

CREATINE AND SWIMMING IN RATS: EFFECTS ON LIPID PROFILE AND LIVER FUNCTION

CLARA ANDRESSA DE ARAÚJO BARROS
DAVI KAUAN SOARES LEAL
LÍVIA FERREIRA DA SILVA
MARIA JÚLIA AMORIM
JOYCE LOPES MACEDO
MARIA DO CARMO DE CARVALHO E MARTINS

Federal University of Piauí – UFPI, Center for Health Sciences – CCS / Department of Biophysics and Physiology, Multicenter Graduate Program in Physiological Sciences – PPGMCF. Teresina-PI, Brazil. clarandbarros@gmail.com

Abstract

Introduction: Creatine is widely used as an ergogenic supplement, especially by athletes and physically active individuals. While its effects on muscle performance are well documented, there are still controversies regarding its impact on non-contractile organs, such as the liver, particularly when combined with aerobic exercise. Given the liver's central role in metabolism and detoxification, it is essential to understand the effects of creatine supplementation on hepatic function. **Objective:** To investigate the effects of creatine supplementation, alone and in combination with swimming training, on lipid profile and liver function markers in healthy rats. **Methods:** Male Wistar rats were divided into four groups (n=7): control group (CG), creatine group (CRE), exercise group (EXERCISE), and creatine + exercise group (EXERCISE+CRE). The protocol lasted four weeks and included swimming training and/or oral creatine supplementation. Biochemical markers (AST, ALT, GGT, albumin), antioxidant activity markers (CAT, SOD, GSHNP), lipid profile (cholesterol, triglycerides), and liver weight were evaluated. Data were analyzed using ANOVA and Tukey's test ($p < 0.05$). **Results:** The combination of creatine supplementation and exercise led to increased catalase (CAT) activity and reduced total hepatic cholesterol. No significant differences were observed in other biochemical markers, triglycerides, or liver weight. **Conclusion:** Creatine supplementation, whether alone or combined with exercise, did not impair liver function in healthy rats and resulted in positive antioxidant and metabolic effects, indicating no hepatic toxicity.

Keywords: Creatine, Physical Exercise, Liver Function, Lipid Profile

CREATINE AND SWIMMING IN RATS: EFFECTS ON LIPID PROFILE AND LIVER FUNCTION

Resumen

Introducción: La creatina es ampliamente utilizada como suplemento ergogénico, especialmente por atletas y personas físicamente activas. Aunque sus efectos sobre el rendimiento muscular están bien documentados, existen controversias sobre su impacto en órganos no contráctiles como el hígado, particularmente cuando se combina con ejercicio aeróbico. Dado el papel central del hígado en el metabolismo y la desintoxicación, es fundamental comprender los efectos de esta suplementación sobre su función. **Objetivo:** Investigar los efectos de la suplementación con creatina, sola y en combinación con entrenamiento de natación, sobre el perfil lipídico y los marcadores de función hepática en ratas sanas. **Métodos:** Ratas Wistar macho fueron divididas en cuatro grupos (n=7): grupo

control (GC), grupo creatina (CRE), grupo ejercicio (EJERCICIO) y grupo creatina + ejercicio (EJERCICIO+CRE). El protocolo duró cuatro semanas e incluyó entrenamiento de natación y/o suplementación oral con creatina. Se evaluaron marcadores bioquímicos (TGO, TGP, GGT, albúmina), marcadores de actividad antioxidante (CAT, SOD, GSHNP), perfil lipídico (colesterol, triglicéridos) y peso hepático. Los datos fueron analizados mediante ANOVA y prueba de Tukey ($p < 0,05$). **Resultados:** La combinación de creatina y ejercicio resultó en una mayor actividad de la catalasa (CAT) y reducción del colesterol hepático total. No se encontraron diferencias significativas en los demás marcadores bioquímicos, triglicéridos o peso del hígado. **Conclusión:** La suplementación con creatina, sola o combinada con ejercicio, no afectó negativamente la función hepática en ratas sanas y promovió efectos antioxidantes y metabólicos positivos, lo que indica ausencia de toxicidad hepática. **Palabras clave:** Creatina, Ejercicio Físico, Función Hepática, Perfil Lipídico.

