

# O EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM CREATINA NAS RESERVAS DE GLICOGÊNIO DA MUSCULATURA ESQUELÉTICA DE RATO TRATADO COM DEXAMETASONA



Keyla Regina da Silva Taliari<sup>1</sup>  
Wanderley Albino Junior<sup>1</sup>  
Carlos Alberto da Silva<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Mestrando do Programa de Pós-graduação em Fisioterapia – UNIMEP

<sup>2</sup> Docente do Programa de Pós-graduação em Fisioterapia – UNIMEP

TALIARI, Keyla Regina da S. et al. O efeito da suplementação com creatina nas reservas de glicogênio da musculatura esquelética de rato tratado com dexametasona. *Salusvita*, Bauru, v. 22, n. 1, p. 113-122, 2003.

## RESUMO

*O efeito diabetogênico gerado pelo excesso de glicocorticoide decorre da resistências periférica à insulina, redução na captação e metabolismo de glicose e desenvolvimento de atrofia. A proposta deste estudo foi investigar o efeito da suplementação oral com creatina na atrofia muscular induzida por glicocorticoide, que é um modelo de resistência a insulina em roedores. Para tal, grupos de ratos foram tratados por 5 dias com creatina (1,6 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>) e/ou dexametasona (1mg/kg-1.d-1, IP). O conteúdo de glicogênio foi avaliado em amostras do músculo sóleo e gastrocnêmio através do método do fenol sulfúrico e a concentração plasmática de glicose, lactato e da enzima aspartato aminotransferase foi avaliada através de kit de aplicação laboratorial (Sigma diagnósticos). Os resultados mostram que a suplementação com creatina promoveu elevação no conteúdo muscular de glicogênio sem modificar a massa tecidual. O tratamento com dexametasona também promoveu uma significativa elevação no glicogênio muscular, no entanto, induziu proteólise. No tratamento associado, observamos os maiores benefícios para o tecido muscular, uma vez que, houve o acúmulo de grandes reservas de glicogênio associado à redução na proteólise sem promover efeito tóxico. Os dados sugerem que*

Recebido em: 02/12/2002  
Aceito em: 25/05/2003

*o tratamento com creatina altera a homeostasia metabólica muscular e impede a perda de massa induzida pela dexametasona. Estes resultados suportam a hipótese que a suplementação com creatina exerce efeito benéfico na atrofia muscular induzida pelo glicocorticóide.*

UNITERMOS: creatina; reservas de glicogênio; dexametasona; musculatura esquelética do rato

## INTRODUÇÃO

A dexametasona tem sido amplamente utilizada devido à sua baixa atividade mineralocorticóide, ação prolongada e facilidade de administração. Por outro lado, tem sido observado que concomitante ao tratamento com glicocorticóide, inúmeros efeitos adversos são desencadeados, destacando-se a intensificação na glicogenólise hepática, a lipólise, a resistência à insulina devido ao antagonismo da ação da mesma, a elevação na atividade proteolítica do tecido muscular promovendo fraqueza e atrofia (AMATRUDA et al., 1985; KANDA et al., 1999; 2001).


Diversos estudos relatam que pacientes tratados com glicocorticóides apresentaram expressivas alterações na homeostasia energética do organismo desenvolvendo o quadro clínico denominado “miopatia por esteróide” com incidência variando de 7 à 60% (BATCHELOR et al., 1997). Tais alterações são atribuídas a ação direta dos glicocorticóides e/ou ao estado de resistência via redução no sistema sinalizador da insulina (SAAD et al., 1993; 1994).

Com relação à ação da insulina, são conhecidas suas ações em uma ampla variedade de células e tecidos onde promove o influxo de nutrientes e bloqueia a liberação de outras formas de energia reservadas, ou seja, nos músculos esquelético e cardíaco estimula a síntese de proteínas, a captação de glicose e glicogênese, no tecido adiposo ativa a lipogênese bloqueando a lipólise (TAYLOR, 1991).

