

CARLOS ALBERTO ABUJABRA MEREGE FILHO

Efeito da suplementação de creatina sobre a cognição em crianças saudáveis.

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em
Ciências

Programa de: Ciências Médicas

Área de concentração: Processos Imunes
e Infeciosos

Orientador: Prof. Dr. Bruno Gualano

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018/11, de 1 de novembro de 2011. A versão original está disponível na Biblioteca da FMUSP)

SÃO PAULO
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Merege Filho, Carlos Alberto Abujabra
Efeito da suplementação de creatina sobre cognição em crianças saudáveis /
Carlos Alberto Abujabra Merege Filho. -- São Paulo, 2016.
Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Ciências Médicas. Área de Concentração: Processos Imunes e
Infecciosos.
Orientador: Bruno Gualano.

Descritores: 1.Criança 2.Cognição 3.Metabolismo 4.Cérebro 5.Fosfocreatina
6.Medicina nuclear 7.Creatina

USP/FM/DBD-065/16

Dedico essa dissertação a todas as crianças do mundo.

Agradecimentos

Agradeço, primeiramente, as crianças que participaram desse estudo.

Agradeço a minha família, em especial, aos meus pais **Carlos e Rita**, aos meus irmãos **Daniel e Cássia**.

Agradeço aos amigos **Henrique Lemos e André Machado** pela partilha dos momentos bons, que são muitos, e ruins ao longo dessa jornada.

Agradeço aos amigos do Laboratório de Nutrição e Metabolismo. Em especial, agradeço aos amigos **Igor, Wagner, Christiano, Vitão e William** por todos esses anos de ensinamentos e diversão (por todas as cervejas!!)

Agradeço ao Professor **Antônio Herbert Lancha Junior**, pelos ensinamentos e oportunidades.

Agradeço os amigos e colaboradores do Laboratório de Avaliação e Condicionamento em Reumatologia, em especial, as doutoras **Ana Lúcia e Fernanda Lima** pelo apoio e oportunidades propiciadas nesse período.

Agradeço ao Professor **André dos Santos Costa**, por tudo que faz por mim. Faltariam palavras para descrever.

Agradeço a Professora **Sônia Brucki e Maira Okada** pela atenção e colaboração em nossos trabalhos.

Agradeço a **Dra. Maria Otaduy** por essa parceria fundamental na execução desse trabalho.

Agradeço a todos os colaboradores do Hospital das Clínicas, especialmente do serviço de Reumatologia.

Agradeço as Professoras **Rosa Pereira e Eloisa Bonfá** pela oportunidade de executar esse trabalho.

Agradeço a todos os meus amigos, por essa vida maravilhosa!

Finalmente, agradeço ao Professor **Bruno Gualano** (meu orientador) pela partilha do conhecimento, pela colaboração e paciência durante todo o mestrado. Sou grato por tudo o que ele tem feito por mim.

Sumário

Lista de abreviaturas	viii
Lista de tabelas	viii
Lista de figuras	x
Resumo	xi
Abstract	xii
1. Introdução.....	1
2. Objetivos.....	3
2.1. Objetivo geral.	3
2.2. Objetivos específicos.	3
3. Revisão de literatura.....	4
3.1. Suplementação de Creatina e metabolismo energético cerebral.....	4
3.1.1. Metabolismo energético cerebral.....	4
3.1.2. Metabolismo da Creatina.....	8
3.1.3. Creatina e sistema nervoso central	9
4. Metodologia	15
4.1. Casuística	15
4.2. Avaliações do estudo.	16
4.2.1. Suplementação e vendamento.....	18
4.2.2. Avaliação maturacional, antropométrica e socioeconômica.	18
4.2.3. Bateria de testes cognitivos.	19
4.2.3.1 Teste Stroop de cores e palavras.	19
4.2.3.2. “Rey’s auditory verbal learning paradigm (RAVLT).....	19
4.2.3.3. Matrizes Progressivas de Raven – escala geral (MPCR).....	20
4.2.3.4. Teste de Trilhas.	20
4.3. Avaliação nutricional	21
4.5. Análises estatísticas.....	22
5. Resultados.....	23
6. Discussão	29
7. Conclusão.....	34
8. Referências.....	35
9. Anexos	41

Lista de abreviaturas

ADP – adenosina difosfato

ATP C adenosina trifosfato

B-CK – *brain creatine kinase*

Cr – creatina

CK – creatina quinase

EEFE-USP – Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo

g – gramas

HCFMUSP – Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

INRad – Instituto de Radiologia

Kg – quilogramas

LACRE – Laboratório de Avaliação e Condicionamento em Reumatologia

LabNutri – Laboratório de Nutrição e Metabolismo Aplicados a Atividade Motora

MPCR – Matrizes progressiva coloridas de Raven

PCr – fosforilcreatina

RAVLT – *Rey's auditory verbal learning paradigm*

SNC – sistema nervoso central

TR – tempo de repetição

TE – tempo de eco

uMtCK – *ubiquitous mitochondrial creatine kinase*

VOI – volume de interesse

1H-ERM – espectroscopia por ressonância magnética de hidrogênio**Lista de tabelas**

Tabela 1. Efeito da suplementação de creatina, com ou sem estresse mental, sobre a cognição em adultos e idosos. 12

Tabela 2 Características dos participantes do estudo. 25

Tabela 3 Desempenho cognitivo ante e após a suplementação com creatina ou placebo..... 27

Lista de figuras

Figura 1. Metabolismo energético cerebral.	173
Figura 2. Desenho experimental.....	17
Figura 3. Fluxograma do estudo.....	24
Figura 4. Concentrações cerebrais de creatina antes e após o protocolo de suplementação.	28

Resumo

Merege Filho CAA. Efeito da suplementação de creatina sobre a cognição em crianças saudáveis [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2016.

Introdução: Postula-se que a creatina (ácido-metil-guanadino-acético), descrita como um “tampão energético” dos processos metabólicos cerebrais, poderia melhorar o desempenho cognitivo nos indivíduos em desenvolvimento. **Objetivo:** Investigar os efeitos da suplementação com creatina na função cognitiva e nas concentrações cerebrais em crianças saudáveis. **Métodos:** O presente ensaio-clínico, duplo-cego, randomizado e controlado por placebo, foi composto por 67 crianças saudáveis com idades entre 10 e 12 anos ($11,5 \pm 0,8$). Os participantes receberam 0,3g/Kg/dia de creatina monohidratada ($n=35$) ou dextrose ($n=32$). No período basal, e após sete dias de intervenção, os participantes foram submetidos à bateria de testes cognitivos. Em uma sub amostra aleatória de participantes (creatina: $n = 11$ e placebo: $n = 10$), as concentrações cerebrais de creatina foram avaliadas no córtex pré-frontal dorsolateral esquerdo, hipocampo esquerdo e lobo occipital, pela técnica de espectroscopia por ressonância magnética (1H-ERM). **Resultados:** Os escores obtidos nos testes de função executiva e aprendizagem verbal não foram estaticamente diferentes entre os grupos antes ou após a intervenção ($p > 0,05$). As concentrações cerebrais de creatina (expresso em mmol/L) não foram estaticamente diferentes entre os grupos no córtex pré-frontal dorsolateral esquerdo (creatina – pré: $6,9 \pm 0,8$, pós: $6,7 \pm 0,5$; placebo – pré: $6,7 \pm 0,8$; pós: $6,9 \pm 0,09$; $p = 0,50$), hipocampo esquerdo (creatina – pré: $7,0 \pm 0,5$, pós: $6,8 \pm 0,7$; placebo – pré: $6,7 \pm 1,0$; pós: $6,6 \pm 1,9$; $p = 0,80$), e no lobo occipital (creatina – pré: $7,9 \pm 0,9$, pós: $8,1 \pm 0,8$; placebo – pré: $7,7 \pm 0,4$; pós: $7,8 \pm 0,5$; $p = 0,70$). **Conclusão:** o protocolo de suplementação de creatina por sete dias mostrou-se incapaz de provocar aumento nas concentrações cerebrais de creatina ou no desempenho cognitivo em crianças. Esses dados sugerem que essa população depende principalmente da síntese cerebral do que a creatina exógena para manter a homeostase desse nutriente no cérebro.

Descritores: criança; cognição; metabolismo; cérebro; fosfocreatina; medicina nuclear; creatina.

Abstract

Merege Filho CAA. Effect of creatine supplementation upon cognition in healthy children [dissertation]. Sao Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2016.

