

CAMILA SOUZA DE MORAIS

**INFLUÊNCIA DA ASSOCIAÇÃO ENTRE SUPLEMENTAÇÃO COM CREATINA E
EXERCÍCIO FÍSICO INTERVALADO SOBRE METABOLISMO GLICÊMICO E
INDICADORES DE REMODELAÇÃO CARDÍACA EM RATOS**

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**



CAMILA SOUZA DE MORAIS

**INFLUÊNCIA DA ASSOCIAÇÃO ENTRE SUPLEMENTAÇÃO COM CREATINA E
EXERCÍCIO FÍSICO INTERVALADO SOBRE METABOLISMO GLICÊMICO E
INDICADORES DE REMODELAÇÃO CARDÍACA EM RATOS**

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.

Orientadora: Profa. Dra. *Paula Felipe Martinez*

Campo Grande - MS

2017

Dedicatória

A Deus, pela fé que me mantém viva e fiel à vida honesta de trabalho e estudo. Por me guiar, iluminar e me dar tranquilidade para seguir em frente com os meus objetivos.

Aos meus pais, Cleverson e Rosemeire, e a minha irmã Carina, que sempre entenderam as minhas faltas e me mostraram o quanto era importante estudar, me dando forças para chegar até aqui.

As avós Hilda e Maria, que sempre abençoaram minha caminhada com suas orações calorosas que me protegem.

A todos os tios, primos e sogros que sempre torceram, apoiaram e incentivaram as minhas escolhas, sempre dando força para continuar nessa caminhada.

Aos amigos Matheus Azambuja e Renata Medina por todo apoio durante o mestrado.

E ao meu namorado Gabriel, que foi fundamental em toda essa trajetória. Obrigado pela parceria, pelo companheirismo, pela paciência e por dividir todos os momentos durante a nossa caminhada. Essa conquista é nossa!

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pelo suporte financeiro, proporcionando o desenvolvimento desta pesquisa científica.

Aos Docentes e servidores do programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste. Especialmente a secretária Áurea Soares, pela gentileza e disponibilidade.

Em especial à minha orientadora e inspiração profissional, Prof.^a Dra. Paula Felipe Martinez, para quem não há agradecimentos suficientes. Obrigada pela confiança e principalmente pela oportunidade, e também pela paciência e tranquilidade para transmitir seus ensinamentos. À senhora minha eterna gratidão!

Ao coorientador, Prof. Dr. Silvio Assis de Oliveira Júnior, pelo apoio, disponibilidade, ensinamentos e colaboração na elaboração deste trabalho. Minha eterna gratidão!

Aos professores, técnicos da unidade de pesquisa experimental – UNESP/Botucatu, pela parceria na confecção de lâminas histológicas e análise bioquímica. E em especial à doutoranda Mari Janini, por me receber tão bem em sua casa, compartilhar seu conhecimento e auxiliar no experimento.

Ao Prof. Dr. Albert Schiaveto de Souza, aos seus alunos e técnicos do laboratório, pela convivência e por abrir as portas do Laboratório de Biofisiofarmacologia, nos permitindo realizar os experimentos.

A todos os servidores do biotério central da UFMS, pela excelente convivência, gentileza e apoio prestado durante todo o período experimental.

Ao Prof. Dr. José Antônio Braga Neto, por permitir o uso da Unidade de Tecnologia de Alimentos e Saúde Pública - UFMS. Em especial, ao técnico Márcio, pelo auxílio prestado no processo de confecção das rações suplementadas.

À Prof.^a Dra. Elisvânia Freitas e à colega de turma Mirelly pela realização análise da composição físico-química das rações.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Juliano de Oliveira pela colaboração técnica no desenvolvimento do estudo.

Ao Laboratório de Imagem do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/UFMS e, principalmente, ao técnico Lucas Blanco, pela gentileza e disponibilidade durante a etapa de fotografia das lâminas histológicas.

Aos técnicos da clínica escola integrada – CEI, pela convivência e gentileza.

Aos Prof.^a Dra. Karla Luciana Magnani Seki e Prof. Dr. Thomaz Burke por todas as valiosas contribuições e considerações na banca de qualificação.

Aos Prof.^a Dra. Elisvânia Freitas e o Prof. Dr. Marcelo Diarcádia Mariano Cezar por todas as contribuições na banca de defesa.

Aos alunos de iniciação científica Paola Oliveira, Arthur Fantesia, Jéssica Lira, Carol Castro, Jair Gaspar e Maria Lua pela parceria, interesse e disponibilidade em todas as fases do experimento.

Aos amigos e colegas do grupo de estudo que o mestrado trouxe: Gabriel Ota, Mari Rabelo, Day Borges, Fernando Barbosa, Cleberson Lima, Carlos Tavares, Mari Budib, Ana Priscila, Priscila Góis, Dayana das Graças e Nayara Muzili. Agradeço todo o apoio e a parceria!

Epígrafe

“Que os vossos esforços desafiem as
impossibilidades, lembrai-vos de que
as grandes coisas do homem foram
conquistadas do que parecia
impossível.”

Charles Chaplin

Lista de Tabelas

Tabela 1. Variáveis murinométricas.....	26
Tabela 2. Variáveis nutricionais.....	26
Tabela 3. Área sob a curva de tolerância à glicose e à insulina, total e corrigida.....	27
Tabela 4. Valores glicêmicos (mg/dL) mensurados durante o teste de tolerância à glicose.....	28
Tabela 5. Valores glicêmicos (mg/dL) mensurados durante o teste de tolerância à insulina.....	30
Tabela 6. Perfil bioquímico sérico.....	31
Tabela 7. Conteúdo relativo de água no tecido cardíaco, pulmão e fígado.....	32
Tabela 8. Morfologia cardíaca macroscópica.....	33

Lista de Figuras

Figura 1. Glicemia mensurada durante o teste de tolerância à glicose.....	28
Figura 2. Glicemia mensurada durante o teste de tolerância à insulina.....	30
Figura 3. Valores referentes à velocidade máxima e distância percorrida atingidas no teste de esforço final.....	31
Figura 4. Cortes histológicos transversais do músculo cardíaco corados com hematoxilina-eosina.....	34
Figura 5. Cortes histológicos transversais do músculo cardíaco corados com <i>Picrosirius red</i>	34
Figura 6. Valores referentes à área seccional transversa dos cardiomiócitos e à fração intersticial de colágeno no miocárdio.....	35

LISTA DE ABREVIATURAS

ADP – Adenosina difosfato

AKT – Proteína quinase B

AMPK – Proteína quinase ativada por AMP

ASCG – Área sob a curva de tolerância glicêmica

ASCI – Área sob a curva de tolerância insulinêmica

ATP – Adenosina trifosfato

C – Controle

Ca²⁺ – Íon de cálcio

COR – Massa do coração

Cr – Creatina

CreaT – Transportador de creatina

ECA – Enzima conversora da Angiotensina

ECr – Exercício físico e creatina

Ef – Exercício físico

ERK – Extracellular signal-regulated kinase

G-6-P – Glicose – 6 - fosfato

GLUT-2 –Transportador de glicose tipo 2

GLUT-4 – Transportador de glicose tipo 4

HDL – Lipoproteína de Alta Densidade

IR – Receptor de insulina

IRS – Substratos do receptores de insulina

LDL – Lipoproteína de Baixa Densidade

M1 – Momento 1

M2 – Momento 2

M3 – Momento 3

M4 – Momento 4

MC – Massa corporal

MCF – Massa corporal final

MLSS – Máxima fase estável de lactato

PI3K – fosfatidilinositol-3-kinase

RPM – Rotações por minuto

SRA – Sistema Renina Angiotensina

TTG – Teste de tolerância à glicose

TTI – Teste de tolerância à insulina

UFMS – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

UNESP – Universidade Estadual de São Paulo

UTASP – Laboratório de físico-química da unidade de tecnologia de alimentos e saúde pública

VD – Ventrículo direito

VE – Ventrículo esquerdo

Vel Máx – Velocidade máxima

VLDL – Lipoproteína de muito baixa densidade

SUMÁRIO

RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	13
1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	16
3. OBJETIVOS.....	21
3.1. Objetivo geral.....	21
3.2. Objetivos específicos.....	21
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
4.1. Protocolo de experimentação.....	22
4.2. Teste de esforço.....	23
4.3. Protocolo de exercício físico.....	23
4.4. Avaliação do metabolismo glicêmico.....	23
4.5. Eutanásia dos animais e coleta de tecidos.....	24
4.6. Perfil bioquímico.....	25
4.7. Análise histológica do coração.....	25
4.8. Procedimentos de análise estatística.....	25
5. RESULTADOS.....	26
6. DISCUSSÃO.....	36
7. CONCLUSÃO.....	42
REFERÊNCIAS	43
APÊNDICES.....	51

RESUMO

INTRODUÇÃO: Há evidências que a suplementação com creatina pode promover resistência à insulina, condição que configura fator de risco para doenças cardiovasculares e está associada à remodelação cardíaca. Sabe-se que o exercício aeróbio intervalado de alta intensidade melhora a tolerância à glicose e promove alterações cardíacas. **OBJETIVOS:** Avaliar a influência da combinação entre suplementação com creatina e exercício físico intervalado de alta intensidade sobre o metabolismo glicêmico e indicadores morfológicos de remodelação cardíaca em ratos. **MÉTODOS:** Ratos Wistar machos (n=60) foram distribuídos em quatro grupos: controle (C), creatina (Cr), exercício físico (Ef) e exercício físico + creatina (ECr). O grupo C e Ef foram tratados com dieta comercial padrão e os animais do grupo Cr e ECr receberam ração + de 2% de creatina. Os animais Ef e ECr foram submetidos a protocolo de exercício físico intervalado de alta intensidade, 5x na semana, por 12 semanas. Ao final do experimento, foram analisados o comportamento nutricional e murinométrico, capacidade funcional, tolerância à glicose e insulina, perfil bioquímico sérico, morfologia cardíaca macroscópica e microscópica do ventrículo esquerdo. Para as análises de tolerância à glicose e insulina, foi utilizado o ANOVA duas vias no modelo de medidas repetidas e correção de Bonferroni. Para as demais variáveis foi utilizado ANOVA de duas vias com *post hoc* de Tukey. **RESULTADOS:** Na avaliação da capacidade funcional, os ratos submetidos ao exercício apresentaram maior tolerância ao esforço que os respectivos controles. A área sob a curva de tolerância à glicose foi menor em Ef e ECr que em C e Cr, respectivamente. Já a área sob a curva de tolerância à insulina foi menor em Ef que em C e ECr. A massa dos átrios e a razão massa dos átrios/massa corporal foram maiores em ECr que em Ef. Adicionalmente, massa dos átrios/massa corporal foi maior em Cr que em C. A razão massa total do coração/massa corporal foi maior em ECr que em Cr e Ef. A massa do ventrículo esquerdo (VE) e direito (VD) foram semelhantes entre os grupos. A área seccional transversa dos cardiomiócitos (C: 227 ± 26 ; Cr: 216 ± 22 ; Ef: 284 ± 27 ; ECr: $297 \pm 7 \mu\text{m}^2$) e a fração intersticial de colágeno do VE (C: $1,96 \pm 1,79$; Cr: $1,98 \pm 1,28$; Ef: $2,36 \pm 2,0$; ECr: $2,49 \pm 1,8\%$) foram maiores nos grupo Ef e ECr que em C e Cr, respectivamente. **CONCLUSÃO:** No contexto metabólico, o exercício físico intervalado de alta intensidade melhora a tolerância à glicemia e à insulina, porém a suplementação com creatina reduz a tolerância à insulina nos ratos exercitados. Já no contexto da remodelação cardíaca, o exercício físico intervalado de alta intensidade promove hipertrofia de cardiomiócitos e fibrose intersticial no miocárdio de ratos, sem efeito significativo da suplementação com creatina.

Palavras-chave: creatina; exercício intervalado de alta intensidade; remodelação cardíaca.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Some studies have shown that creatine supplementation may lead to hyperinsulinemia and / or hyperglycemia. This, in turn, constitutes a risk factor for cardiovascular diseases. **OBJECTIVES:** To evaluate the influence of the combination between creatine supplementation and interval exercise on glycemic metabolism and morphological indicators of cardiac remodeling in rats. **METHODS:** Male Wistar rats (n = 60) were divided into four groups: control (C), creatine (Cr), physical exercise (Ep) and exercise + creatine (ECr). Group C and Ep were treated with standard commercial diet and the animals of the Cr and ECr groups received chow + 2% of creatine. The animals Ep and ECr were submitted to high intensity interval exercise protocol, 5x per week, for 12 weeks. At the end of the experiment, nutritional and murinometric behavior, functional capacity, glucose and insulin tolerance, serum biochemical profile, macroscopic and microscopic left ventricular cardiac morphology were analyzed. Two-way ANOVA was used for the glycemic tolerance analysis in the Bonferroni model of repeated measurements and multiple comparisons. For the other variables, two-way ANOVA with post hoc of Tukey was applied. **RESULTS:** In the evaluation of functional capacity, the rats submitted to the exercise presented greater tolerance to the effort. The area under the glucose tolerance curve was lower in Ep and ECr than in C and Cr, respectively. On the other hand, the area under the insulin tolerance curve was lower in Ep than in C and ECr. The mass of the atria and the mass ratio of the atria / body mass were higher in ECr than in Ep. In addition, atrial mass / body mass was higher in Cr than in C. The total body / body mass ratio was higher in ECr than in Cr and Ep. The left ventricular (LV) and right ventricular mass (RV) were similar between the groups. The cross sectional area of the cardiomyocytes (C: 227 ± 26 , Cr: 216 ± 22 , Ep: 284 ± 27 , ECr: $297 \pm 7 \mu\text{m}^2$) and the interstitial fraction of LV collagen (C: 1.96 ± 1.79 , Cr: 1.98 ± 1.28 , Ep: 2.36 ± 2.0 , ECr: $2.49 \pm 1.8\%$) were higher in the Ep and ECr groups than in C and Cr, respectively. **CONCLUSION:** In the metabolic context, high intensity interval physical exercise improves glycemic and insulinemic tolerance, but creatine supplementation reduces insulin tolerance in exercised rats. Already in the context of cardiac remodeling, high intensity interval physical exercise promotes cardiomyocyte hypertrophy and interstitial fibrosis in the myocardium of rats, without significant effect of creatine supplementation.

Keywords: creatine; high intensity interval exercise; cardiac remodeling.