Uma especial atenção tem sido direcionada ao sistema sinalizador da insulina, sendo consenso a existência de uma efetiva integração funcional entre o receptor de insulina e captação celular de glicose. Atualmente, são conhecidos diferentes tipos de transportadores com distribuição diferenciada entre os tecidos, sendo denominados GLUT. Uma proteína merecedora de destaque é o GLUT4, cuja atividade é regulada tanto pela insulina quanto pela atividade contrátil, sendo expressa exclusivamente em tecidos periféricos sensíveis à insulina como também tecido adiposo, coração e músculo esquelético (LEIGHTON et al., 1987).



TALIARI, Keyla Regina da S. et al. O efeito da suplementação com creatina nas reservas de glicogênio da musculatura esquelética de rato tratado com dexametasona. *Salusvita*, Bauru, v. 22, n. 1, p. 113-122, 2003.

 TALIARI, Keyla Regina da S. et al. O efeito da suplementação com creatina nas reservas de glicogênio da musculatura esquelética de rato tratado com dexametasona. *Salusvita*, Bauru, v. 22, n. 1, p. 113-122, 2003.

Recentes estudos metabólicos constataram que a hipercortisolemia está associada com a diminuição da utilização e do transporte periférico de glicose e elevação na quantidade de insulina requerida para exercer ação sobre a captação de glicose e/ou glicogênese (SESTI et al., 2001).

Estudos de Vanstapel et al., (1982) citam a ação da dexametasona em ratos alimentados, submetidos ao jejum ou adrenalectomizados, e verificaram que 3 horas após a administração do glicocorticóide houve elevação no conteúdo muscular de glicogênio, demonstrando que o glicocorticóide promove a desfosforilação da enzima glicogênio sintetase da forma b (inativa) para forma a (ativa), favorecendo a formação destes reservatórios; desta forma, a ativação da enzima glicogênio sintetase é utilizada como índice de ação do glicocorticóide.

A creatina é um agente ergogênico nutricional eficaz em aumentar a performance, sendo a principal fonte de energia do tecido muscular em estímulos de alta intensidade propiciando a re-síntese imediata do ATP. É originalmente sintetizada no fígado e no pâncreas, por meio dos aminoácidos arginina, glicina e metionina. No tecido muscular, a creatina é armazenada na forma de fosfocreatina cuja função é auxiliar na síntese de proteínas e na geração de energia (GREENHAFF, 1997).

Indiscutivelmente, tem sido observado que a fosfocreatina exerce papel fundamental no metabolismo energético da contração muscular, uma vez que promove acúmulo de glicogênio muscular (AMERICAN COLLEGE, 2000; SLATER; JENKINS, 2000).

A absorção da creatina consumida por via oral é feita pelo lúmen intestinal, pelo qual chega à circulação sanguínea. Após a absorção intestinal, a creatina plasmática é distribuída a vários tecidos corporais, incluindo o coração, a musculatura lisa, cérebro e os testículos. Porém, a grande maioria das reservas corporais de creatina encontra-se nos músculos esqueléticos (BUCCI, 1993).

Frente às alterações homeostáticas desencadeadas pelo tratamento com o glicocorticóide dexametasona e conhecendo-se os benefícios inerentes ao tratamento com creatina, o objetivo deste trabalho foi avaliar se a suplementação com creatina interfere na atrofia induzida pelo corticóide.

## MATERIAS E MÉTODOS

### *ANIMAIS*

Foram utilizados ratos machos Wistar, com idade variando entre 03 e 04 meses, fornecidos pelo biotério da UNIMEP. Os animais

foram alimentados com ração e água “ad libitum”, submetidos a ciclo fotoperiódico 12 h claro e 12 h escuro e divididos em grupos experimentais, conforme a tabela abaixo.

TABELA 1 – Distribuição dos ratos em grupos experimentais.

