

PERFIL ENERGÉTICO DO MÚSCULO ESQUELÉTICO DE RATOS SUPLEMENTADOS COM CREATINA NA FASE AGUDA DA IMOBILIZAÇÃO.

Energetic profile of male rat skeletal muscle supplemented with creatine in acute phase of immobilization

**Carlo A. Silva CA¹, Adriano CR Pardi², Maria Tereza M Severi³, Tâmara Martins⁴,
Eder Arruda⁵.**

¹Docente do PPG- Fisioterapia – FACIS – UNIMEP.

²Mestrando em Fisioterapia – FACIS – UNIMEP.

³Doutoranda – Departamento de Fisioterapia – UFSCar

⁴Ft.Ms. Coordenadora do Curso de Fisioterapia- Anhanguera Educacional-FAC 3

⁵Graduação em Fisioterapia - UNIMEP

***Autor para correspondência email:** casilva@unimep.br

Recebido em 10/08/2009 - Aceito em 21/10/2009

RESUMO

A imobilização muscular esquelética é um sistema indutor de desuso que desencadeia um conjunto de alterações que culminam com atrofia. Recentes estudos têm sugerido que a suplementação com creatina induz melhora na homeostasia metabólica do tecido muscular, instigando novas avaliações do seu potencial clínico/terapêutico particularmente no tratamento de distúrbios neuromuscular e em diversas doenças como as distrofias e citopatologias mitocondriais. O objetivo deste estudo foi avaliar diferentes parâmetros indicativos do status energético e funcional de músculos normais e após 3 dias de imobilização (fase aguda) suplementados ou não com creatina. Utilizamos ratos adultos, Wistar, obtidos na empresa ANILAB, Paulínia, SP. Os animais foram divididos em 4 grupos experimentais (n=6) assim denominados: controle, imobilizados, suplementado com creatina (9,2mg/100g/dia através da via orogástrica) e imobilizados suplementados com creatina. Para imobilização utilizou-se órtese de acrílico mantendo a posição do tornozelo em 90°. O conteúdo de glicogênio foi avaliado em amostras do músculo sóleo e gastrocnêmio através do método do fenol sulfúrico e as concentrações plasmáticas de glicose, lactato e creatinina, AST (aspartato aminotransferase) e ALT (alanina aminotransferase) e proteínas

totais avaliadas através de kit de utilização laboratorial (Sigma diagnostics). Os dados foram comparados através de análise de variância seguido do teste de Tukey ($p < 0,05$). Os resultados mostram que o conteúdo de glicogênio e o peso da musculatura imobilizada foram expressivamente reduzidos em decorrência do desuso; por sua vez, a suplementação com creatina promoveu elevação no conteúdo muscular de glicogênio, no músculo normal e de forma mais expressiva no músculo imobilizado, melhorando as condições fisiológicas. A relação proteína total/DNA foi reduzida devido à imobilização, no entanto, no grupo suplementado a redução foi menor. Estes resultados sugerem que a suplementação com creatina, pode minimizar as alterações metabólicas desencadeadas pela imobilização mantendo os músculos em melhores condições, fato que possivelmente favorece uma recuperação pós-imobilização mais rápida.

Palavras-chave: Imobilização, atrofia, músculo esquelético, creatina.

ABSTRACT

The immobilization system is a skeletal muscle disuse inducer of triggering a series of changes that culminate in atrophy. Recent studies have suggested that creatine supplementation leads to improvement in metabolic homeostasis of muscle tissue, prompting further evaluation of their potential clinical/therapeutic particularly in the treatment of neuromuscular disorders, dystrophies and mitochondrial cytopathology. The purpose of this study was to evaluate different parameters indicative of the energetic profile and functional status of normal muscles and after 3 days of immobilization (acute phase) supplemented or not with creatine. We used adult male wistar rats, obtained in the company ANILAB, Paulina, SP. The animals were divided into 4 experimental groups ($n=6$) called: control, immobilized, supplemented with creatine (9.2 mg/100g/dia through orogástric route) supplemented with creatine and immobilized. For immobilization we used acrylic orthosis holding the position of the ankle at 90° . The content of glycogen was measured in samples of gastrocnemius and soleus muscle by phenol sulfuric method, plasma concentrations of glucose, lactate and creatinine, AST (aspartate aminotransferase) and ALT (alanine aminotransferase) and total protein were evaluated by the kit laboratory use (Sigma Diagnostics). Data were compared using analysis of variance followed by Tukey test ($p < 0.05$). The results show that the glycogen reserves and the weight of the immobilized muscles were significantly reduced due to disuse, in turn, creatine supplementation promoted the elevation of muscle glycogen content in normal muscle and more expressive in the muscle immobilized, improving chemo-physiological conditions. It is worth mentioning that the total protein/DNA was reduced due to the immobilization, however, in the supplemented group the reduction was smaller. These results suggest that supplementation with creatine, can minimize the metabolic changes triggered by the immobilization keeping the muscles in better conditions, a fact that possibly favors a post-immobilization recovery faster.