INTRODUÇÃO

O comércio de suplementos nutricionais vem crescendo e atraindo muitos praticantes de atividade física com o propósito de melhorar o rendimento desportivo (TARNOPOLSKY *et al.*, 2005). Diante da ampla gama de suplementos nutricionais disponíveis no mercado, a creatina destaca-se como um dos mais utilizados (TERJUNG *et al.*, 2000; WILLIAMS *et al.*, 2000; WYSS; KADDURAH-DAOUK, 2000).

A creatina é uma amina nitrogenada, quimicamente conhecida como ácido acético α -metilguanidina, formada naturalmente pelo fígado e pelos rins a partir dos aminoácidos glicina, arginina e metionina (BEMBEN; LAMONT, 2005; GUALANO *et al.*, 2008). Em humanos, aproximadamente 95% da creatina é armazenada no tecido muscular, enquanto o restante é encontrado no coração, cérebro, pulmões, testículos, fígado e rins (SOUZA *et al.*, 2006). Desempenha papel fundamental no metabolismo energético, principalmente em tecidos que necessitam de grande oferta de energia, como o músculo estriado cardíaco (WYSS; KADDURAH-DAOUK, 2000). Quando é utilizada como suplemento alimentar, ocorre aumento da creatina e consequentemente de fosfocreatina no músculo cardíaco (IPSIROGLU *et al.*, 2001).

Além disso, alguns estudos demonstraram que a suplementação com creatina é capaz de conduzir ao estado de hiperinsulinemia e/ ou hiperglicemia em ratos (ROONEY *et al.*, 2002; COSTALLAT *et al.*, 2007; NICASTRO *et al.*, 2012). Entretanto outros estudos apontam que a suplementação com creatina não interfere no metabolismo glicêmico (NEWMAN *et al.*, 2002) ou até melhora a tolerância glicêmica (GUALANO *et al.*, 2008; GUALANO *et al.*, 2010).

Por sua vez, o quadro de hiperinsulinemia pode conduzir a resistência à insulina, que é caracterizada pela incapacidade dos tecidos alvo de responderem normalmente às concentrações circulantes desse hormônio, com consequente redução da captação de glicose (CASTRO *et al.*, 2013). Sabe-se que a resistência à insulina está associada ao aumento do risco cardiovascular e ao desenvolvimento de remodelação cardíaca (OLIVEIRA *et al.*, 2014). Definida como processo adaptativo do miocárdio voltado à manutenção do desempenho funcional frente a agressões, a remodelação cardíaca integra alterações moleculares, celulares e intersticiais, que se manifestam em modificações na forma, tamanho e função do coração (COHN, 2000). Nesse sentido, a insulina destaca-se dentre os vários fatores

que envolvem o processo de remodelação cardíaca, por ser um hormônio cuja ação principal no miocárdio envolve a regulação do de macro e micronutrientes, mas também por estar envolvida no crescimento e diferenciação celular (BERTRAND *et al.*, 2008). No entanto, é importante destacar que não foram encontrados estudos que investigaram a influência da suplementação com creatina sobre metabolismo glicêmico e indicadores de remodelação cardíaca.

Por outro lado, há evidências que a prática regular de exercício físico é capaz de melhorar a tolerância à glicose (AOI *et al.*, 2011). Dentre os diferentes métodos, o exercício intervalado tem sido bastante difundido como medida de promoção de saúde e prevenção de diferentes doenças metabólicas e cardiovasculares (MOREIRA *et al.*, 2013). A corrida em esteira rolante com protocolo intervalado é uma atividade realizada de forma intermitente, com períodos de exercício intercalados com períodos de recuperação passiva ou ativa (BILLAT, 2001; GUIRAUD *et al.*, 2012; MEYER *et al.*, 2013). A intensidade prescrita é normalmente igual ou acima do limiar anaeróbio, isto é, envolve períodos de exercício em alta intensidade alternando com períodos de intensidade inferiores (WISLOFF *et al.*, 2007). Estudos mostram que o exercício intervalado de alta intensidade está relacionado com a melhora da capacidade aeróbia, metabolismo glicêmico e com a redução do risco cardiovascular (HARAM *et al.*, 2009; MOREIRA *et al.*, 2013).

Além dos efeitos metabólicos, em estudos experimentais, o exercício intervalado de alta intensidade promoveu alterações morfológicas no coração, como aumento do comprimento, largura e volume dos cardiomiócitos, além de aumento das massas ventricular esquerda e direita (KEMI *et al.*, 2002; KEMI *et al.*, 2004; STROM *et al.*, 2005; KEMI *et al.*, 2007).

Assim, no presente estudo, levantamos a hipótese de que a suplementação com creatina acarreta distúrbios de metabolismo glicêmico no meio sistêmico e remodelação cardíaca em ratos. Além disso, é possível aventar a hipótese adicional de que a intolerância à glicose decorrente da suplementação com creatina pode ser atenuada pela prática de exercício físico intervalado de alta intensidade. No contexto cardíaco, presume-se que a suplementação com creatina potencialize a remodelação cardíaca proveniente do exercício intervalado de alta intensidade.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A creatina, ou ácido-metil-guanidino é um composto orgânico de guanidina, que está diretamente relacionado com o sistema de energia muscular (GUALANO *et al.*, 2008). É sintetizada no organismo humano pelo pâncreas, rins e fígado a partir de três aminoácidos, a glicina, a arginina e a metionina e também obtida por meio de alimentos ingeridos na dieta (KREIDER, 2003). Com uma dieta onívora normal, com ingestão proteica de aproximadamente 1 a 2g/kg/dia do peso corporal, é possível obter de 0,25 a 1g/dia de creatina diariamente (WILLIAMS *et al.*, 2000). Depois de produzida ou ingerida, a creatina é disponibilizada na corrente sanguínea para ser utilizado em grande parte pelo músculo esquelético e também pelo cérebro, músculo cardíaco e testículos (FONTANA *et al.*, 2003; REZENDE, 2003).

O uso de creatina como suplemento proporciona o aumento da concentração de creatina fosfato intramuscular, causando também uma grande hidratação celular. Além disso, cria-se um ambiente adequado para síntese proteica, desfavorecendo a proteólise, culminando em maior volume de massa muscular em indivíduos suplementados (TERJUNG *et al.*, 2000; SLATER; JENKINS, 2000).

Segundo Carvalho *et al.* (2003), a creatina tem sido destacada como suplemento nutricional de melhor eficácia no aumento da performance de atletas em exercício de alta intensidade. Devido aos bons resultados e aos benefícios relacionados à creatina, o uso deste suplemento tornou-se popular e seu consumo uma prática comum entre profissionais e atletas que buscam uma melhora no desempenho do treinamento, uma vez que o mesmo não é considerado *doping* (HERNANDEZ, NAHAS, 2009; HUNGER *et al.*, 2010).

Muitos tecidos não produzem creatina, desta forma, para realizar o transporte do meio extracelular para dentro das células, estes tecidos dependem de um transportador de membrana específico, o transportador de creatina (CreaT), que é membro da família de transportadores de neurotransmissores dependentes de Na⁺/Cl⁻ (LONGO *et al.*, 2011). 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 70 kDa, e podem ser encontradas junto à isoforma $\alpha 1$ da

Na⁺/K⁺ ATPase e à enzima citrato sintase, situadas na membrana plasmática e na membrana mitocondrial, respectivamente (SNOW; MURPHY *et al.*, 2001).

Durante períodos de alta demanda energética, a fosfocreatina doa o fosfato (P) presente em sua estrutura para a adenosina difosfato (ADP), a fim de que ocorra maior ressíntese de adenosina trifosfato (ATP) (D'ANTONA *et al.*, 2014). A quantidade de creatina dentro das células e a quantidade de CreaT apresentam relação direta com a atividade da enzima creatina quinase e, portanto, com o índice de refosforilação do ADP e produção de ATP. Assim, o CreaT desempenha importante papel na manutenção da quantidade de energia adequada para as células (WYSS; KADDURAH-DAOUK, 2000).

Embora na literatura esteja bem documentado seus efeitos ergogênicos nos mais diversos tecidos (GUALANO *et al.*, 2008), com destaque para o músculo estriado esquelético (GUALANO *et al.*, 2010), alguns estudos verificaram que a suplementação com creatina pode modular o metabolismo glicêmico e insulinêmico (ROONEY *et al.*, 2002; COSTALLAT *et al.*, 2007; NICASTRO *et al.*, 2012). Sabe-se que a creatina possui em sua composição química o aminoácido arginina, um potente indutor de secreção de insulina. A liberação de insulina por este meio inicia-se com o transporte deste aminoácido para dentro das células β pancreáticas, o que ocasiona a despolarização da membrana e abertura de canais de cálcio voltagem-dependentes, com consequente elevação na concentração intracelular deste íon e subsequente estimulação da secreção de insulina (SENER, 2000).

Alguns estudos experimentais mostraram que a suplementação com creatina durante 1, 4 e 8 semanas em ratos foi capaz de promover hiperinsulinemia e hiperglicemia em nível sistêmico (ROONEY *et al.*, 2002; COSTALLAT, *et al.*, 2007; NICASTRO *et al.*, 2012). Em contrapartida, outros estudos, não encontraram alterações na homeostase glicêmica em roedores (FREIRE *et al.*, 2008; JÚNIOR *et al.*, 2014). Portanto, é evidente que a influência da suplementação de creatina no metabolismo glicêmico ainda não está bem esclarecida.

Quando mantidas por períodos prolongados, a hiperinsulinemia e a hiperglicemia podem relacionar-se ao desenvolvimento de resistência à insulina, condição genética ou adquirida definida como a incapacidade dos tecidos alvo da insulina responderem normalmente às concentrações circulantes desse hormônio,

diminuindo a captação de glicose (PESSIN; SALTIEL, 2000; KAHN *et al.*, 2006). Em razão desta menor captação de glicose, as células β pancreáticas aumentam sua capacidade secretória para manutenção da glicemia, acarretando hiperinsulinemia (PESSIN; SALTIEL, 2000; KAHN *et al.*, 2006).

A resistência à insulina pode estar relacionada a alterações no receptor deste hormônio e nas vias de sinalização por ele ativadas (GRATAS-DELMARCHE, 2014). O receptor de insulina pode ser fosforilado em diferentes resíduos de aminoácidos, como tirosina e serina/treonina. Por meio destes recrutamentos moleculares distintos, ocorre a estimulação, respectivamente, de dois importantes eixos moleculares: IRS/ PI3K/ Akt e Shc/ Ras/ ERK (BERTRAND *et al.*, 2008).

No miocárdio, a cascata de ativação para a captação de glicose consiste na ligação da molécula de insulina a seu receptor específico de membrana (IR), por conseguinte na ativação de proteínas chaves como os membros da família de substratos receptores de insulina (IRS), fosfatidilinositol-3-quinase (PI3K), proteína quinase B (AKT) e por fim o transportador de glicose tipo 4 (GLUT4) (BERTRAND *et al.*, 2008).

No eixo das respostas proliferativas, a via sinalizadora responsável pela síntese de proteínas e crescimento celular são relacionadas às proteínas do eixo Shc/Ras/ERK (BERTRAND *et al.*, 2008). Recentes evidências têm mostrado que a resistência insulinêmica configura um processo heterogêneo, com inibição do eixo IRS/PI3-K/Akt, e consequentemente o aumento de efeitos ativados pela cascata Shc/Ras/ERK (GUAL *et al.*, 2005; CHOI *et al.*, 2010). Fatores que provocam resistência à insulina, como aumento de ácidos graxos livres e hiperinsulinemia, promovem fosforilação em serina/treonina (SYKIOTIS; PAPAVALASSILIOU, 2001). Assim, a redução da ativação da via IRS/PI3K/Akt e a predominância da via Shc/Ras/ERK, em situação de resistência à insulina e hiperinsulinemia, são consideradas como eventos fundamentais para o desenvolvimento da remodelação cardíaca (GARCIA; INCERPI, 2008).

Alterações moleculares, celulares e intersticiais, que se manifestam em modificações na forma, tamanho e função do coração caracterizam a remodelação cardíaca, descrita como um processo adaptativo do miocárdio voltado à manutenção do desempenho funcional frente a sobrecargas mecânicas pressóricas ou

volumétricas (COHN, 2000). Mais especificamente, na remodelação cardíaca ocorrem modificações na expressão e composição de proteínas contráteis, alterações do metabolismo energético cardíaco (ROUX; BLENIS, 2004) e respostas morfológicas, como hipertrofia de cardiomiócitos e fibrose intersticial miocárdica (SWYNGHEDAUW, 2006; BARRY *et al.*, 2008; PALOMEQUE *et al.*, 2009). Assim, dentre os vários fatores que envolvem o processo de remodelação cardíaca, a insulina destaca-se por ser um hormônio cuja ação principal envolve a regulação do metabolismo glicêmico, pela ativação da via IRS/PI3K/Akt, mas também por estar envolvida no crescimento e diferenciação celular, por meio da via Shc/Ras/ERK (BERTRAND *et al.*, 2008). No entanto, é importante destacar que não foram encontrados estudos que investigaram a influência da suplementação com creatina sobre metabolismo glicêmico e indicadores de remodelação cardíaca.

Por outro lado, há evidências de que prática de exercício físico pode modular o metabolismo glicêmico. O exercício físico regular estimula a síntese e translocação de transportadores de glicose GLUT-4 no tecido adiposo, músculo esquelético e músculo cardíaco, aumentando a captação e o metabolismo da glicose pelo músculo, mesmo na ausência e/ou deficiência da ação da insulina (PÁDUA *et al.*, 2008; BORDENAVE *et al.*, 2012).

Dentre os diversos protocolos de exercício encontrados na literatura, exercício intervalado de alta intensidade tem ganhado destaque por reduzir o risco cardiovascular (TJØNNA *et al.*, 2009).

O treinamento intervalado de alta intensidade é caracterizado por repetidas séries (curtas ou longas) de exercícios de alta intensidade, intercaladas com períodos de recuperação ativa ou passiva (BILLAT, 2001; GIBALA *et al.*, 2006). Pode ser caracterizado por ativar altas taxas do metabolismo anaeróbio, com intensidades entre 130 a 160% do $VO_{2máx}$, com duração entre 10 a 15 segundos de estímulo, e intervalos de 15 a 40 segundos (BILLAT, 2001; GIBALA *et al.*, 2006). E em treinamento de curta duração, com estímulos de até um minuto e com intensidades entre 100 a 112%; de média duração, com estímulos entre um e oito minutos e intensidades variando de 90 a 100% do VO_{2max} ; e de longa duração, com velocidades entre a máxima fase estável de lactato (MLSS) e o VO_{2max} , com sessões maiores que oito minutos.

