

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 secções 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 confluyente; e (III) *ulceração*, 0, ausência de úlcera; 1, um ou dois focos de ulcerações; 2, três ou quatro focos de ulcerações; e 3, ulceração confluyente ou extensa. Os parâmetros foram somados, sendo que o máximo escore histológico para colite grave é igual a 11 (LAROUÏ 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.; EHRENTAUT, 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.
- HUALI, 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.
- LAROUÏ, 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.; GHAFORIFAR, 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.