Grupos	N
Controle	6
Controle tratado com creatina	6
Controle tratado com dexametasona	6
Controle tratado com dexametasona mais creatina	6

#### TRATAMENTO

O tratamento constituiu na administração de creatina (1.6g/Kg) na água disponível para beber e dexametasona (1mg/kg, IP) durante 05 dias (SAAD, et al., 1993; IPSIROGLU et al., 2001).

#### AMOSTRAGEM

Para coleta de amostras, os ratos foram anestesiados com pentobarbital sódico na concentração de 40mg/kg de peso (IP), o sangue coletado da veia renal, centrifugado por 10 minutos a 2500 rpm e o plasma separado. Os músculos sóleo e gastrocnêmio (porção branca e vermelha) foram retirados e prontamente digeridos em KOH 30% a quente e o glicogênio precipitado a partir da passagem por etanol a quente sendo posteriormente submetido a hidrólise ácida na presença de fenol, seguindo a proposta de Siu Lo et Taylor (1970). Os valores foram expressos em mg/100mg de peso úmido.

Para determinação do índice de toxicidade avaliamos a concentração plasmática de glicose, lactato e da enzima Aspartato aminotransferase através de kit de aplicação laboratorial da Sigma diagnósticos. A avaliação estatística foi feita através de Análise de Variância seguido do teste de Tukey. Em todos os cálculos foi fixado o nível crítico em  $P < 0,05$  (5%).

## RESULTADOS

Inicialmente avaliamos os efeitos decorrentes do tratamento com dexametasona sobre a concentração muscular de glicogênio. As FIGURAS 1, 2 e 3 mostram que na presença do glicocorticóide houve uma elevação no conteúdo de glicogênio com predominância na musculatura vermelha, visto que, o conteúdo do múscu-



TALIARI, Keyla Regina da S. et al. O efeito da suplementação com creatina nas reservas de glicogênio da musculatura esquelética de rato tratado com dexametasona. *Salusvita*, Bauru, v. 22, n. 1, p. 113-122, 2003.

TALIARI, Keyla Regina da S. et al. O efeito da suplementação com creatina nas reservas de glicogênio da musculatura esquelética de rato tratado com dexametasona. *Salusvita*, Bauru, v. 22, n. 1, p. 113-122, 2003.

lo sóleo foi elevado em 100% ( $p < 0,05$ ), enquanto na porção branca do gastrocnêmio foi de 66% ( $p < 0,05$ ) e no gastrocnêmio porção vermelha foi de 64% ( $p < 0,05$ ) apontando para o efeito glicogênico do corticóide. As figuras mostram ainda que o tratamento com creatina também foi efetivo em promover elevação no conteúdo de glicogênio provocando o aumento de 48% no sóleo ( $p < 0,05$ ), 71% no gastrocnêmio porção branca ( $p < 0,05$ ) e 61% no gastrocnêmio porção vermelha ( $p < 0,05$ ). Estes dados apontam para uma ação preferencial sob a musculatura branca. A seguir, avaliamos a associação de creatina e dexametasona e constatamos um efeito aditivo sobre as reservas de glicogênio, de forma que, o conteúdo do músculo sóleo foi elevado em 117% ( $p < 0,05$ ) enquanto o gastrocnêmio porção branca apresentou elevação de 148% ( $p < 0,05$ ) e o gastrocnêmio porção vermelha apresentou elevação de 83% ( $p < 0,05$ ).

Com relação a massa do músculo sóleo, pode-se observar na FIGURA 4 que o tratamento com dexametasona promoveu redução de 13% na massa muscular ( $p < 0,05$ ), e a creatina não promoveu alterações no peso muscular, no entanto, quando associamos as substâncias houve inibição da proteólise, visto que não há diferença entre os grupos controle e tratamento associado.

Um ponto merecedor de destaque é que não foi observado toxicidade decorrente do tratamento como pode ser visto na TABELA 2.