Jorge *et al.* (2011) demonstraram que a prática de exercício físico é capaz de melhorar significativamente a sensibilidade à insulina. Da mesma forma, Donnelly *et al.* (2009) também observaram melhora na sensibilidade à insulina após 18 meses de protocolo de treinamento intervalado em mulheres obesas. Haram *et al.* (2009) verificaram que o exercício intervalado de alta intensidade provoca aumento da capacidade aeróbia, melhora do metabolismo glicêmico, a lipogênese e a melhora do perfil de risco cardiovascular em ratos com síndrome metabólica.

Ademais, o treinamento intervalado de alta intensidade intensifica a biogênese mitocondrial, estimula a atividade de enzimas oxidativas, aumenta a expressão de GLUT-4 e a sensibilidade à insulina nos músculos esqueléticos e no miocárdio (GIBALA *et al.*, 2006; BURGOMASTER *et al.*, 2006; 2008; LITTLE *et al.*, 2010).

Além dos efeitos metabólicos, o exercício intervalado de alta intensidade promove alterações morfológicas no coração. Alguns estudos mostram que protocolos de exercício de alta intensidade em esteira rolante com inclinação de 25° provocam aumento do comprimento, largura e volume da célula, além de aumento das massas ventricular esquerda e direita em protocolos desenvolvidos durante 8 (KEMI *et al.*, 2002; KEMI *et al.*, 2008) e 10 semanas (KEMI *et al.*, 2004).

Apesar de haver na literatura diversos trabalhos avaliando a suplementação com creatina e o exercício aeróbio de alta intensidade separadamente, não foram encontrados estudos avaliando a influência da associação destes dois fatores sobre o metabolismo glicêmico e indicadores de remodelação cardíaca.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a influência da associação entre suplementação com creatina e exercício físico intervalado de alta intensidade sobre o metabolismo glicêmico e indicadores morfológicos de remodelação cardíaca em ratos.

3.2 Objetivos Específicos

- 1) Analisar a influência da suplementação com creatina e da prática de exercício físico intervalado de alta intensidade sobre a tolerância ao esforço em ratos;
- 2) Descrever o comportamento da tolerância glicêmica e insulinêmica e o perfil lipidêmico em ratos submetidos a suplementação com creatina e prática do exercício físico intervalado de alta intensidade;
- 3) Quantificar a fração intersticial de colágeno e mensurar a área seccional dos cardiomiócitos do ventrículo esquerdo de ratos submetidos à combinação entre suplementação com creatina e exercício físico intervalado de alta intensidade.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Protocolo de experimentação

Foram utilizados ratos Wistar machos (n=60), com 60 dias de idade, peso corporal entre 222 e 293 g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas de polipropileno, com tampas de arame cromado, forradas com maravalha autoclavada, sendo três ratos por caixa, com temperatura ambiente ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), umidade controlada ($55 \pm 5\%$), com ciclos invertidos de luminosidade de 12 horas.

O período experimental teve duração de 12 semanas. Os animais foram distribuídos em quatro grupos, com 15 ratos em cada: Controle (C), Creatina (Cr), Exercício Físico (Ef) e Exercício Físico e Creatina (ECr). Os grupos C e Ef receberam ração comercial padrão (Nuvilab[®], Brasil) enquanto os animais dos grupos Cr e ECr receberam a ração comercial padrão com a suplementação de 2% de creatina (ROONEY *et al.*, 2002; JU *et al.*, 2005; FREIRE *et al.*, 2008; DEMINICE *et al.*, 2009). Os animais dos grupos Ef e ECr foram submetidos a protocolo de exercício aeróbico intervalado de alta intensidade em esteira rolante. A ingestão alimentar e hídrica foi mensurada diariamente e a massa corporal (MC) uma vez por semana.

As análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Físico-Química da Unidade de Tecnologia de Alimentos e Saúde Pública (UTASP) da UFMS. A ração comercial padrão composta por 57,10% de carboidrato, 21,10% de proteína, 5,43% de lipídeos, 9,28% de umidade e 7,10% de cinzas, com valor calórico de 3,61 kcal/g. Já a ração comercial padrão acrescida de 2% de creatina (massa/massa) era composta por 55,83% de carboidrato, 23,93% de proteínas, 5,46% de lipídeos, 7,96% de umidade e 6,82% de cinzas, com valor calórico de 3,68kcal/g.

Os procedimentos experimentais estiveram de acordo com “*Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*”, publicado pelo “*U. S. National Institutes of Health*”. O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (protocolo nº 724/2015).

Todos os animais utilizados no trabalho foram acondicionados em sacos brancos, destinados para acondicionamento de material com risco biológico, e congelados em freezer a -20 °C. Após o congelamento, foram descartados pelo serviço de coleta de lixo de resíduos biológicos infectados.

4.2. Teste de esforço

Antes do início do protocolo de exercício, todos os animais foram submetidos a um período de adaptação, durante o qual caminhavam na esteira por 10 min à velocidade de 5 m/min, em cinco dias consecutivos.

Para verificar o comportamento da capacidade funcional ao esforço, os animais foram submetidos a teste de esforço máximo, com o propósito de determinar a velocidade máxima (Vel Máx), atingida quando o animal chegasse à exaustão. O teste foi realizado em quatro momentos: início (M1), ao final da 4ª semana (M2), depois da 8ª semana (M3) e ao final do período experimental (M4). O teste foi iniciado com aquecimento de 5 min à velocidade de 5 m/min. Após 1 minuto de recuperação passiva, o animal foi submetido a esforço progressivo, iniciando o teste com a velocidade de 6m/min e incrementos de 3 m/min a cada 3 min e inclinação de 15°. O teste era finalizado quando o animal atingisse a exaustão, a qual foi definida como recusa à corrida, mesmo sob a estimulação física por meio de leve toque no dorso do animal, ou quando a coordenação entre as passadas fosse realizada com dificuldade (MOREIRA *et al.*, 2013).

4.3. Protocolo de exercício físico

Posteriormente, foi iniciado o protocolo composto por cinco sessões de exercício durante 12 semanas, em intensidades intercaladas. Os animais iniciavam a sessão com aquecimento sob intensidade de 40% da velocidade máxima alcançada no teste de esforço, por 10 min. A seguir, com a esteira a 15° de inclinação, realizavam corrida a 60% da velocidade máxima alcançada no teste de esforço por 3 min, seguidos por 4 min de corrida a 85% da velocidade máxima. Este ciclo era repetido por sete vezes, completando 49 min cada sessão (MOREIRA *et al.*, 2013).

4.4. Avaliação do metabolismo glicêmico *in vivo*

Para caracterização metabólica, foram realizados o teste de tolerância à glicose (TTG) e o teste de tolerância à insulina (TTI).

Ao final do período experimental, os ratos foram mantidos em jejum durante intervalo de 8 a 12 h, para realização do TTG. Após a mensuração da glicemia basal, foi administrada a solução de glicose 20% (Sigma- Aldrich, St Louis, MO, EUA), por via intraperitoneal, em dosagem equivalente a 3g/kg de massa corporal. Em seguida foram realizadas as aferições da glicemia em 15, 30, 60, 90, 120 e 180 min, contados a partir do da administração da glicose. Para a medição, utilizou-se glicosímetro portátil (ACCU-CHEK GO KIT, *Roche Diagnostic Brazil* Ltda, SP, Brasil) (LIMA-LEOPOLDO *et al.*, 2011).

Para realização do TTI, os animais foram mantidos em jejum de 6 a 8 h. Posteriormente à mensuração da glicemia basal, insulina regular (Novolin ®, Novo Nordisk, Bagsvaerd, Denmark) em dosagem equivalente a 1,5 UI/kg foi administrada intraperitonealmente e mensurados os valores de glicemia 5, 10, 15, 20, 25 e 30 min após a aplicação (YUAN *et al.*, 2011).

4.5. Eutanásia dos animais e coleta de tecidos

Ao término do período experimental, os animais foram mantidos em jejum durante 8 a 12 h e submetidos à anestesia intraperitoneal de tiopental (60 mg/kg) (BEZERRA *et al.*, 2000; ROPELLE *et al.*, 2006; COSTALLAT *et al.*, 2007). A seguir, foi mensurado o comprimento nasoanal do animal e realizada a eutanásia por decapitação. O sangue foi coletado e centrifugado em temperatura ambiente a 3000 rpm, por 10 min, para obtenção de soro, o qual foi armazenado a -80 °C. Posteriormente, foi realizada toracotomia mediana para retirada do coração. Os átrios, o ventrículo direito (VD) e o ventrículo esquerdo (VE) foram dissecados e pesados separadamente. As amostras de VE foram pesadas e congeladas em nitrogênio líquido e conservadas a -80 °C. A seguir, foi realizada laparotomia mediana para remoção dos tecidos adiposos brancos dos compartimentos epididimal e retroperitoneal. Fragmentos de pulmão, fígado, átrios e ventrículo direito foram colhidos, mantidos em estufa a 65 °C por 72 h e, posteriormente, usados para calcular a porcentagem de água nos tecidos (OLIVEIRA - JÚNIOR *et al.*, 2014).

Antes do final do experimento, um animal do grupo Cr adoeceu e foi a óbito por causas inconclusivas.

4.6. Perfil bioquímico sérico

A concentração sérica de triglicerídeos, colesterol total e frações (LDL: lipoproteína de baixa densidade, HDL: lipoproteína de alta densidade), proteína total e albumina foi avaliada por método enzimático com kits específicos (Kovalent diagnosis, Kovalent do Brasil Ltda., Rio de Janeiro/RJ). A concentração das frações não-HDL e VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade) foi obtida por meio de cálculos (não-HDL = colesterol total – HDL; VLDL = triglicérides/5) (MOTTA, 2003).

4.7. Análise histológica do coração

Amostras anelares do VE (5-6 mm do ápice) foram coletadas e fixadas em solução de formol tamponado 10% durante 48 h e, logo após, imersas em solução de etanol 70%. O processamento das amostras foi realizado de acordo com método previamente descrito (MATSUBARA *et al.*, 2006; ZORNOFF *et al.*, 2006). As preparações histológicas foram realizadas na Unidade de Pesquisa Experimental da Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP). Cortes histológicos (7 μ m) foram corados com hematoxilina e eosina para avaliação da morfologia geral e para análises morfométricas de cardiomiócitos. Outros cortes de VE foram corados pela técnica de *Picrosirius Red* para quantificação da fração intersticial de colágeno. As imagens foram obtidas por microscópio Leica DM5500B (Wetzlar, Alemanha) acoplado ao sistema Leica Application Suite version 4.0.0 (Heerbrugg, Suíça) de análise de imagens computadorizado.

4.8. Análise estatística

Os resultados foram apresentados em média e desvio padrão. Os gráficos referentes aos valores de glicemia mensurados durante o teste e tolerância à insulina e glicose, foram apresentados em média e erro padrão. O comportamento glicêmico avaliado em diferentes momentos de mensuração durante o TTG e o TTI foi analisado por meio da técnica de análise de variância (ANOVA) para o esquema de dois fatores independentes no modelo de medidas repetidas complementada com o teste de comparações múltiplas de Bonferroni. As demais variáveis de estudo foram analisadas por meio de ANOVA para o esquema de dois fatores complementada com *post hoc* de Tukey. O nível de significância foi de 5%.

5. RESULTADOS

Na tabela 1, estão expressas as variáveis murinométricas. As variáveis massa corporal, índice de adiposidade e massa dos depósitos de gordura epididimal e retroperitoneal foram semelhantes entre grupos. Já o índice de Lee foi menor no grupo ECr que no grupo Ef e não houve diferença significativa para as demais comparações.

Tabela 1. Variáveis murinométricas

Variáveis	Grupos			
	C (n=15)	Cr (n=14)	Ef (n=15)	ECr (n=15)
Massa Corporal Final (g)	400±29	392±27	390±23	376±24
Índice de Lee (g/cm ³)	0,285±0,006	0,283±0,005	0,285±0,005	0,281±0,007#
Adiposidade (%)	3,374±0,642	3,173±0,644	3,108±0,409	3,099±0,557
Gordura Epididimal (g)	8,06±1,41	7,57±1,37	7,76±1,94	6,80±1,33
Gordura Retroperitoneal (g)	5,50±1,86	4,89±1,47	5,80±2,19	4,90±1,25

C: Controle; Cr: Controle + Creatina; Ef: Exercício Físico; ECr: Exercício Físico + Creatina. Valores expressos em média ± desvio padrão. ANOVA de duas vias com *post hoc* de Tukey. # $p < 0,05$ vs. Ef.

Na tabela 2, estão apresentados os dados nutricionais. As variáveis ingestão alimentar total e ingestão calórica total foram menores nos grupos Cr e Ef quando comparados ao grupo C. Estas variáveis também foram menores no grupo ECr quando comparado a EF, porém maiores em ECr do que em Cr. Já a eficiência alimentar total foi maior em Cr que nos grupos C e ECr. A ingestão total de proteína foi menor no grupo Ef que no C e maior no grupo ECr que nos grupos Ef e Cr. A ingestão hídrica foi maior no grupo Ef que em C e maior em Cr e ECr quando comparados a C e Ef, respectivamente.

Tabela 2. Variáveis nutricionais

Variáveis	Grupos			
	C (n=15)	Cr (n=14)	Ef (n=15)	ECr (n=15)
Ingestão Alimentar Total (g)	2009±77	1772±17*	1969±11*	1829±24#‡
Ingestão Calórica Total (Kcal)	7334,5±282,0	6597,8±65,3*	7190,9±42,7*	6809,6±90,3#‡
Eficiência Alimentar Total (%)	1,90±0,23	2,13±0,24*	1,78±0,20	1,73±0,28‡
Ingestão Total de Proteína (g)	423,9±16,2	424,1±4,1	415,6±2,4*	437,8±5,8#‡
Ingestão Hídrica Total (mL)	2808±96	3639±163*	3278±140*	3694±245#

C: Controle; Cr: Controle + Creatina; Ef: Exercício Físico; ECr: Exercício Físico + Creatina. Valores expressos em média ± desvio padrão. ANOVA de duas vias com *post hoc* de Tukey. * $p < 0,05$ vs. C; # $p < 0,05$ vs. Ef; ‡ $p < 0,05$ vs. Cr.

Na tabela 3, estão apresentados os cálculos de área sob as curvas de tolerância à glicose (ASCG) e de tolerância à insulina (ASCI), em valores absolutos (total) e com correção pela glicemia basal. A ASCG total foi menor em Ef e ECr quando comparados a C e Cr, respectivamente. No entanto, ASCG corrigida foi menor apenas em Ef que em C. Já a ASCI total foi menor em Ef que nos grupos C e ECr e a ASCI corrigida foi maior em ECr que em Ef.