CREATINE AND SWIMMING IN RATS: EFFECTS ON LIPID PROFILE AND LIVER FUNCTION

Abstrait

Introduction: La créatine est largement utilisée comme supplément ergogène, notamment par les athlètes et les personnes physiquement actives. Bien que ses effets sur la performance musculaire soient bien établis, son impact sur les organes non contractiles, comme le foie, reste controversé, en particulier lorsqu'elle est associée à un exercice aérobique. Étant donné le rôle central du foie dans le métabolisme et la détoxification, il est essentiel de comprendre les effets de cette supplémentation sur la fonction hépatique. **Objectif:** Étudier les effets de la supplémentation en créatine, seule ou combinée à un entraînement de natation, sur les marqueurs du profil lipidique et de la fonction hépatique chez des rats sains. **Méthodes:** Des rats Wistar mâles ont été répartis en quatre groupes ($n=7$) : groupe contrôle (GC), groupe créatine (CRE), groupe exercice (EXERCICE) et groupe créatine + exercice (EXERCICE+CRE). Le protocole a duré quatre semaines et comprenait un entraînement à la natation et/ou une supplémentation orale en créatine. Les marqueurs biochimiques (ASAT, ALAT, GGT, albumine), les marqueurs de l'activité antioxydante (CAT, SOD, GSHNP), le profil lipidique (cholestérol, triglycérides) et le poids hépatique ont été évalués. Les données ont été analysées par ANOVA et test de Tukey ($p < 0,05$). **Résultats:** L'association de la créatine et de l'exercice a entraîné une augmentation de l'activité de la catalase (CAT) et une réduction du cholestérol hépatique total. Aucune différence significative n'a été observée pour les autres marqueurs biochimiques, les triglycérides ou le poids du foie. **Conclusion:** La supplémentation en créatine, seule ou combinée à l'exercice, n'a pas altéré la fonction hépatique chez des rats sains et a induit des effets antioxydants et métaboliques positifs, suggérant l'absence de toxicité hépatique.

Mots-clés: Créatine, Exercice Physique, Fonction Hépatique, Profil Lipidique.

CREATINA E NATAÇÃO EM RATOS: EFEITOS NO LIPIDOGRAMA E FUNÇÃO HEPÁTICA

Resumo

Introdução: A creatina é amplamente utilizada como suplemento ergogênico, especialmente por atletas e praticantes de atividades físicas. Embora seus efeitos sobre o desempenho muscular sejam bem documentados, há controvérsias quanto aos seus impactos sobre órgãos não contráteis, como o fígado, particularmente quando associada ao exercício físico aeróbico. Considerando o papel central do fígado no metabolismo e na detoxificação, é fundamental compreender os efeitos dessa suplementação sobre a função hepática. **Objetivo:** Investigar os efeitos da suplementação com creatina, isoladamente e em associação ao treinamento físico de natação sobre marcadores de perfil lipídico e de função

hepática em ratos saudáveis. **Métodos:** Ratos Wistar machos foram divididos em quatro grupos (n=7): grupo controle (GC), grupo creatina (CRE), grupo exercício (EXERCÍCIO) e grupo creatina + exercício (EXERCÍCIO+CRE). O protocolo durou quatro semanas, com treinamento de natação e/ou suplementação oral de creatina. Foram avaliados marcadores bioquímicos (TGO, TGP, GGT, albumina), marcadores de atividade antioxidante (CAT, SOD, GSHNP), perfil lipídico (colesterol, triglicerídeos) e peso hepático. Os dados foram analisados por ANOVA e teste de Tukey ($p < 0,05$). **Resultados:** A combinação de suplementação de creatina e exercício físico resultou em maior atividade da enzima catalase (CAT) e redução do colesterol total hepático. Não houve diferenças significativas nos demais marcadores bioquímicos, triglicerídeos ou peso do fígado. **Conclusão:** A suplementação com creatina, isoladamente ou associada ao exercício, não comprometeu a função hepática em ratos saudáveis e resultou em efeitos antioxidantes e metabólicos positivos, indicando ausência de toxicidade hepática.

Palavras-chave: Creatina, Exercício Físico, Função Hepática, Perfil lipídico.

Introdução

A creatina, ou ácido metilguanidina-acético, é uma substância naturalmente sintetizada pelo organismo humano a partir dos aminoácidos arginina, glicina e metionina, sendo os rins e o fígado os principais sítios dessa biossíntese (Antonio et al., 2021). Além da produção endógena, a creatina pode ser obtida exogenamente por meio da ingestão de carnes ou por suplementação nutricional. No organismo, essa molécula encontra-se predominantemente nas formas livre (60–70%) e fosforilada (30–40%), desempenhando papel central no metabolismo energético celular, sobretudo em tecidos com alta demanda energética, como o músculo esquelético (Gonçalves et al., 2022).

Nas últimas décadas, a suplementação com creatina tem sido reconhecida como uma ferramenta eficaz para ampliar sua disponibilidade no organismo e, consequentemente, otimizar a ressíntese de adenosina trifosfato (ATP), aumentando assim a “*performance*” física relacionada ao exercício físico (Carvalho et al., 2011; Molina et al., 2009). Esse efeito está relacionado ao aumento dos estoques musculares de fosfocreatina (PCr) proporcionado pela suplementação exógena de creatina, o que favorece a disponibilidade de fosfatos livres para a ressíntese de ATP e facilita a transferência do grupo fosfato do ATP das mitocôndrias para o citosol (Alves et al., 2022). Quanto ao efeito no desempenho físico, a suplementação com 0,04 g/kg/dia de creatina durante 10 semanas, em atletas remadores de elite aumentou a potência aeróbica (Fernández-Landa et al., 2020). Em paralelo, um ensaio pioneiro conduzido por Skare et al., (2001) verificou que a suplementação aguda com creatina em 20/g/dia reduziu os tempos de tiros de 100m e reduziu o tempo total de 6 tiros de 60m em um grupo de adolescentes corredores. No entanto, apesar dos benefícios citados, os efeitos da suplementação com creatina quando associada ao exercício aeróbico, sobre parâmetros relacionados à função hepática ainda não estão completamente elucidados.