Background: It has been hypothesized that creatine (α -methyl-guanidine-acetic acid), which is thought to energetically buffer brain metabolic processes, could enhance cognitive performance in developing individuals. **Aims:** This study aimed to investigate the effects of creatine supplementation on cognitive function and brain creatine concentration in healthy youth. **Methods:** This was a 7-day, double-blind, randomized, placebo-controlled study. The sample comprised 67 healthy children aged 10 to 12 years. The participants were given either creatine supplementation ((0.3 g/Kg/day; n = 35) or 2) placebo (dextrose; n = 32). At baseline and after 7 days of intervention, participant undertook a battery of cognitive tests. In a random sub-sample of participants (creatine: n = 11 and placebo: n = 10), brain creatine concentration was also assessed in left dorsolateral prefrontal cortex, left hippocampus, and occipital lobe, by proton magnetic resonance spectroscopy (1H-MRS) technique. **Results:** As a result, scores obtained from Rey Auditory Learning Test, Stroop Test, Trail Making Test, and Raven Progressive Matrices did not significantly differ between groups at baseline or after the intervention (all $p > 0.05$). Creatine concentration (expressed in mmol/L) was not significantly different between groups in left dorsolateral prefrontal cortex (*creatine* – pre: 6.9 ± 0.8 , post: 6.7 ± 0.5 ; *placebo* – pre: 6.7 ± 0.8 ; post: 6.9 ± 0.09 ; $p = 0.50$), left hippocampus (*creatine* – pre: 7.0 ± 0.5 , post: 6.8 ± 0.7 ; *placebo* – pre: 6.7 ± 1.0 ; post: 6.6 ± 1.9 ; $p = 0.80$), and occipital lobe (*creatine* – pre: 7.9 ± 0.9 , post: 8.1 ± 0.8 ; *placebo* – pre: 7.7 ± 0.4 ; post: 7.8 ± 0.5 ; $p = 0.70$). **Conclusion:** In conclusion, a 7-day creatine supplementation protocol did not elicit improvements in brain creatine concentration or cognitive performance in healthy youth, suggesting that this population mainly rely in brain creatine synthesis rather than exogenous creatine intake to maintain brain creatine homeostasis.

Descriptors: child; cognition; metabolism; brain; phosphocreatine; nuclear medicine; creatine.

1. Introdução

A creatina (ácido-metil-guanadino-acético) é uma amina nitrogenada encontrada principalmente em carnes de peixes, vermelhas e brancas. Além disso, a creatina (Cr) pode ser produzida endogenamente a partir das enzimas L-arginina e S-adenosil-L-metionina no fígado, rins, pâncreas e no cérebro. A Cr tem como função central a rápida provisão de energia durante a contração muscular envolvendo a transferência do grupo N-fosforil da fosforilcreatina (PCr) para o ADP, regenerando o ATP, através da reação reversível catalisada pela enzima creatina quinase (CK) (Wyss e Kaddurah-Daouk 2000). Além disso, a Cr é responsável pela transferência de energia entre os sítios de produção (mitocôndria) e consumo de ATP nas células (Wyss e Wallimann 1994). Embora aproximadamente 95% do conteúdo de Cr esteja presente dentro do musculoesquelético, essa amina por ser encontrada em outros tecidos “excitatórios”, incluindo o cérebro (Andres et al. 2008).

Interessantemente, a Cr desempenha um importante papel fisiológico no cérebro, no qual é suportado por *(i)* presença de isoformas de CK no sistema nervoso central e na medula, *(ii)* distúrbios mentais (ex: deficiência intelectual, autismo, atraso na aquisição da fala) provocados pela depleção da Cr cerebral em síndromes de deficiência de Cr, e *(iii)* reversão parcial desses sintomas após a suplementação oral com Cr (Stockler et al. 1994, Kaldis et al. 1996, Salomons et al. 2003). De fato, isso tem sido demonstrado pela habilidade da Cr em ultrapassar a barreira hematoencefálica e aumentar o metabolismo energético cerebral em humanos (Dechent et al. 1999). Contudo, os estudos que demonstraram aumentos das concentrações de Cr cerebral após a suplementação com Cr envolvem sujeitos adultos saudáveis (Dechent et al. 1999, Lyoo et al. 2003, Pan e Takahashi 2007),

enquanto que as investigações com populações pediátricas são limitadas em crianças com síndromes de deficiência de Cr.

Conseqüentemente, o resultado fisiológico do aumento nas concentrações cerebrais de Cr é a melhora da função cognitiva. De fato, alguns estudos (Stockler et al. 1994, McMorris et al. 2007, Ling et al. 2009, Hammett et al. 2010, Turner et al. 2015), mais não todos (Rawson, et al. 2008; Alves et al. 2013a; Alves et al. 2013b), evidenciaram efeitos benéficos da suplementação de Cr em numerosos aspectos cognitivos, particularmente nos sujeitos em condições de estresse (ex: privação de sono, exercício extenuante, hipóxia), em pacientes com doenças genéticas (ex: defeito no transportador de creatina) ou distúrbios psiquiátricos (ex: depressão severa, distúrbios pós-traumáticos), que potencialmente conduzem a um depleção da Cr cerebral.

Existem evidências que a suplementação com Cr pode melhorar a memória (avaliada pelo teste de recordar palavras) em vegetarianos, mas não em onívoros, adultos (Benton e Donohoe 2011). Notavelmente, estudos direcionados a avaliarem a habilidade da ingestão oral de Cr em aumentar as concentrações cerebrais e, ainda, melhorar o desempenho cognitivo em crianças e adolescentes saudáveis permanecem atualmente escassos.

A suplementação com Cr tem sido descrita como um “tampão energético” dos processos metabólicos cerebrais, em última análise, prevenindo a exaustão energética ou a morte celular (Andres et al. 2008). Além disso, um aumento no consumo de ATP e PCr ocorre durante a realização de tarefas mentais (ex; cálculo matemático), e a suplementação com Cr mostrou-se hábil em melhorar o

desempenho cognitivo, pelo menos em adultos (Watanabe et al. 2002). Em teoria, esse nutriente poderia desempenhar um importante papel na melhora do desempenho mental particularmente em indivíduos em desenvolvimento, que são esperados para exibirem um alto metabolismo cerebral quando comparados aos sujeitos maduros (para revisão ver Erecinska et al. 2004).

Portanto, o objetivo do estudo foi investigar os efeitos da suplementação com Cr sobre a função cognitiva e nas concentrações cerebrais de Cr em crianças saudáveis.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral.

Verificar o efeito da suplementação de Cr sobre o desempenho cognitivo e nas concentrações cerebrais de creatina em crianças saudáveis

2.2. Objetivos específicos.

Investigar o efeito da suplementação de Cr sobre as seguintes funções cognitivas em crianças saudáveis:

- Memória de curto prazo, operacional e de longa duração;
- Flexibilidade mental e controle inibitório;
- Controle mental para operacionalização de informações;
- Atenção visual seletiva;

- Capacidade de armazenamento de informações;
- Quociente de inteligência.

Investigar o efeito da suplementação de Cr sobre as concentrações cerebrais de Cr no córtex pré frontal dorsolateral esquerdo, hipocampo esquerdo e no lobo occipital.

3. Revisão de literatura.

3.1. Suplementação de Creatina e metabolismo energético cerebral.

3.1.1. Metabolismo energético cerebral

O Sistema nervoso central (SNC), constituído pelo encéfalo (subdividido em cérebro, cerebelo e tronco encefálico) e a medula espinhal, é responsável pelo controle e coordenação de todos os demais sistemas do organismo humano. Caminhar, correr ou uma simples refeição são resultantes de constantes e intensas ações corticais (Kandel e Hundspet, 2013). Além disso, a base da consciência (ex: percepção, aprendizagem, memória imediata e tardia) é fruto de complexas ações cognitivas moduladas pelo córtex cerebral, transmitidas por impulsos elétricos ao longo de um emaranhado de fibras nervosas, resultando em aumento no consumo energético local (McKenna et al. 2006).

Nesse sentido, embora o cérebro adulto represente apenas 2% do peso corporal (~1.300 g), sua taxa metabólica basal representa 20% do consumo energético total (Attwell e Laughlin, 2001; Robson e Wood, 2008; Andres et al. 2008). Aproximadamente 75% da energia consumida pelo cérebro são relacionadas

à sinalização central e periférica, sendo os 25% restantes divididas entre atividades celulares, incluindo síntese ou degradação de proteínas, e *turnover* de nucleotídeos e fosfolípidos (Attwell e Laughlin, 2001). Dessa forma, um substancial aporte de nutrientes (glicose e creatina) e oxigênio torna-se necessário para a manutenção da função cerebral em pleno funcionamento. Ao longo do crescimento até a adolescência, a capacidade de oxidar glicose é elevada e torna-se fonte primária para o metabolismo cerebral (Chungani et al. 1987). Contudo, durante o desenvolvimento do cérebro humano, o metabolismo cerebral utiliza outras fontes energéticas (como, por exemplo, os ácidos graxos derivados do leite materno) para manter suas funções vitais (Stanley et al. 1979).

Assim, o desenvolvimento dos mecanismos bioenergéticos do cérebro ocorre em paralelo às necessidades de cada etapa de crescimento, onde a dependência por energia advinda de fontes exteriores (como no caso na mãe para o feto durante a gravidez) é substituído por um independente e eficiente metabolismo cerebral, como observado na infância e na adolescência (para revisão ver Erecinska et al. 2004).