Tabela 3. Área sob a curva de tolerância à glicose e à insulina, total e corrigida

Variáveis	Grupos			
	C (n=10)	Cr (n=10)	Ef (n=10)	ECr (n=10)
ASCG (mg /dL)	26982,3±1279,2	25493,2±2158,8	24411,7±2427,4*	23314,5±2960,4‡
ASCI (mg /dL)	2134,7±270,5	2184,7±256,5	1943,2±141,2*	2165,4±125,1#
ASCG Corrigida (mg/dL)	24933,0±1835,9	23292,0±2059,1	22245,0±2172,3*	21137,2±2743,6
ASCI Corrigida (mg/dL)	1878,0±222,7	1942,7±235,6	1716,0±125,7	1872,2±180,5‡

C: Controle; Cr: Controle + Creatina; Ef: Exercício Físico; ECr: Exercício Físico + Creatina. Valores expressos em média ± desvio padrão. ANOVA de duas vias com *post hoc* de Tukey. * $p<0,05$ vs. C; # $p<0,05$ vs. Ef; ‡ $p<0,05$ vs. Cr.

Na tabela 4, estão apresentados os valores referentes à glicemia mensurada durante o teste de tolerância à glicose. Em geral, fixados os grupos, todos apresentaram aumento da glicemia aos 15 min e redução da glicemia a partir dos 60 minutos de teste ($p<0,05$).

Fixado a condição, no momento 30 min, a glicemia foi menor no grupo ECr que em Cr. Nos momentos 15 e 60 min, a glicemia foi menor no grupo Ef que no grupo C. Fixado o tratamento, não houve diferença significativa na comparação entre os grupos C e Cr e entre os grupos Ef e ECr.

Tabela 4. Valores glicêmicos (mg/dL) mensurados durante o teste de tolerância à glicose

	GRUPOS			
	C (n=10)	Cr (n=10)	Ef (n=10)	ECr (n=10)
Basal	92,1±6,8 Aaα	86,4±11,9 Aaα	89,8±6,1 Aaα	93,7±8,0 Aaα
15 (min)	234,9±31,8 BaØ	207,1±30,6 Aa£	199,1±38,4 Aaα£	196,6±43,4 Aa£
30 (min)	226,1±21,1 AaØ	221,7±45,4 Ba£	206,7±23,9 Aa£	187,3±37,4 Aa£
60 (min)	181,9±36,8 Ba£	153,3±14,4 Aaαβ	145,0±19,1 Aaαβ	142,7±39,9 Aaαβ
90 (min)	139,6±17,9 Aaαβ	135,0±12,5 Aaαβ	127,2±19,0 Aaαβ	116,3±20,3 Aaα
120 (min)	125,8±8,2 Aaαβ	116,7±16,2 Aaα	113,0±13,6 Aaα	109,7±9,0 Aaα
180 (min)	92,6±10,3 Aaα	95,0±13,7 Aaα	95,0±8,5 Aaα	91,4±8,4 Aaα

Valores em média ± erro padrão; C: Controle; Cr: Creatina; Ef: Exercício Físico; ECr: Exercício Físico + Creatina. A, B: p<0,05 para comparações entre condição (C x Ef; Cr x ECr); a, b: p<0,05 para comparações entre tratamento (C x Cr; Ef x ECr); α, β, £, Ø: p<0,05 para comparações entre momentos, fixado o grupo. ANOVA de duas vias para o modelo de medidas repetidas complementada com Teste de Bonferroni.

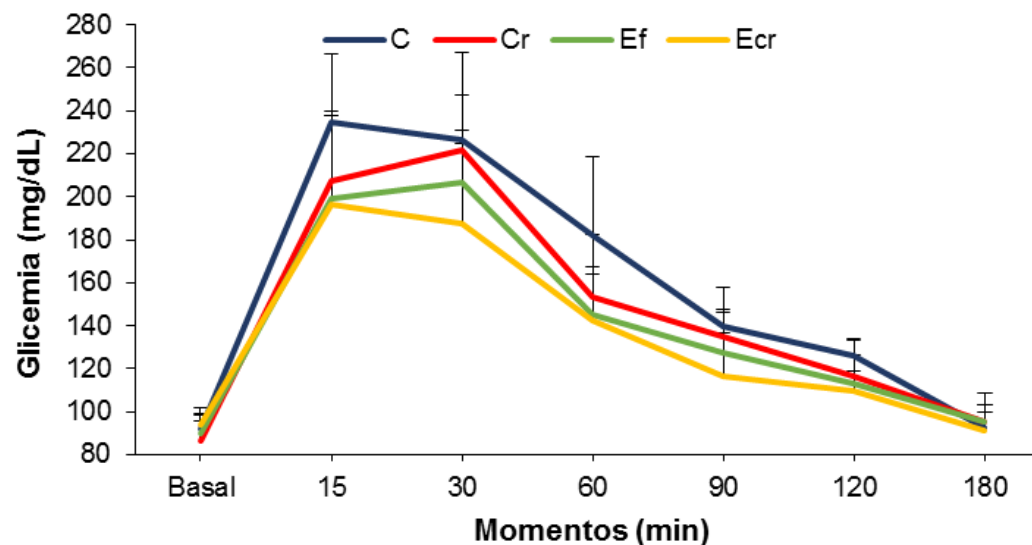


Figura 1. Glicemia mensurada durante o teste de tolerância à glicose. Valores em média ± erro padrão. C: controle; Cr: creatina; Ef: Exercício Físico; ECr: Exercício Físico + Creatina.

Na tabela 5, estão apresentados os valores referentes à glicemia avaliada durante o teste de tolerância à insulina. Fixados os momentos de avaliação, os grupos Cr e ECr apresentaram aumento da glicemia aos 5 minutos de teste. A partir dos 10 minutos, houve redução da glicemia nos grupos C e ECr, mas não em Cr. No grupo Ef, a glicemia manteve-se estável nos momentos 5 e 10 min e apresentou queda a partir do momento 15 min ($p < 0,05$). A partir do momento 20 min, a glicemia estabilizou-se nos grupos C, Ef e ECr. No grupo Cr, a glicemia diminuiu no momento 30 em relação ao momento 20 min.

Fixado a condição, os grupos exercitados (Ef e ECr) apresentaram menores valores glicêmicos que seus respectivos controles (C e Cr) no momento 15 min. Fixada o tratamento, não houve diferença entre os grupos C e Cr. No momento 5 min, a glicemia foi maior no grupo ECr que no grupo Ef.

Tabela 5. Valores glicêmicos (mg/dL) mensurados durante o teste de tolerância à insulina

Momentos	GRUPOS			
	C (n=10)	Cr (n=10)	Ef (n=10)	Ecr (n=10)
Basal	90,8±7,5 Aa£Ø	87,1±5,4 AaØ	86,7±3,3 Aa£	90,0±6,2 Aa£
5 (min)	94,5±8,8 AaØ	98,8±17,5 Aaλ	84,5±8,2 Aa£	105,0±10,4 AbØ
10 (min)	83,6±11,8 Aa£	88,8±15,8 AaØλ	80,4±9,4 Aa£	84,0±12,3 Aa£
15 (min)	68,5±9,4 Baß	70,6±12,0 Ba£	57,8±8,1 Aaß	60,3±13,4 Aaß
20 (min)	56,3±10,7 Aaα	60,3±6,7 Aaß	53,2±6,7 Aaαß	53,5±8,5 Aaαß
25 (min)	54,2±13,4 Aaα	53,0±7,0 Aaαß	47,6±4,3 Aaα	52,9±5,3 Aaαß
30 (min)	48,9±8,8 Aaα	43,8±4,9 Aaα	43,6±4,9 Aaα	46,5±6,4 Aaα

Valores em média ± erro padrão; C: Controle; Cr: Creatina; Ef: Exercício Físico; ECr: Exercício Físico + Creatina. A, B: p<0,05 para comparações entre condição (C x Ef; Cr x ECr); a, b: p<0,05 para comparações entre tratamento (C x Cr; Ef x ECr). α, β, £, Ø, λ: p<0,05 para comparações entre momentos, fixado o grupo. ANOVA de duas vias para o modelo de medidas repetidas complementada com Teste de Bonferroni.

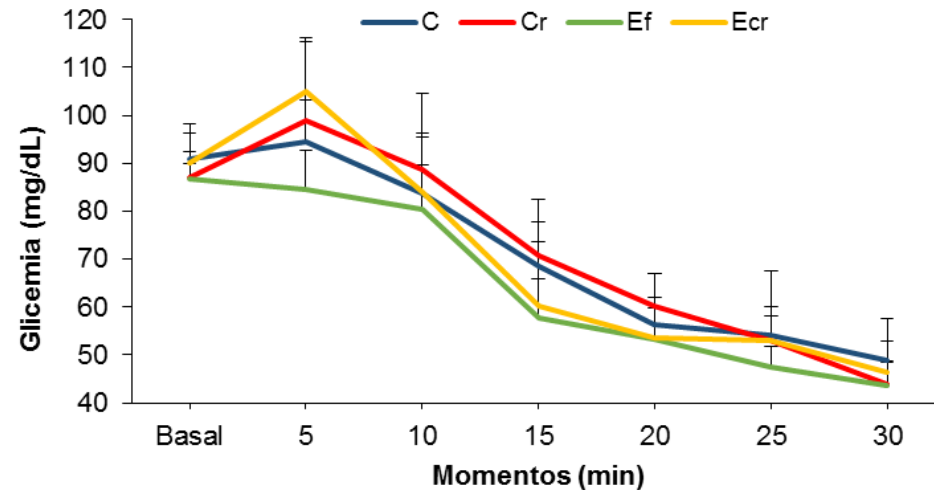


Figura 2. Glicemia mensurada durante o teste de tolerância à insulina. Valores em média ± erro padrão. C: controle; Cr: creatina; Ef: Exercício Físico; ECr: Exercício Físico + Creatina.

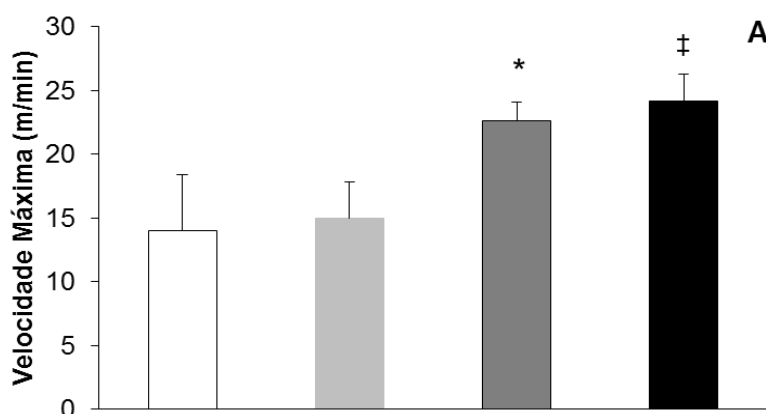
Na tabela 6, estão apresentados os valores do perfil bioquímico sérico. As variáveis glicose, colesterol, triglicerídeos, LDL, VLDL, não-HDL e albumina não apresentaram diferença estatística entre grupos. Já a variável HDL foi maior no grupo Cr quando comparado ao grupo C e maior em ECr que no grupo Ef. A variável proteína total foi menor no grupo ECr em comparação aos grupos Cr e Ef.

Tabela 6. Perfil bioquímico sérico

Variáveis	Grupos			
	C (n=10)	Cr (n=10)	Ef (n=10)	ECr (n=10)
Glicose (mg/dL)	161,14±18,61	158,50±19,78	152,94±13,81	157,38±24,68
Colesterol (mg/dL)	46,57±11,01	52,97±4,29	51,02±11,32	57,56±10,90
Triglicerídeos (mg/dL)	38,84±20,25	37,45±8,34	42,35±13,43	41,62±9,46
HDL (mg/dL)	22,66±4,10	26,48±2,92*	24,27±3,75	27,38±2,66#
LDL (mg/dL)	16,00±7,61	19,00±3,62	18,15±5,75	21,85±8,36
VLDL (mg/dL)	7,80±4,05	7,40±1,77	8,45±2,69	8,25±1,93
Não-HDL (mg/dL)	23,91±7,88	26,49±3,08	26,74±7,78	30,18±9,16
Proteína Total (g/dL)	6,07±0,16	6,06±0,26	6,16±0,34	5,79±0,17#‡
Albumina (g/dL)	2,78±0,24	2,85±0,10	2,87±0,12	2,73±0,07

C: Controle; Cr: Controle + Creatina; Ef: Exercício Físico; ECr: Exercício Físico + Creatina. Valores expressos em média ± desvio padrão. ANOVA de duas vias com *post hoc* de Tukey. * $p<0,05$ vs. C; # $p<0,05$ vs. Ef; ‡ $p<0,05$ vs. Cr.

Em relação às variáveis obtidas no teste de esforço máximo (figura 1), a velocidade máxima alcançada (C: 14,0±4,4; Cr: 15,0±2,8; Ef: 22,6±1,5; ECr: 24,2±2,1 m/min) e a distância percorrida (C: 127,2±46,1; Cr: 147,2±53,0; Ef: 281,4±37,1; ECr: 322,2±54,1 m) foram maiores nos grupos Ef e ECr quando comparados aos grupos C e Cr, respectivamente.



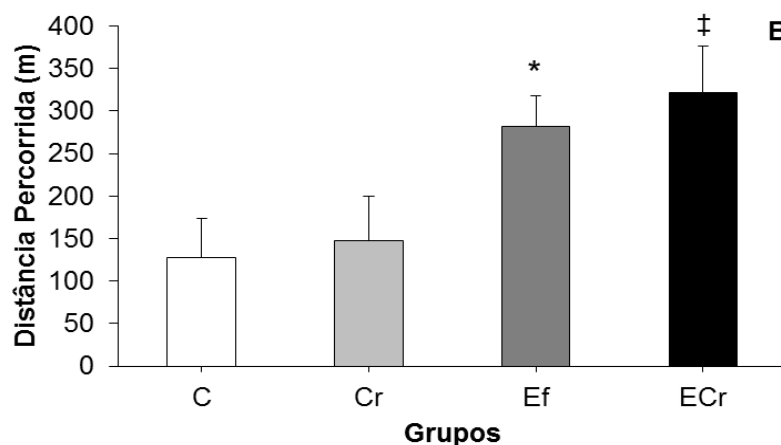


Figura 3. Valores referentes à (A) velocidade máxima (m/min) e (B) distância percorrida (m) atingida no teste de esforço final. C: controle; Cr: creatina; Ef: Exercício Físico; ECr: Exercício Físico + Creatina. Valores expressos em média $\pm$ desvio padrão. ANOVA de duas vias com post hoc de Tukey. * $p < 0,05$ vs. C; ‡ $p < 0,05$ vs. Cr.

