

AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DA SUPLEMENTAÇÃO DE CREATINA NO TRATAMENTO DA COLITE ULCERATIVA EM RATOS

JORDAN TEIXEIRA OLIVEIRA¹, FERNANDA FERREIRA NÚÑEZ², RAFAEL GIANELLA MONDADORI³, SIMONE PIENIZ⁴

¹Universidade Federal de Pelotas – jordan_teixeira@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – fernandafnunez@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – rgmondadori@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – nutrisimone@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

A colite ulcerativa (UC) assim como a doença de Crohn, é uma Doença Inflamatória Intestinal (DII) crônica e idiopática, entretanto, a UC afeta exclusivamente o intestino grosso. A doença é caracterizada pela inflamação da mucosa do cólon, atingindo um segmento ou todo o seu comprimento. Apresenta sintomas como ulceração, sangramento, inflamação colônica, alterações na motilidade intestinal, diarreia e dor abdominal, podendo variar de leve a severa (GAJENDRAN et al., 2019; CLEVELAND et al., 2022).

Dentre as terapias farmacológicas mais utilizadas no tratamento da doença encontram-se os aminossalicilatos, os glicocorticoides, os imunossupressores e as terapias biológicas direcionadas (CHANG, 2020). Além de intervenções dietéticas, alternativas terapêuticas com compostos naturais vêm sendo estudadas (LIU et al., 2020; WALLIMANN et al., 2021), devido ao elevado índice de efeitos colaterais causados pelas terapias farmacológicas e seus elevados custos, havendo a necessidade de investigação de novas abordagens (WANG et al., 2020).

Entre os compostos que vêm adquirindo destaque como potencial agente terapêutico na UC, encontra-se a creatina (WALLIMANN et al., 2021), que pode ser sintetizada endogenamente ou ingerida por meio da alimentação. A suplementação oral com creatina monohidratada pura é muito utilizada como recurso ergogênico na prática esportiva, devido a sua capacidade de aumentar os estoques musculares de creatina e fosfocreatina (SOUZA E SILVA et al., 2019; WALLIMANN et al., 2021). Como o músculo liso intestinal e as células epiteliais intestinais também são dependentes do sistema creatina quinase/fosfocreatina como precursor energético, e a suplementação com creatina já demonstrou eficácia em melhorar o estado energético celular, aumentar a resiliência celular contra diversos agentes estressores, modular o sistema imunológico, apresentar ação antioxidante e anti-inflamatória, e atenuar a dor nociceptiva, esta apresenta elevado potencial terapêutico nas DII (WALLIMANN et al., 2021).

Portanto, devido ao número limitado de estudos que avaliem o potencial terapêutico da creatina nas DII, e a necessidade de novas abordagens de tratamento para a doença, o presente estudo teve por objetivo avaliar os efeitos bioativos da suplementação de creatina monohidratada na UC induzida por ácido acético em ratos *Wistar*.

2. METODOLOGIA

Com relação ao delineamento experimental, foram utilizados 48 modelos biológicos de ratos *Wistar* machos com 60 dias de idade, provenientes do Biotério Central da UFPEL. Estes foram divididos randomicamente em seis grupos compostos por oito (n=8) animais cada: grupo controle (apenas ração padrão), grupo controle + creatina 2% (ração padrão com 2% de creatina), grupo controle +

creatina 4% (ração padrão com 4% de creatina), grupo colite (apenas ração padrão), grupo colite + creatina 2% (ração padrão com 2% de creatina) e grupo colite + creatina 4% (ração padrão com 4% de creatina), do 1º ao 19º dia de experimento.

Após 16h de jejum, a UC foi induzida com ácido acético (4%), sob anestesia leve com isoflurano (inalação). Os animais dos grupos colíticos foram tratados com 2 ml de ácido acético (4%), que foi inserido no cólon via intra-retal. Os grupos controles foram tratados com 2 ml de solução salina utilizando o mesmo método (MOUSAVIZADEH et al., 2009; BHARGAVI et al., 2019). No 19º dia de experimento os animais foram submetidos a um jejum de 3h e, posteriormente, sedados com isoflurano e eutanasiados por punção cardíaca. O trato gastrointestinal foi dissecado e armazenado parte em 10% de formalina tamponada, e parte armazenado para análises complementares.

Para a análise microscópica, a terceira parte distal do cólon foi cortada longitudinalmente e fixada em paraformaldeído tamponado a 4%. As secções embebidas em parafina, cortadas em seções de 5 µm foram coradas com hematoxilina-eosina e as imagens foram analisadas em microscópio.