Ainda que importantes alterações na morfologia e metabolismo energético do cérebro ocorram nos primeiros estágios do desenvolvimento humano, mudanças significativas continuam entre o início da infância e o final da adolescência (Takahashi et al. 1999; Giedd et al. 1999; Bluml et al. 2013). Por exemplo, picos do metabolismo cerebral podem ser alcançados entre os três e nove anos de idade (Chiron et al. 1992; Chungani et al. 1987). Porém, existem evidências suportando a manutenção de um elevado metabolismo cerebral aproximadamente aos 13 anos, diminuindo em anos posteriores até os níveis equivalentes ao cérebro maduro

(Takahashi et al. 1999). Além disso, o crescimento da substância cinzenta, especialmente nos lobos frontais, aparece aumentado na pré-adolescência, atingindo valores estáveis próximos aos 12 anos de idade (Giedd et al. 1999). Importante destacar, contudo, possíveis discrepâncias em relação à idade, alterações no metabolismo e morfologia cerebral. Primeiro, as metodologias empregadas nas avaliações do metabolismo cerebral são diferentes em diversos estudos, o que limita extrapolações. O tempo de desenvolvimento das regiões cerebrais difere uma das outras, o que, de fato, pode gerar conflitos de interpretação (Gogtay et al. 2004). Por fim, o estudo do funcionamento do cérebro em neonatos, crianças e jovens saudáveis permanece pouco explorado devido aos obstáculos (éticos ou não) com essas faixas etárias.

Portanto, é plausível especular que indivíduos em desenvolvimento apresentam necessidades energéticas aumentadas, seja em função do crescimento ou pela demanda durante o processamento cerebral (Erecinska et al. 2004; Bluml et al. 2013). Especificamente, o processamento cerebral é um resultado de intensas ações corticais, conduzidas por impulsos elétricos, com um alto custo por energia (Ames, 2000). Em suporte disso, a taxa metabólica cerebral é elevada com a atividade funcional, especificamente em resposta a estímulos ou em condições experimentais (McKenna et al. 2006). Embora cérebros em desenvolvimento destoem em relação às necessidades energéticas dos sujeitos adultos, principalmente pela extensa construção das redes neurais, a demanda por ATP dos processos de transmissão de informação são constantes, intensas, e controladas momento a momento (Erecinska et al. 2004; Bluml et al. 2013).

Não surpreendentemente, alterações no funcionamento normal do metabolismo cerebral estão associadas a severos comprometimentos da função cognitiva, particularmente em neonatos e crianças. Em suporte disso, um prejudicado metabolismo cerebral foi observado em sujeitos com autismo, especulado para ter uma relação com a diminuição de células neurais (ex: células de purkinje e granulares) nesses pacientes (Chugan et al. 1999). Contudo, estudos observaram que as alterações no metabolismo em sujeitos com distúrbios mentais (incluindo o autismo) estão intimamente ligadas com a deficiência de nutrientes específicos para o cérebro, particularmente a creatina (Cr) (Stockler et al. 1994; Stockler et al. 1996). De fato, a Cr desempenha um importante papel fisiológico no cérebro, que é suportado por (i) presença de isoformas de CK no sistema nervoso central e na medula, (ii) distúrbios mentais (ex: deficiência intelectual, autismo, atraso na aquisição da fala) provocados pela depleção da Cr cerebral em síndromes de deficiência de Cr, e (iii) reversão parcial desses sintomas após a suplementação oral com Cr (Stockler et al. 1994, Kaldis et al. 1996, Salomons et al. 2003). Além disso, a suplementação com Cr pode estar relacionada à melhora da função cognitiva em adultos e idosos saudáveis.

Em conjunto, essas informações conduzem uma compreensão sobre importância da manutenção de um apropriado metabolismo energético cerebral, especialmente em crianças. Além disso, o cérebro é capaz de metabolizar diversos substratos para manter suas funções em pleno funcionamento, incluindo a Cr

3.1.2. Metabolismo da Creatina

A manutenção de um apropriado suporte energético para as funções celulares é crucial para a sobrevivência humana, seja para as contrações musculares (atividades diárias ou durante um exercício físico) ou mesmo para um raciocínio durante um cálculo matemático. Interessantemente, quedas abruptas do fornecimento de energia podem conduzir a exacerbada depleção do ATP, com consequências drásticas para o funcionamento normal da célula (Ames, 2000). Entretanto, nutrientes essenciais para o fornecimento de energia aparecem para suplantar as necessidades fisiológicas da célula, como, por exemplo, a Cr.

A Cr é uma amina nitrogenada naturalmente produzida pelo fígado, pâncreas, rins e cérebro, através dos aminoácidos arginina, glicina e metionina. Pode também ser obtida através da alimentação, principalmente pela ingestão de carnes de peixe, vermelha ou branca (Walliman, 1992). Cerca de 95% das concentrações corporais de Cr são armazenadas no músculo esquelético, os outros 5% divididas no coração, músculos lisos, testículos e no cérebro (terjung et al. 2000; Wyss e Kaddurah-Daouk, 2000). Fisiologicamente, a Cr tem como papel principal a provisão imediata de energia para a célula através de reação catalisada pela CK (Walliman, 1992). Além disso, a Cr exerce uma importante função na transferência de energia entre a mitocôndria (produção) e o citosol (consumo de ATP), especialmente pela presença de isoformas de CK que interligam esses sítios dentro da célula (Walliman et al. 2011) (figura 1).

Desde que os primeiros estudos verificaram que a ingestão oral de Cr eleva as concentrações intramusculares dessa amina (Harris et al. 1992), com

subsequente melhora do desempenho físico em atividades esportivas em alta intensidade e curta duração (Greenhaff et al. 1993), houve um crescimento exponencial no número de estudos investigando possíveis efeitos ergogênicos da suplementação de Cr em atletas e sujeitos saudáveis (Gualano et al. 2012;). Não obstante, os resultados atribuídos à suplementação de Cr revelam um possível papel terapêutico em doenças caracterizadas por fraqueza muscular, atrofia e disfunções mitocondriais, tais como distrofias, miopatias inflamatórias e câncer (Gualano et al. 2010; Gualano et al. 2012). Além disso, evidências sugerem que os efeitos da suplementação de Cr também podem se estender ao sistema nervoso central.

3.1.3. Creatina e sistema nervoso central

A presença de isoformas de CK nos compartimentos responsáveis pela produção e consumo de energia sugere que o sistema Cr/PCr/CK exerce papel essencial no cérebro. Além disso, a identificação das enzimas responsáveis pela síntese de Cr ao longo do cérebro sugere que esse tecido é hábil em sintetizar Cr (Braissant et al. 2010; Lowe et al. 2013). Paralelamente, evidências apontam que a depleção de Cr cerebral é associada a severas disfunções neurais típicas em encefalomiopatias e miopatias mitocondriais (in 't Zandt et al., 2003). Ademais, portadores de síndromes que comprometem a síntese (deficiência das enzimas AGAT e GAMT) ou transporte de Cr (deficiência do transportador SLC6A8) apresentam reduções nas concentrações de Cr cerebral, com severas consequências no desenvolvimento cognitivo (deficiência intelectual, autismo, epilepsia e atraso na aquisição da linguagem) (Stöckler et al. 1994; Salomons et al. 2003).

Especula-se, ainda, que a suplementação com Cr possa atenuar o estresse oxidativo e o desbalço energético cerebral, condições características em processos neurodegenerativos, como na doença de Alzheimer e Parkinson (Brewer e Walliman, 2008; Klopstock et al. 2011). Nesse contexto, a suplementação de Cr configura-se como um potencial tratamento não farmacológico capaz de suplantar os processos metabólicos do SNC e, por conseguinte, prevenir a bruta queda no metabolismo energético cerebral que cursam em direção a apoptose celular (Burklen et al. 2006; Klopstock et al. 2011). Assim como na maioria dos distúrbios do SNC, pacientes diagnósticos com transtornos psiquiátricos apresentam depleção da Cr cerebral com severos comprometimentos cognitivos e comportamentais, sendo a suplementação de Cr uma possível terapia adjuvante no tratamento dessa população (Allen, 2012).

De fato, a suplementação com Cr mostrou-se capaz de ultrapassar a barreira hematoencefálica e aumentar as concentrações cerebrais de Cr (Dechent et al. 1999; Lyoo et al. 2003). Não surpreendentemente, a suplementação de Cr demonstrou-se hábil em reverter às concentrações diminuídas de Cr cerebral, postergar a fadiga mental, aumentar o consumo de oxigênio e, consecutivamente, abrandar o dano cerebral (Stöckler et al. 1994; Watanabe et al. 2002; Schulze et al. 2003). Stöckler et al. (1996) verificaram que a administração de creatina (4g/dia – 8g/dia) resultou no aumento das concentrações (inicialmente diminuídas) cerebrais de Cr, além da melhora nos sintomas clínicos de uma criança portadora da síndrome de deficiência de Cr (deficiência de GAMT). Especificamente, em crianças portadoras dessa síndrome, a suplementação de creatina (entre 400 – 800

mg/Kg/dia) aparece com uma terapia adjuvante na reversão dos sintomas clínicos, providenciando uma maior qualidade de vida nessa população (Stockler et al. 2014).

