovascular adaptations in rats submitted to a resistance-training model. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2005;32(4):249–254.
 28. Pimenta L, Gama EF, Maifrino LBM, Souza RR. Effects of physical exercises on the ventricular myocardium. *Braz J Morphol Sci* 2009;26(2):113-117.
 29. Maron BJ, Pelliccia A. Cardiac Remodeling and the Risks of Sports, Including Sudden death. *Circulation* 2006;114(15):1633-44.
 30. Zile MR, Brutsaert DL. New concepts in diastolic dysfunction and diastolic heart failure: part II. Causal mechanisms and treatment. *Circulation*. 2002;105(12):1503–1508.
 31. Gualano B, Acquesta FM, Ugrinowitsch C, Tricoli V, Serrão JC, Lancha AH. Effects of Creatine Supplementation on Strength and Muscle Hypertrophy: Current Concepts. *Rev Bras Med Esporte*, 2010;16(3): 219-223.
 32. Forjaz CLM, Rezk CC, Melo CM, Santos DA, Teixeira L, Nery SS, Tinucci T. Exercício resistido para o paciente hipertenso: indicação ou contra-indicação. *Rev Bras Hipertens*. 2003,10: 119-124.
 33. Oliveira LM, Azevedo MO, Cardoso CKS. Efeitos da suplementação de creatina sobre a composição corporal de exercícios físicos. *Rev Bras Nutr Esp* -2017; (11)61: 10-15.
 34. Branch JD. Effect of creatine supplementation on body composition and performance: a meta-analysis. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2003;13(2):198-226.
 35. Dempsey RL, Mazzone MF, Meurer LN. Does oral creatine supplementation improve strength? A metaanalysis. *J Fam Pract*. 2002;51(11):945-51.
 36. Swynghedauw B. Phenotypic plasticity of adult myocardium: molecular mechanisms. *J Exp Biol*. 2006;209(12):2320-7.
 37. Selvetella G, Hirsch E, Notte A, Tarone G, Lembo G. Adaptive and maladaptive hypertrophic pathways: points of convergence and divergence. *Cardiovasc Res*. 2004;63(3):373-380
 38. Barry S, Davidson S, Townsend P. Molecular regulation of cardiac hypertrophy. *Int J Biochem Cell*. 2008;40(10):2023-2039.
 39. Palomeque J, Delbridge L, Petroff MV. Angiotensin II: a regulator of cardiomyocyte function and survival. *Front Biosci*. 2009;1(14):5118-5133.
 40. Herchuelz A, Lebrun P, Boschero AC, Malaisse WJ. Mechanism of arginine-stimulated Ca²⁺ influx into pancreatic B cell. *Am J Physiol*. 1984;246(1):38-43.
 41. Smith PA, Sakura H, Coles B, Gummerson N, Proks P, Ashcroft FM. Electrogenic