O fígado, além de participar da biossíntese da creatina, exerce papel fundamental na regulação metabólica e na detoxificação de compostos gerados durante o exercício físico (Schinoni et al., 2008). Situações de treinamento intenso e prolongado, como ocorre na natação de resistência, podem induzir estresse oxidativo hepático devido ao aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), o que potencialmente compromete a integridade funcional hepática (Xu et al., 2023). Ainda que o fígado disponha de mecanismos antioxidantes endógenos, fatores como fadiga e sobrecarga metabólica podem limitar a eficácia dessas defesas, resultando em possíveis alterações na estrutura e função do órgão (Vieira et al., 2008).

Nesse contexto, estudos experimentais e clínicos têm apontado para possíveis efeitos adversos da creatina sobre a função hepática (Tarnopolsky et al., 2003; Edmunds et al., 2001). Em um estudo pré-clínico conduzido por Tarnopolsky et al. (2003), uma dieta contendo 2% de creatina foi administrada a dois grupos de intervenção: o primeiro composto por camundongos com mutação na enzima superóxido dismutase (SOD), submetido ao tratamento por 20 semanas; e o segundo formado por ratos saudáveis, que receberam a mesma dieta por um período de 48 semanas. Ao final das 20 semanas, os camundongos geneticamente modificados apresentaram aumento da inflamação hepática e desenvolvimento de hepatite. Em contrapartida, nos ratos saudáveis expostos à mesma suplementação, por um período ainda maior, não foram observadas alterações hepáticas significativas. Esses achados indicam que os possíveis efeitos tóxicos da creatina parecem estar relacionados à presença de comorbidades ou alterações genéticas pré-existentes, reforçando a segurança de sua utilização em organismos saudáveis, mesmo em protocolos de longa duração, como o observado no estudo. Apesar disso, os dados relacionados à suplementação com creatina em associação ao exercício aeróbico ainda são escassos e permanecem inconclusivos. Além disso essa lacuna ressalta a necessidade de investigações que avaliem, de forma específica, os impactos do treinamento e suplementação com creatina sobre parâmetros da função hepática em animais saudáveis.

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da suplementação com creatina, isoladamente e em combinação com o treinamento de natação durante quatro semanas sobre o perfil lipídico e marcadores bioquímicos de função hepática em ratos saudáveis.

Métodos

A pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Piauí (UFPI), sob o protocolo nº 742/2022. Foram utilizados 28 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), machos, com peso corporal entre 230 e 270 g, provenientes do Biotério Central

da UFPI. Os animais foram mantidos em ambiente climatizado, com temperatura controlada de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuridão. Cada animal foi alojado em gaiola metabólica individual, recebendo dieta padrão de manutenção e água ad libitum. Os ratos foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos experimentais (n = 7 por grupo), com duração do protocolo de 28 dias: grupo controle (GC), grupo exercício (EXERC), grupo suplementado com creatina (CRE) e grupo suplementado com creatina associado ao exercício (CRE+EXERC). Os grupos que receberam suplementação foram tratados com creatina na dose de 0,675 g/kg/dia, administrada por gavagem oral ao longo de todo o período experimental.

O protocolo de exercício consistiu em um treinamento periodizado de natação necessitando nas duas primeiras semanas de adaptação no meio líquido, com sobrecargas progressivas em reservatórios cilíndricos individuais com profundidade de 100 - 120 cm. Nas 3 semanas seguintes foram realizados exercícios de natação, cinco dias consecutivos por semana e 60 min por sessão de forma contínua. O exercício aeróbio foi realizado pelos roedores sem interrupção, até os animais completarem uma hora de treinamento com sobrecarga utilizada correspondente a 5% do peso corporal de cada roedor. Todos os roedores, após o período de natação, foram secos e colocados em ambiente com temperatura entre 31 e 35°C para evitar complicações fisiológicas provenientes do frio e da umidade.

Ao final do período de treinamento os animais foram sacrificados em conformidade com o protocolo estabelecido na RN 37 de 22/02/2018 do CONCEA, em que os animais de todos os grupos são anestesiados conforme o protocolo para roedores, com Lidocaína (10 mg/Kg, intraperitoneal) e Tiopental (150mg/Kg, intraperitoneal). Em seguida foi realizada a coleta de sangue por punção na veia cava para a realização das dosagens bioquímicas. O fígado foi retirado para pesagem sendo removido e preservado em formol tamponado 10% durante 48 horas. Para determinação do perfil lipídico foram usados kits da marca Labtest (Minas Gerais, Brasil) e as amostras foram analisadas em duplicata. Os níveis plasmáticos de triglicerídeos foram determinados por meio do kit enzimático Cat. 87 e o conteúdo de gorduras totais por meio do método enzimático colorimétrico kit CAT.76.