Key words: Immobilization, atrophy, skeletal muscle, creatine.

INTRODUÇÃO

A imobilização músculo-esquelética, como recurso terapêutico, tem vasta aplicabilidade prática na área da traumatologia e medicina desportiva, merecendo destaque nos entorses, fraturas ósseas, rupturas ligamentares, tendíneas e de outros tecidos moles. O princípio de sua indicação baseia-se na contenção dos efeitos potencialmente álgicos dos movimentos bem como ser um instrumento para possibilitar e facilitar a cicatrização dos tecidos danificados, ou seja, visa permitir que estes tecidos possam atravessar as fases do processo de reparo sem interferências externas (REARDON et al., 2001).

Por outro lado, tem sido relatado que a imobilização pode desencadear uma série de alterações adaptativas nos sistemas orgânicos que se traduzem em perda funcional global e local, comprometendo o tempo de retorno do indivíduo às suas atividades normais. No sistema músculo-esquelético, simultaneamente ao desuso os efeitos mais marcantes que ocorrem são hipotrofia muscular, fibrose intramuscular, redução da extensibilidade muscular além de limitação da liberdade de movimento articular (HALAR & KATHLEEN, 2002).

Os efeitos da imobilização induzida por técnicas não invasivas como a imobilização por aparelho gessado ou suspensão do corpo, tem sido estudados com mais frequência em animais. Tais técnicas têm merecido especial atenção da NASA (*National Aeronautics and Space Administration – USA*), na busca de informações sobre o comportamento dos sistemas orgânicos submetidos à microgravidade, que apresentam alguns traços de semelhança com a imobilização. Um modelo invasivo utilizado para estudar os efeitos da

hipoatividade motora em animais consiste na neurectomia ciática, que tem algumas limitações impostas pelas alterações neurotróficas que acompanham este modelo, quando se deseja estudar aspectos do metabolismo focados neste estudo.

Nesse contexto, tem-se caracterizado um grau diferenciado de hipotrofia para cada tipo de músculo, sendo descrito que músculos cuja ação é anti-gravitacional possuem maior grau de hipotrofia em situações de desuso Caiozzo et al. (1996), Recentemente foi observada maior suscetibilidade à hipotrofia em fibras lentas oxidativas, as quais em situação de desuso apresentam marcantes alterações histo-fisiológicas como irregularidades no retículo sarcoplasmático, fibrilas desintegradas, lesão mitocondrial, linhas Z estendidas, como condensação e fragmentação da cromatina nuclear e redução de sarcômeros em paralelo (SMITH et al., 2000; KASPER 2002, TANAKA et al., 2004; PEARLMAN & FIELDING, 2006).

Na tentativa de criar a situação mais próxima da realidade da imobilização dos membros, tão comum na prática ortopédica, recentemente foi desenvolvido um modelo de imobilização do membro posterior dos animais induzida pela aplicação de uma órtese de metacrilato de etila que mantém o membro na posição do tornozelo em 90° além de não impedir o deslocamento do animal (SILVA et al., 2006).

Tem sido descrito que a primeira semana de imobilização corresponde a um período crítico onde há decréscimo pronunciado do diâmetro das fibras seguido de alterações estruturais como focos de rompimento e fragmentação, modificações na morfologia das mitocôndrias e degeneração do retículo sarcoplasmático predispondo ao aparecimento

de vacúolos autofágicos e macrófagos (JAFFE et al., 1978). Cabe ressaltar que tem sido relatado uma significativa diminuição na ação da insulina no músculo imobilizado, ocorrendo logo nas primeiras horas após a imobilização do membro sugerindo redução na captação de substratos metabolizáveis e na formação das reservas energéticas (NICHOLSON et al., 1984).

Recentes estudos têm demonstrado que a creatina é um substrato capaz de modular o metabolismo dos carboidratos a atividade energética de diferentes tecidos, em especial o muscular (GUOYAO WU, 2009) Embora este composto esteja a tempo disponível para a suplementação, apenas recentemente houve esforços concentrados para investigar seu potencial ergogênico relativo à *performance* esportiva (PERSKY & BRAZEAU, 2001). Dessa forma, existem poucos estudos direcionados a avaliação dos eventos ligados à suplementação de músculo imobilizados, principalmente no que se refere à fase aguda do desuso.

OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi estudar o perfil metabólico do músculo imobilizado suplementado com creatina durante a fase aguda do desuso.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizou-se ratos Wistar, com idade variando de 3-4 meses obtidos na empresa ANILAB, Paulínia, SP. Os animais foram alimentados com ração e água *ad libitum* sendo

mantidos em ambiente com temperatura média de $23 \pm 2^\circ\text{C}$ e ciclo claro/escuro controlado de 12 horas. Os animais foram divididos nos seguintes grupos experimentais com $n=6$ e assim denominados: Controle, Suplementado com creatina, Imobilizado 3 dias, Imobilizado 3 dias suplementado com creatina. Como modelo de imobilização foi utilizado a órtese de metacrilato de etila segundo a proposta de Silva et al. (2006) apresentado na figura 1. Os ratos tiveram a pata posterior esquerda imobilizada. O tratamento com creatina consistiu na administração do suplemento na concentração de $9,2\text{mg}/100\text{g}/\text{dia}$ através da via orogastrica acompanhando a proposta de BAKER, 2005. Para determinação do conteúdo de glicogênio utilizamos o método do fenol sulfúrico descrito por SIU LO et al (1970). Na avaliação da concentração de proteínas foi utilizado kit laboratorial da marca Bio Diagnóstica® e na concentração de DNA foi utilizado o método da difenilamina o método proposto por GILES & MYERS (1965). As análises que compõem o perfil bioquímico plasmático foram realizadas através de kits laboratoriais LABORTLAB®. Para a realização do teste de peso constante o músculo sóleo foi retirado pesado e submetido à desidratação em estufa a 55°C . A cada hora o músculo foi retirado da estufa e novamente pesado até que o peso manifeste-se homogêneo. A avaliação estatística dos dados foi feita através da ANOVA seguido do teste de Tukey. Em todos os cálculos foi fixado o nível critico de 5%.

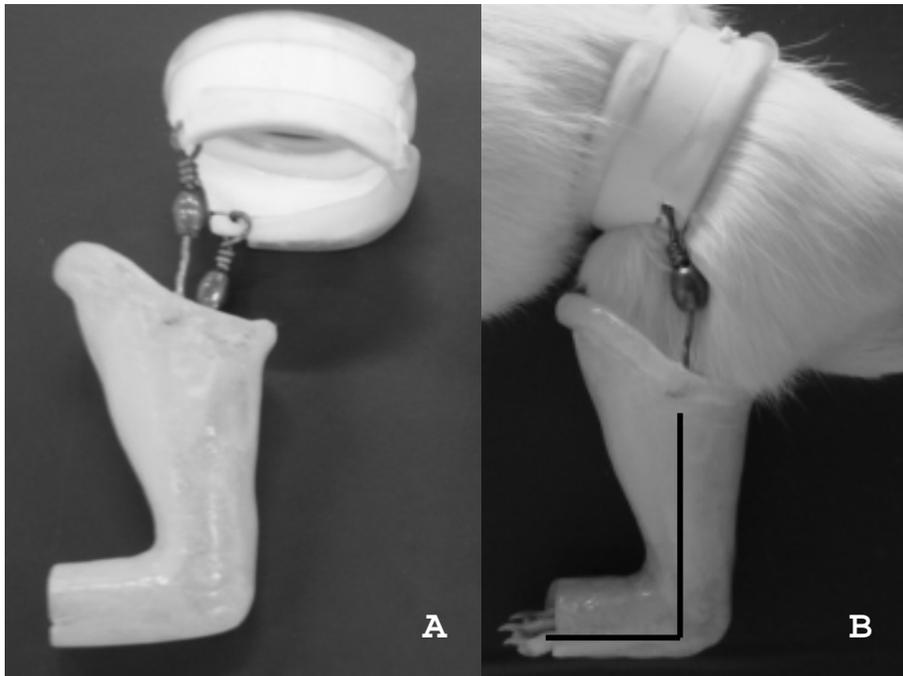


Figura 1 – Adaptação da órtese no membro posterior do animal. (A) modelo de órtese que não interfere na deambulação, porém, permite a descarga de peso no membro imobilizado. (B) modelo de órtese adaptada ao animal mantendo o tornozelo na posição de 90°.

RESULTADOS

Inicialmente realizou-se um estudo cuja ênfase foi avaliar parâmetros bioquímicos indicativos de toxicidade em ratos suplementados com creatina e como pode-se observar na tabela 1, o grupo suplementado não difere do controle, descartando toxicidade em detrimento da suplementação. A seguir foi avaliado o índice de hidratação muscular tendo em vista que alguns substratos metabólicos alteram o equilíbrio homeostático celular. Neste sentido, foi observado que os músculos de ratos suplementados apresentaram elevação de 32% na hidratação se comparado ao grupo controle como mostra a tabela 1.

