

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM CrH₂O SOBRE A
QUIMIOLUMINESCÊNCIA URINÁRIA EM UNIVERSITÁRIOS
SUBMETIDOS A 8 SEMANAS DE TREINAMENTO DE FORÇA**
**EFFECT OF THE SUPPLEMENTATION WITH CRH₂O ON
URINARY QUIMIOLUMINESCENCE IN STUDENTS
SUBMITTED TO EIGHT WEEKS OF FORCE TRAINING**

Dr. Tácito Pessoa de Souza Junior

Prof. Esp. João Paulo Dubas

Faculdade de Educação Física de Santos/FEFIS-UNIMES

Dr. Benedito Pereira

Escola de Educação Física e Esporte/USP

Dr. Paulo Roberto de Oliveira

Faculdade de Educação Física/UNICAMP

Resumo

A creatina (Cr) é objeto de estudo de grande interesse na comunidade científica do esporte e do exercício. Seus efeitos ergogênicos têm despertado curiosidade entre os pesquisadores pelo fato de um grande número de estudos apontarem efeitos positivos para aquisição de força e massa muscular. Apesar do seu uso ser explorado amplamente pelos atletas e praticantes de atividade física, resultados promissores vem clareando sua utilização na área clínica como uma potente substância terapêutica em distúrbios neuromusculares, neurológicos, cardiovasculares e ainda como anticarcinogênico. Estudos realizados em nosso laboratório sinalizaram a possibilidade da creatina monohidratada (CrH₂O) estar atuando como um antioxidante, após a realização de um treinamento de força (hipertrofia), durante 8 semanas.

Palavras-Chave: Creatina, Treinamento de força, Metabolismo, Estresse oxidativo.

Introdução

Estudos sobre estresse oxidativo realizados in vivo com animais experimentais e seres humanos demonstraram que o aumento na atividade metabólica favorece a ocorrência de lesões oxidativas em biomoléculas do organismo (ASHTON et al., 1998; BENZI, 1993; CHERUBINI et al., 2000; JENKINS, 2000; GUTTERIDGE et al., 1985; SAKS; STRUMIA, 1993; POLIDORI et al., 2000). Lesões oxidativas em biomoléculas refere-se à retirada (oxidação) de elétrons das mesmas sem fins de produção energética celular. Como o treinamento esportivo e a competição elevam acentuadamente a atividade dos processos metabólicos e o consumo de oxigênio (O₂), essas lesões podem assumir dimensões ainda maiores nestas condições (POWERS,

LEEWENBURGH, 1999). As substâncias consideradas antioxidantes podem ser definidas, segundo Halliwell e Gutteridge (1999), como quaisquer substâncias que, quando presentes em baixas concentrações, comparativamente a substratos que podem ser oxidados, previnem ou retardam significativamente sua oxidação.

Durante o treinamento de força (hipertrofia), o metabolismo do músculo esquelético, para este tipo de atividade, produz também precursores para a geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) no repouso. Esses precursores de EROS acumulam-se nos tecidos e órgãos devido à elevação da atividade do ciclo de degradação de purinas durante o exercício (PEREIRA; SOUZA JUNIOR, 2002). O primeiro efeito tamponador do conteúdo de ATP muscular é a hidrólise da fosfocreatina (CrP). A subsequente diminuição da provisão de ATP pode levar a uma transitória acumulação de ADP, a qual estimula a reação catalisada pela enzima adenilato quinase, formando AMP, que rapidamente é desaminado formando IMP e amônia, pela ação da enzima AMP desaminase e o IMP é transformado em hipoxantina (MESA et al., 2002). Greenhaff et al. (1993), demonstraram que o aumento muscular de CrP, após a suplementação com Cr, produziram efeitos tamponantes nos níveis de ATP muscular e conseqüentemente a acumulação de amônia e hipoxantina no plasma foi reduzida e a potencia muscular aumentada. Outros estudos, também apontaram uma redução plasmática de amônia e hipoxantina no músculo esquelético após a suplementação com CrH₂O (STATHIS et al., 1994; TULLSON et al., 1995; MUJKA et al. 1996). Apoiados por essas evidências, resolvemos estudar os efeitos da suplementação com CrH₂O, em indivíduos submetidos ao treinamento de força (hipertrofia) através de parâmetros urinários (quimioluminescência).