A atividade da enzima catalase (CAT) foi determinada segundo o método de Beers e Sizer (1952), o qual se baseia na decomposição do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), monitorada pela diminuição da absorbância a 240 nm. Os resultados foram expressos em μmol de H_2O_2 decompostos por minuto por miligrama de proteína ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína). A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi mensurada de acordo com o método descrito por Das, Samanta e Chainy (2000), que se fundamenta na inibição da auto-oxidação da adrenalina a adrenocromo em meio alcalino, com leitura espectrofotométrica a 480 nm. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima capaz de inibir 50% da formação

de adrenocromo, sendo os resultados expressos em unidades por miligrama de proteína (U/mg de proteína). A concentração dos grupos sulfidrílicos não proteicos (GSHNP) foi avaliada com base na reação do grupo sulfidrílico com o ácido 5,5'-ditiobis (ácido 2-nitrobenzoico) (DTNB), que resulta na formação de um composto colorido com pico de absorvância em 412 nm. A quantificação foi realizada por meio de uma curva de calibração construída com padrão adequado, conforme descrito por Gustarini et al., (2014), sendo os valores expressos em $\mu\text{mol/mg}$ de proteína.

A peroxidação lipídica foi avaliada por meio da quantificação do malondialdeído (MDA), determinado pela formação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), conforme o método descrito por Ohkawa, Ohishi e Yagi (1979). Os resultados foram obtidos por espectrofotometria, com leitura da absorvância do complexo MDA-TBA, e expressos em nmol/mg de proteína. A atividade da mieloperoxidase (MPO) foi determinada com base na taxa de oxidação do substrato o-dianisidina na presença de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), mensurada por meio da variação na absorvância, de acordo com o método descrito por Bradley et al. (1982). Os resultados foram expressos em unidades de atividade enzimática por miligrama de proteína (U/mg de proteína).

As concentrações séricas de transaminase oxalacética (TGO), transaminase pirúvica (TGP), gama glutamil transferase (GGT) e albumina foram determinadas por meio de métodos enzimático-colorimétricos, conforme as instruções e especificações técnicas do fabricante dos kits comerciais utilizados. As análises foram realizadas em espectrofotômetro automático, com os resultados expressos em unidades internacionais por litro (U/L) para as enzimas e em gramas por decilitro (g/dL) para a albumina.

Para a análise estatística, os dados foram expressos em média \pm desvio padrão e avaliados quanto à normalidade por meio do teste de Shapiro-Wilk. Em seguida, foi aplicada análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida pelo teste post hoc de Tukey para comparação entre os grupos. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$. As análises foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism.

Resultados:

Ao analisar os marcadores de atividade antioxidante descritos na Tabela 1, verificou-se que o grupo controle (GC) e os grupos submetidos somente à suplementação com creatina (CRE) ou apenas ao exercício (EXERCÍCIO) não apresentaram alterações significativas na atividade das enzimas antioxidantes Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT) e nas concentrações médias dos Grupos Sulfidrílicos não Protéicos (GSHNP). Em contrapartida, no grupo que combinou a suplementação com creatina e exercício

(EXERCÍCIO+CREATINA), observou-se maior atividade da enzima Catalase de forma significativa (CAT) ($p < 0,005$) em comparação ao grupo controle (GC).

Tabela 1 – Marcadores de atividade antioxidante em ratos saudáveis submetidos a 28 dias de tratamento com somente creatina (CRE), somente exercício (EXERC) e creatina combinado com exercício (EXERCÍCIO + CRE).

Variáveis	SOD (U/mg de proteína)	CAT ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína)	GSHNP ($\mu\text{mol}/\text{mg}$ de proteína)
GC	0,271 \pm 0,00	159,27 \pm 6,74	177,60 \pm 21,10
CRE	0,269 \pm 0,00	162,44 \pm 7,65	188,49 \pm 17,57
EXERCÍCIO	0,269 \pm 0,00	160,47 \pm 9,74	181,49 \pm 23,03
EXERCÍCIO + CRE	0,268 \pm 0,00	187,87 \pm 7,86^a	184,17 \pm 12,78

Média \pm EPM (Erro Padrão da Média). One Way ANOVA seguido de teste de Tukey. As diferenças significativas são apresentadas como: ^a $p < 0,05$ em relação ao grupo CN; ^b $p < 0,05$ em relação ao grupo N + Cre; ^c $p < 0,05$ em relação ao N + Exerc; ^d $p < 0,05$ em relação ao N + Exerc + Cre.

Tabela 2 – Marcadores bioquímicos da função hepática em ratos saudáveis submetidos a 28 dias de tratamento com somente creatina (CRE), somente exercício (EXERC) e creatina combinado com exercício (EXERCÍCIO + CRE) e grupo controle (GC).

GRUPOS	GC (n = 7)	Cre (n = 7)	Exerc (n = 7)	Exerc + Cre (n = 7)
TGO(U/L)	114,36 \pm 29,45	117,29 \pm 31,11	107,10 \pm 32,73	113,28 \pm 27,74
TGP(U/L)	89,87 \pm 14,90	94,17 \pm 24,47	99 \pm 34,15	101,62 \pm 28,50
Albumina (g/dL)	3,25 \pm 0,28	3,42 \pm 0,37	3,38 \pm 0,24	3,19 \pm 0,47
GGT(U/L)	6,07 \pm 0,78	5,88 \pm 0,99	6,14 \pm 0,87	6,04 \pm 0,69

Média \pm EPM (Erro Padrão da Média). One Way ANOVA seguido de teste de Tukey.