Com relação ao conteúdo muscular de glicogênio foi verificado que o grupo imobilizado apresentou uma expressiva

redução nas reservas atingindo 39% no sóleo, 59% no gastrocnêmio porção branca e 36% no gastrocnêmio misto. Na seqüência experimental foi avaliado o comportamento das reservas glicogênicas dos músculos normais e imobilizados suplementados com creatina. Nos músculos normais observou-se elevação de 14% nas reservas do músculo sóleo, 15% no gastrocnêmio porção branca e 14% no gastrocnêmio porção mista ($p < 0,05$). Neste ínterim, também foi avaliado o efeito do suplemento nos músculos imobilizados e como se pode observar na tabela 2, o conteúdo glicogênico do músculo sóleo foi elevado em 41%, no gastrocnêmio porção branca a elevação foi de 87% e no gastrocnêmio porção mista observou-se reservas 30% maiores.

Outro fator a se considerar, está relacionado ao peso do músculo sóleo (músculo escolhido devido à precisão de seus limites quando coletado) sendo observado que a imobilização promoveu redução de 30% (vide tabela 3). Cabe ressaltar que a suplementação não modificou o peso do músculo normal, no entanto, promoveu elevação de 12% nos imobilizados. A seguir, foi avaliada a relação proteína total/DNA nos diferentes grupos e observou-se que o grupo imobilizado apresenta

valores 17% menores no sóleo, 24% no gastrocnêmio porção branca e 19% no gastrocnêmio porção vermelha, se comparado ao grupo controle. Por sua vez, ao analisar-se o grupo suplementado observou-se que não difere do controle, por outro lado, o grupo imobilizado suplementado apresentou valores 22% maiores no sóleo, 17% no gastrocnêmio porção branca e 12% no gastrocnêmio porção vermelha, se comparado ao imobilizado não suplementado como mostra a tabela 4.

Tabela 1 – Perfil bioquímico plasmático dos ratos na condição controle e suplementados com creatina. Os valores representam à média \pm epm, n=6. *p<0,05 comparado ao controle.

	Controle	Suplementado com Creatina
Glicose (mg/dL)	105,24 \pm 4,9	108,75 \pm 4,0
Lactato (mmol/L)	1,72 \pm 0,10	1,83 \pm 0,10
Creatinina (μ mol/L)	36 \pm 1,0	38,6 \pm 0,80
AST (aspartatoaminotransferase)	110,80 \pm 1	122,80 \pm 6,80
ALT (alanina aminotransferase)	46 \pm 12	56 \pm 11
% de hidratação do músculo sóleo	15,50%	27,30%*

Tabela 2. Concentração de glicogênio (mg/100mg) dos músculos sóleo (S), gastrocnêmio porção branca (GB) e gastrocnêmio porção mista (GM). Os valores correspondem à média \pm epm, n=6. *p<0,05 comparado ao controle; #p<0,05 comparado ao imobilizado.

Grupos	S	GB	GM
Controle	0,28 \pm 0,01	0,39 \pm 0,01	0,36 \pm 0,01
Imobilizado	0,17 \pm 0,02*	0,16 \pm 0,03*	0,23 \pm 0,02*
Tratado com creatina	0,32 \pm 0,01*, #	0,45 \pm 0,02*, #	0,41 \pm 0,01*, #

Imobilizado tratado com creatina $0,24 \pm 0,02^*$ $0,30 \pm 0,02^*$ $0,30 \pm 0,01^*$
 # # #

Tabela 3. Peso (mg) do músculo sóleo dos diferentes grupos experimentais. Os valores correspondem à média±epm, n=6. *p<0,05 comparado ao controle; #p<0,05 comparado ao imobilizado.

Controle	128,30±10
Imobilizado	90,00±3,3*
Tratado com creatina	126,07±8,2
Imobilizado com creatina	99,13±2,1*,#

Tabela 4. Relação proteína total/DNA dos músculos sóleo (S), gastrocnêmio porção branca (GB) e gastrocnêmio porção mista (GM). Os valores correspondem a média±epm, n=6. *p<0,05 comparado ao controle, #p<0,05 comparado ao imobilizado.

Grupos	S	G B	G M
Controle	145,31±3,3	123,20±11	124,70±23
Imobilizado	120,04±3,6*	93,60±1,4*	100,68±3,8*
Tratado com creatina	147,25±2,6	128,78±21	131,69±19
Imobilizado tratado com creatina	132,12±3,4#	109,95±2,1#	112,96±8,2#

DISCUSSÃO

O músculo esquelético é um dos principais tecidos ligados ao controle glicêmico por apresentar mecanismos responsáveis pela captação, metabolização e reserva de glicose. Esta capacidade decorre da expressão gênica de transportadores do tipo 1 (GLUT1) envolvido na captação basal da glicose e transportadores do tipo 4 (GLUT4) cuja atividade mostra ser dependente da insulina e do aumento na atividade contrátil (MACHADO et al., 2006).