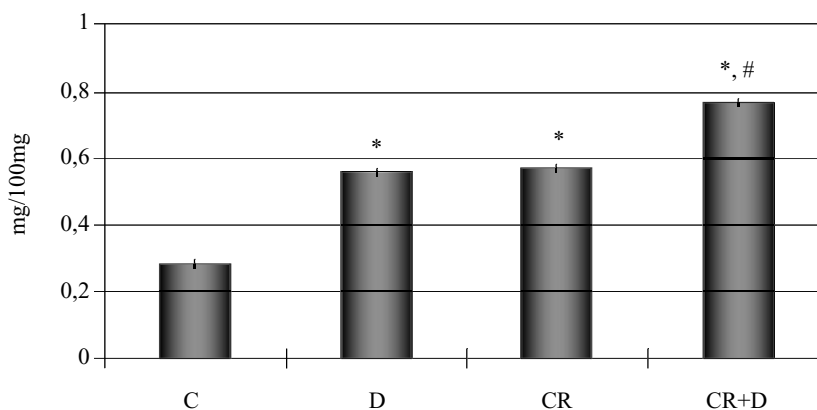


FIGURA 1 – Concentração plasmática de glicogênio (mg/100mg) do músculo sóleo dos grupos controle (C), dexametasona (D), creatina (CR) e creatina + dexametasona (CR+D). Os valores representam a média  $\pm$  epm,  $n=6$ . \*  $p < 0,05$  se comparado ao controle e #  $p < 0,05$  se comparado ao tratado com dexametasona.

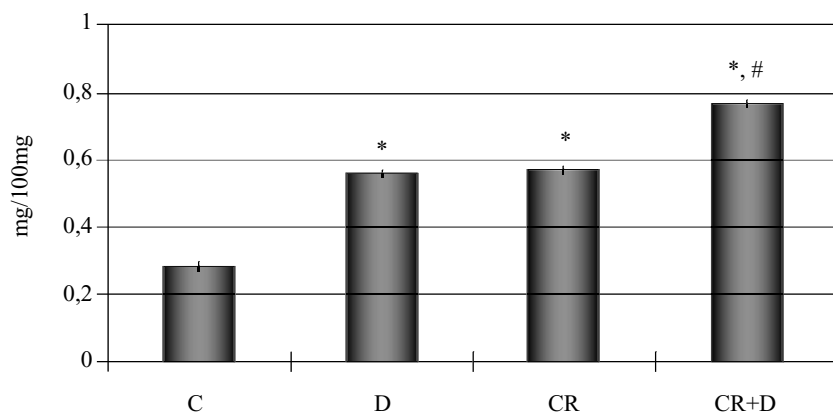


FIGURA 2 – Concentração plasmática de glicogênio (mg/100mg) do músculo gastrocnêmio porção branca dos grupos controle (C), dexametasona (D), creatina (CR) e creatina + dexametasona (CR+D). Os valores representam a média  $\pm$  epm, n=6. \* p<0,05 se comparado ao controle e # p<0,05 se comparado ao tratado com dexametasona.

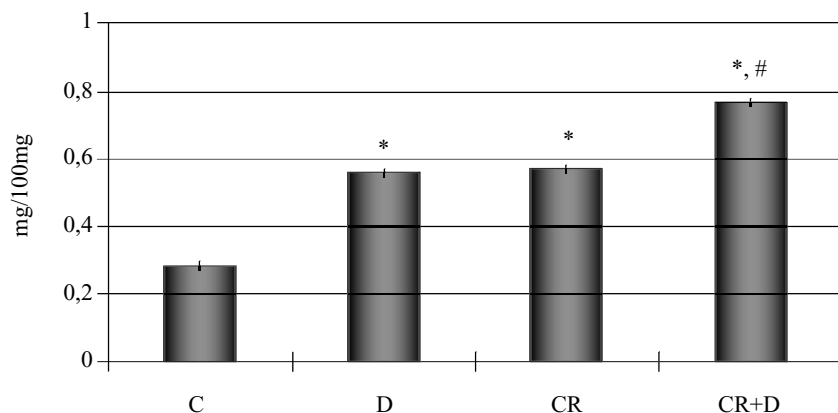


FIGURA 3 – Concentração plasmática de glicogênio (mg/100mg) do músculo gastrocnêmio porção vermelha dos grupos controle (C), dexametasona (D), creatina (CR) e creatina + dexametasona (CR+D). Os valores representam a média  $\pm$  epm, n=6. \* p<0,05 se comparado ao controle e # p<0,05 se comparado ao tratado com dexametasona.