Quanto aos marcadores bioquímicos avaliados (Tabela 2), observou-se que os grupos somente creatina (CRE), somente exercício (EXERCÍCIO) e creatina combinada com exercício (EXERC+CRE) não produziram alterações significativas nas concentrações séricas de albumina, e atividade enzimática da transaminase oxalacética (TGO), transaminase pirúvica (TGP) e gama-glutamil transferase (GGT).

O peso relativo do fígado (g/100g de peso corporal), foi semelhante em todos os grupos de tratamento e também não apresentou diferença estatisticamente significativa ao final do período de treinamento de quatro semanas (Tabela 3).

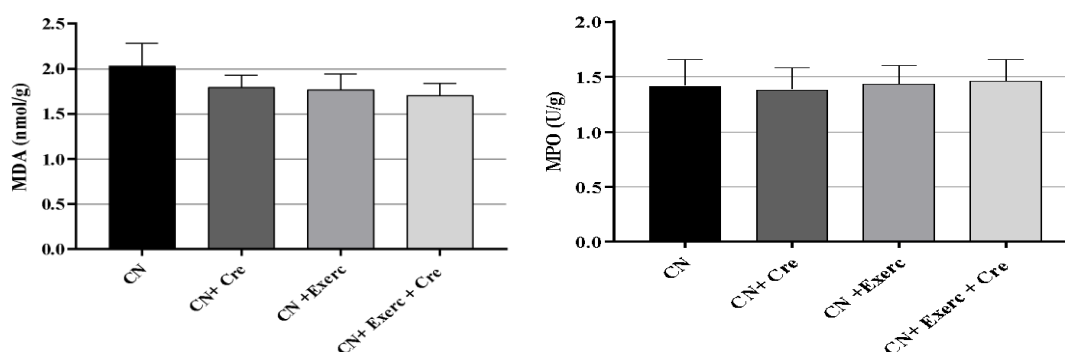
Tabela 3 – Peso relativo do fígado de ratos saudáveis submetidos a 28 dias de tratamento com somente creatina (CRE), somente exercício (EXERC) e creatina combinado com exercício (EXERCÍCIO + CRE) e grupo controle (GC).

Grupos	Peso relativo do fígado (g/100g de peso)
GC	2,72± 0,07
CRE	2,91± 0,12
EXERCÍCIO	2,77± 0,06
EXERCÍCIO + CRE	2,87± 0,05

One Way ANOVA seguido de teste de Tukey.

Na figura 1A, observa-se que os três protocolos de tratamento produziram efeitos semelhantes sobre o marcador de peroxidação lipídica, malondialdeído (MDA), sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos (GC: 2,034 ± 0,2490; CRE: 1,796 ± 0,1351; EXERC: 1,772 ± 0,1731; EXERC + CRE: 1,706 ± 0,1350). De forma semelhante na figura 2B, os três protocolos de tratamento produziram efeitos semelhantes sobre o marcador de peroxidação lipídica, mieloperoxidase (MPO), sem diferença estatística entre os grupos (GC: 1,417 ± 0,2387; CRE: 1,383 ± 0,1986; EXERC: 1,437 ± 0,1688; e EXERC + CRE: 1,459 ± 0,2010).

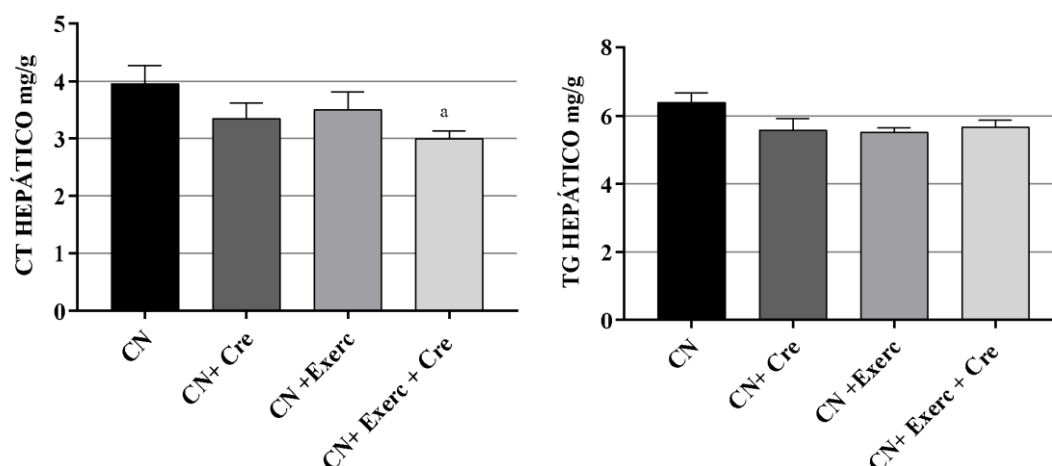
Figura 1 –Marcadores de peroxidação lipídica de ratos submetidos a 28 dias de tratamento com creatina (CRE), exercício (EXERC) e creatina combinado com exercício (EXERCÍCIO + CRE) e grupo controle (GC).



One Way ANOVA seguido de teste de Tukey.