Quimioluminescência urinária

A ação oxidativa de EROs sobre lipídeos, principalmente sobre os de membranas biológicas, promove formação de hidroperóxidos que podem ser ciclizados gerando compostos heterocíclicos denominados dioxetanos. Esses compostos podem sofrer clivagem térmica produzindo carbonilas em estado excitado (singlete ou triplete, dependendo dos substituintes no anel dioxetanônico). Segundo Lissi, Hanna-Salim e Videla (1994), o decaimento destas carbonilas para o estado fundamental com a

emissão dessa energia na forma de fótons é o principal fator responsável pela quimioluminescência observada na urina. A intensidade luminescente é, portanto, proporcional à concentração de carbonilas excitadas e reflete a extensão do processo de lipoperoxidação tecidual.

Material e Métodos

Os estudos realizados foram aprovados pelo comitê de ética do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo e todos consentiram por escrito a realização dos procedimentos experimentais (esforço físico empreendido, coletas de amostras, etc.). Realçamos que os atletas participantes dos experimentos neste trabalho não são fumantes ou consumidores de drogas proibidas pelo Comitê Olímpico Internacional. Esse fato foi verificado através de consulta pessoal aos atletas.

Treinamento de força: foram utilizados 18 alunos do curso de Educação Física da Faculdade de Educação Física de Santos (FEFIS), divididos em dois grupos de 9 alunos, grupos A e B, que já possuíam experiência prática de aproximadamente um ano com exercícios tipicamente utilizados em academias de ginástica. Os mesmos foram submetidos previamente ao treino de hipertrofia muscular em bateria de testes e entraram nas semanas um e dois de preparação. Após este período entraram nas semanas de treino de hipertrofia. Para esse experimento, o protocolo de treinamento utilizado foi o proposto por Souza Junior (2002), que foi aplicado durante oito semanas. As duas primeiras semanas (Fase A) foram utilizadas para ajustes neuromusculares dos voluntários e, as seis semanas subseqüentes (Fase B), visaram aumentar a resultante da força muscular máxima e massa muscular (hipertrofia). O protocolo criado para esse estudo, foi baseado na metodologia de treinamento para *bodybuilders* (fisculturistas), utilizando múltiplas séries envolvendo diversos exercícios para vários grupos musculares. A metodologia consistiu em aumentar a densidade do treinamento (redução das pausas), proposto por Souza Junior (2002).

A semana preparatória (Fase A) consistiu de exercícios realizados com 50% de uma ação voluntária máxima dinâmica (1AVMD), com pausas de 120 segundos entre os mesmos. O treinamento de hipertrofia (Fase B) consistiu de utilização de 80%

da carga máxima, tomando como referência o teste de 1AVMD, 4 séries de 8-10 repetições com pausas decrescentes entre as séries .

Suplementação com creatina: Na suplementação com creatina monohidratada (CrH_2O), utilizou-se o protocolo de Volek et al. (1999), modificado por Souza Junior (2002). Após testes de 1 AVMD, medições antropométricas e as duas primeiras semanas preparatórias, os indivíduos consumiram 30 g de CrH_2O por dia, divididos em seis doses iguais de 5 g, em intervalos de 3 e 4 horas, perfazendo um total de 30 g diárias na primeira semana de suplementação (30 g/dia por 7 dias, 210 g no total) ou placebo (maltodextrina), correspondente à terceira semana de treinamento. Após o regime de sobrecarga inicial, os grupos receberam um regime de manutenção de 5 g/dia por 42 dias, 210 g no total, correspondente às 5 últimas semanas de treinamento.