Além disso, evidências sugerem que adultos e idosos saudáveis suplementados com Cr experimentam melhoras no desempenho de tarefas cognitivas, especialmente em condições de estresse (Watanabe et al. 2002; McMorris et al. 2006). Watanabe et al. (2002) usando a técnica de espectroscopia por infra vermelho mostrou que a suplementação com creatina pode aumentar a oxidação cerebral, que poderia parcialmente explicar a redução na fadiga mental após uma sequência de cálculos matemáticos observada em seu estudo. Já Turner et al. (2015) demonstraram que o protocolo de suplementação com Cr (sete dias) foi eficiente em elevar as concentrações na áreas do córtex motor (9%) e prevenir o declínio da atenção durante severo déficit de oxigênio (hipóxia). Por outro lado, vegetarianos suplementados com creatina apresentaram melhores resultados nos testes de memória e tempo de tomada de decisão (avaliado pelo teste de recordar palavras e paradigma de tempo de reação) em comparação a seus pares onívoros (Benton e Donohoe, 2010) Estudos sobre a administração oral de Cr na função cognitiva em adultos e idosos saudáveis são apresentados na tabela 1.

Tabela 1. Efeito da suplementação de creatina, com ou sem estresse mental, sobre a cognição em adultos e idosos.

Referência	Amostra	Protocolo de suplementação	Variáveis	Estresse mental	Efeito sobre a cognição
Watanabe et al. (2002)	19 H e 5 M (24,3 - 9,1 anos)	8g/dia por 5 dias; duplo-cego, controlado por placebo	Raciocínio (Cálculo matemático)	Sim	Melhora significativa
Rae et al. (2003)	45 vegetarianos (12 H e 33 M – entre 18 e 40 anos)	5g/dia por 6 semanas; Duplo-cego, controlado por placebo, <i>cross-over</i>	Inteligência e memória de trabalho (verbal)	Não	Melhora significativa
McMorris et al. (2006)	17 H e 3 M (21,11 – 1,8 anos)	5g/dia por 7 dias	Memória de trabalho, espacial e verbal	Sim	Melhora significativa (até 24 horas de privação de sono)
McMorris et al. (2007)	16 H e 16 M (76,4 – 8,4 anos)	Grupo 1: 5g placebo ou creatina por 7 dias; Grupo 2: 14 dias de placebo	Memória (curto prazo e longo prazo) verbal e espacial	Não	Melhora significativa
Rawson et al. (2008)	13 H e 9M (21,0 – 2,0 anos)	0,03g/Kg/dia por 6 semanas; Duplo-cego e controlado por placebo	Tempo de reação, raciocínio lógico, processamento matemático e memória tardia	Não	Não houve melhora
Ling et al. (2009)	22 H e 12 M (21 – 1,3 anos)	5g/dia por 15 dias; duplo-cego e controlado por placebo	Inteligência, memória exploratória e atenção sustentada	Não	Melhora significativa (dependendo do teste estatístico utilizado)

H (Homens); M (Mulheres); (adaptada de Rae et al. 2015).

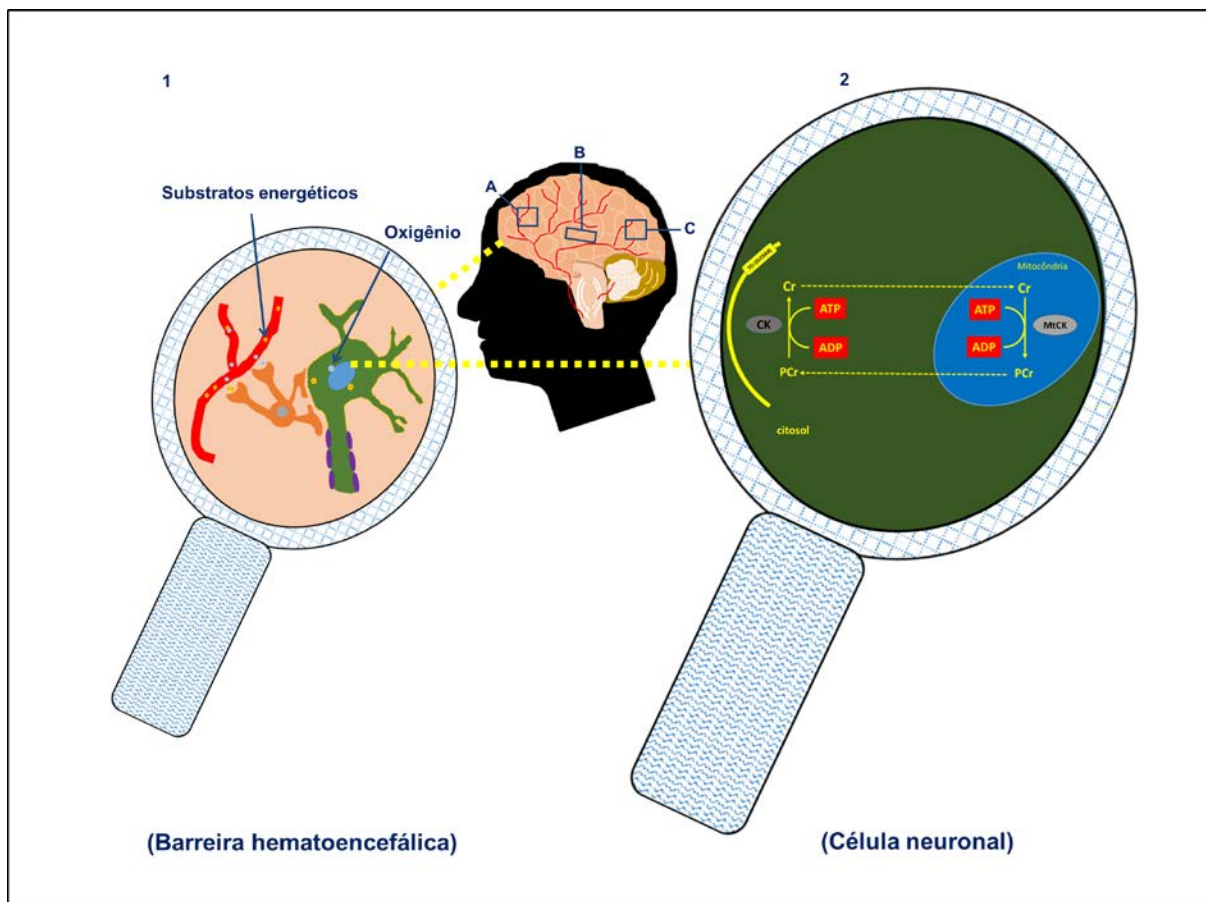


Figura 1. Metabolismo energético cerebral.

Legenda: 1) o metabolismo energético cerebral é suportado pelo fornecimento de substratos energéticos (ex: glicose, amino ácidos, creatina, ácidos graxos) e oxigênio através dos capilares cerebrais (vermelho), que ultrapassam a barreira hematoencefálica, e são liberados para a célula neuronal (verde) transformá-los em energia; 2) Nos neurônios, a CK mitocondrial (uMtCK) converte a Cr em PCr e exporta para o citosol, consecutivamente, a CK citosólica (B-CK) utiliza a PCr para transformar o ADP em ATP no sítios de consumo energético neuronal (Beard e Braissant, 2010). A letras A, B e C ilustram as regiões do córtex pré frontal dorsolateral, hipocampo e lobo occipital, respectivamente (avaliadas no estudo).

Em teoria, a suplementação com Cr proporcionaria a elevação das suas concentrações cerebrais e, conseqüentemente, do estado energético do cérebro. Interessantemente, um componente necessário do trabalho cerebral envolve o consumo de ATP para a bomba de sódio e potássio durante a propagação do impulso nervoso (McKenna et al. 2006). Dessa forma, é possível especular que o aumento das concentrações de creatina cerebral providenciaria um rápido *turnover* de ATP e, conseqüentemente, um adequado suporte energético para a condução do impulso nervoso.

Portanto, o metabolismo da Cr no cérebro é dinâmico, envolve a manutenção de um adequado suporte de ATP para as funções cerebrais (principalmente para a propagação do impulso nervoso). Contudo, a deficiência na síntese ou transporte de Cr provoca severos comprometimentos clínicos aos pacientes portadores dessa síndrome, e a suplementação com Cr apresenta-se como uma terapia adjuvante nesses casos. Além disso, adultos e idosos saudáveis podem ser beneficiados com a suplementação com Cr, sobretudo em condições de estresse mental. Finalmente, crianças e jovens também são beneficiados com a suplementação de Cr, no entanto, tal afirmação é confinada apenas nos casos com síndromes de deficiência de creatina. Nesse contexto, é possível especular que jovens saudáveis, esperados para apresentarem um elevado metabolismo cerebral, possam aumentar suas concentrações cerebrais e, conseqüentemente, experimentarem melhora no desempenho cognitivo. Contudo, estudos direcionados a verificarem a resposta cognitiva frente á suplementação de Cr em crianças saudáveis permanecem escassos.

4. Metodologia

O presente trabalho foi conduzido pelo Laboratório de Avaliação e Condicionamento em Reumatologia (LACRE) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), em parceria com o Laboratório de Nutrição e Metabolismo Aplicados a Atividade Motora (LabNutri) da Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo (EEFE-USP). As avaliações de espectroscopia por ressonância magnética foram realizadas no Instituto de Radiologia (INRad HCFMUSP), sob supervisão da Dra. Maria Concepcion Garcia Otaduy e Dra. Claudia da Costa Leite.