Conforme ilustrado na Figura 2, apenas o grupo que recebeu a combinação de suplementação com creatina e exercício físico (EXERC+CRE) demonstrou uma redução significativa nos níveis de colesterol total (CT) em comparação ao grupo controle sem intervenção (GC) (GC: 3,952 ± 0,3162; CRE: 3,350 ± 0,2733; EXERC: 3,510 ± 0,3030; e EXERC + CRE: 2,995 ± 0,1418.) (**Figura 2A**). No entanto, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos em relação aos níveis de triglicerídeos (GC: 6,384 ± 0,2879; CRE: 5,572 ± 0,3405; EXERC: 5,515 ± 0,1267; e EXERC + CRE: 5,669 ± 0,1994) (**Figura 2B**).

Figura 2 –Perfil lipídico hepático de ratos submetidos à 28 dias de tratamento com somente creatina (CRE), somente exercício (EXERC) e creatina combinado com exercício (EXERCÍCIO + CRE) e grupo controle (GC).



One Way ANOVA seguido de teste de Tukey. As diferenças significativas são apresentadas como: ^a $p < 0,05$ em relação ao grupo CN; ^b $p < 0,05$ em relação ao grupo N + Cre; ^c $p < 0,05$ em relação ao N + Exerc; ^d $p < 0,05$ em relação ao N + Exerc + Cre.

Discussão

O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da suplementação com creatina, isoladamente e associada ao treinamento de natação por quatro semanas, sobre o perfil lipídico e marcadores bioquímicos de função hepática em ratos saudáveis. Os resultados obtidos demonstram que, de forma geral, a administração de creatina, mesmo quando associada a uma condição de maior estresse fisiológico, como o exercício físico, não provocou alterações significativas nos marcadores bioquímicos da função hepática, como TGO, TGP, GGT e albumina, sugerindo que a suplementação durante 28 dias com creatina em ratos submetidos a um protocolo de atividade física aeróbica não leva a hepatotoxicidade. Sabe-se que a exposição a substâncias endógenas em grandes quantidades pode provocar um aumento da atividade metabólica hepática, o que pode desencadear um quadro de toxicidade no fígado. Alguns achados demonstram que essa condição está associada à elevação dos níveis plasmáticos de enzimas hepáticas, como AST, ALT, GGT e ALP (Björnsson et al., 2006; Takahashi et al., 1995). Nesse contexto, Vieira et al. (2008), ao analisarem os possíveis efeitos tóxicos da suplementação oral com creatina durante 14 dias sobre a função hepática em ratos Wistar, não observaram nenhuma alteração na função hepática nos animais, quando comparado aos grupos controle e suplementado. De maneira semelhante, Carvalho et al. (2011) observaram que a suplementação com creatina por oito semanas, associada ao treinamento de força, não resultou em efeitos adversos sobre a função hepática de adultos jovens.

A análise dos marcadores de atividade antioxidante evidenciou um aumento significativo sobre a atividade da enzima catalase (CAT) no grupo de animais que recebeu suplementação com creatina associada ao exercício físico (N+exerc+cre), quando comparados ao grupo controle. Esse achado está em consonância com estudos prévios, que têm explorado os potenciais benefícios da creatina, especialmente seu papel na redução do estresse oxidativo celular induzido por exercícios físicos intensos e prolongados (Cruzat et al., 2007; Sestili et al., 2006; Lawler et al., 2009). Adicionalmente Araújo et al., (2013), ao investigarem os efeitos de uma dieta contendo 2% de creatina em associação com treinamento até a exaustão em ratos Wistar, concluíram que a suplementação com creatina exerce um efeito aditivo ao exercício físico, promovendo o aumento da atividade de enzimas antioxidantes no fígado desses animais. A catalase é uma enzima fundamental no sistema de defesa antioxidante, atuando na neutralização de peróxidos de hidrogênio (H_2O_2), um dos principais subprodutos do metabolismo oxidativo intensificado durante o exercício físico intenso (Halliwell et al., 2015). Nesse contexto, a elevação isolada da atividade da CAT observada no grupo EXERCÍCIO+CREATINA sugere um possível efeito adaptativo com função protetora hepática, possivelmente decorrente da interação entre a suplementação com creatina e o estresse fisiológico induzido pela natação, sem a presença de sinais evidentes de dano hepático.

Neste estudo, não foram observadas alterações significativas nos marcadores de peroxidação lipídica, avaliados por meio das concentrações de MDA e MPO. Esse resultado está em concordância com o ensaio de Kingsley et al. (2009), que investigaram a peroxidação lipídica sérica em humanos submetidos a dois testes até a exaustão em cicloergômetro e não encontraram influência da suplementação com creatina sobre esse marcador de estresse oxidativo. Em contrapartida, Stefani et al. (2014), ao investigarem os efeitos da suplementação com creatina associada ao treinamento de resistência com agachamentos durante oito semanas em ratos, observaram uma redução nos níveis de MDA hepático no grupo suplementado, sugerindo um possível efeito antioxidante. A divergência em relação aos nossos resultados pode ser explicada pelas diferenças nos protocolos de exercício adotados, uma vez que o estudo anterior utilizou treinamento de força, caracterizado por respostas hemodinâmicas e demandas metabólicas distintas daquelas observadas em exercícios aeróbicos.