Cerca de 70 a 85% da glicose captada é direcionada a formação de reservatórios de glicogênio ou pode ainda ser oxidada para geração de energia (HENRIKSEN et al., 1990). Neste íterim, destaca-se que as reservas musculares de glicogênio são uma importante fonte de energia durante a atividade contrátil. Desta forma, flutuações no conteúdo, podem interferir no desempenho, ou seja, concomitante a elevação nas reservas observa-se melhora na resistência durante atividade

física, porém, em pequenas quantidades participam dos processos associados à fadiga muscular (SESTI, 2006).

Hirose et al. (2000) estudaram a via sinalizadora da insulina em ratos que tiveram a pata imobilizada por fixação do joelho e tornozelo a 90°, durante sete dias, e verificaram redução na transdução do sinal insulínico, sugerindo déficit na ativação do receptor e nas enzimas ativadas a partir deste, incluindo a fosforilação do IRS-1 (substrato 1 do receptor de insulina) e a ativação da fosfatidil inositol 3-quinase (PI3-K), demonstrando que o quadro de resistência à insulina, também pode ser desencadeado na imobilização. Essa alteração na dinâmica de sinalização da insulina pode explicar os resultados deste estudo, onde foi observado que sob condição aguda de imobilização, houve redução nas reservas musculares de glicogênio indicando o desenvolvimento do quadro de resistência no desuso.

Ainda com relação às reservas musculares de glicogênio, demonstramos que no músculo gastrocnêmio porção branca (fibra tipo II), houve a maior redução no conteúdo se comparado ao sóleo (fibras tipo I). Neste sentido, há de se considerar que a órtese permitia a descarga de peso no membro imobilizado e este fato pode ter contribuído para a diferenciação do efeito se comparar ao músculo sóleo, uma vez que é um músculo postural. Assim, nossos dados corroboram com a literatura em que a órtese aqui utilizada como modelo de imobilização mostrou ser um modelo gerador de resistência á insulina comprometendo a homeostasia das vias metabólicas das fibras musculares.

A escolha de direcionar o estudo à posição do tornozelo a 90°, se deve ao fato de ser a posição anatômica mais utilizada na clínica e também há trabalhos que mantiveram o tornozelo imobilizado na posição de 90°, juntamente com a imobilização das articulações do joelho e quadril, diferenciando de nossa proposta onde a articulação do joelho e quadril se mantém livres (QIN et al., 1997; HIROSE et al., 2000). Dentro destas considerações, a órtese foi capaz de promover na musculatura, alterações metabólicas e na relação proteína total/DNA indicando o desenvolvimento de proteólise, uma vez que, esta relação serve como índices de tamanho celular (ALBANES et al., 1990).

Recentes estudos têm demonstrado que a atrofia é causada pelo balanço negativo protéico cuja taxa de catabolismo supera o anabolismo sendo este fato o principal efeito responsável pela perda de peso, por outro lado, a redução da massa depende da redução no número e/ou tamanho das fibras (ANASTASI et al., 1993; ZDANOWICK e TEIHERG, 2003).

Recentemente Herrera et al. (2001) estudaram a inatividade muscular em membros posteriores de ratos e observaram que o músculo sóleo hipotrofia mais que o extensor longo dos dedos, provavelmente isto tem relação com o tipo de fibra e função muscular durante a condição normal de descarga de peso. Tanaka et al. (2004) também associaram o tipo de fibras ao grau de hipotrofia muscular, sendo que, como o sóleo possui um maior número de fibras tipo I e o extensor longo dos dedos mais fibras do tipo II, o primeiro músculo sofre mais durante a imobilização, devido à menor recrutamento das fibras posturais (PLOUG et al., 1995).

Em nosso trabalho, observamos que o músculo gastrocnêmio porção branca foi o mais afetado pela imobilização e possivelmente se deve ao fato de ser bi-articular e neste modelo de desuso, apresentar limitação na sua condição fisiológica. Assim, por haver descarga de peso, o músculo sóleo recebia estímulo constante enquanto o animal deambulava. Uma vez que, tem sido descrito que frente à elevação da atividade contrátil há elevação na captação de glicose decorrente da translocação de transportadores GLUT 4, é sugestivo o fato que o sóleo adquiriu um status energético diferenciado dos outros músculos, razão pela qual os dados diferem do consenso presente na literatura.