4.1. Casuística

O presente estudo foi inscrito no banco de ensaios aleatorizados *Clinical Trial* (www.clinicaltrial.gov - identificação: NCT01803230), e aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HCFMUSP (Nº PROTOCOLO: 0646/10; aprovação em 11/12/2013) como adendo ao projeto de pesquisa concluído (em 2014) intitulado “Segurança e Eficácia da Suplementação de Creatina em Pacientes com Dermatomiosite de Início Juvenil”, sendo como pesquisadora responsável a Prof^a. Dr^a Eloisa Silva Dutra de Oliveira Bonfá (anexo I). Todos os participantes e seus responsáveis legais foram informados sobre os riscos e desconfortos associados com o estudo antes de assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido (anexo II). Os procedimentos estão de acordo com a declaração de Helsinki revisada em 2008.

Esse ensaio-clínico, duplo cego, randomizado e controlado por placebo, foi composto por 67 crianças saudáveis com idade de 11,5 anos em média (entre 10 e 12 anos). Os critérios de inclusão e exclusão são descritos a seguir:

Critérios de inclusão:

- Menino ou menina;
- Ter entre 10 e 12 anos;
- Regularmente matriculado(a) na rede de ensino (particular ou publica);

Critérios de exclusão:

- Diagnóstico de distúrbios cognitivos (ex: transtorno de déficit de atenção e hiperatividade, depressão, distúrbio de estresse pós-traumático)
- Lesão cerebral pós-traumática;
- Qualquer diagnóstico de doenças infecciosa ou crônica;
- Uso prévio de suplementos de creatina;
- Dieta vegetariana.

4.2. Avaliações do estudo.

No período basal, a maturação sexual foi determinada de acordo com os métodos descritos por Marshal e Tanner (1970), o nível socioeconômico mensurado pelo Critério de Classificação Socioeconômica Brasil (CCBE, versão

2014), e o consumo alimentar foi avaliado pelo recordatório alimentar (24 horas) em três dias, não consecutivos, incluindo um no fim semana.

Os participantes foram randomizados usando o código de randomização gerado por um computador (Minitab v.15), em blocos de oito, em uma proporção de 1:1 para compor qualquer um dos seguintes grupos: 1) suplementação com Cr (n=35) ou 2) placebo (n= 32). No período basal e após sete dias de intervenção, os participantes foram submetidos à bateria de testes cognitivos. Em uma sub-amostra aleatória de participantes (creatina: n = 11 e placebo: n = 10), as concentrações cerebrais de creatina foram avaliadas no córtex pré frontal dorsolateral esquerdo, hipocampo esquerdo, e no lobo occipital, pela técnica de espectroscopia por ressonância magnética de prótons, usando o equipamento de corpo inteiro 3 Tesla (1H-ERM). O desenho experimental é ilustrado na figura 1.

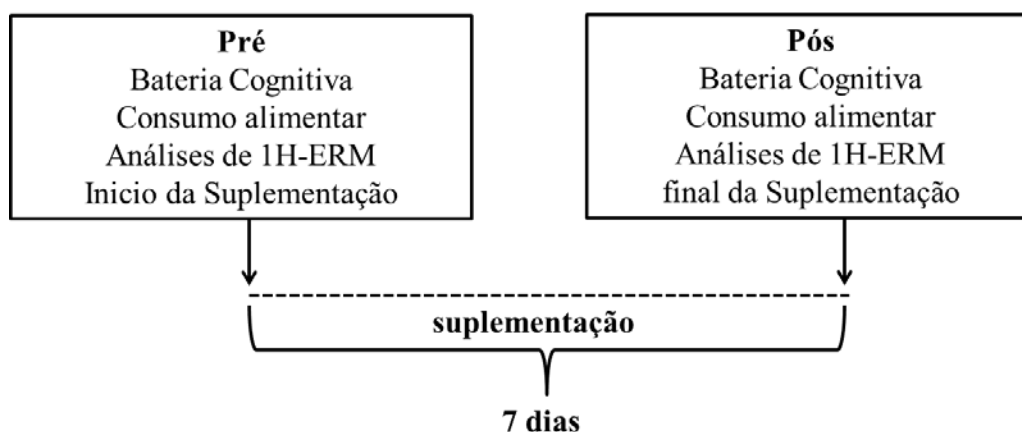


Figura 1. Desenho experimental.

4.2.1. Suplementação e vendamento

Os suplementos foram providenciados conforme o modelo duplo-cego. Os sujeitos recebem 0,3g/kg de peso corporal, de creatina monohidratada (Creapure, Alzchem, Germany), divididos em quatro doses diárias, por sete dias consecutivos, entregues em sacos plásticos do tipo *zip lock*. O grupo controle recebeu dextrose. Todos os voluntários foram orientados a ingerir a suplementação acompanhada de qualquer refeição, sempre que possível.

Para confirmação da aderência à suplementação, os sacos plásticos que contém o suplemento foram acompanhados de etiquetas adesivas, as quais foram retiradas após o consumo da suplementação e recolocadas em uma cartela previamente entregue aos pais dos participantes.

Os pacotes com os suplementos foram codificados para que nenhum investigador ou participante pudesse ter conhecimento do suplemento ingerido antes do final das análises. Além disso, um nutricionista membro da equipe, que não teve qualquer participação na aquisição dos dados, nas análises, e interpretações, providenciou os suplementos.

4.2.2. Avaliação maturacional, antropométrica e socioeconômica.

Os participantes foram submetidos a avaliações de peso (kg) e estatura (cm) a fim de caracterizar a amostra. A avaliação do estágio de maturidade sexual foi realizada por meio do estágio descrito por Marshall e Tanner (1970). A avaliação socioeconômica foi realizada através do Critério de Classificação Econômica Brasil (CCEB, 2014).

4.2.3. Bateria de testes cognitivos.

O tempo de aplicação da bateria cognitiva foi de aproximadamente 20 minutos. As avaliações foram conduzidas por um examinador experiente, no mesmo horário do dia (08h00min - 11h00min), em uma sala privada. A bateria cognitiva foi composta pelos seguintes testes: Teste de Stroop de cores e palavras, Rey Auditory Learning Test, Matrizes Progressivas de Raven e Teste de Trilhas. Os testes que compõem essa bateria foram aplicados em populações similares ao do presente estudo e apresentaram um alto valor de reprodutibilidade (para revisão ver Spreen e Strauss, 1998). Os participantes foram submetidos a uma sessão de habituação sete dias antes do período basal. Os testes cognitivos são descritos a seguir:

4.2.3.1 Teste Stroop de cores e palavras.

O teste visa avaliar atenção seletiva e controle inibitório. São utilizados três cartões brancos (18 x 11,5cm) compostos por vinte e quatro estímulos de cores. No primeiro cartão, o objetivo é nomear as cores dos retângulos no mais curto intervalo de tempo. No cartão seguinte, o objetivo é nomear as cores, a despeito da influência de estímulos conflitantes, como, por exemplo, palavras dissociadas de cores (ex. “CADA”, “NUNCA”, “HOJE”, “TUDO”). No terceiro cartão, o objetivo é nomear as cores das palavras, que são grafadas de maneira divergente à cor impressa (ex. palavra “Azul” impressa em vermelho) (Stroop, 1935).

4.2.3.2. “Rey’s auditory verbal learning paradigm (RAVLT).”

O teste tem como objetivo avaliar a aprendizagem e a memória, incluindo duas listas (“A” – “B”) com 12 palavras conhecidas (ex. “Papai”, “Bola”, “Fogão”, “Café”). A lista “A” é apresentada ao longo de quatro tentativas seguida pela evocação do maior número de palavras recordadas pelo avaliado. Em seguida, é apresentada a

lista “B”, contendo palavras diferentes (ex: “Quarto”, “Livro”, “Chuva”, “Cadeira”), com nova evocação do maior número de palavras pelo avaliado. Imediatamente após, o avaliado é convidado a recordar a lista “A”, porém sem apresentação prévia pelo avaliador. Posteriormente a realização dos outros testes cognitivos (TMT e MPCR), repete-se o último passo (~ dez minutos) (Oliveira e Charchat-Fichman, 2008).

4.2.3.3. Matrizes Progressivas de Raven – escala geral (MPCR).

O teste de Raven permite avaliar os aspectos da inteligência e do potencial intelectual do participante (Angelini et al, 1999). O teste consiste na apresentação de várias matrizes de figuras que possuem um padrão lógico entre si. As matrizes apresentam uma parte faltante, e o participante é convidado a preenchê-la, através de raciocínio lógico, com a figura correta dentre seis opções. O teste contém três séries (A, Ab e B) com 12 problemas cada, totalizando 36 problemas. Em cada série, há um aumento gradativo de dificuldade (Spreeen e Strauss, 1998).

4.2.3.4. Teste de Trilhas.

Este teste é utilizado para avaliar a flexibilidade mental e o controle inibitório. O teste inclui duas condições, sendo a primeira responsável por avaliar o controle visual e motor, e a segunda, o controle executivo adicional (Spreeen e Strauss, 1998). Na primeira condição, os participantes são instruídos a conectarem, em ordem crescente, os números de um a 15, que são distribuídos aleatoriamente em uma folha de papel individual. Na segunda condição, os participantes são instruídos a conectarem, alternadamente, letras e números, respeitando-se as ordens numérica e alfabética, respectivamente (ex: 1-A-2-B-3-C). Caso os participantes não completassem os exemplos prévios ou cometam sete erros em cada condição, o teste é desconsiderado (Arbuthnott e Frank, 2000).