Nos nossos resultados, o peso relativo do fígado (g/100g de peso), foi semelhante em todos os grupos de tratamento. Este achado apoia a segurança do protocolo adotado devido à ausência de alterações no peso relativo do fígado nos grupos que receberam suplementação com creatina e/ou exercício.

A análise da concentração de gorduras totais, colesterol hepático (CT) e triglicerídeos (TG) indicou que a combinação entre o treinamento de natação e a suplementação com creatina preveniu o desenvolvimento de esteatose hepática nos animais avaliados, evidenciado pela redução significativa no conteúdo de colesterol total hepático. Esse resultado corrobora com os achados de Deminice et al. (2011), que, em um modelo experimental com dieta rica em gordura, observaram que os animais suplementados com creatina apresentaram menor acúmulo de gordura no fígado em comparação àqueles submetidos apenas à dieta hiperlipídica, sugerindo um efeito modulador da creatina sobre o metabolismo lipídico hepático. Em um estudo in vitro conduzido em uma cultura de células hepáticas cancerígenas tratadas com oleato, Da Silva et al., (2014) observaram que a administração de creatina reduziu os valores de triglicerídeos. No entanto, no presente estudo, não foram observadas diferenças significativas nos níveis de triglicerídeos entre os grupos experimentais. Uma das razões que poderia justificar esse achado é o fato de que os animais utilizados apresentavam um estado fisiológico saudável e foram submetidos a uma dieta normocalórica, o que pode ter mantido o metabolismo lipídico em equilíbrio, limitando a manifestação de efeitos adicionais da creatina ou do exercício físico sobre esse parâmetro. Além disso, a duração relativamente curta da intervenção (quatro semanas) pode não ter sido suficiente para induzir alterações detectáveis nos estoques hepáticos de triglicerídeos. Assim, é possível que modelos com disfunção metabólica ou intervenções de maior duração revelem efeitos mais evidentes da creatina sobre esse marcador.

Dentre as limitações deste estudo, destaca-se o período relativamente curto da intervenção, que pode não ter sido suficiente para revelar efeitos cumulativos ou alterações hepáticas mais sutis decorrentes da suplementação com creatina e do exercício físico. Além disso, o protocolo adotado consistiu exclusivamente em um tipo de treinamento, o que restringe a generalização dos resultados para outros tipos e intensidades de exercício. Outro ponto a ser considerado é o uso de apenas uma dosagem de creatina, o que impossibilita a avaliação de possíveis efeitos dose-dependentes. Também é importante ressaltar que o estudo foi realizado apenas com animais machos, limitando a extrapolação dos achados para o sexo feminino, que pode apresentar respostas fisiológicas distintas. Por fim, trata-se de um modelo experimental com animais, o que, embora ofereça controle rigoroso das variáveis, não substitui os ensaios clínicos em humanos, sendo necessária cautela na transposição dos resultados para a prática clínica.

Apesar das limitações mencionadas, o estudo abordou um tema ainda pouco explorado na literatura — os efeitos combinados da creatina e do exercício aeróbico em animais saudáveis —, fornecendo dados inéditos que ampliam o entendimento sobre a segurança metabólica da suplementação com creatina em contextos fisiológicos normais. A

inclusão de grupo controle e de diferentes combinações de intervenção também possibilitou uma análise comparativa mais robusta entre as variáveis investigadas. Por fim, embora não se trate de um ensaio clínico, o modelo animal é fundamental como etapa prévia para avaliar a segurança e os possíveis efeitos metabólicos da creatina, fornecendo dados importantes que subsidiam futuras pesquisas em humanos.

Conclusão

Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da suplementação com creatina, isoladamente e em associação ao treinamento de natação, sobre o perfil lipídico e marcadores bioquímicos da função hepática em ratos saudáveis. Os resultados demonstraram que a creatina, mesmo quando combinada ao exercício aeróbico, não induziu alterações adversas na função hepática. Além disso, observou-se um aumento da atividade antioxidante e melhora em parâmetros metabólicos, como a redução do colesterol hepático. Esses achados indicam que a suplementação com creatina durante 28 semanas, quando associada ao treinamento de natação, é segura em ratos saudáveis e pode contribuir positivamente para o equilíbrio hepático e metabólico. Os achados deste trabalho podem servir como subsídio relevante para o desenvolvimento de pesquisas em humanos, fornecendo uma base experimental para a compreensão dos efeitos da suplementação com creatina, isoladamente ou associada ao exercício aeróbico, sobre a função hepática em diferentes condições fisiológicas.

Declaração de conflito de interesses

Não há nenhum conflito de interesses no presente estudo.

Referências

- Alves, A. M., Sampaio, G. C. M., Pinho, V. S. V., Borges, V. D. D., & de Oliveira, C. M. S. (2022). Efeitos do uso ergogênico da creatina: uma revisão de literatura. *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação*, 8(11), 708-720.
- Araújo, M. B., Moura, L. P., Junior, R. C. V., Junior, M. C., Dalia, R. A., Sponton, A. C., ... & Mello, M. A. R. (2013). Creatine supplementation and oxidative stress in rat liver. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 10(1), 54.
- Beers, R. F., & Sizer, I. W. (1952). A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *J Biol chem*, 195(1), 133-140.