Nas secções colônicas foram avaliados três parâmetros, segundo Gil-Martinez et al. (2019): (I) *gravidade da inflamação*: 0, ausência de células inflamatórias na lâmina própria; 1, granulócitos na lâmina própria; 2, células inflamatórias estendendo-se para a submucosa; e 3, infiltrado inflamatório; (II) *dano à cripta*: 0, criptas intactas; 1, perda do terço basal; 2, perda dos dois terços basais; 3, perda total da cripta; 4, alteração da superfície epitelial com erosão; e 5, erosão confluinte; e (III) *ulceração*, 0, ausência de úlcera; 1, um ou dois focos de ulcerações; 2, três ou quatro focos de ulcerações; e 3, ulceração confluinte ou extensa. Os parâmetros foram somados, sendo que o máximo escore histológico para colite grave é igual a 11 (LAROUI et al., 2012).

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software R (R Core Team, 2024). Para as comparações inferenciais voltadas especificamente à avaliação do efeito protetor da creatina sobre a colite, apenas os grupos colíticos foram incluídos na análise. As diferenças globais entre os grupos foram avaliadas por meio do teste de Kruskal-Wallis H para cada parâmetro de lesão. Quando foi detectada diferença global significativa, foram realizadas comparações pareadas pós-hoc pelo teste de Wilcoxon Rank-Sum. Os valores de p obtidos nesses testes foram ajustados pelo método de Bonferroni. A significância estatística para todos os testes foi estabelecida em $p < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, estão apresentados os resultados da avaliação microscópica do cólon dos animais saudáveis e induzidos. Os animais do grupo controle, que não receberam a indução a UC, obtiveram nota zero em todos os três parâmetros avaliados, resultando em um score total zero para os três grupos. Isso indica que os animais não apresentaram nenhum tipo de dano tecidual ou inflamação, o que já era esperado, visto que estes animais não receberam a indução.

No parâmetro gravidade da inflamação dos animais que receberam a indução, a creatina (4%) reduziu significativamente a severidade da inflamação em relação ao grupo colite sem tratamento ($p < 0,05$), mas não houve diferença entre as duas concentrações de creatina. No dano na cripta, embora o teste de Kruskal-Wallis tenha indicado diferença significativa, nenhuma das comparações entre os grupos manteve a significância estatística após a correção de Bonferroni, portanto não houve diferença significativa entre os grupos colite e para os tratamentos com

creatina neste critério ($p>0,05$). No parâmetro ulceração, tanto os animais que receberam creatina (2%) quanto creatina (4%) reduziram significativamente a ulceração comparado ao grupo colite sem tratamento ($p<0,05$), sem diferença entre as doses.

Tabela 1. Escala de gravidade da inflamação na avaliação microscópica do cólon

Grupo	Gravidade da inflamação	Dano na cripta	Ulceração	Escore total
Controle	0	0	0	0
Controle 2%	0	0	0	0
Controle 4%	0	0	0	0
Colite	3 ^a	4 ^a	3 ^a	10 ^a
Colite 2%	2 ^{ab}	2 ^a	1 ^b	5 ^{ab}
Colite 4%	1 ^b	0 ^a	0 ^b	1 ^b

*O escore de gravidade da inflamação é de 0-3, de dano na cripta de 0-5 e ulceração de 0-3. Os três escores foram somados, sendo que o escore máximo é 11. ^{a,b} Letras diferentes indicam diferença significativa entre os grupos ($p<0,05$).

Os animais que receberam a indução por ácido acético apresentaram extensas alterações no cólon, sendo o escore total mais alto (10) obtido pelo grupo colite sem tratamento. O grupo que recebeu creatina (4%) reduziu significativamente o escore total da lesão histológica ($p<0,05$), enquanto a dose de 2% não mostrou redução significativa ($p>0,05$).

Os resultados obtidos neste estudo corroboram com achados prévios que apontam a creatina como um modulador dos processos inflamatórios intestinais. Glover et al. (2013) demonstraram que o metabolismo da creatina grande participação na função da mucosa intestinal, homeostase e resolução da inflamação, por meio da regulação das isoformas de creatina quinase (mitocondriais e citosólicas). Nesse mesmo estudo, a suplementação com creatina em modelo experimental de colite foi capaz de reduzir o escore histológico de inflamação e diminuiu a expressão de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β , IL-6, TNF- α e IFN- γ .

Huai et al. (2024) reforçaram a relação entre o metabolismo mitocondrial e as DII, descrevendo que a disfunção mitocondrial está associada à redução da produção de adenosina trifosfato (ATP), aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS) e ativação exacerbada de vias inflamatórias. Nesse contexto, a suplementação com creatina conseguiu restaurar o metabolismo energético mitocondrial, reduzir o estresse oxidativo, modular a resposta imune e reforçar a integridade da barreira intestinal, promovendo melhora clínica e histológica da colite. Esses mecanismos descritos na literatura sustentam a hipótese de que o efeito protetor observado neste estudo decorre, em grande parte, da restauração da bioenergética celular e do equilíbrio da resposta inflamatória.