Muitos trabalhos têm despertado interesse na avaliação dos efeitos ergogênicos ligados à suplementação esportiva com ênfase na busca da superação dos limites e aprimoramento da performance. Neste sentido, tem sido constante a busca por adaptações metabólicas associadas a estratégias nutricionais visando ajustar o suprimento à demanda.

Dentro dos inúmeros suplementos disponíveis destacamos a creatina que é um agente ergogênico nutricional eficaz em aumentar a performance no esporte e em tarefas de exercícios de alta intensidade e curto tempo que são dependentes primariamente da fosfocreatina (CASEY & GREENHAFF, 2000). É sabido que a captação tecidual de creatina ocorre através de transportadores denominados CreaT dependentes de sódio ou cloreto e apresentam um Km de 20 a 600 μ M com similaridades aos transportadores de taurina e guanidino- γ -aminobutírico (PERSKY & BRAZEAU, 2001).

Embasado nestas referências optamos por avaliar o índice de hidratação muscular escolhendo para isto o músculo sóleo e observamos que os músculos tratados com creatina se apresentavam mais hidratados se comparado aos não suplementados. Estes resultados mostram que as ações da creatina podem ser facilitadas pela elevação na hidratação tecidual, visto que, um ambiente super-hidratado propicia uma significativa melhora em diferentes funções celulares como, por exemplo, coeficientes de absorção, ação enzimática e síntese protéica (EIJNDE et al., 2001). Neste sentido, recentes estudos sugeriram que a suplementação com creatina, exerce ação anti-catabólica (PARISE et al., 2001).

Os dados aqui apresentados sugerem que as alterações mais evidentes da atrofia ocorrem nos dias iniciais da imobilização e estão de acordo com os estudos de DANCKWARDT-LILLISTROM & SJÖGREN (1976) e APPELL (1986a,b) que demonstraram diminuição da força no músculo imobilizado logo no início do período de imobilização.

A concentração citosólica de creatina é determinada pela captação do substrato uma vez que as fibras musculares não conseguem sintetizá-la (NEWSHOLME & HARDY, 1998). Ao avaliarmos o conteúdo de glicogênio do músculo normal suplementados observamos que houve elevação nas reservas acompanhando a proposta de ROBINSON et al. (1999) e GREEN et al., (1996) os quais observaram que as reservas glicogênicas musculares são potencializadas pela creatina. Esta ação da creatina enquanto potencializadora das vias glicogênicas foi sugerido por NELSON et al.(2001). Cabe

ressaltar que as vias ligadas a esta potencialização nas reservas glicogênicas ainda não são conhecidas, no entanto, sugere-se que o aumento na hidratação celular favorecendo a síntese de glicogênio muscular, considerando que, por razões de hidratação molecular, há facilitação das vias responsáveis pela glicogênese (IPSIROGLU et al., 2001; NEWSHOME et al., 1998).

Com relação à elevação na hidratação existem evidências apontando que o status de hidratação celular é um importante fator que controla o "turnover" de proteínas musculares importantes no controle da homeostasia energética como, por exemplo, o GLUT4 (OLSEN, 2006).

Uma vez hidratadas, as fibras musculares apresentam ativação nas proteínas quinases, principalmente a proteína quinase ativada pelo AMPc (PKA), que apresenta ação predominante na regulação da síntese protéica (EIJNDE et al., 2001).

Dentro da proposta experimental, avaliamos o comportamento glicogênico dos músculos imobilizados frente à suplementação com creatina e observamos que o efeito glicogênico também se manifesta no músculo imobilizado ressaltando que neste caso, o gastrocnêmio porção branca apresentou maiores reservas, destacando que a melhor resposta se refere às fibras tipo II, como sugerido por CASEY et al., 1996.

Um fator importante para considerar é que a creatina age como agente protetor da

musculatura tendo sido descrito em animais e humanos que a creatina previne a perda de GLUT4 em músculos submetidos ao desuso além de promover elevação da população deste receptor até níveis de normalidade na fase de recuperação, fator que facilita a formação de reservas glicogênicas precocemente (EIJNDE et al., 2001; JU et al., 2005; FREIRE et al., 2008).

CONCLUSÃO

A suplementação com creatina promoveu precocemente uma melhora nas condições energéticas tanto nos músculos normais quanto nos imobilizados, além de promover redução na perda de massa classicamente observado no desuso, sem promover toxicidade. Estes resultados sugerem que a suplementação com creatina, podem interferir nas alterações metabólicas desencadeadas pela imobilização mantendo os músculos em melhores condições fato que favorece uma recuperação pós-imobilização mais rápida.