TABELA 2 – Perfil bioquímico dos grupos controle, tratados com dexametasona, tratados com creatina e tratados com creatina + dexametasona. Os valores representam as médias  $\pm$  epm, n=6.

Grupos	Glicose (mg/dl)	Lactato (mmol/L)	AST (U/ml)
Controle	104,93 $\pm$ 5,1	1,07 $\pm$ 0,8	39,54 $\pm$ 3,3
Dexametasona	128,13 $\pm$ 2,6	1,19 $\pm$ 1,6	41,22 $\pm$ 1,1
Creatina	110,21 $\pm$ 1,0	1,06 $\pm$ 2,3	36,40 $\pm$ 2,4
Dexametasona + Creatina	108,21 $\pm$ 2,2	1,00 $\pm$ 0,8	31,06 $\pm$ 0,9



TALIARI, Keyla Regina da S. et al. O efeito da suplementação com creatina nas reservas de glicogênio da musculatura esquelética de rato tratado com dexametasona. *Salusvita*, Bauru, v. 22, n. 1, p. 113-122, 2003.

TALIARI, Keyla Regina da S. et al. O efeito da suplementação com creatina nas reservas de glicogênio da musculatura esquelética de rato tratado com dexametasona. *Salusvita*, Bauru, v. 22, n. 1, p. 113-122, 2003.

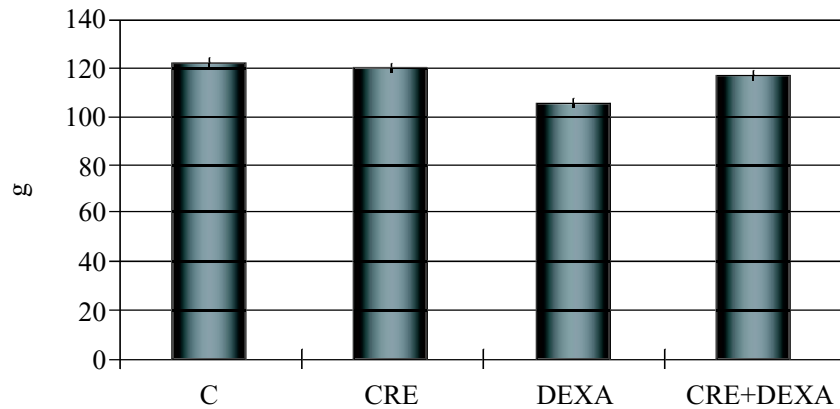


FIGURA 4– Peso (g) do músculo sóleo dos grupos controle (C), dexametasona (DEXA), creatina (CRE) e creatina + dexametasona (CRE+DEXA). Os valores representam a média  $\pm$  epm, n=6. \* $p < 0,05$  se comparado ao controle.

## DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Vários fatores fisiológicos, bioquímicos, psicológicos e nutricionais podem limitar a homeostasia energética do tecido muscular. Neste sentido, no processo de busca por adaptações metabólicas tem se tornado comum o uso de estratégias nutricionais que variam em grau de eficiência. Nos últimos anos, a creatina se estabeleceu como o mais popular suplemento nutricional cujo efeito permissivo da insulina atua enquanto fator integrador de absorção e captação da creatina pelas fibras musculares (FITCH; SHIELDS, 1996).