Após eutanásia dos animais, foi avaliado o conteúdo relativo de água do coração, dos pulmões e do fígado (tabela 7). Não foram encontradas diferenças significativas entre grupos para estas variáveis.

Tabela 7. Conteúdo relativo de água do tecido cardíaco, pulmão e fígado

Variáveis	Grupos			
	C (n=15)	Cr (n=14)	Ef (n=15)	ECr (n=15)
Átrios (%)	76,74 $\pm$ 4,23	76,11 $\pm$ 3,97	76,05 $\pm$ 2,57	76,70 $\pm$ 4,41
Ventrículo Direito (%)	76,22 $\pm$ 1,22	75,78 $\pm$ 0,90	76,31 $\pm$ 1,00	75,82 $\pm$ 2,17
Ventrículo Esquerdo (%)	75,43 $\pm$ 3,19	74,36 $\pm$ 4,52	74,80 $\pm$ 3,35	74,26 $\pm$ 4,29
Pulmão (%)	79,36 $\pm$ 0,51	79,03 $\pm$ 0,84	79,47 $\pm$ 0,92	79,46 $\pm$ 1,18
Fígado (%)	68,25 $\pm$ 0,72	68,33 $\pm$ 1,84	68,35 $\pm$ 0,70	68,45 $\pm$ 0,77

C: Controle; Cr: Controle + Creatina; Ef: Exercício Físico; ECr: Exercício Físico + Creatina. Valores expressos em média $\pm$ desvio padrão. ANOVA de duas vias.

Na tabela 8, são exibidos os dados de morfologia cardíaca macroscópica. A massa dos átrios em valores absolutos, normalizados pela massa corporal final e pelo comprimento da tíbia foi maior no grupo ECr em relação ao grupo Ef. Adicionalmente, a massa dos átrios normalizada pelo peso corporal foi maior em Cr quando comparada ao grupo C. Já a massa total do coração normalizada pelo peso corporal foi maior no grupo ECr que nos grupos

Cr e Ef. Para as demais variáveis, não houve diferença estatisticamente significativa.

Tabela 8. Morfologia cardíaca macroscópica

Variáveis	Grupos			
	C (n=15)	Cr (n=14)	Ef (n=15)	ECr (n=15)
Átrios (g)	0,06±0,01	0,07±0,01	0,06±0,01	0,07±0,01#
Átrios/MCF (mg/g)	0,16±0,03	0,18±0,03*	0,15±0,03	0,19±0,03#
Átrios/Tíbia (mg/mm)	1,52±0,34	1,75±0,31	1,44±0,30	1,69±0,26#
VD (g)	0,17±0,02	0,18±0,01	0,17±0,01	0,17±0,02
VD/MCF (mg/g)	0,43±0,04	0,46±0,03	0,43±0,03	0,45±0,04
VD/Tíbia (mg/mm)	4,06±0,44	4,28±0,35	4,01±0,31	4,06±0,47
VE (g)	0,48±0,05	0,46±0,06	0,47±0,04	0,49±0,01
VE/MCF (mg/g)	1,20±0,15	1,17±0,12	1,20±0,11	1,30±0,12
VE/Tíbia (mg/mm)	11,39±1,24	10,96±1,41	11,04±1,09	11,57±1,04
Coração (g)	0,72±0,07	0,71±0,07	0,70±0,05	0,73±0,07
COR/MCF (mg/g)	1,80±0,19	1,82±0,12	1,80±0,12	1,95±0,18#‡
COR/Tíbia (mg/mm)	16,98±1,55	16,99±1,52	16,50±1,21	17,33±1,63

C: Controle; Cr: Controle + Creatina; Ef: Exercício Físico; ECr: Exercício Físico + Creatina. Átrios: massa dos átrios; COR: massa do coração; MCF: massa corporal final; Tíbia: comprimento da tíbia; VD: ventrículo direito; VE: massa do ventrículo esquerdo; Valores expressos em média ± desvio padrão. ANOVA de duas vias com *post hoc* de Tukey. * $p<0,05$ vs. C; # $p<0,05$ vs. Ef; ‡ $p<0,05$ vs. Cr.

Em relação à morfologia microscópica do ventrículo esquerdo (figuras 4, 5 e 6), a área seccional transversa dos cardiomiócitos foi mensurada em cortes histológicos corado com hematoxilina-eosina e a fração intersticial de colágeno foi avaliada em cortes corados com *Picrosirius red*. A área seccional (C: 227±26; Cr: 216±22; Ef: 284±27; ECr: 297±7 μm^2) e a fração intersticial de colágeno (C: 1,96±1,79; Cr: 1,98±1,28; Ef: 2,36±2,0; ECr: 2,49±1,8 %) foram maiores no grupo Ef que no C e maiores também no grupo ECr que no Ef (figura 4).

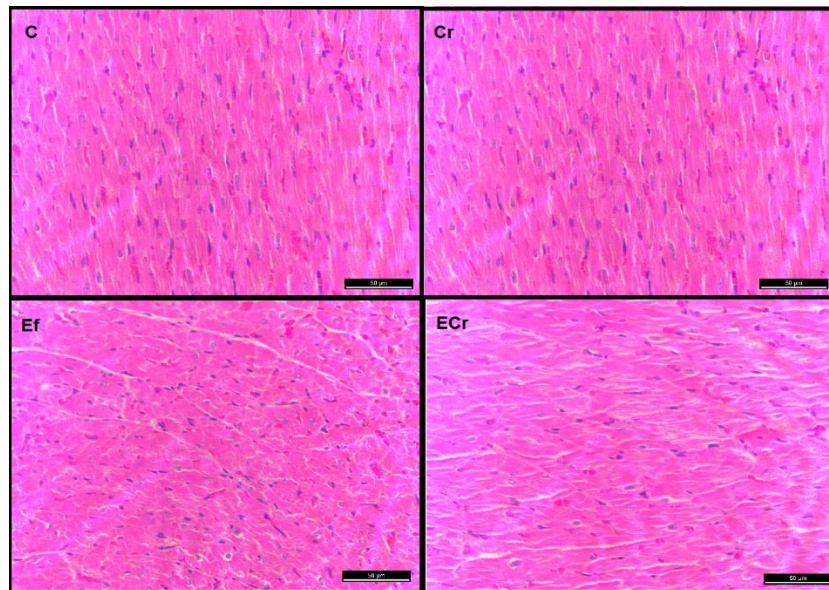


Figura 4. Cortes histológicos transversais do músculo cardíaco corados com hematoxilina-eosina. Aumento de 400x. C: Controle; Cr: Creatina; Ef: Exercício Físico; ECr: Exercício Físico e Creatina.

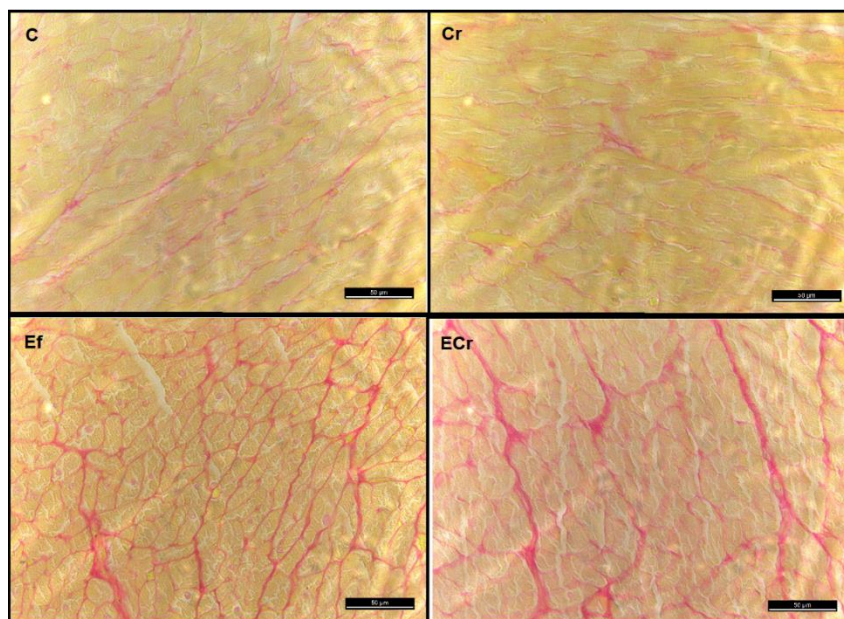


Figura 5. Cortes histológicos transversais do músculo cardíaco corados com *Picrosirius red*. Aumento de 400x. C: Controle; Cr: Creatina; Ef: Exercício Físico; ECr: Exercício Físico e Creatina.

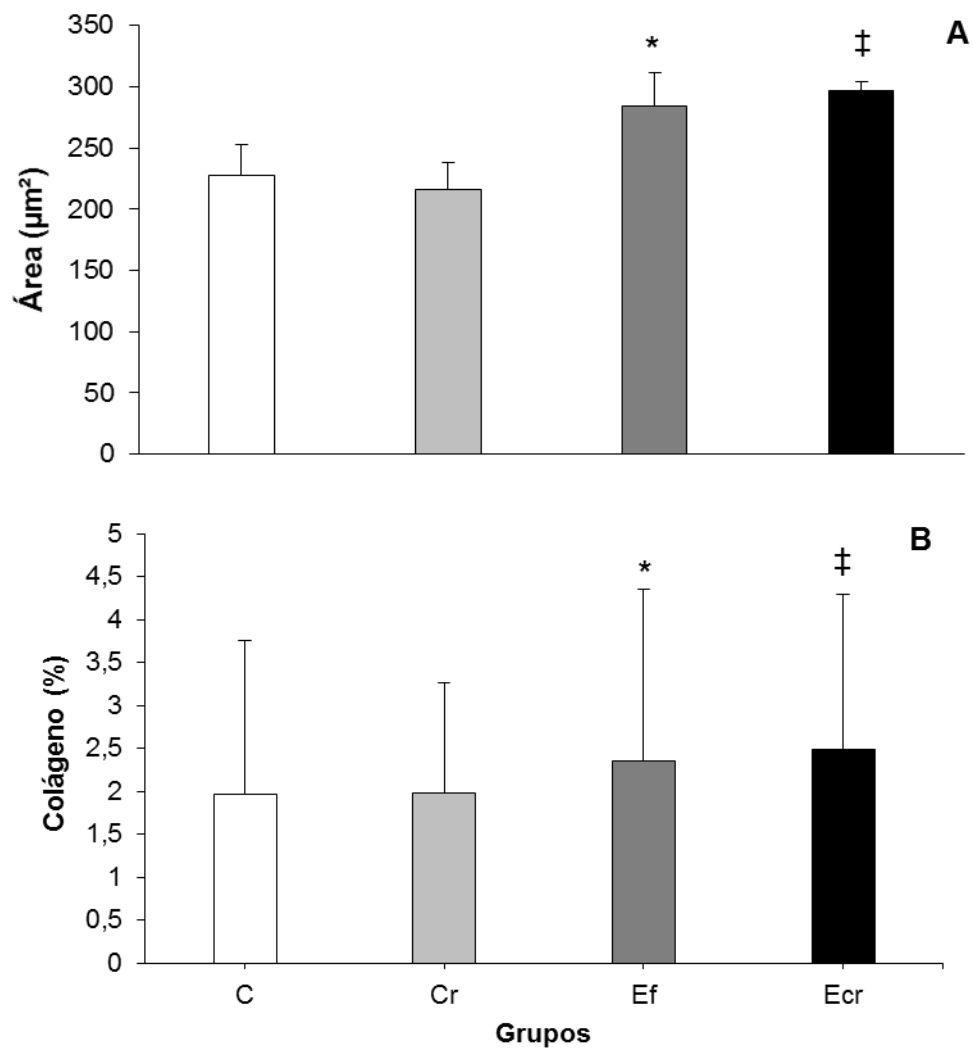


Figura 6. Valores referentes à (A) área seccional transversa dos cardiomiócitos e à (B) fração intersticial de colágeno no miocárdio. C: controle; Cr: creatina; Ef: Exercício Físico; ECr: Exercício Físico + Creatina. Valores expressos em média $\pm$ desvio padrão. ANOVA de duas vias com *post hoc* de Tukey. * $p < 0,05$ vs. C; ‡ $p < 0,05$ vs. Cr.

6. DISCUSSÃO

No presente trabalho, avaliamos a influência da associação entre suplementação com creatina e exercício intervalado de alta intensidade sobre metabolismo glicêmico e indicadores morfológicos de remodelação cardíaca em ratos. Verificamos que a creatina, de forma isolada, não promoveu distúrbios do metabolismo glicêmico, nem alterações morfológicas no miocárdio. No entanto, quando associada ao exercício, pode atenuar os efeitos benéficos do exercício em relação à tolerância à insulina. Além disso, o exercício aeróbico intervalado de alta intensidade promoveu alterações morfológicas no músculo cardíaco.

Levando-se em consideração o comportamento murinométrico, verificamos que a suplementação com creatina associada ao exercício aeróbico intervalado de alta intensidade promoveu reduções nos valores do índice de Lee somente quando comparado ao grupo exercitado. De acordo com alguns estudos, a alteração da massa corporal em razão da suplementação de creatina tem mostrado efeitos contraditórios. Souza *et al.*, (2006) suplementou ratos durante oito semanas com creatina e observou que o desenvolvimento ponderal apresentou as mesmas diferenças no decorrer de uma, quatro e oito semanas e que nos grupos que tomaram creatina a massa corporal foi superior aos controles. Já outros estudos não detectaram diferença significativa na massa corporal de ratos após duas (VIEIRA *et al.*, 2008), quatro e oito semanas de suplementação com creatina (FREIRE *et al.*, 2008).

Em relação às variáveis nutricionais, os grupos tratados com creatina apresentaram menores valores de ingestão alimentar total e ingestão calórica total, o que pode ser justificado pelo maior conteúdo de proteína na composição da dieta. A ingestão de proteínas, em geral, influencia a sensação de saciedade, possivelmente por promover a liberação de hormônios inibidores de apetite pelas células intestinais (ESTEVES; ÁVILA; ALMEIDA, 2010). Altas concentrações de aminoácidos no sangue após a digestão das proteínas estimulam a liberação do hormônio colecistocinina, que por sua vez auxilia na liberação do peptídeo YY. Em consequência, ocorre a redução de liberação da grelina, hormônio intestinal responsável por aumentar a sensação de fome, o

que culmina, então, na saciedade e diminuição da ingestão alimentar (BRENNAN *et al.*, 2012). Júnior *et al.* (2014) ao suplementar ratos sedentários com creatina a 13% encontrou resultados similares de ingestão alimentar, onde o grupo suplementado apresentou menor ingestão alimentar.