Cabe ressaltar que maiores estudos devem ser desenvolvidos para elucidar os mecanismos de ação ligados à suplementação com creatina, bem como, sua aplicabilidade enquanto ferramenta utilizada no desuso.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBANES, D; SALBE, A. D.; LEVANDER, A. O.; TAYLOR, P. R.; NIXON, D. W.; WINICK, M. The effect of early caloric restriction on colonic cellular growth in rats. Nutr Cancer v. 13 n. 1-2, p. 73-80, 1990.

ANASTASI, G.; MAGAUDDA, L.; PISANI, A; GENOVESE, F.R.; GENOVESE, G.S.; TRINARCHI, F; TRIPOLI, M.C. Atrophy of the soleus muscle in the albino rat induced by immobilization. Int. J. Anat. Embriol. v. 98, n. 2, p. 81-103, 1993.

APPELL, H. J. Skeletal muscles atrophy during immobilization Int. J. Sports Med. v.7, p. 1-5, 1986a.

APPELL, H. J. Morphology of immobilized skeletal muscle and the effects of a pre and post-immobilization training program. Int J. Sports Med. v. 7, p. 6-12, 1986b.

BAKER, D. H. Tolerance form Branched-Chain Amino Acid in experimental animals and humans. J. Nutr, v. 135, p.1585-1590, 2005.

CAIOZZO, V. J.; HADDAD, F.; BAKER, M. J.; HENRRICK, R. E.; PRITTO, N.; BALDWIN, K. M. Microgravity-induced transformations of myosin isoforms and contractile properties of skeletal muscle. J Appl Physiol. v. 81, n. 1, p. 123-32, 1996.

CASEY, A.; CONSTANTIN, T. D.; HOWELL, S.; HULTMANN, E.; GREENHAFF, P.L. Creatine ingestion favorably affects performance and muscle metabolism during maximal exercise in humans. Am J Physiol. v. 271, p. 31-37, 1996.

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

DANCKWARDT-LILLISTROM, G.; SJOGREN, S. Postoperative restoration of muscle strength after intramedullary nailing of fractures of the femoral shaft. Acta Orthop. Scand. v. 47, p. 101-107, 1976.

EIJNDE, B. O.; URSO, B.; RICHTER, E. A.; GREENHAFF, P.; HESPEL, P. Effect of oral creatine supplementation on human muscle GLUT4 protein content after immobilization. Diabetes v. 50, n. 1, p. 18-23, 2001.

FREIRE, T. O.; GUALANO, B.; LEME, M. D.; POLACOW, V. O.; LANCHA, J. R. Efeito da suplementação de creatina na captação de glicose em ratos submetidos ao exercício físico. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*. v. 14, n. 5, p. 1-8, 2008.

GILES, K. W.; MYERS, A. An improved diphenylamine method for the estimation of deoxyribonucleic acid. *Nature*. v. 206, n. 4979, p. 93, 1965.

GREEN, A. L.; SEWELL, D.; SIMPSON, L.; HULTMAN, E.; MacDONALD, I. A; GREENHAFF, P. L. Creatine ingestion augments muscle creatine uptake and glycogen synthesis during carbohydrate feeding in man. *J. Physiol*. v. 491, p. 63-64, 1996.

GUOYAO, Wu. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino Acids* v. 37, p. 1–17, 2009

HALAR, E. M.; KATHLEEN, R. B. Imobilidade. In: DeLISA, J. A. *Tratado de Medicina e Reabilitação: Princípios e práticas*, São Paulo Manole, 2ªed., v. 2, 1067-1087, 2002.

HENRIKSEN, E. J.; BOUREY, R. E.; RODNICK, K. J.; KORANYI, L.; PERMUTT, M. A.; HOLLOSZY, J. O. Glucose transporter protein content and glucose transport capacity in rat skeletal muscles. *Am. J. Physiol*. v. 259, p. E593 - E598, 1990.

HERRERA, N. M; ZIMMERMAN, A. N.; DYKSTRA, D. D.; THOMPSON, L. V. Clenbuterol in the prevention of muscle atrophy: a study of hindlimb-unweighted rats. *Arch Phys Med Rehabil*. v. 82, p. 930-934, 2001.

HIROSE, M.; KANEKI, M.; SUGITA, H.; YASUHARA, S.; MARTYN, J. A. Immobilization depress insulin signaling in skeletal muscle. *Am. J. Physiol*. v. 279, n. 6, p. E1235-1241, 2000.

JAFFE, D. M.; TERRY, R. D.; SPIRO, A. J. Disuse atrophy of skeletal muscle. A morphometric study using image analysis. *J. Neurol. Sci*. v. 35, p. 189-200, 1978.

JU, J. S.; SMITH, J. L.; OPPELT, P. J.; FISCHER, J. S. Creatine feeding increases GLUT4 expression in rat skeletal muscle. *Am J. Physiol Endocrinol*. v. 288, p. 347-352, 2005.