Tem-se observado que durante o tratamento com glicocorticóide há depressão na síntese protéica, ativação da proteólise e redução na efetividade das vias sinalizadoras da insulina comprometendo a homeostasia metabólica do tecido muscular (VANSTAPEL et al., 1982). Neste sentido, nosso trabalho mostra que a dexametasona interferiu na síntese muscular de glicogênio promovendo elevação nas reservas. Este fato está relacionado com a capacidade do glicocorticóide em induzir a secreção de insulina potencializando indiretamente as propriedades glicogênicas do tecido muscular (BOSQUEIRO et al., 2001; ROONEY et al., 2002). É importante ressaltar que, apesar de termos constatado melhoras no perfil metabólico das fibras musculares, houve proteólise representada pela expressiva redução na massa muscular concomitante ao desenvolvimento do quadro clínico de fraqueza e atrofia (SAAD et al., 1994; KAYALI et al., 1987).

Um fato merecedor de destaque é que durante o tratamento com creatina observa-se um alto nível de hidratação celular favorecendo a síntese de glicogênio muscular, considerando que, por razões de hidratação molecular, há facilitação das vias responsáveis pela glicogênese (IPSIROGLU et al., 2001; NEWSHOME et al., 1998).

Recentes estudos demonstraram, no tecidos muscular de ratos, que a suplementação de creatina induz à elevação na concentração citosólica de creatina fosfato, melhorando o desempenho e eficácia do trabalho muscular diretamente por elevar a disponibilidade de substratos energético e indiretamente por potencializar a sensibilidade à insulina (HARRIS et al., 1992).

Para testar o efeito agente ergogênico da creatina, suplementamos um grupo de ratos durante 5 dias e observamos elevação no conteúdo de glicogênio. Este efeito glicogênico se deve a capacidade da creatina em facilitar a captação muscular de glicose e facilitar a formação destas reservas, como já observado nos hepatócitos onde estimula a enzima glicogênio sintetase (VARNIER et al., 1995; TEIJNDE et al., 2001).

Após constatar proteólise induzida pelo corticóide, optamos por associar os tratamentos. Neste sentido, observamos que houve um efeito aditivo entre as substâncias induzindo uma expressiva elevação no conteúdo de glicogênio, com índice de síntese acima daqueles observados nos tratamentos isolados, de maneira similar ao observado em hepatócitos (ROBINSON et al., 1999).

Fato merecedor de destaque é que houve redução na proteólise, preservando a massa tecidual. Isto representa grandes benefícios no que tange à funcionalidade do tecido muscular e reitera a capacidade de proteção das fibras frente a miopatias induzidas durante a corticóide terapia.


## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMATRUDA, J. M. et al. Cellular mechanisms in selected states of insulin resistance: human obesity, glucocorticoid excess and chronic renal failure. *Diabetes/Metabolism Reviews*, v. 3, p. 296-317, 1985.
2. AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE ROUNDTABLE. The physiological and health effects of oral creatine supplementation. *Med. Sci. Sports Exerc.* v. 32, p. 706-717, 2000.
3. BATCHELOR, T. T. et al. Steroid myopathy in cancer patients. *Neurology*, v. 48, p. 1234-1238, 1997.
4. BOSQUEIRO, J. R. et al. Tratamento com dexametasona estimula a secreção de insulina pelas ilhotas de Langerhans. Trabalho apresentado ao V Congres-



TALIARI, Keyla Regina da S. et al. O efeito da suplementação com creatina nas reservas de glicogênio da musculatura esquelética de rato tratado com dexametasona. *Salusvita*, Bauru, v. 22, n. 1, p. 113-122, 2003.



 TALIARI, Keyla Regina da S. et al. O efeito da suplementação com creatina nas reservas de glicogênio da musculatura esquelética de rato tratado com dexametasona. *Salusvita*, Bauru, v. 22, n. 1, p. 113-122, 2003.