4. CONCLUSÕES

A suplementação com creatina apresentou efeito benéfico sobre a UC induzida em ratos, principalmente na redução da inflamação e da ulceração do cólon. Esses efeitos foram mais evidentes na dose de 4%, que também resultou em menor escore total de lesão histológica. Assim, os achados sugerem que a creatina, além de seu papel ergogênico já conhecido, pode atenuar as alterações histológicas associadas à colite. Contudo, estudos adicionais são necessários para

esclarecer os mecanismos envolvidos e estabelecer a dose mais adequada para garantir eficácia e segurança.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BHARGAVI, N. S. R.; POOJARI, S.; MOHAN, M. Effect of Ethanolic Extract of Seeds of *Solanum torvum* in Acetic Acid induced Ulcerative Colitis in Male Wistar Rats. **Journal of Basic & Applied Sciences**, v. 15, p. 64-72, 2019.
- CLEVELAND, N. K.; TORRES, J.; RUBIN, D. T. What Does Disease Progression Look Like in Ulcerative Colitis, and How Might It Be Prevented? **Gastroenterology**, v. 162, p. 1396–1408, 2022.
- CHANG, J. T. Pathophysiology of Inflammatory Bowel Diseases. **New England Journal of Medicine**, v. 383, p. 2652-2664, 2020.
- GAJENDRAN, M.; LOGANATHAN, P.; JIMENEZ, G.; CATINELLA, A.P.; NG, N.; UMAPATHY, C.; ZIADE, N.; HASHASH, J.G. A comprehensive review and update on ulcerative colitis. **Disease-a-month : DM**, v. 65, p. 100851, 2019.
- GIL-MARTÍNEZ, A. L. et al. Local Gastrointestinal Injury Exacerbates Inflammation and Dopaminergic Cell Death in Parkinsonian Mice. **Neurotoxicity Research**, v. 35, n. 4, p. 918–930, 1 maio 2019.
- GLOVER, L. E.; BOWERS, B. E.; SAEEDI, B.; EHRENTRAUT, S. F.; CAMPBELL, E. L. et al. Control of creatine metabolism by HIF is an endogenous mechanism of barrier regulation in colitis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 110, p. 19820–19825, 2013.
- HUAI, M. et al. Oral creatine-modified selenium-based hyaluronic acid nanogel mediated mitochondrial energy recovery to drive the treatment of inflammatory bowel disease. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 22, n. 1, p. 740, 28 nov. 2024.
- LAROUI, H.; INGERSOLL, S. A.; LIU, H. C. et al. Dextran Sodium Sulfate (DSS) Induces Colitis in Mice by Forming Nano-Lipocomplexes with Medium-Chain-Length Fatty Acids in the Colon. **PLoS ONE**, v. 7, n. 3, p. 1-12, 2012.
- LIU, Y.; WANG, X.; CHEN, Q.; LUO, L.; MA, M.; XIAO, B.; ZENG, L. Camellia sinensis and Litsea coreana Ameliorate Intestinal Inflammation and Modulate Gut Microbiota in Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis Mice. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 64, p. 17-27, 2020.
- MOUSAVIZADEH, K.; RAHIMIAN, R.; FAKHFOURI, G.; ASLANI, F.S.; GHAFOURIFAR, P. Anti-inflammatory effects of 5-HT receptor antagonist, tropisetron on experimental colitis in rats. **European journal of clinical investigation**, v. 39, p. 375–383, 2009
- R CORE TEAM. *R: A language and environment for statistical computing*. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2024. Disponível em: <https://www.R-project.org/> Acesso em: jul. 2025.
- SOUZA E SILVA, A. de; PERTILLE, A.; BARBOSA, C. G. R.; SILVA, J. A. O.; JESUS, D. V. de; RIBEIRO, A.; BAGANHA, R. J.; OLIVEIRA, J. J. de. Effects of Creatine Supplementation on Renal Function: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Journal of renal nutrition: the official journal of the Council on Renal Nutrition of the National Kidney Foundation**, v. 29, p. 480–489, 2019.
- WALLIMANN, T.; HALL, C.; COLGAN, S. P.; GLOVER, L. E. Creatine Supplementation for Patients with Inflammatory Bowel Diseases: A Scientific Rationale for a Clinical Trial. **Nutrients**, v. 13, p. 1429, 2021.
- WANG, Q.; MI, S.; YU, Z.; LI, Q.; LEI, J. Opening a Window on Attention: Adjuvant Therapies for Inflammatory Bowel Disease. **Canadian journal of gastroenterology & hepatology**, 7397523, 2020.