Quimioluminescência urinária: Neste experimento a coleta foi realizada antes e após o término do exercício. A urina foi mantida congelada até a sua análise, sendo centrifugada posteriormente após descongelamento a 10000 g por 10 min à temperatura ambiente. As medidas foram efetuadas usando 3 ml de urina suplementada com 1 ml de fosfato de sódio 0,1 M, pH 6,2. A creatinina foi medida por procedimento descrito por Heinegard e Tindstrom (1973) e os valores foram utilizados para corrigir a diluição da amostra. Uma medida prévia da absorvância da amostra de urina é necessária para evitar absorção luminosa excessiva que pode interferir na quantificação da luminescência. Neste trabalho, sempre que a absorvância da amostra centrifugada apresentou valor superior a 0,3, esta foi diluída com água Milli Q até este limite. O método foi originalmente descrito por Lissi et al. (1994) e a intensidade quimioluminescente foi medida em cintilador líquido. O contador de cintilação utilizado foi o sistema *Tri-carb* da Packard (do Departamento de Histologia, ICB-USP). Todos os reagentes foram obtidos da Sigma e Merk.

Tanto a CrH_2O como a maltodextrina foram igualmente acondicionadas em cápsulas contendo 0,5 g para evitar que os voluntários participantes do estudo soubessem quem estaria ingerindo creatina. A suplementação com creatina e com placebo teve início na terceira semana, juntamente com o início do treinamento de hipertrofia. O protocolo de treinamento consistiu na divisão dos grupamentos musculares e dos exercícios para os respectivos grupos, bem como os dias específicos

de treino. Os testes de 1 AVMD foram realizados em todos os exercícios propostos, sendo que os voluntários praticantes de exercícios com peso (musculação) já se encontravam familiarizados com os exercícios propostos. Nas duas primeiras semanas, os voluntários executaram 3 séries com 12 repetições em todos os exercícios propostos, com alteração apenas para os exercícios abdominais, que foram realizados 2 vezes por semana com 5 séries de 20 repetições em cada série, e com 50% de 1 AVMD (QUADRO 1, QUADRO 2, QUADRO 3).

QUADRO 1 - DESCRIÇÃO DA FASE A1 – TREINO A

FASE A1 – PREPARATÓRIA (SEMANAS 1 E 2) – GRUPOS A e B				
Treino A (Seg – Qua – Sex)				
Exercício	Carga (%)	Repetições	Nºde Séries	Pausa (s)
<i>Supino reto</i>	50	12	3	120
<i>Supino inclinado</i>	50	12	3	120
<i>Puxador Frontal</i>	50	12	3	120
<i>Remada baixa</i>	50	12	3	120
<i>Cadeira Extensora</i>	50	12	3	120
<i>Agachamento</i>	50	12	3	120
<i>Mesa flexora</i>	50	12	3	120

Treinamento realizado com 50% de 1AVMD.

QUADRO 2- DESCRIÇÃO DA FASE A1 – TREINO B

FASE A1 – PREPARATÓRIA (SEMANAS 1 E 2) – GRUPOS A e B				
Treino B (Ter – Qui - Sab)				
Exercício	Carga (%)	Repetições	Nºde Séries	Pausa (s)
<i>Desenvolvimento frente</i>	50	12	3	120
<i>Elevação Lateral</i>	50	12	3	120
<i>Rosca Direta</i>	50	12	3	120
<i>Rosca Alternada</i>	50	12	3	120
<i>Extensão de tríceps no Pulley</i>	50	12	3	120
<i>Extensão de Tríceps com Barra</i>	50	12	3	120
<i>Abdominais c/ carga (Crunches)</i>	50	20	5	120

Treinamento realizado com 50% de 1AVMD.