Além de aumentar a saciedade, a alta ingestão de proteína altera o consumo hídrico, devido ao aumento da produção de corpos cetônicos derivados da oxidação lipídica e dos aminoácidos cetogênicos, os quais provocam o aumento da osmolalidade plasmática e, em consequência, a sensação de sede, levando a maior ingestão de água (INUZUKA-NAKAHARADA, 2008; RIBEIRO *et al.*, 2016). Segundo Araújo *et al.* (2012), a osmolalidade plasmática é o mais potente estímulo indutor de sede, o que explica o aumento do consumo hídrico pelos animais. Corroborando nossos achados, Júnior *et al.* (2014) suplementaram ratos com creatina na concentração de 13% por 10 dias e observaram que os ratos submetidos à suplementação apresentaram maior consumo hídrico.

No contexto metabólico, na análise da área sob a curva do teste de tolerância à glicose, os grupos exercitados apresentaram menores valores quando comparados aos grupos sedentários, indicando melhora da tolerância glicêmica. Porém, na análise da área sob a curva corrigida, apenas o grupo Ef apresentou melhora na tolerância glicêmica na comparação com o grupo C. Araújo *et al.* (2012) verificaram que os ratos suplementados com creatina (13% na fase de pico por 7 dias e 2% na fase de manutenção durante 55 dias) e submetidos ao protocolo de exercício em esteira rolante apresentaram melhora da tolerância à glicose.

Entretanto, Freire *et al.* (2008) submeteram ratos a protocolo de suplementação com creatina a 2% durante 4 e 8 semanas e natação, com frequência de quatro vezes por semana, e não observaram diferença na curva glicêmica durante o teste de tolerância à glicose. Os autores sugeriram que a carga imposta pelo exercício não foi suficiente para promover alterações nesta variável.

Em estudos clínicos, foram encontrados quatro trabalhos na literatura que associaram a suplementação com creatina e análise do metabolismo

glicêmico mediante o teste de tolerância à glicose, (NEWMAN *et al.*, 2002; DERAIVE *et al.*, 2003; GUALANO *et al.*, 2008; GUALANO *et al.*, 2010). Dentre eles, apenas Newman *et al.* (2002) analisaram a suplementação com creatina sem a presença de exercício e não observaram alterações no metabolismo glicêmico. Já os outros trabalhos (DERAIVE *et al.*, 2003; GUALANO *et al.*, 2008; GUALANO *et al.*, 2010) verificaram que a associação da suplementação com creatina e o exercício físico melhora a tolerância glicêmica.

Já no teste de tolerância à insulina, a área sob a curva glicêmica foi menor no grupo Ef quando comparado ao grupo controle. Entretanto, na comparação entre os grupos exercitados, o grupo suplementado exibiu maiores valores de área sob a curva. Na análise da área sob a curva glicêmica corrigida, o grupo ECr apresentou menor área na comparação com Cr. Costallat *et al.* (2007) verificaram, a partir do teste de tolerância à insulina, que a suplementação com creatina induziu alterações no comportamento glicêmico a partir do 14º dia de experimento, que se acentuaram até o 28º dia, sugerindo, assim, que a suplementação com creatina pode conduzir ao quadro de resistência à insulina. De forma contrária, Júnior *et al.* (2014), na comparação entre ratos sedentários, observaram que a suplementação com creatina (concentração de 13% por 10 dias) não alterou a homeostase glicêmica.

Os resultados encontrados no presente trabalho mostram que, apesar de não promover distúrbios do metabolismo glicêmico como fator isolado, a creatina pode atenuar os efeitos benéficos do exercício em relação à tolerância à insulina. Barbosa *et al.* (2006), ao suplementar ratos sedentários com arginina durante quatro semanas, observaram resistência à insulina, por meio do teste de tolerância à insulina. Este efeito pode estar associado ao fato de que a secreção de insulina também pode ser estimulada por aminoácidos, como a arginina (RANG *et al.*, 2008), um constituinte estrutural da creatina. A presença de arginina dentro das células β pancreáticas induz à despolarização da membrana, que, em consequência, abre os canais de cálcio dependentes de voltagem, promovendo a secreção de insulina (SENER *et al.*, 2000). Assim, a hiperinsulinemia crônica pode conduzir à resistência à insulina (FERRANINI *et al.*, 1997).

Por outro lado, a prática do exercício tem sido considerada eficaz para a melhora da tolerância glicêmica e insulinêmica (TJONNA *et al.*, 2008) por ser capaz de recrutar outras proteínas e vias independentes de insulina, como a da proteína quinase ativada por 5'-AMP (AMPK) (BENATTI; LANCHÁ JUNIOR, 2007). Ao reduzir a taxa de adenosina trifosfato (ATP) intracelular por meio da contração muscular, a AMPK, que atua como um detector do gasto energético, é ativada e participa do processo de translocação do GLUT4 para a membrana plasmática, potencializando a captação de glicose de maneira semelhante à da insulina, embora por cascatas de sinalização diferentes e independentes (MIYAMOTO *et al.*, 2007). Apesar de não ter sido estudada no presente trabalho, podemos sugerir que a ativação desta via molecular esteja envolvida na melhora da tolerância à glicemia e à insulina induzida pelo exercício intervalado. No entanto, mais estudos são necessários para esclarecer estes mecanismos.

Em relação ao perfil bioquímico sérico, as concentrações séricas de glicose, triglicérides, colesterol total, LDL, VLDL e albumina não apresentaram diferenças estatísticas entre grupos. Esses resultados são semelhantes aos de outros estudos (VIEIRA *et al.*, 2008; BARACHO *et al.*, 2015) que, após 14 dias de suplementação com creatina nas dosagens de 0,5g, 1g e 2g/kg/dia, verificaram que a suplementação com creatina não é capaz de induzir alterações nessas variáveis bioquímicas. Na análise de HDL, surpreendentemente, os grupos suplementados com creatina apresentaram maiores valores quando comparados a seus respectivos controles. Já a concentração sérica de proteína total foi menor no grupo ECr que nos grupos Cr e ao grupo Ef. Nossos achados de HDL e proteína total divergem de outros estudos (VIEIRA *et al.*, 2008; BARACHO *et al.*, 2015), os quais não demonstram diferenças significativas nessas variáveis. Os mecanismos envolvidos nestas alterações necessitam ser elucidados em estudos futuros.

Em relação à tolerância ao exercício dos animais, os grupos exercitados alcançaram melhor desempenho funcional em relação aos seus respectivos controles, possivelmente por conta das adaptações funcionais geradas pelos estímulos da prática do exercício aeróbio intervalado de alta intensidade (FONSECA *et al.*, 2010). Billat *et al.* (2001) sugerem que a prática deste tipo de

exercício aumenta o consumo máximo de oxigênio (VO_{2MAX}) e consequentemente o tempo para atingir a exaustão, variáveis frequentemente utilizadas como preditores de rendimento (FONSECA *et al.*, 2010).

Concernente à morfologia cardíaca macroscópica, a massa dos átrios, em valores absolutos e normalizados pela massa corporal e pelo comprimento da tíbia, foi maior nos animais submetidos à associação entre suplementação com creatina e exercício físico quando comparados ao grupo Ef. Adicionalmente, no grupo Cr, a razão átrio por massa corporal final foi maior que no grupo C. Além disso, a razão entre a massa do coração e a massa corporal final foi maior no grupo ECr que nos grupos Ef e Cr. Como discutido anteriormente, estudos mostram que a creatina é capaz de provocar maior retenção de água no músculo, causada pelo efeito osmótico decorrente da elevação da creatina intramuscular (POWERS *et al.*, 2003; OLSEN *et al.*, 2006; FRANCO *et al.*, 2007). No presente estudo, a ingestão de creatina pode ter promovido retenção hídrica com consequente aumento da volemia e do retorno venoso. Este fato pode estar relacionado com sobrecarga crônica de volume, o que contribuiria para a dilatação e aumento da massa dos átrios e da massa do coração (BARBERATO *et al.*, 2013).

Além disso, sabe-se que o exercício físico também é capaz de provocar alterações na estrutura cardíaca. As alterações no músculo cardíaco mediante a prática de exercício dependem de fatores como o tipo, o volume, a intensidade e frequência do treinamento físico imposto ao músculo cardíaco (LAVORATO *et al.*, 2012). Alguns modelos de treinamento intervalado de alta intensidade têm sido utilizados para investigar a remodelação e hipertrofia cardíaca provocada pelo exercício. Isso porque o exercício aeróbico de alta intensidade parece induzir a adaptações estruturais e funcionais no coração de maneira mais eficaz do que exercícios de intensidades mais baixas (HARAM *et al.*, 2009; WANG; WISLOFF; KEMI, 2010).

A principal adaptação do coração ao treinamento físico é a remodelação cardíaca (WISLOFF *et al.*, 2002; KEMI *et al.*, 2004, WISLOFF *et al.*, 2001), alteração estimulada pelo ganho de capacidade funcional (WISLOFF *et al.*, 2001). Nos exercícios dinâmicos como natação, ciclismo, corrida e caminhada, as principais alterações são o aumento da frequência cardíaca e do volume

sistólico (De OLIVEIRA *et al.*, 2010). Neste caso, a sobrecarga cardíaca é predominantemente volumétrica, induzindo à hipertrofia excêntrica do ventrículo esquerdo, com a adição de sarcômeros em série, o que resulta em aumento da câmara cardíaca sem perda de função (FERNANDES *et al.*, 2011; CAVALCANTE *et al.*, 2016).

Nesse sentido, nossos resultados de morfologia microscópica do ventrículo esquerdo mostram que os grupos exercitados apresentaram aumento da área seccional transversa dos cardiomiócitos célula e maior conteúdo de colágeno intersticial quando comparados aos seus respectivos grupos controles. Similarmente aos nossos resultados, em pesquisas experimentais que utilizaram o protocolo de treinamento intervalado, foi observado aumento do comprimento, largura, volume e massa do ventrículo esquerdo em oito (KEMI *et al.*, 2002; KEMI *et al.*, 2007) e dez semanas (KEMI *et al.*, 2004) de experimentação. Entretanto, não foram encontrados outros estudos que observaram aumento da fração intersticial de colágeno no miocárdio induzido pelo exercício intervalado de alta intensidade em roedores normais.

Alguns estudos mostram participação do sistema renina angiotensina (SRA) na hipertrofia cardíaca induzida pelo exercício físico. Baraúna *et al.* (2008) observaram que treinamento resistido por 4 semanas implicou em aumento de 56% na expressão do receptor AT1. Já Oliveira *et al.* (2009) observaram o exercício físico aeróbio inibiu a atividade da enzima conversora de angiotensina (ECA) e atenuou a hipertrofia cardíaca e o bloqueio dos receptores AT1 impediu totalmente a hipertrofia cardíaca nos grupos treinados. Apesar de não termos avaliado o SRA, podemos observar que este sistema pode ter participação direta na remodelação cardíaca induzida pelo treinamento físico.

Além disso, respostas à angiotensina II mediadas pelo receptor AT1 podem ser deletérias, tal como a ativação do sistema nervoso simpático que resulta em vasoconstricção e aumento da frequência cardíaca e força de contração ou contratilidade, bem como o desenvolvimento de hipertrofia cardíaca e fibrose (DOSTAL, 2002; WAGENNAR *et al.*, 2002). Assim, já está claro na literatura que a angiotensina II desempenha papel importante no

desenvolvimento de fibrose cardíaca, por meio da ativação do TGF- β , indução da proliferação de fibroblastos e deposição de colágeno (REUDELHUBER *et al.*, 2007; FERNANDES; SOCI; OLIVEIRA, 2011). Portanto, acreditamos que o aumento da fibrose intersticial em nosso trabalho possa estar relacionado à ativação do SRA. Todavia, mais estudos devem ser realizados para esclarecer os mecanismos envolvidos das alterações miocárdicas decorrentes da prática do exercício aeróbio intervalado de alta intensidade.

7. Conclusão

Em conclusão, no contexto metabólico, o exercício físico intervalado de alta intensidade melhora a tolerância à glicemia e à insulina, porém a suplementação com creatina reduz a tolerância à insulina nos ratos exercitados. Já no contexto da remodelação cardíaca, o exercício físico intervalado de alta intensidade promove hipertrofia de cardiomiócitos e fibrose intersticial no miocárdio de ratos, sem efeito significativo da suplementação com creatina.

REFERÊNCIAS

- AOI, W; NAITO, Y; HANG, L. P; UCHIYAMA, K; AKAGIRI, S; MIZUSHIMA, K; YOSHIKAWA, T. Regular exercise prevents high-sucrose diet-induced fatty liver via improvement of hepatic lipid metabolism. **Biochem Biophys Res Commun.** v. 413, n. 2, p.330-335, 2011.
- ARAÚJO, M. B; VIEIRA - JUNIOR, R. C; MOURA, L. P; RIBEIRO, C; COSTA - JUNIOR, M; RODRIGO, A. D; SPONTON, A. C; RIBEIRO, C; MELLO, M. A. R. O metabolismo de creatina é alterado devido ao modo como é administrada. **Rev Bras Nutr Esportiva.** v. 6, n. 34, p. 315-324, 2012.
- BARACHO, N. C. V.; CASTRO, L. P.; BORGES, N. C.; LAIRA, P. B. Study of renal and hepatic toxicity in rats supplemented with creatine. **Acta Cir Bras.** v.30, n. 5, p. 313-318, 2015.
- BARBERATO, S. H.; BUCHARLES, S. G. E.; SOUZA, A. M.; COSTANTINI, C. O.; COSTANTINI, C. R. F.; PECOITS-FILHO, R. Associação entre Marcadores de Inflamação e Aumento do Átrio Esquerdo em Pacientes de Hemodiálise. **Arq Bras Cardiol.**- v.100, n. 2, p. 141-146, 2013.
- BARBOSA, T. C.; POYARES, L. L.; MACHADO, U. F.; NUNES, M. T. Chronic oral administration of arginine induces GH gene expression. And insulin resistance. **Life Sci** v.79, n.15, p.1444-1449, 2006.
- BARAUNA, V. G.; MAGALHAES, F. C.; KRIEGER, J. E.; OLIVEIRA, E. M. AT1 receptor participates in the cardiac hypertrophy induced by resistance training in rats. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.** n.295, p.381-R387, 2008.
- BARRY, S.; DAVIDSON, S.; TOWNSEND, P. Molecular regulation of cardiac hypertrophy. **Int J Biochem Cell.** v.40, n.10, p.2023-2039, 2008.
- BEMBEN, M.; LAMONT, H. Creatine supplementation and exercise performance: recent findings. **Sports Med,** v.35, n.2, p.107-125, 2005.
- BENATTI, F. R.; LANCHA JUNIOR, A. H. Leptina e exercício físico aeróbio: implicações da adiposidade corporal e insulina. **Rev Bras Med Esporte.** v. 13, n. 4, 2007.
- BERTRAND, L.; HORMAN, S.; BEAULOYE, C.; VANOVERSCHELDE, J. Insulin ignalling in the heart. **Cardiovasc Res.** v.79, n.2, p.238-248, 2008.
- BEZERRA, R. M. N.; UENO, M.; SILVA, M, S.; TAVARES, D. Q.; CARVALHO, C. R. O.; SAAD, M. J. A. A high fructose diet affects the early steps of insulin action in muscle and liver of rats. **J Nutr,** v.130, n.6, p.1532-1535, 2000.
- BILLAT, L. V. Interval training for performance: a scientific and empirical practice. Special recommendations for middle- and long-distance running. Part I: aerobic interval training. **Sports Med.** v.31, n.1, p.13-31, 2001.
- BORDENAVE, S.; BRANDOU, F.; MANETTA, J.; FÉDOU, C.; MERCIER, J.; BRUN, J. F. Effects of acute exercise on insulin sensitivity, glucose effectiveness and disposition index in type 2 diabetic patients. **Diabetes Metab.** v.34, n.3, p.250-7, 2008.