- arginine transport mediates stimulus-secretion coupling in mouse pancreatic B-cells. *J Physiol.* 1997;499: 625-35.
42. Sener A, Best LC, Yates AP, Kadiata MM, Olivares E, Louchami K, Jikli H, Ladrière L, Malaisse WJ. Stimulus-secretion coupling of arginine-induced insulin release: comparison between the cationic amino acid and its methyl ester. *Endocrine.* 2000;13:329-40.
 43. Ferranini E, Natali A, Bell P, Cavallo-Perin P, Lalic N, Mingrone G. Insulin resistance and hypersecretion in obesity. European Group for Study of Insulin Resistance (EGIR). *J Clin Invest.* 1997;100:1166-73.
 44. Newman JE, Hargreaves M, Garnham A, Snow RJ. Effect of creatine ingestion on glucose tolerance and insulin sensitivity in men. *Medicine and Science in Sports and Exerc.* 2003; 35(1):69-74.
 45. Freire TO, Gualano B, Leme MD, Polacow VO, Lancha AHJ (2008). Efeitos da Suplementação de Creatina na Captação de Glicose em Ratos Submetidos ao Exercício Físico. *Rev. Bras Med Esports.* 2008;14(5):431-435.
 46. Ju JS, Smith JL, Oppelt PJ, Fisher JS. Creatine feeding increases GLUT4 expression in rat skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2005;288(2): 347-352
 47. Van LLJ, Murphy R, Oosterlaar AM, Cameron-smith D, Hargreaves M, Wagenmakers AJ, Snow R. Creatine supplementation increases glycogen storage but not GLUT-4 expression in human skeletal muscle. *Clin Sci.* 2004;106(1):99-106.
 48. Deminice R, Portari GV, Vannucchi H, Jordao AA. Effects of creatine supplementation on homocysteine levels and lipid peroxidation in rats. *Br J Nutr.* 2009; 102(1):110–116.
 49. Hornberger TA, Farrar RP. Physiological hypertrophy of the FHL muscle Following 8 Week of Progressive Resistance Exercise in the Rat. *Can J Appl Physiol.* 2004; 29(1):16-31.
 50. McDonald MW, Hall KE, Jiang M, Noble EG, Melling JCW. Ischemia-reperfusion injury and hypoglycemia risk in insulin-treated T1DM rats following different modalities of regular exercise. *Physiol Rep.* 2014; 2(11):1-12.
 51. Frajacom FTT, Falcai MJ, Fernandes CR, Shimano AC, Garcia SB. Biomechanical adaptations of mice cortical bone submitted to three different exercise modalities. *Acta Ortop Bras.* 2013; 21(6):328-332.
 52. Committee on care and use of laboratory animals. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.* Bethesda: National Institute of Health, 1985.
 53. *Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Official Methods of analysis of AOAC International.* 19 ed. Washington: AOAC International; 2012.
 54. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução nº. 360, de 23 de dezembro de 2003. Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. *Diário Oficial da União* 26 dez 2003; Seção 1.
 55. Oliveira Jr SA, Okoshi K, Lima-Leopoldo AP, Leopoldo AS, Campos DH, Martinez PF, Okoshi MP, Padovani CR, Dal Pai-Silva, Cicogna AC. Nutritional and cardiovascular profiles of normotensive and hypertensive rats kept on a high fat diet. *Arq Bras Cardiol.* 2009;93(5):526-33.
 56. Oliveira Jr SA, Dal Pai-Silva M, Martinez PF, Campos DH, Lima-Leopoldo AP, Leopoldo AS, Nascimento AF, Okoshi MP, Okoshi K, Padovani CR, Cicogna AC. Differential nutritional, endocrine, and cardiovascular effects in obesity-prone and obesity-resistant rats fed standard and hypercaloric diets. *Med Sci Monit.* 2010;16(7):208-217.
 57. Oliveira Jr SA, Dal Pai-Silva M, Martinez PF, Lima-Leopoldo AP, Campos DH, Leopoldo AS, Okoshi MP, Okoshi K, Padovani CR, Cicogna AC. Diet-induced obesity causes metabolic, endocrine and cardiac alterations in spontaneously hypertensive rats. *Med Sci Monit.* 2010;16(12):367-373.
 58. Bonomo C. Resistência à insulina, hormônios tireoidianos e expressão proteica de glut4 no músculo esquelético de ratos com insuficiência cardíaca [Dissertação].

- Botucatu: Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina; 2011.
59. Oliveira Jr SA. Influência do bloqueio de receptores do tipo 1 (AT1) sobre o perfil metabólico, endócrino e cardiovascular de ratos obesos. 2011. 125 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina de Botucatu, 2011.
 60. Lima-Leopoldo AP, Sugizaki MM, Leopoldo AS, Carvalho RF, Nogueira CR, Nascimento AF, Martinez PF, Luvizotto RA, Padovani CR, Cicogna AC. Obesity induces upregulation of genes involved in myocardial Ca²⁺- handling. *Braz J Med Biol Res.* 2008;41(7):615-20.
 61. Novelli ELB, Diniz YS, Galhardi CM, Ebaid GMX, Rodrigues HG, Mani F, Fernandes AA, Cicogna AC, Novelli FJL. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Laboratory Animals.* v.41, p. 111-119, 2007.
 62. Oliveira Jr SA, Martinez PF, Guizoni DM, Campos DH, Fernandes T, Oliveira EM, Okoshi, MP, Okoshi K, Padovani, CR, Cicogna AC. AT1 receptor blockade attenuates insulin resistance and myocardial remodeling in rats with diet-induced obesity. *Plos One.* 2014;(9):1-10.
 63. Kraemer WJ, Ratamess NA. Fundamentals of resistance training: progression and exercise prescription. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Hagerstown, 2004; 36(4):674-688.
 64. Michaut A, Babault N, Pousson M. Specific effects of eccentric training on muscular fatigability. *International Journal of Sports Medicine.* 2004; 25: 278-283.
 65. Inuzuka-Nakaharada LMI. Dieta cetogênica e dieta de Atkins modificada no tratamento da epilepsia refratária em crianças e adultos. *Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology* 2008; 14(2):65-69.
 66. Araújo MB, Moura LP, Júnior RCV, Junior MC, Dalia RA, Sponton ACS, Mello MAR. O Metabolismo de creatina é alterado devido ao modo como é administrada. *Revista Brasileira de Nutrição Esportiva.* 2012;6(34): 315-324.
 67. Ribeiro VM, Pascoal AC, Castro ES, Moulin MAF, Júnior JLM, Azeredo VB. A “dieta da proteína” reduz o diâmetro e a densidade volumétrica glomerular em ratas. *Demetra;* 2016; 11(2); 493-505.
 68. Junior RCV, Araujo MB, Junior MC, Dalia RA, Voltarelli FA. O uso de creatina não altera a homeostase glicêmica e diminui a ingestão alimentar de ratos. *Revista Brasileira de Nutrição esportiva.* 2014, 8(47): 307-315.
 69. Esteves EA, Ávila MVP, Almeida FZ. Ingestão calórica e relações entre ingestão proteica e variáveis de adiposidade em mulheres adultas. *Alim. Nutr.,* 2010;21(4): 587-593.
 70. Brennan I M, Luscombe-Marsh ND, Seimon RV, Otto B, Horowitz M, Wishart JM, Feinle-Bisset C. Effects of fat, protein, and carbohydrate and protein load on appetite, plasma cholecystokinin, peptide YY, and ghrelin, and energy intake in lean and obese men. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol;* 2012; 303:129–140.
 71. Meirelles CM, Gomes SC. Efeitos agudos da atividade contra-resistência sobre o gasto energético: revisando o impacto sobre as principais variáveis. *Rev Bras Med Esporte* 2004; 10(2): 122-30.
 72. Vieira RP, França RF, Carvalho CRF, Dolhnikoff M, Ribeiro W, Martins RABL. Efeitos da Suplementação Oral com Creatina sobre o Metabolismo e a Morfologia Hepática em Ratos. *Rev Bras Med Esporte.* 2008;14(5):38-41.
 73. Rang, H.P., Dale, M.M., Ritter, J.M. Rang & Dale's Farmacologia. Brazil, Elsevier Editora Ltda, pp.397-401, 2008
 74. Barbosa TC, Poyares LL, Machado UF, Nunes MT. Chronic oral administration of arginine induces GH gene expression. And insulin resistance. *Life Sci* 2006 79(15): 1444-1449.
 75. Barbosa TC, Carvalho JEN, Poyars LL, Bordin S, Machado UF, Nunes MT. Potential role of growth hormone in impairment of insulin signaling in skeletal muscle, adipose tissue, and liver of rats chronically treated with arginine. *Endocrinology,* 2009,