QUADRO 3 - FASE A2 - PAUSAS DECRESCENTES NAS 6 SEMANAS FINAIS DO TREINAMENTO DE HIPERTROFIA

PAUSAS DECRESCENTES NAS 6 SEMANAS FINAIS DO TREINAMENTO DE HIPERTROFIA				
Treino (A, B e C) – GRUPO A e B				
Semana	Carga (%)	Repetições	Nº de Séries	Pausa (s)
3	80	8-10	4	105
4	80	8-10	4	90
5	80	8-10	4	75
6	80	8-10	4	60
7	80	8-10	4	45
8	80	8-10	4	30

OBS.: Os exercícios abdominais foram feitos em 5 séries com 20 repetições e 50% de 1AVMD cada série, respeitando as pausas propostas para os demais exercícios

Resultados

Em outros estudos realizados com treinamento de força/hipertrofia associado ao consumo de creatina como suplemento energético, constatou-se resultados que sugerem a existência de efeitos protetores da creatina sobre a quimioluminescência urinária. De fato, verificou-se que, comparativamente ao grupo treinado suplementado com placebo, que a quimioluminescência urinária é significativamente menor (43%), conforme demonstrado na TABELA .

TABELA 1 - QUIMILUMINESCÊNCIA URINÁRIA (CPM/MG DE CREATININA) DE ATLETAS ANTES E APÓS A REALIZAÇÃO DE EXERCÍCIO FÍSICO INTENSO

Grupos	Antes	Depois
<i>Treino de força (1)</i>	955,0 ± 29	1630,0 ± 23 (76%)† (71%)*
<i>Treino de força (2)</i>	956,5 ± 28	1135,4 ± 20 (↓43%)‡

† comparado com sedentários $P < 0,01$. *depois comparado com antes $P < 0,01$. ‡ Treino de força 2 (depois) comparado com treino de força 1 (depois) $P < 0,01$. MDA = malondialdeído; os resultados estão expressos como Média ± Desvio padrão; treino de força (1): antes e após com placebo; treino de força (2): antes e após com creatina. ↓ queda; ↑ aumento

Discussão

A intensidade e a duração do exercício são fatores determinantes do tipo de substrato energético utilizado (SOUZA JUNIOR et al., 2005). Embora o efeito da suplementação com creatina e estresse oxidativo durante o exercício intenso não tenha sido ainda estudado de forma sistêmica (PEREIRA; SOUZA JUNIOR, 2004), é possível especular que a menor produção de hipoxantina em decorrência desse procedimento pode reduzir seu catabolismo em xantina e urato, com menor produção paralela de superóxido, peróxido de hidrogênio e radical hidroxil.

Alessio et al. (2000), constataram que quando a ação muscular isométrica predomina no treinamento de força, ocorrem lesões oxidativas em biomoléculas demonstradas por concentrações sanguíneas de lipoperóxidos. Assim é possível que o treinamento de força também induza estresse oxidativo (SOUZA JUNIOR et al. 2005). Em nossos estudos realizados com treinamento de força associado ao consumo de creatina como suplemento energético, indicam que a menor quimioluminescência urinária detectada sugere a existência de efeitos antioxidantes protetores dessa substância. Isso por que a creatina consumida concomitantemente ao treino de força pode manter por mais tempo os valores de ATP intramusculares sem favorecer a maior ativação do ciclo de degradação das purinas, principal processo catabólico independente de O₂ responsável pela produção intramuscular de EROS (CASEY; GREENHAF, 2000).

Existem poucos dados sobre a quantificação de indicadores metabólicos da ativação do ciclo de degradação das purinas no exercício físico intenso associado ao consumo de creatina (SOUZA JUNIOR et al., 2005). Apesar disso, Alessio et al., demonstraram que o rendimento físico é elevado durante repetidas sessões de exercício máximo associadas à ingestão de 20g/dia por 5-7 dias de creatina e verificaram também queda tanto na amônia como na hipoxantina durante o exercício intenso precedido do consumo de creatina (BELLINGER et al., 2000).

Apesar de existirem poucos estudos relacionados com os efeitos da suplementação com creatina e estresse oxidativo, podemos especular em virtude de nossos resultados que a menor produção de hipoxantina em decorrência desse

procedimento pode reduzir seu catabolismo em xantina e urato, com menor produção paralela de $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 e HO^{\cdot} . Em razão do exposto, acreditamos que a suplementação com creatina realizada previamente à realização do treinamento de força (hipertrofia), possa atuar como uma substância antioxidante e prevenir futuras lesões causadas pelo aumento de EROs nesse tipo de exercício.