BRENNAN, I. M.; LUSCOMBE-MARSH, N. D.; SEIMON, R. V.; OTTO, B.; HOROWITZ, M.; WISHART, J. M.; 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**. n.303, p.129-140, 2012.

BURGOMASTER, K.A.; HEIGENHAUSER, G.J.; GIBALA, M.J. Effect of short-term sprint interval training on human skeletal muscle carbohydrate metabolism during exercise and time-trial performance. **Eur J Appl Physiol**. v. 100, p. 2041–2047, 2006.

CARVALHO, T.; RODRIGUES, T.; MEYER, F.; LANCHETA JR, A.; ROSE, E. Dietary changes, fluid replacement, food supplements and drugs: demonstration of ergogenic action and potential health risks. **Rev Bras Med Esporte**. v. 9, n. 2, 2003.

CASTRO, G.; AREIAS, M. F. C.; WEISSMANN, L.; QUARESMA, P. G.; KATASHIMA, C. K.; SAAD, M. J.; PRADA, P.O. Diet-induced obesity induces endoplasmic reticulum stress and insulin resistance in the amygdala of rats. **Open Bio**. v.11, n.3, p.443-9, 2013.

CAVALCANTE, P. A. M.; PERILHÃO, M. S.; SILVA, A.; ANDREY J. SERRA, A. J.; JÚNIOR, A. F.; BOCALINI, D. S. Cardiac Remodeling and Physical Exercise: A Brief Review about Concepts and Adaptations. **SPORTS**. v. 6, n. 2, p. 52-61, 2016.

CHOI, K.; KIM, Y. B. Molecular mechanism of insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. **Korean J Intern Med**. v. 25, n. 2, p.119-29, 2010.

COHN, J.; FERRARI, R.; SHARPE, N. Cardiac remodeling-concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. **Am J Cardiol**. v. 35, p. 569-582, 2000.

Committee on care and use of laboratory animals. **Guide for the Care and Use of Laboratory Animals**. Bethesda: National Institute of Health, 1985.

COSTALLAT, B. L.; MIGLIOLI, L.; SILVA, P. A. C.; NOVO, N. F.; DUARTE, J. L. G. Resistência à insulina com a suplementação de creatina em animais de experimentação. **Rev Bras Med Esporte**. v.13, n.1, p.22-26, 2007.

D'ANTONA, G.; NABAVI, S.; MICHELETTI, P.; LORENZO, A.; AQUILANI, R.; NISOLI, E.; RONDANELLI, M.; DAGLIA, M. Creatine, l-carnitine, and ω 3 polyunsaturated fatty acid supplementation from healthy to diseased skeletal muscle. **J Biomed Biotechnol**. 1-16, 2014.

DE OLIVEIRA, E. M.; ALVES, G. B.; BRUM, P. C.; KRIEGER, J. E. "Aspectos moleculares da hipertrofia dos músculos cardíaco e esquelético após treinamento físico". In: **Cardiologia do Exercício – Do atleta ao cardiopata**. Manole. v.3, 2010.

DEMINICE, R.; PORTARI, G. V.; VANNUCCHI, H.; JORDAO, A. A. Effects of creatine supplementation on homocysteine levels and lipid peroxidation in rats. **Br J Nutr**. v.102, n.1, p.110–116, 2009.

DERAVE, W.; EIJNDE, B. O.; VERBESSEM, P.; RAMAEKERS, M.; VAN, L. M.; RICHTER, E. A.; HESPEL, P. Combined creatine and protein supplementation in conjunction with resistance training promotes muscle GLUT-4 content and glucose tolerance in humans. **J Appl Physiol**, v.94, p.1910-1916, 2003.

DONNELLY, J.E.; BLAIR, S.N.; JAKICIC, J.M.; MANORE, M.M.; RANKIN, J.W.; SMITH, B. K. Appropriate physical activity intervention strategies for weight loss and prevention of weight regain for adults. **Med Sci Sports Exerc.** v.41, n.2, p.459- 471, 2009.

DOSTAL, D. E. The cardiac renin-angiotensin system: novel signaling mechanisms related to cardiac growth and function. **Regul Pept.** n.91, p.1-11, 2000.

ESTEVEZ, E. A.; ÁVILA, M. V. P.; ALMEIDA, F. Z. Ingestão calórica e relações entre ingestão proteica e variáveis de adiposidade em mulheres adultas. **Alim. Nutr.** v. 21, n. 4, p. 587-593, 2010.

FERNANDES, T.; SOCI, U. P.; OLIVEIRA, E. M. Eccentric and concentric cardiac hypertrophy induced by exercise training: microRNAs and molecular determinants. **Braz J Med Biol Res.** v.44, n.9, p. 836-847, 2011.

FERREIRA, J. C.; ROLIM, N. P.; BARTHOLOMEU, J. B.; GOBATO, C. A.; KOKUBUN, E.; BRUM, P. C. Maximal lactate steady state in running mice: effect of exercise training. **Clin Exp Pharmacol Physiol.** v.34, p.760–765, 2007.

FONSECA, R. M.; BARROSO, R.; PIVETTI, B. M. F.; SEABRA, F.; DREZNER, R.; FRANCHINI, E. efeitos crônicos do treinamento de exercícios intermitentes de alta intensidade. **REMEFE.** n.9, v.1, p.99-112, 2010.

FONTANA, K.; CASAL, H.; BALDISSERA, V. Creatina como suplemento ergogênico. **EFDeportes.** n. 60, 2003.

FRANCO, F. S. C.; NATALI, A. J.; COSTA, N. M. B.; LUNZ, W.; GOMES, G. J.; JUNIOR, M. A. C.; OLIVEIRA, T. T. Efeito da suplementação de creatina e do treinamento de potência sobre a performance e a massa corporal magra de ratos. **Rev Bras Med Esporte** v.13, n.5, p. 297-302, 2007.

FREIRE, T. O.; GUALANO, B.; LEME, M. D.; POLACOW, V. O.; LANCHI, A. H. J. Efeitos da Suplementação de Creatina na Captação de Glicose em Ratos Submetidos ao Exercício Físico. **Rev. Bras Med Esports.** v.14, n.5, p.431-435, 2008.

GARCIA, J. A. D.; INCERPI, E. K. Fatores e Mecanismos Envolvidos na Hipertrofia Ventricular Esquerda e o Papel Anti-Hipertrófico do Óxido Nítrico. **Arq Bras Cardiol.** v.90, n.6, p.443-450, 2008.

GIBALA, M.J.; LITTLE, J.P.; VAN ESSEN, M.; WILKIN, G.P.; BURGOMASTER, K.A.; SAFDAR, A.; RAHA, S.; TARNOPOLSKY, M.A. Short-term sprint interval versus traditional endurance training: similar initial adaptations in human skeletal muscle and exercise performance. **J. Physiol.** v. 575, p. 901–911, 2006

GRATAS-DELMARCHE, A.; DERBRÉ, F.; VINCENT, S.; CILLARD, J. Physical inactivity, insulin resistance, and the oxidative-inflammatory. **Free Radic Res.** v. 48, n.1, p.93-108, 2014.

GUAL, P.; LE MARCHAND-BRUSTEL, Y.; TANTI, J. Positive and negative regulation of insulin signaling through IRS-1 phosphorylation. **Biochimie.** v. 87, n.1, p.99-109, 2005.

GUALANO, B.; GRINOWITSCH, C.; SEGURO, A.; LANCHI, A. A suplementação de creatina, prejudica a função renal?. **Rev. Bras Med Esporte.**v.14, n.1, p.68-73, 2008.

GUALANO, B.; PAINNELI, V. S.; ROSCHEL, H.; ARTIOLI, G. G.; NEVES, M. J.; PINTO, A. L. S.; DA SILVA, M.E.; CUNHA, M. R.; OTADUY, M. C.; LEITE, C. C.; FERREIRA, J. C.; PEREIRA, R. M.; BRUM, P. C.; BONFÁ, E. LANCHETA- JUNIOR, A. H. Creatine in Type 2 Diabetes: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Med Sci Sports Exerc.** v.43, n.5, p.770-778, 2011.

GUIRAUD, T.; NIGAM, A.; GREMEAUX, V.; MEYER, P.; JUNEAU, M.; BOSQUET, L. High-intensity interval training in cardiac rehabilitation. **Sports Med.** v.42, n.7, p.587-605, 2012.

HARAM, P. M.; KEMI, O. J.; LEE, S. J.; BENDHEIM, M. Ø.; AL-SHARE, Q. Y.; WALDUM, H. L.; GILLIGAN, L. J.; KOCH, L. G.; BRITTON, S. L.; NAJJAR, S. M.; WISLØFF, U. Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity. **Cardiovasc. Res.** v.81, n.4, p.723-732, 2009.

HERNANDEZ, A.; NAHAS, R. Modificações dietéticas, reposição hídrica, suplementos alimentares e drogas: comprovação da ação ergôgenica e potenciais riscos para a saúde. **Rev. Bras Med Esporte.** v. 15. n. 02, 2009.

HUNGER, M. S.; PRESTES, J.; LEITE, R. D.; PEREIRA, G. B.; CAVAGLIERI, C. R. Efeitos de diferentes doses de creatina associada ao Treinamento de força sobre parâmetros hematológicos. **Rev. Bras. Educ. Fís. Esporte.** v.6, n. 2, p.15-27, 2010.

INUZUKA-NAKAHARADA, L. M. Dieta Cetogênica e Dieta de Atkins Modificada no Tratamento da Epilepsia Refratária em Crianças e Adultos. **J Epilepsy Clin Neurophysiol.** v.14, n.2, p.65-69, 2008.

IPSIROGLU, O.; STROMBERGER, C.; ILAS, J.; HOGER, H.; MUHL, A.; STOCKLER – IPSIROGLU, S. Changes of tissue creatine concentrations upon oral supplementation of creatine-monohydrate in various animal species, **Life Sciences**, v.69, p.1805-1815, 2001.

JORGE, M. L.; DE OLIVEIRA, V. N.; RESENDE, N. M.; PARAISO, L. F.; CALIXTO, A.; DINIZ, A. L.; RESENDE, E. S.; ROPELLE, E. R.; CARVALHEIRA, J. B.; ESPINDOLA, F. S.; JORGE, P. T.; GELONEZE, B. The effects of aerobic, resistance, and combined exercise on metabolic control, inflammatory markers, adipocytokines, and muscle insulin signaling in patients with type 2 diabetes mellitus. **Metabolism.** v.60, n.9, p.1244-52, 2011.

JÚNIOR, R. C. V.; ARAÚJO, M. C.; JÚNIOR, M. C.; DALIA, R. A.; VOLTARELLI, F. A. O uso de creatina pico não altera a homeostase glicêmica e diminui a ingestão alimentar de ratos. **Rev. Bras. Nutr. Esportiva.** v.8, n.47, p.307-315, 2014.

KAHN, S. E.; HULL, R. L.; UTZSCHNEIDER, K. M. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. **Nature.** v.444, n.7121, p.840-846, 2006.

KEMI, O. J.; HARAM, M.; WISLØFF, U.; ELLINGSEN, Ø. Aerobic fitness is associated with cardiomyocyte contractile capacity and endothelial function in exercise training and detraining. **Circulation.** v.109, n.23, p.897–904, 2004.

KEMI, O. J.; LOENNECHEN, J. P.; WISLØFF, U.; ELLINGSEN, O. Intensity-controlled treadmill running in mice: cardiac and skeletal muscle hypertrophy. **Eur J Appl Physiol.** v.93, n.1301-1309, 2002.

KEMI, O.; ELLINGSEN, O.; CECI, M.; GRIMALDI, S.; SMITH, G.L.; CONDORELLI, G.; WISLOFF, W. Aerobic interval training enhances cardiomyocyte contractility and Ca²⁺ cycling by phosphorylation of CaMKII and Thr-17 of phospholamban. **J Mol Cell Cardiol.** v. 43, p. 354–361, 2007.

KREIDER, R.B. Effects of creatine supplementation on performance and training adaptations. **Mol. Cell. Biochem.** v. 244, p. 89-94, , 2003.

LAVORATO, V. N.; BELFORT, F. G.; NATALI, A. J. Adaptações mecânicas de cardiomiócitos ao treinamento físico. **Rev. Min. Ed. Física.** v.20, n.2, p.131-143, 2012.

LIMA-LEOPOLDO, A. P.; LEOPOLDO, A. S.; SUGIZAKI, M. M.; BRUNO, A.; NASCIMENTO, A. F.; LUVIZOTO, R. A. M.; OLIVEIRA-JÚNIOR, S. A.; CASTARDELI, E.; PADOVANI, C. R.; CICOGNA, A. C. Myocardial dysfunction and abnormalities in intracellular calcium handling in obese rats. **Arq Bras Cardiol.** v.97, n.3, p.232–240, 2011.

LITTLE, J. P.; SAFDAR, A.; WILKIN, G. P.; TARNOPOLSKY, M. A.; GIBALA, M. J. A practical model of low-volume high-intensity interval training induces mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle: potential mechanisms. **J Physiol.** p.588:1011–1022, 2010.