4.3. Avaliação nutricional

No período basal e após sete dias de suplementação, foram conduzidas avaliações por meio de recordatórios alimentares em três dias não consecutivos (dois dias úteis e um final de semana). Com o intuito de auxiliar a quantificação das porções alimentares, foi empregada uma cartilha com desenhos de utensílios e porções, bem como um livro ilustrado contendo fotos reais de porções alimentares. Os recordatórios foram aplicados às crianças e aos pais por um nutricionista treinado. Os dados das três avaliações foram tabulados por um único avaliador experiente, com o auxílio do programa Avanutri® online (Rio de Janeiro).

4.4. Cr cerebral

As concentrações cerebrais de Cr foram determinadas por meio de 1H-ERM. Esse estudo foi realizado com equipamento de corpo inteiro de ressonância magnética de 3 Tesla (Achieva Intera, Philips Healthcare, Best, The Netherlands) e bobina de cabeça de 8 canais com diâmetro de 26 cm. A escolha do córtex pré-frontal dorsolateral esquerdo e hipocampo esquerdo foi devido ao envolvimento dessas regiões em relevantes funções cognitivas, tais como raciocínio, processamento, aprendizagem e memória (Henke et al. 1977; Kane et al. 2002). Adicionalmente, foi avaliado o lobo occipital, envolvido no processamento visual, que se mostrou responsivo em aumentar as concentrações cerebrais de Cr após sua suplementação oral (Pan e Takahashi, 2007).

As concentrações de Cr foram avaliadas utilizando a técnica de voxel único (PRESS) (tamanho do voxel no córtex pre frontal dorsolateral esquerdo e lobo occipital: 21 mm x 21 mm x 25 mm; tamanho do voxel no hipocampo: 43 mm x 9 mm

x 15 mm) com tempo de eco/tempo de repetição (TE/TR) de 35/1500ms e NS=64. A quantificação metabólica foi conduzida utilizando o software LCModel (s-provencher.com/pages/lcmodel.shtml) (Provencher, 1993) com o conteúdo da água do voxel usado como referência interna. Para quantificar as diferentes composições do tecido, o conteúdo do voxel foi segmentado pelo líquido encefaloespinal, substância branca e cinzenta. Além disso, diferenças no relaxamento da água e na concentração desses diferentes compartimentos do tecido foram quantificadas em ordem para obter a concentração de creatina total final em mmol/L, como sugerido previamente (Zoelch et al. 1977).

Para determinar a composição do tecido cerebral no voxel de interesse, imagens tridimensionais foram obtidas usando a técnica de 3D-T1-FFE (campo de eco rápido) (FA=8°; TE/TR-3.2/7/900ms), com o tamanho de voxel isotrópico de 1mm³. Finalmente, as quantificações do tecido cerebral foram extraídas usando a ferramenta de extração de cérebro (BET), e a segmentação dentro do líquido encefaloespinal, substância branca ou cinzenta foi mensurada utilizando a ferramenta de segmentação automática de cérebro (FAST) (Zhang et al. 2001;).

Baseado em um estudo piloto envolvendo cinco participantes, o coeficiente de variação no córtex pré frontal dorsolateral esquerdo, hipocampo esquerdo e no lobo occipital foram de 5,7%, 7,8% e 4.9%, respectivamente.

4.5. Análises estatísticas.

Para as comparações das concentrações cerebrais de Cr, do consumo alimentar, e dos escores dos testes de Stroop e Teste de trilhas foi utilizada a análise de modelo

misto, usando o software SAS (version 8.2; SAS Institute Inc., Cary, NC). Os escores dos testes de RCPM e RAVLT foram comparados entre os grupos pelo teste-*t* de Kruskal-Wallis utilizando o software SPSS 17 (Windows & Mac). A comparação das proporções de pré púberes e púberes entre os grupos foi analisada pelo teste de Qui-quadrado (exato de Fisher). Os dados são apresentados em média, desvio padrão (\pm), delta pré e pós, e intervalo de confiança (95%). O nível de significância adotado foi $p \leq 0,05$.

5. Resultados

O fluxograma do presente estudo é ilustrado na figura 1. No total, 140 foram triados para ingressarem no estudo, onde 88 foram randomizados e 21 excluídos devido a razões pessoais. Portanto, 67 participantes completaram a intervenção. Dentre esses participantes, 26 foram selecionados para realizarem as análises de 1H-ERM, com cinco excluídos (creatina: dois; placebo: três) por problemas técnicos no exame pré-intervenção.

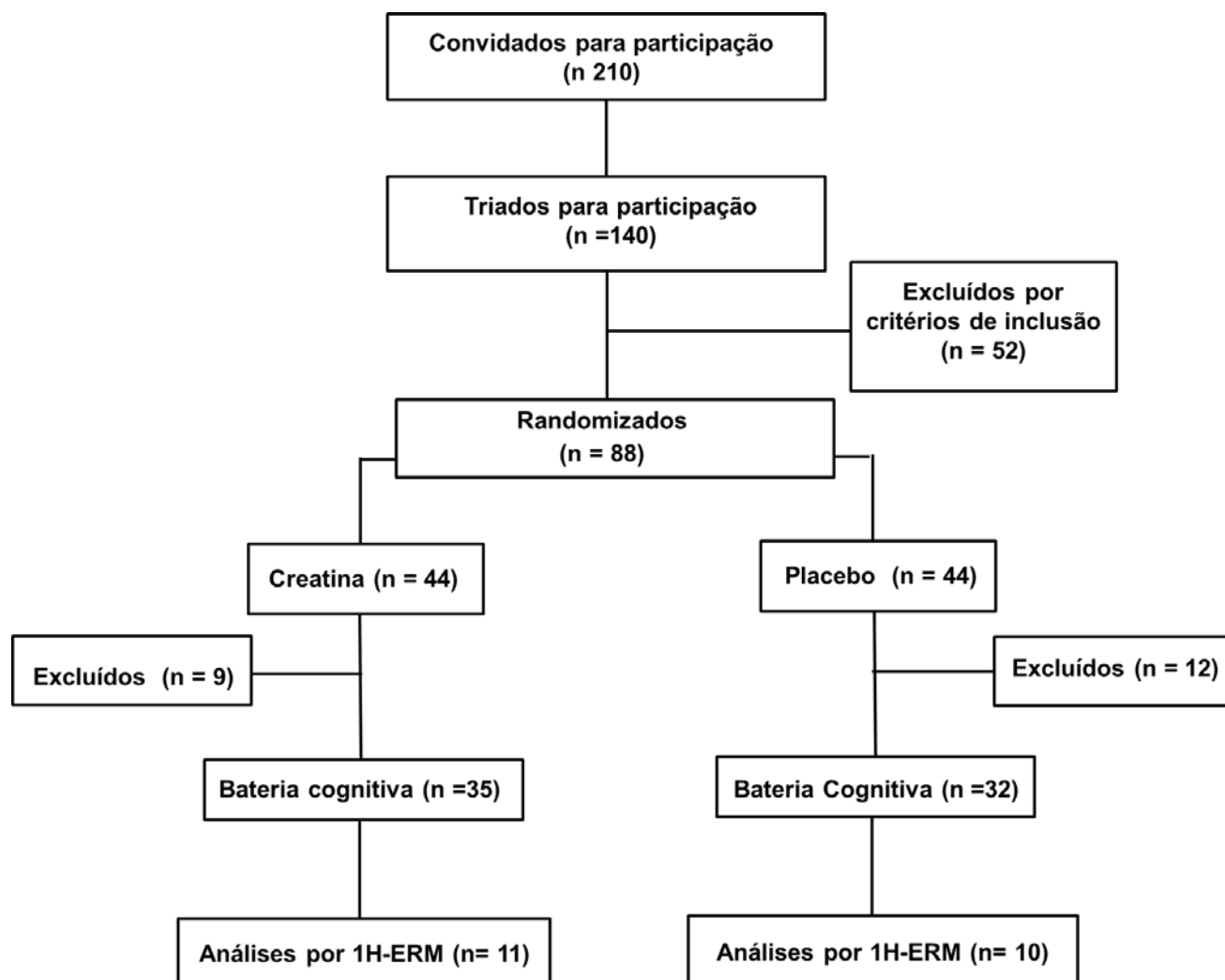


Figura 2. Fluxograma do estudo.

Não houve diferença estatisticamente significativa para a idade, peso, altura, escolaridade, gênero, maturação sexual e consumo alimentar entre os grupos ($p > 0,05$). Os dados de caracterização da amostra e do consumo alimentar são expressos na tabela 2.

Tabela 2 Características dos participantes do estudo.