Conclusão

O treinamento de força (hipertrofia) estimula o estresse oxidativo em humanos de forma diferente, dependendo da sua duração e intensidade. Portanto, apesar do referido treinamento elevar os valores urinários de quimioluminescência, a suplementação com creatina pode ser favorável na proteção antioxidante. Mais estudos são necessários para investigar os efeitos da suplementação com creatina e sua ação antioxidante no treinamento de força.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Prof. Dr. Etelvino José Bechara (IQ-USP) pela disponibilização do laboratório de bioquímica para as análises realizadas e pelas críticas e sugestões na conclusão desse trabalho. Aos professores Marília Seelaender e Luiz Fernando Bicudo Costa Rosa (In memoriam), do Departamento de Histologia (ICB-USP), pela utilização do equipamento para análise da quimioluminescência urinária (contador de cintilação). A “Protech Systems” do Brasil, pela doação da creatina monoidratada e “Sais da Terra”, farmácia de manipulação, pela compartimentalização das substâncias.

Abstract

Creatine is the object of growing interest in the scientific community of sport and exercise. The ergogenic effects have enthused the curiosity of researchers by the fact that a large group of studies indicate positive effects in increase power and muscle mass. Despite its use is largely explored by athletes and people involved in physical activity, promising results with regard to the clinical therapeutic potential of creatine in neuromuscular, neurological, cardiovascular diseases and as anticarcinogenic agents. Studies realized in our laboratory signaling the possibility of creatine monohydrate (CrH_2O) are acting like antioxidant, after resistance training (hypertrophy), during 8 wk.

Key-Words. Creatine, Resistance training; Metabolism, Oxidative stress.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALESSIO, H. M. et al. Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic isometric exercise. *Med Sci Sports Exerc*, v. 32, p. 1576-1581, 2000.

ASHTON, T. et al. Electron spin resonance spectroscopic detection of oxygen-centered radicals in human serum following exhaustive exercise. *Eur. J Appl Physiol*, v. 77, p. 498-502, 1998.

BELLINGER, B.M. et al. Oral creatine supplementation decreases plasma markers of adenine nucleotide degradation during 1-h cycle test. *Acta Physiol Scand*, v. 170, p. 217-224, 2000.

BENZI, G. Aerobic performance and oxygen free radicals. *J Sports Med Phys Fitness*, v. 33, p. 205-222, 1993.

CASEY, A.; GREENHAFF, P.L. Does dietary creatine supplementation play a role in skeletal muscle metabolism and performance? *Am J Clin Nutr*, v. 72, p. 607-617, 2000. (Suppl).

CHERUBINI, A. et al. Antioxidant profile and early outcome in stroke patients. *Stroke*, v. 31, n. 10, p. 2295-2300, 2000.

FERRANTE, R. J. et al. Neuroprotective effects of creatine in a transgenic mouse model of Huntington's disease. *J Neurosci*, v. 20, p. 4389-4397, 2000.

GOLDFARD, A.H. Nutritional antioxidants as therapeutic and preventive modalities in exercise-induced muscle damage. *Can J Appl Physiol*, v. 24, p. 249-266, 1999.

GREENHAFF, P.L. et al. Influence of oral creatine supplementation on muscle torque during repeated bouts of maximal voluntary exercise in man. *Clin Sci*, v. 84, p. 565-571, 1993.

HEINEGARD, D.; TIDERSTROM, G. Determination of serum creatinina by a direct colorimetric method. *Clin Chim Acta*, v. 12, n. 43, p. 305-310, 1973.

JENKINS, R. R. Exercise and oxidative stress methodology: a critique. *Am J Clin Nutr*, v. 72, p. 670-674, 2000.

Ji, L.L. Antioxidants and oxidative stress in exercise. *Proc Soc Exp Biol Med*, v. 222, p. 283-292, 1999.

LISSI, E.A.; HANNA-SALIM, M.; VIDELA, L. A. Spontaneous urinary visible luminescence: characteristics and modification by oxidative stress-related clinical conditions. *Brazilian J Med and Biol Res*, v. 27, p.1491-1505, 1994.