- 150(5):2080-2086.
76. Young JC, Young RE. The effect of creatine supplementation on glucose uptake in rat skeletal muscle. *Life Science* 71:1731-1737, 2002.
 77. Baracho NCV, Castro LP, Borges NC, Laira PB. Study of renal and hepatic toxicity in rats supplemented with creatine. *Acta cirurgica brasiliense*. 2015;30(5):313-318.
 78. Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Int Forum Cardiac R. Cardiac remodeling-concepts and clinical implications: A consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. *J Am Coll Cardiol*. 2000;35(3):569-82.
 79. Bernardo, B.C.; Weeks, K.L.; Pretorius, L.; McMullen, J.R. Molecular distinction between physiological and pathological cardiac hypertrophy: Experimental findings and therapeutic strategies. *Pharmacol. Ther.* 2010; 128, 191–227.
 80. Melo SFS, Barauna VG, Júnior MAC, Bozi LHM, Drummond LR, Natali AJ, Oliveira EM. Resistance training regulates cardiac function through modulation of miRNA-214. *Int. J. Mol. Sci.* 2015, 16, 6855-6867.
 81. Ahmet I, Wan R, Mattson MP, Lakatta EG, Talan MI. Chronic alternateday fasting results in reduced diastolic compliance and diminished systolic reserve in rats. *J Card Fail.* 2010;16:843-53.
 82. Ahmet I, Tae HJ, Cabo R, Lakatta EG, Talan MI. Effects of calorie restriction on cardioprotection and cardiovascular health. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology.* 2011;51:263-271.



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



C E R T I F I C A D O

Certificamos que o projeto intitulado “Influência da suplementação com creatina sobre perfil metabólico sistêmico e marcadores de remodelação e resistência à insulina no miocárdio de ratos submetidos a exercício físico resistido”, Protocolo nº 696/2015 sob a responsabilidade de **Silvio Assis de Oliveira Júnior** - que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul/UFMS, em reunião ordinária do dia 09 de setembro de 2015.

Vigência do Projeto	12/2015 a 10/2016
Espécie/Linhagem ou Raça	<i>Rattus norvegicus</i> / Wistar
Números de Animais	72
Peso/Idade	150 – 200g/45 dias
Sexo	Macho
Origem (fornecedor)	Biotério Central/CCBS/UFMS

Maria Araujo Teixeira
Maria Araújo Teixeira

Coordenadora da CEUA/UFMS
Campo Grande, 11 de setembro de 2015.

Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação- PROPP
Cidade Universitária, s/n | Caixa Postal 549
Fone: 67 3345.7186 E-mail: gab.propp@ufms.br
CEP 79070-900 | Campo Grande | MS