Variável	Creatina (n = 35)	Placebo (n = 32)	p
Idade (anos)	11,5 ± 0,8	11,6 ± 0,9	0,5
Peso (Kg)	45,8 ± 14,8	43,1 ± 11,4	0,4
Altura (m)	1,4 ± 0,2	1,5 ± 0,1	0,3
Escolaridade (anos)	6,0 ± 1,0	6,0 ± 0,8	0,9
Gênero (menino/menina)	19/16	19/13	0,8
Maturação sexual (pré púbere/púbere)	10/25	11/21	0,7
Nível socioeconômico (A2/ B1/ B2/ C/ D/ E)	(3/9/8/11/2/2)	(2/6/17/6/1/0)	-
Consumo alimentar			
Calorias totais (kcal)	1789,5 ± 419,0	1968,2 ± 453,5	0,1
Carboidratos (g)	247,5 ± 64,8	267,3 ± 72,5	0,2
Proteínas (g)	69,5 ± 17,2	79,3 ± 22,0	0,1
Gordura (g)	56,0 ± 18,8	64,3 ± 18,4	0,1
Creatina (g)	0,5 ± 0,2	0,4 ± 0,1	0,5

Não houve diferenças estatisticamente significante entre os grupos ($p > 0,05$)

Os resultados no desempenho nos testes de Stroop, RAVLT, RAVEN e Trilhas não foram estatisticamente significantes entre os grupos no período pré e após sete dias de intervenção ($p > 0,05$). Os dados pré e pós o período intervenção, e o delta de ambos os grupos são apresentados na Tabela 3.

Similarmente, as concentrações cerebrais de Cr (expressa em mmol/L) não foram estatisticamente significantes entre grupos no córtex pré-frontal dorsolateral (*creatina* – pré: $6,9 \pm 0,8$, pós: $6,7 \pm 0,5$, delta: $-0,1 \pm 0,9$, delta IC (95%): $-0,9 - 0,6$; *placebo* – pré: $6,7 \pm 0,8$, pós: $6,9 \pm 0,09$, delta: $0,1 \pm 1,1$; delta IC (95%): $0,6 - 0,9$; interação grupo x tempo: $p = 0,50$), hipocampo esquerdo (*creatina* – pré: $7,0 \pm 0,5$, pós: $6,8 \pm 0,7$, delta: $-0,1 \pm 0,5$, delta IC (95%): $-0,6 - 0,2$; *placebo* – pré: $6,7 \pm 1,0$, pós: $6,6 \pm 1,9$, delta: $-0,1 \pm 1,5$, IC (95%): $-1,3 - 1,1$; interação grupo x tempo: $p = 0,80$), e no lobo occipital (*creatina* – pré: $7,9 \pm 0,9$, pós: $8,1 \pm 0,8$, delta: $-0,2 \pm 0,8$, delta IC (95%): $-0,4 - 0,8$; *placebo* – pré: $7,7 \pm 0,4$; pós: $7,8 \pm 0,5$, delta: $0,1 \pm 0,7$, IC (95%): $0,5 - 0,6$; interação grupo x tempo: $p = 0,70$). As respostas individuais da suplementação de creatina e placebo sobre as concentrações cerebrais, e as áreas de interesse investigadas no estudo são ilustradas na Figura 2.

Tabela 3 Desempenho cognitivo ante e após a suplementação com creatina ou placebo.

Variável (<i>escore ou tempo em segundos</i>)	Creatina (n = 35)			Placebo (n = 32)			p
	Pré	Pós	Delta (IC 95%)	Pré	Pós	Delta (IC 95%)	
Teste de Stroop							
Condição A (s)	15,0 ± 3,9	14,6 ± 5,0	-0,4 (-1,9 – 1,1)	14,1 ± 3,3	12,1 ± 2,2	-1,9 (-2,9 – -0,8)	0,1
Condição B (s)	18,9 ± 5,2	18,0 ± 5,4	-0,8 (-1,8 – 0,1)	17,9 ± 4,5	15,3 ± 2,8	-2,6 (-3,8 – -1,5)	0,1
Condição C (s)	26,6 ± 7,4	24,1 ± 6,4	-2,5 (-4,1 – -0,9)	23,1 ± 5,4	19,4 ± 4,2	-3,6 (-4,8 – -2,5)	0,2
RAVLT							
Aprendizagem (0 – 48)	40,9 ± 6,7	44,4 ± 4,7	3,5 (2,3 – 4,7)	41,5 ± 5,0	45,0 ± 3,4	3,5 (1,9 – 5,0)	0,8
Memória imediata (0 – 12)	10,4 ± 1,9	11,2 ± 1,2	0,7 (0,2 – 1,2)	10,2 ± 2,2	11,3 ± 1,0	0,8 (0,1 – 1,4)	0,7
Memória tardia (0 – 12)	10,4 ± 1,9	11,1 ± 1,6	0,6 (0,1 – 1,1)	10,5 ± 2,0	11,2 ± 2,2	0,4 (-0,4 – 1,4)	0,7
MPCR							
Total Score (0 – 36)	29,9 ± 4,7	30,4 ± 4,6	0,5 (-0,5 – 1,5)	30,4 ± 4,2	31,8 ± 3,8	1,3 (0,3 – 2,3)	0,2
Teste de Trilhas							
Parte A (s)	12,7 ± 4,2	10,8 ± 3,3	-1,8 (-3,4 – -0,3)	10,9 ± 4,6	10,3 ± 5,8	-0,6 (-2,1 – -0,9)	0,2
Parte B (s)	24,8 ± 14,5	19,3 ± 9,8	-5,5 (-8,0 – -2,0)	19,3 ± 11,5	14,7 ± 7,6	-4,5 (-7,2 – -1,7)	0,6

.Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos (p>0,05)

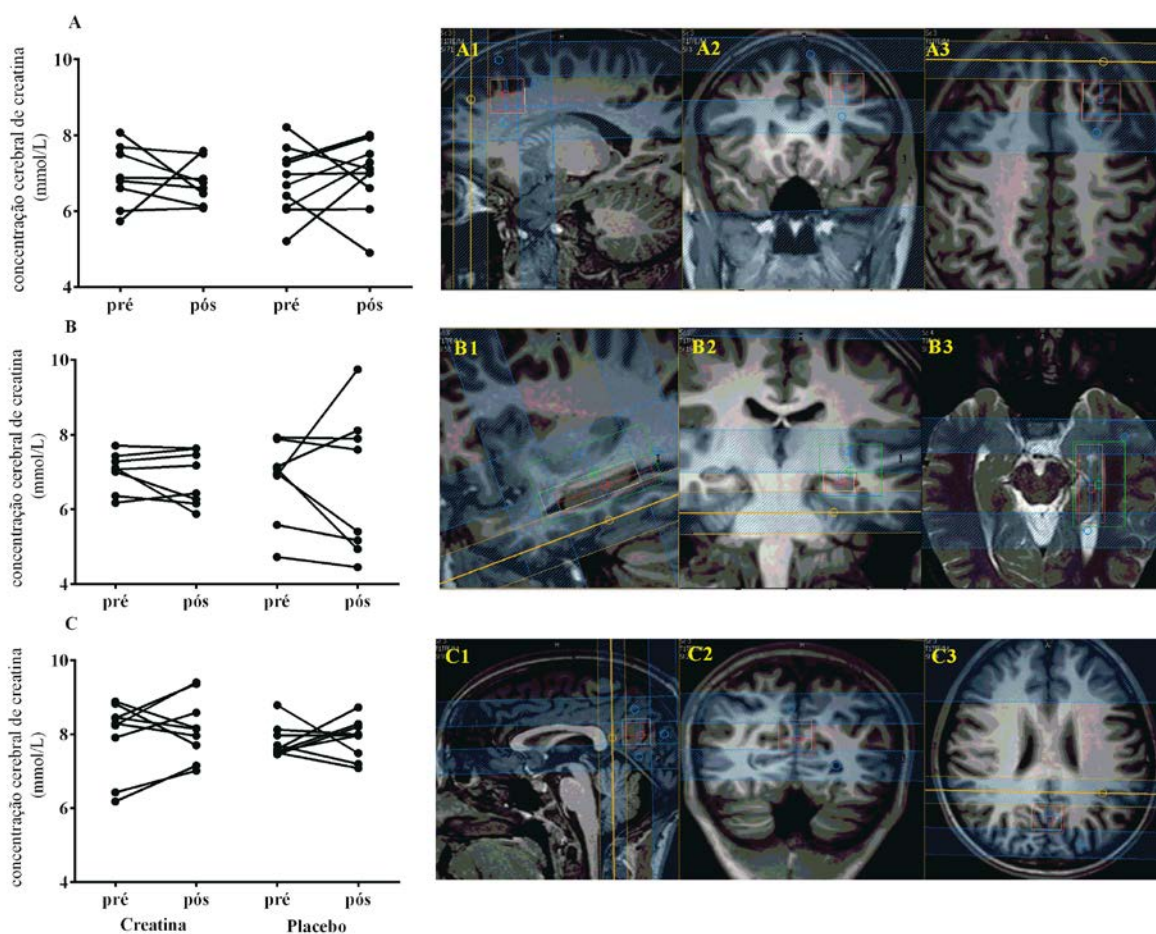


Figura 3. Concentrações cerebrais de creatina antes e após o protocolo de suplementação.