MARTIN, K.J., WINSLOW, E.R., KADDURAH-DAOUK, R. Cell cycle studies of cyclocreatine, a new anticancer agent. *Cancer Res*, v. 54, p. 5160-5165, 1994.

_____. Evaluation of creatine analogues as a new class of anticancer agents using freshly explanted human tumor cells. *J Nat Cancer Inst*, v. 86, p. 608-613, 1994.

MATTHEWS, R.T. et al. Neuroprotective effect of creatine and cyclocreatine in animal models of Huntington's disease. *J Neurosci*, v. 18, p. 156-163, 1998.

McCARTY, M.F. Supplemental creatine may decrease serum homocysteine and abolish the homocysteine "gender gap" by suppressing endogenous creatine synthesis. *Med Hypoth*, v. 56, p. 5-7, 2001.

MESA, J. L. M. et al. Oral creatine supplementation and skeletal muscle metabolism in physical exercise. *Sports Med*, v. 32, n. 14, p. 903-944, 2002.

MUJIKKA, I. et al. Creatine supplementation does not improve sprint performance in competitive swimming. *Med Sci Sports Exerc*, v. 28, p. 1435-1441, 1996.

PEREIRA, B.; SOUZA JUNIOR, T. P. *Dimensões biológicas do treinamento físico*. São Paulo: Phorte, 2002.

_____. *Metabolismo celular e exercício físico: aspectos bioquímicos e nutricionais*. São Paulo: Phorte, 2004.

- POLIDORI, M. C. et al. Physical activity and oxidative stress during aging. *Int J Sports Med*, v. 21, p. 154-157, 2000.
- SAKS, V. A., STRUNIA, E. Phosphocreatine: molecular and cellular aspects of the mechanism of cardioprotective action. *Cur Ther Res*, v. 53, p. 565-598, 1993.
- SOUZA JUNIOR, T. P. *Suplementação de creatina e treinamento de força: alteração da resultante de força máxima maximorum, hipertrofia muscular e variáveis antropométricas* 2002. Dissertação (Mestrado em Ciências do Esporte) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Educação Física, Campinas, 2002.
- SOUZA JUNIOR, T. P. et al. Effect of creatine supplementation in the maximum strength of bench press in university students after 8 weeks of training. *FIEP Bull*, v. 75, p. 562-565, 2005a. (special edition)
- _____. The effect of the creatine supplementation in the maximum dynamic strength of the squatting exercises in college students after eight weeks of training. *FIEP Bull*, v. 75, p. 558-561, 2005b. (special edition)
- _____. Exercício físico e estresse oxidativo: efeitos do exercício físico intenso sobre a quimioluminescência urinária e malondialdeído plasmático. *Rev Bras Med Esp*, v. 11, n. 01, 2005.
- STATHIS, C.G. et al. Influence of sprint training on human muscle purine nucleotide metabolism. *J Appl Phys*, v. 76, p. 1802-1809, 1994.
- TULLSON, P.C. et al. IMP metabolism in human skeletal muscle after exhaustive exercise. *J Appl Phys*; v. 78, p. 146-152, 1995.
- VOLEK, J. S. et al. Performance and muscle fiber adaptations to creatine supplementation and heavy resistance training. *Med Sci Sport Exer*, v. 31, p.1147-1156, 1999.
- VORGERD, M. et al. Creatine therapy in myophosphorylase deficiency (McArdle disease): a placebo controlled crossover trial. *Arch Neur*, v. 57, p. 923-924, 2000.

Xu, C.J. et al. Phosphocreatine-dependent glutamate uptake by synaptic vesicles: a comparison with ATP-dependent glutamate uptake. *J Biol Chem*, v. 271, p. 13435-13440, 1996.

WHITEHEAD, T.; THORPE, G. H. G.; MAXWELL, S. Enhanced chemiluminescent assay for antioxidant capacity in biological fluids. *Anal Chem Acta*, v. 226, p. 265-277, 1992.