Björnsson, E. (2006). Drug-induced liver injury: Hy's rule revisited. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 79(6).

Bradley, P. P., Priebat, D. A., Christensen, R. D., & Rothstein, G. (1982). Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. *Journal of investigative dermatology*, 78(3), 206-209.

Carvalho, A. P. P. F., Molina, G. E., & Fontana, K. E. (2011). Suplementação com creatina associada ao treinamento resistido não altera as funções renal e hepática. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, 17, 237-241.

Cruzat, V. F., Rogero, M. M., Borges, M. C., & Tirapegui, J. (2007). Aspectos atuais sobre estresse oxidativo, exercícios físicos e suplementação. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, 13, 336-342.

Das, K., Samanta, L., & Chainy, G. B. N. (2000). A modified spectrophotometric assay of superoxide dismutase using nitrite formation by superoxide radicals.

Deminice, R., da Silva, R. P., Lamarre, S. G., Brown, C., Furey, G. N., McCarter, S. A., ... & Brosnan, J. T. (2011). Creatine supplementation prevents the accumulation of fat in the livers of rats fed a high-fat diet. *The Journal of nutrition*, 141(10), 1799-1804.

Edmunds, J. W., Jayapalan, S., DiMarco, N. M., Saboorian, H., & Aukema, H. M. (2001). Creatine supplementation increases renal disease progression in Han: SPRD-cy rats. *American Journal of Kidney Diseases*, 37(1), 73-78.

Fernández-Landa, J., Fernández-Lázaro, D., Calleja-González, J., Caballero-García, A., Cordova Martinez, A., León-Guereño, P., & Mielgo-Ayuso, J. (2020). Effect of ten weeks of creatine monohydrate plus HMB supplementation on athletic performance tests in elite male endurance athletes. *Nutrients*, 12(1), 193.

Gonçalves, M. G., Medeiros, M. A., de Lemos, L. I. C., de Fátima Campos Pedrosa, L., de Andrade Santos, P. P., Abreu, B. J., & Lima, J. P. M. S. (2022). Effects of creatine supplementation on histopathological and biochemical parameters in the kidney and pancreas of streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutrients*, 14(3), 431.

- Gustarini, M., Scipioni, M. P., Fanourakis, M., & Wac, K. (2016). Differences in smartphone usage: validating, evaluating, and predicting mobile user intimacy. *Pervasive and Mobile Computing*, 33, 50-72.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015). *Free radicals in biology and medicine*. Oxford university press.
- Kingsley, M. I., Cunningham, D., Mason, L., Kilduff, L. P., & McEneny, J. (2009). Role of Creatine Supplementation on Exercise-Induced Cardiovascular Function and Oxidative Stress. *Oxidative medicine and Cellular longevity*, 2(4), 247-254.
- Lawler, J. M., Barnes, W. S., Wu, G., Song, W., & Demaree, S. (2002). Direct antioxidant properties of creatine. *Biochemical and biophysical research communications*, 290(1), 47-52.
- Molina, G. E., Rocco, G. F., & Fontana, K. E. (2009). Desempenho da potência anaeróbia em atletas de elite do mountain bike submetidos à suplementação aguda com creatina. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, 15, 374-377.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical biochemistry*, 95(2), 351-358.
- Schinoni, M. I. (2008). Fisiologia hepática. *Gazeta Médica da Bahia*, 76(2).
- Sestili, P., Martinelli, C., Bravi, G., Piccoli, G., Curci, R., Battistelli, M., ... & Stocchi, V. (2006). Creatine supplementation affords cytoprotection in oxidatively injured cultured mammalian cells via direct antioxidant activity. *Free Radical Biology and Medicine*, 40(5), 837-849.
- Skare, O. C., Skadberg, Ø., & Wisnes, A. R. (2001). Creatine supplementation improves sprint performance in male sprinters. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, 11(2), 96-102.
- Stefani, G. P., Nunes, R. B., Dornelles, A. Z., Alves, J. P., Piva, M. O., Domenico, M. D., ... & Lago, P. D. (2014). Effects of creatine supplementation associated with resistance training on oxidative stress in different tissues of rats. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 11, 1-9.

Takahashi, H., Fujimoto, J., Hanada, S., & Isselbacher, K. J. (1995). Acute hepatitis in rats expressing human hepatitis B virus transgenes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(5), 1470-1474.

Tarnopolsky, M. A., Bourgeois, J. M., Snow, R., Keys, S., Roy, B. D., Kwiecien, J. M., & Turnbull, J. (2003). Histological assessment of intermediate-and long-term creatine monohydrate supplementation in mice and rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 285(4), R762-R769.

Vieira, R. D. P., França, R. F., Carvalho, C. R. F. D., Dolhnikoff, M., Ribeiro, W., & Martins, R. Á. B. L. (2008). Efeitos da suplementação oral com creatina sobre o metabolismo e a morfologia hepática em ratos. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, 14, 38-41.