LONGO, N.; ARDON, O.; VANZO, R.; SCHWARTZ, E.; PASQUALI, M. Disorders of Creatine Transport and Metabolism. **Am J Med Genet Part C.** v.157, p.72-78. 2011.

MATSUBARA, L. S.; NARIKAWA, S.; FERREIRA, A. L. A.; PAIVA, S. A. R.; ZORNOFF, L. A. M.; MATSUBARA, B. B. Myocardial remodeling in chronic pressure or volume overload in the rat heart. **Arq. Bras. Cardiol.** v.86, p. 126-130, 2006.

MEYER, P.; GAYDA, M.; JUNEAU, M.; NIGAM, A. High-Intensity Aerobic Interval Exercise in Chronic Heart Failure. **Curr Heart Fail Rep.** v.10, n.2, p.130-138, 2013.

MIYAMOTO, L.; TOYODA, T.; HAYASHI, T.; YONEMITSU, S.; NAKANO, M.; TANAKA, S.; EBIHARA, K.; MASUZAKI, H.; HOSODA, K.; OGAWA, Y.; INOUE, G.; FUSHIKI, T.; NAKAO, K. Effect of acute activation of 5_α-AMP-activated protein kinase on glycogen regulation in isolated rat skeletal muscle. **J Appl Physiol.** v.102, p.1007-1013, 2007.

MOREIRA, J. B. N.; BECHARA, L. R. G.; BOZI, L. H. M.; JANNIG, P. R.; MONTEIRO, A. W. A.; DOURADO, P. M.; WISLØFF, U.; BRUM, P. C. High – versus moderate – intensity aerobic exercise training effects on skeletal muscle of infarcted rats. **J Appl Physiol.** v.114, n.8, p.1029-1041, 2013.

MOTTA, V. T. **Bioquímica clínica para o laboratório: princípios e interpretações.** 4 ed. Porto Alegre: Editora Médica Missau. n.10, p.121-142, 2003.

NEWMAN, J. E.; HARGREAVES, M.; GARNHAM, A.; SNOW, R. J. Effect of creatine ingestion on glucose tolerance and insulin sensitivity in men. **Med Sci Sports Exerc.** v.35, p.69-74, 2003.

NICASTRO, H.; GUALANO, B.; DE MORAES, W. M.; DE SALLES, P. V.; DA LUZ, C. R.; DOS SANTOS, C. A.; SALVI, G. F.; MEDEIROS, A.; BRUM, P. C.; LANCHI, A. H. Effects of creatine supplementation on muscle wasting and glucose homeostasis in rats treated with dexamethasone. **Amino Acids.** v.42, n.5, p.1695-1701, 2012.

OLIVEIRA, E. M.; SASAKI, M. S.; CERENCIO, M.; BARAUNA, V.G.; KRIEGER, J.E. Local renin-angiotensin system regulates left ventricular hypertrophy induced by swimming training independent of circulating renin: a pharmacological study. **J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.** n.10, p.15-23, 2009.

OLIVEIRA Jr, S. A.; MARTINEZ, P. F.; GUIZONI, D. M.; CAMPOS, D. H.; FERNANDES, T.; OLIVEIRA, E. M.; OKOSHI, M. P.; OKOSHI, K.; PADOVANI, C. R.; CICOGLA, A. C. AT1 receptor blockade attenuates insulin resistance and myocardial remodeling in rats with diet-induced obesity. **Plos One.** n.9, p.1-10, 2014.

OLSEN, S.; AAGAARD, P.; KADI, F.; TUFEKOVIC, G.; VERNEY, J.; OLESEN JL, SUETA, C.; KJAER, M. Creatine supplementation augments the increase in satellite cell and myonuclei number human skeletal muscle induced by training. **J. Physiol.** v.573, n.2, p.525-34, 2006.

PÁDUA, M. F.; PÁDUA, T. F.; PAULI, J. R.; SOUZA, C. T.; SILVA, A. S. R.; ROPELLE, E. C. C.; CINTRA, D. E.; CARVALHEIRA, J. B. C.; ROPELLE, E. R. Exercício físico reduz a hiperglicemia de jejum em camundongos diabéticos através da ativação da AMPK. **Rev Bras Med Esporte.** v.15, n.3, p.179-84, 2009.

PALOMEQUE, J.; DELBRIDGE, L.; PETROFF, M. V. Angiotensin II: a regulator of cardiomyocyte function and survival. **Front Biosci.** v.1, n.14, p.5118-33, 2009.

PESSIN, J.E.; SALTIEL, A.R. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. **J Clin Invest,** v.106, p.165-9, 2000.

POWERS, M. E.; ARNOLD, B. L.; WELTMAN, A. L.; PERRIN, D. H.; MISTRY, D.; KAHLER, D. M.; KRAEMER, W.; VOLEK, J. Creatine supplementation increases total body water without altering fluid distribution. **J Athl Train.** v.38, n.1, p.44-50, 2003.

RANG, H.P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. et al. **Rang & Dale's Farmacologia.** Brazil, Elsevier Editora Ltda, p.397-401, 2008.

RIBEIRO, V. M.; PASCOAL, A. C.; CASTRO, E. S.; MOULIN, M. A. F.; JÚNIOR, J. L. M.; AZEREDO, V. B. A. A "dieta da proteína" reduz o diâmetro e a densidade volumétrica glomerular em ratas. **Demetra;** v.11, n.2, p. 493-505, 2016.

REUDELHUBER, T. L.; BERNSTEIN, K. E.; DELAFONTAINE, P. Is angiotensin II a direct mediator of left ventricular hypertrophy? Time for another look. **Hypertension.** n.49, p.1196-1201, 2007.

REZENDE, A. Suplementação de creatina no treinamento de musculação e influência no aumento da massa muscular. **Vida & Saúde.** n. 1, v.2, 2003.

ROONEY, K.; BRYSON, J.; PHUYAL, J.; DENYER, G.; CATERSON, I.; THOMPSON, C. Creatine supplementation alters insulin secretion and glucose homeostasis in vivo. **Metabolism,** v.51, n.4, p.:518-522, 2002.

ROPELLE, E. R.; PAULI, J. R.; PRADA, P. O.; DOUZA, C. T.; PICARDI, P. K.; FARIA, M. C.; CINTRA, D. E.; FERNANDES, M. F.; FLORES, M. B.; VELLOSO, L. A.; SAAD, M. J.; CARVALHEIRA, J. B. C. Reversal of diet-induced insulin resistance with a single bout of exercise in the rat: the role of PTP1B and IRS-1 serine phosphorylation. **The journal of physiology;** v.3, n.57, p.997-1007, 2006.

ROUX, P. P.; BLENIS, J. ERK and p38 MAPK-activated protein kinases: a family of protein kinases with diverse biological functions. **Microbiol Mol Biol Rev.** v.68, n.2, p.320-344, 2004.

SENER, A.; BEST, L. C.; YATES, A. P.; KADIATA, M. M.; OLIVARES, E.; LOUCHAMI, K.; JIJKLI, H.; LADERIERE, L.; MALAISSE, W. J. Stimulus-secretion coupling of arginine-induced insulin release: comparasion between the cationic amino acid and its methyl ester. **Endocrine.** v.13, p.329-40, 2000.

SLATER, G.; JENKINS, D. Supplementation and the promotion of muscle growth and strength. **Sports Medicine,** v.30, n.2, p.105-116, 2000.

SNOW, R. J.; MURPHY, R. M. Creatine and creatine transporter: a review. **Mol Cell Biochem.** v.244, n.1-2, p.169-191, 2001.

SOCI, U. P.; FERNANDES, T.; HASHIMOTO, N. Y.; MOTA, G. F.; AMADEU, M. A.; ROSA, K. T.; IRIGOYEN, M. C.; PHILLIPS, M. I.; OLIVEIRA, E. M. MicroRNAs 29 are involved in the improvement of ventricular compliance promoted by aerobic exercise training in rats. **Physiol Genomics.** n.43, p.665-673, 2011.

SOUZA, R. A.; SANTOS, R. M.; OSÓRIO, R. A. L.; COGO, J. C.; JÚNIOR, A. C. G. P.; MARTINS, R. A. B. L.; 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.** v.12, n.6, p.:361-365, 2006.

STROM, C. C.; APLIN, M.; PLOUG, T.; CHRISTOFFERSEN, T. E.; LANGFORT, J.; VIESE, M.; GALBO, H.; HAUNSO, S.; SHEIKH, S. P. Expression profiling reveals differences in metabolic gene expression between exercise-induced cardiac effects and maladaptive cardiac hypertrophy. **FEBS J.**v.272, p.2684-95, 2005.

SWYNGHEDAUW, B. Phenotypic plasticity of adult myocardium: molecular mechanisms. **J Exp Biol.** v.209, n.12, p.2320-2327, 2006.

SYKIOTIS, G. P.; PAPAVALASSIOU, A. G. Serine phosphorylation of insulin receptor substrate-1: a novel target for the reversal of insulin resistance. **Mol Endocrinol.** v.15, p.1864-9, 2001.

TARNOPOLSKY, M.; GIBALA, M.; JEUKENDRUP, A.; PHILLIPS, S. Nutritional needs of elite endurance athletes. Part I: carbohydrate and fluid requirements. **Eur J Sport Sci.** v. 5, n. 1, p. 3-14, 2005.

TERJUNG, R.; CLARKSON, P.; EICHNER, ER.; GREENHAFF, P.; HESPEL, P.; ISRAEL, R.; KRAEMER, WJ.; MEYER, R.; SPRIET, L.; TARNOPOLSKY, M.; WAGENMAKERS, A.; WILLIAMS, M. Round Table. The physiological and health effects of oral creatine supplementation. **Med. Sci. Sports Exerc.** n.32, p.706-17, 2000.

TJØNNA, A. E.; LEE, S. J.; ROGNMO, Ø.; STØLEN, T. O.; BYE, A.; HARAM, P. M.; WISLØFF, U. Aerobic interval training versus continuous moderate exercise as a treatment for the metabolic syndrome: a pilot study. **Circulation,** v.118, n.4, p.346–54, 2008.

TJØNNA, A. E.; STØLEN, T. O.; BYE, A.; VOLDEN, M.; SLØRDAHL, S. A.; ODEGÅRD, R.; WISLØFF, U. Aerobic interval training reduces cardiovascular risk

factors more than a multitreatment approach in overweight adolescents. **Clinical Science** v.116, n.4, p.317–26, 2009.

VASQUES, A. C. J.; PEREIRA, P. F.; GOMIDE, R. M.; BATISTA, M. C. R.; CAMPOS, M. T. F. S.; SANT'ANA, L. F. R.; ROSADO, L. E. F. P. L.; PRIORE, S. E. Influência do excesso de peso corporal e da adiposidade central na glicemia e no perfil lipídico de pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 2. **Arq Bras Endocrinol Metab.** v. 51, n. 9, 2007.

VIEIRA, R. P.; FRANÇA, R. F.; CARVALHO, C. R. F.; DOLHNIKOFF, M.; RIBEIRO, W.; MARTINS, R. A. B. L. Efeitos da Suplementação Oral com Creatina sobre o Metabolismo e a Morfologia Hepática em Ratos. **Rev Bras Med Esporte.** v.14, n.5, p.39-41, 2008.

WAGENAAR, L. J.; VOORS, A. A.; BUIKEMA, H.; VAN GILST, W. H. ANGIOTENSIN RECEPTORS IN THE CARDIOVASCULAR SYSTEM. **Can J Cardiol.** n.18, p. 1331-1339, 2002.

WANG, Y.; WISLØFF, U.; KEMI, O. J. Animal models in the study of exercise-induced cardiac hypertrophy. **Physiol Res.** v.59, n.5, p.633–644, 2010.

WILLIAMS, M.; KREIDER, R.; BRANCH, J. **Creatina.** Tradução de Reury Frank Pereira Bacural e Francisco Navarro. São Paulo: Manole, 2000.

WISLØFF, U.; HELGERUD, J.; KEMI, O. J.; ELLINGSEN, O. Intensity-controlled treadmill running in rats: VO₂máx and cardiac hypertrophy. **Am J Physiol Heart Circ Physiol.** v.280, n.3, p.1301- 1310, 2001.

WISLØFF, U.; LOENNECHEN, J. P.; CURRIE, S.; SMITH, G. L.; ELLINGSEN, O. Aerobic exercise reduces cardiomyocyte hypertrophy and increases contractility, Ca²⁺ sensitivity and 33 SERCA-2 in rat after myocardial infarction. **Cardiovasc Res.** v.54, n.1, p.162- 174, 2002.

WISLØFF, U.; STØYLEN, A.; LOENNECHEN, J. P.; BRUVOLD, M.; ROGNMO, Ø.; HARAM, P. M.; TJØNNA, A. E.; HELGERUD, J.; SLØRDAHL, S. A.; LEE, S. J.; VIDEM, V.; BYE, A.; SMITH, G. L.; NAJJAR, S. M.; ELLINGSEN, Ø.; SKJAERPE, T. Superior cardiovascular effect of aerobic interval training versus moderate continuous training in heart failure patients. **Circulation.**v.115, n.24, p.3086-3094, 2007.

WYSS, M., KADDURAH-DAOUK, R. Creatine and creatinine metabolism. **Physiol Res.** v.80, n.3, p. 1107-1213, 2000

YUAN, Q.; CHEN, L.; LIU, C.; XU, K.; MAO, X.; LIU, C. Postnatal pancreatic islet β cell function and insulin sensitivity at different stages of lifetime in rats born with intrauterine growth retardation. **Plos One** v.6, n.10, p. e25167, 2011.

ZORNOFF, L.A.M.; MATSUBARA, B.B.; MATSUBARA, L.S.; MINICUCCI, M.F.; AZEVEDO, P.S.; CAMPANA, A.O.; PAIVA, S.A.R. Cigarette smoke exposure intensifies ventricular remodeling process following myocardial infarction. **Arq. Bras. Cardiol.** v.86, p. 276-281, 2006.



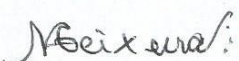
Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



C E R T I F I C A D O

Certificamos que o projeto intitulado "Influência da associação entre suplementação com creatina e exercício físico intervalado sobre metabolismo sistêmico e indicadores de remodelação e resistência à insulina no miocárdio de ratos", Protocolo nº 724/2015 sob a responsabilidade de **Paula Felipe Martinez** - 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 12 de novembro de 2015.

Vigência do Projeto	01/11/2015 a 15/03/2016
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 Araújo Teixeira

Coordenadora da CEUA/UFMS
Campo Grande, 16 de novembro de 2015.

Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA
<http://www.propp.ufms.br/ceua>
ceua.2000@gmail.com
fone (67) 3345-7186