MACHADO, U. F.; SCHAAN, B. D.; SERAPHIM, P. M. Transportadores de glicose na síndrome metabólica. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*. v. 50, n. 2, p. 1-14, 2006.

NELSON, A. G.; ARNALL, D. A.; KOKKONEN, J.; DAY, R.; EVANS, J. Muscle glycogen supercompensation is enhanced by prior creatine supplementation. *Med. Sci. Sports Exerc*. v. 33, n. 7, p.1096-1100, 2001.

NEWSHOLME, E. A; HARDY, G. Creatine: A review of its nutritional Applications in Sport. Nutrition. v. 14, p. 322-324, 1998.

NICHOLSON, W. F.; WATSON, P. A. Glucose uptake and glycogen synthesis in muscles from immobilized limbs. J Appl Physiol. v. 56, p. 431-35, 1984.

OLSEN, S.; AAGAARD, P.; KADI, F.; TUFEKOVIC, G.; VERNEY, J.; OLESEN, J. L.; SUETTAC, K. J; AER, M. Creatine supplementation augments the increase in satellite cell and myonuclei number in human skeletal muscle induced by strength training. J Physiol v. 573, p. 525–534, 2006.

PARISE, G.; MIHIC, S.; MACLENNAN, D.; YARASHESKI, K. E.; TARNOPOLSKY, M. A. Effects of acute creatine monohydrate supplementation on leucine kinetics and mixed-muscle protein synthesis. J Appl Physiol. v. 91, n. 3, p.1041-1047, 2001.

PEARLMAN, J. P.; FIELDING, R.A. Creatine monohydrate as a therapeutic aid in muscular dystrophy. Nutr Rev. v. 64(2 Pt 1), p. 80-88, 2006.

PERSKY, A. M.; BRAZEAU, A. G. Clinical pharmacology of the dietary supplement creatine monohydrate. Pharmacol. Review. v. 53, p. 161-176, 2001.

PLOUG, T.; OHKUWAT, A. O.; HANDBERG, A.; VISSING, J.; GALBO, H. Effect of immobilization on glucose transport and glucose transport expression in rat skeletal muscle. Am. J. Endocrinol. Metab. v. 268, p. E980-E986, 1995.

QIN, L.; APELL, H. J.; CHAN, K. M.; MAFFULLI, N. Electrical stimulation prevents immobilization atrophy in skeletal muscle of rabbits. Arch. Phys. Med. Rehabil. v. 7, n. 8, p. 512-517, 1997.

REARDON, K. A.; FRACP, B. S.; DAVIS, J.; KAPSA, R. M. I.; CHOONG, P.; FRACS, M.D., BYRNE, E. Myostatin, insulin-like growth factor-1, and leukemia inhibitory factor Mrnas are up regulated in chronic human disuse muscle atrophy. Muscle e Nerve. v. 24, p. 893-899, 2001.

ROBINSON, T. M.; SEWELL, D. A.; HULTMAN, E.; GREENHALFF, P. L. Role of submaximal exercise in promoting creatine and glycogen accumulation in human skeletal muscle. J. Appl. Physiol. v. 87, p. 598-604, 1999.

SESTI, G. Pathophysiology of insulin resistance. Best. Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab. v. 2, n. 4, p. 665-679, 2006.

SILVA, C. A; GUIRRO, R. R. J.; POLACOW, M. L. O.; DURIGAN, J. L. Q. Proposal for rat hindlimb

CA, C. A. S. et al./Revista Eletrônica de Farmácia Vol 6(4), 99 - 113, 2009.

joint immobilization: orthosis with acrylic resin model. Br J Med Biol Res v. 39, p. 979-985, 2006.

SIU, L. O.; RUSSEAU, J. C.; TAYLOR, A. W. Determination of glycogen in small tissue samples. J. Appl. Physiol., v. 28, n. 2, p. 234-236, 1970.

TANAKA, T.; KARIYA, Y.; HOSHINO, Y. Histochemical study on the changes in muscle fibers in relation to the effects of aging on recovery from muscular atrophy caused by disuse in rats. J. Orthop. Sci. v.9, p.76-85, 2004.

VAYA, A.; FALCO, C.; REGANON, E.; VILA, V.; MARTINEZ-SALES, V.; CORELLA, D.; CONTRERAS, M.T.; AZNAR, J. Influence of plasma and erythrocyte factors on red blood cell aggregation in survivors of acute myocardial infarction. Thromb Haemost. v. 91, n. 2, p. 354-9, 2004.

ZDANOWICZ, M. M.; TEICHBERG, S. Effects on insulin-like growth factor-1/binding protein-3 complex on muscle atrophy in rats. Exp Biol Med. v. 228, n. 8, p. 9891-897, 2003.