- so Paulista de Diabetes e Metabolismo. Sociedade Paulista de Diabetes e Metabolismo, São Pedro, SP, 2002.
5. BUCCI, L. *Nutrient as ergogenics for sports and Exercise*. Florida: Boca Raton: 1993, cap 2, p.13-7.
  6. FITCH, C. D.; SHIELD, R. P. Creatine metabolism in skeletal muscle. Creatine movement across muscle membranes. *J. Biol. Chem.* v. 241, p. 3611-3616, 1996.
  7. GREENHAFF, P. L. The nutritional biochemistry of creatine. *Nutritional Biochem.* v. 8, p. 610-618, 1997.
  8. HARRIS, R. C. et al Elevation of creatine in resting and exercised muscle of normal subjects by creatine supplementation. *Clin. Sci.* v. 83, p. 367-374, 1992.
  9. IPSIROGLU, O S. et al. Changes of tissue creatine concentrations upon oral supplementation of creatine monohydrate in various animal species. *Life Sci.* v. 69, p. 1805-1815, 2001.
  10. KANDA, F. et al. Preventive effects of insulin-like growth factor I on steroid-induced muscle atrophy. *Muscle Nerve.* v. 22, p. 213-217, 1999.
  11. KANDA, F. et al. Steroid myopathy: Pathogenesis and effects of growth hormone and insulin-like growth factor-I administration. *Horm. Res.* v. 56 (1), p. 24-28, 2001.
  12. KAYALI, A G. et al. Sensitivity of myofibrillar proteins to glucocorticoid-induced muscle proteolysis. *Am. J. Physiol.* v. 252, p. E621-E626, 1987.
  13. LEIGHTON, B. L. et al. Effect of dexamethasone treatment on insulin-stimulated rates of glycolysis and glycogen synthesis in isolated incubated skeletal muscle of the rat. *Biochem. J.* v. 246, p. 551-554, 1987.
  14. NEWSHOME, E. et al. Creatine: a review of its nutritional applications. *Sport nutrition.* v. 14, p. 322-324, 1998.
  15. ROBINSON, T.M. et al. Role of submaximal exercise in promoting creatine and glycogen accumulation in human skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* v. 87, p. 598-604, 1999.
  16. ROONEY, K. et al. Creatine supplementation alters insulin secretion and glucose homeostasis. *Metabolism.* v. 51(4), p. 518-522, 2002.
  17. SAAD, M. J. A. et al. Modulation of insulin receptor, insulin receptor substrate-1 (IRS-1) and phosphatidylinositol 3-kinase in liver and muscle of dexamethasone treated rats. *J. Clin. Invest.* v. 92, p. 2065-2072, 1993.
  18. SAAD, M. J. A. Molecular mechanism of insulin resistance. *Braz. J. Med. Biol. Res.* v. 97, p. 941-957, 1994.
  19. SESTI, G. et al. Defects of insulin receptor substrate (IRS) system in human metabolic disorders. *FASEB. J.* v. 15 (12), p. 2099-2111, 2001.
  20. SIU, LO. et al. Determination of glycogen in small tissue samples. *J. Appl. Physiol.* c. 28 (2), p. 234-236, 1970.
  21. SLATER, G., JENKINS, D. HMB supplementation and the promotion of muscle growth and strength. *Sports Med.* v. 30 (2), p. 105-116, 2000.

22. TAYLOR, R. Insulin action. *Clin. Endocrinol.* v. 34, p. 159-171, 1991.
23. TEIJNDE, B. et al. Effect of creatine supplementation on creatine and glycogen content in rat skeletal muscle. *Acta Physiol. Scand.* v. 171, p. 169-176, 2001.
24. VANSTAPEL, F. et al. Induction of hepatic glycogen synthesis by glucocorticoid is not mediated by insulin. *Mol. Cel. Endocrinol.* v. 27, p. 107-114, 1982.
25. VARNIER, M. et al. Stimulatory effect of glutamine on glycogen accumulation in human skeletal muscle. *Am. J. Physiol.* v. 269, p. E309-E315, 1995.
26. WYSS, M.; KADDURAH-DAOUK, R. Creatine and creatinine metabolism. *Physiol. Rev.* v. 5, p. 1107-1213, 2000.



TALIARI, Keyla Regina da S. et al. O efeito da suplementação com creatina nas reservas de glicogênio da musculatura esquelética de rato tratado com dexametasona. *Salusvita*, Bauru, v. 22, n. 1, p. 113-122, 2003.