Legenda: as respostas individuais são apresentadas no painel esquerdo. O painel direito apresenta as imagens ponderadas em T1 mostrando o volume de interesse das áreas selecionadas (córtex pré frontal dorsolateral esquerdo (A), hipocampo esquerdo (B), e no lobo occipital (c)) para espectroscopia por ressonância magnética. Nota: Dados foram excluídos devido a problemas na aquisição das imagens antes ou após a intervenção no córtex pré frontal dorsolateral esquerdo (n=2), hipocampo esquerdo (n=5) e no lobo occipital (n=3).

6. Discussão

Esse é o primeiro estudo a investigar os efeitos da suplementação de Cr no desempenho cognitivo e nas concentrações cerebrais de Cr em crianças saudáveis. O principal resultado do presente estudo foi que o protocolo de suplementação de Cr por sete dias foi ineficiente em induzir melhorias na cognição, possivelmente pela ausência de aumento nas concentrações cerebrais de Cr.

A Cr emergiu como um potencial nutriente capaz de promover efeitos benéficos no metabolismo cerebral. Interessantemente, evidências apontam que a depleção de Cr está associada com diversos distúrbios neurais, tais como nas encefalomiopatias e Miopatias mitocondriais (in 't Zandt et al. 2004). Além disso, síndromes de deficiência de Cr, que são caracterizadas por uma disfunção na síntese ou transporte de Cr, podem conduzir ao retardo mental, atraso na aquisição da fala, e atrofia cerebral (Stockler et al. 1994, Item et al. 2001, Salomons et al. 2001). Importaneamente, evidências demonstram a presença de CK em células piramidais (localizadas em numerosas áreas cerebrais, incluindo aquelas investigadas nesse estudo), que são pensadas para serem envolvidas na memória e nos processos de aprendizagem (Kaldis et al. 1996). Isso conduziu a especulação que aumentos nas concentrações cerebrais de Cr poderiam melhorar o desempenho cognitivo, com alguns dados (McMorris et al. 2007, Ling et al. 2009, Hammett et al. 2010, Turner et al. 2015), mas não todos (Rawson et al. 2008; Alves et al. 2013a), favorecendo essa possibilidade. A suplementação de Cr resultou na melhoria de algumas tarefas cognitivas em participantes vegetarianos e omnívoros, mais apenas os

primeiros experimentaram melhorias na memória (Benton and Donohoe 2011). A suplementação de Cr também se mostrou hábil em melhorar o desempenho cognitivo em adultos jovens (Watanabe et al. 2002) e idosos (McMorris et al. 2007). Interessantemente, Watanabe et al. (2002) usando a técnica de espectroscopia por infra vermelho mostrou que a suplementação com Cr pode aumentar a oxidação cerebral, que poderia parcialmente explicar a redução na fadiga mental após uma sequência de cálculos matemáticos observada em seu estudo. Considerando que o metabolismo cerebral aparece aumentado durante a infância (Erecinska et al. 2004), o mesmo poderia ser especulado que o suplementação com Cr poderia aumentar as concentrações cerebrais de Cr em crianças, contribuindo para bioenergética do cérebro através de uma rápida resistência de PCr, ultimamente conduzindo a melhorias no desempenho cognitivo. Contudo, nesse estudo de “prova-de-princípio”, a suplementação com Cr foi ineficiente em aumentar as concentrações cerebrais de Cr e, conseqüentemente, o desempenho cognitivo.

As razões para que a suplementação com Cr não promovessem aumentos nas concentrações cerebrais de Cr ou no desempenho cognitivo podem ser vários. Primeiramente, o protocolo de suplementação de Cr usado nesse estudo (isto é, 0,3 g/Kg/dia ou ~14 g/dia por sete dias) foi relativamente equivalente em tempo e quantidade, assim como em outros estudos prévios que demonstraram benefícios da Cr em aumentar às concentrações cerebrais e/ou a cognição (Lyo et al. 2003, McMorris et al. 2006, Turner et al. 2015). Contudo, um limitado número de estudos envolvendo crianças com deficiência de Cr cerebral, condição que conduz a depleção de Cr no cérebro, tem usado geralmente doses entre 0,4 e 0,8 g/Kg/dia por meses ou até anos (como

revisado por Stockler-Ipsiroglu et al. 2014). Portanto, é possível argumentar que o protocolo utilizado no presente estudo não foi suficiente em tempo e/ou quantidade para provocar aumentos nas concentrações cerebrais de Cr em crianças, que seria em contraste com observações prévias em sujeitos adultos e idosos. A influência do estado maturacional na acumulação de Cr cerebral em resposta a equivalentes doses da suplementação de Cr exigem maiores investigações.

Diferenças nos protocolos experimentais também podem contribuir para os resultados conflitantes. De fato, alguns estudos (Watanabe et al. 2002, McMorris et al. 2006; Turner et al. 2015) demonstraram que a suplementação com Cr poderia promover melhorias na função cognitiva em participantes que foram expostos a estresse mentais, tais como privação de sono, exercício extenuante e/ou hipóxia, ou cálculos matemáticos, que poderiam potencialmente afetar a homeostase da Cr/PCr. Além disso, os participantes do presente estudo foram avaliados em repouso, sugerindo que acúmulo de Cr cerebral pode produzir um efeito funcional principalmente em condições de perturbação da bioenergética desse tecido.

Reciprocamente, estudos prévios desenvolvidos pelo nosso laboratório evidenciaram que a creatina foi incapaz de afetar a função cognitiva em mulheres idosas (Alves et al. 2013a), ou em sujeitos com fibromialgia (Alves et al. 2013b), ambos testados sem condição de estresse mental. Coletivamente, esses resultados permitem especular que a suplementação com Cr poderia ter algum valor em condições com fatores inerentes (ex: síndromes de deficiência de Cr), ou ambientais (ex. estresse mental agudo) que conduzem a uma severa depleção de Cr que não podem ser compensada pela produção endógena.

Em consonância, é especulado que o cérebro se apresenta menos sensível à suplementação com Cr em comparação ao tecido musculoesquelético, que é suportado por diferenças na magnitude da acumulação de Cr em resposta à sua suplementação (Harris et al. 1992, Pan e Takahashi, 2007). Uma possível explicação fisiológica para essa observação pode ser baseada no fato que esse tecido apresenta-se menos dependente da ingestão de Cr exógena. De fato, as enzimas-chaves envolvidas na biossíntese de Cr (isto é, arginina-glicina-metiltransferase e S-adenosil-L-metionina: N-guanidinoacetato-metiltransferase), estão presentes em astrócitos, neurônios e oligodendrócitos, indicando que as principais células do cérebro são capazes de sintetizar sua própria Cr (Braissant et al. 2001; Andres et al. 2008). Além disso, a permeabilidade da Cr circulante é limitada, provavelmente devido à ausência da expressão do transportador de Cr ao longo dos astrócitos, células que envolvem e protegem a barreira hematoencefálica (Beard e Braissant, 2010).

Conseqüentemente, sugere-se que o cérebro poderia ser um “compartimento quase independente para sintetizar e utilizar a Cr” (Braissant et al. 2011). Em suporte para essa hipótese, nosso laboratório recentemente demonstrou que omnívoros e vegetarianos mostraram concentrações de Cr cerebral equivalentes, reforçando a premissa que o cérebro depende primariamente da síntese endógena local do que a ingestão de Cr (via exógena) (Solis, Painelli et al. 2014). Sob a luz dos resultados do presente estudo, pode-se inferir que crianças saudáveis podem ter seus níveis basais de Cr cerebral próximos a valores “ótimos” devido a uma eficiência da síntese endógena de Cr. Em tais condições, a suplementação de Cr aparece para ser

incapaz de aumentar ainda mais a Cr cerebral, suportando a noção que quanto maior o conteúdo de Cr no tecido, menor é a sua captação (Harris et al. 1992, Pan e Takahashi, 2007).

Contudo, o presente estudo apresenta limitações. Primeiramente, ainda que aplicado um enfoque em múltiplos vóxeis (córtex pré frontal dorsolateral esquerdo, hipocampo esquerdo e lobo occipital) para rastrear possíveis alterações nas concentrações cerebrais de Cr em diversificadas áreas cerebrais correlacionadas à função cognitiva, aumentos na Cr cerebral pode ter ocorrido em outras áreas não avaliadas nesse estudo. Contudo, isso parece improvável uma vez em que as áreas específicas desse estudo demonstraram responder a suplementação de creatina em indivíduos adultos (para revisão ver Rawson et al. 2011). Em segundo lugar, como previamente discutido, a quantidade e tempo do protocolo utilizado no estudo podem ter sido insuficientes em possibilitar aumentos nas concentrações cerebrais de Cr e propiciar melhorias na cognição em crianças saudáveis. Estudos com “*time-course*” e dose-resposta são necessários nessa população. No entanto, a duplicação da dose administrada de 4 g/dia para 8g/dia não resultou em maiores aumentos nas concentrações cerebrais de Cr em uma criança com síndrome de deficiência de Cr acompanhado por 25 meses (Stockler et al. 1996). Além disso, os resultados do presente estudo devem ser confinados em crianças saudáveis, sem nenhum sinal de comprometimento cognitivo. Mais estudos envolvendo populações pediátricas que sofrem de distúrbios cognitivos (ex: déficit de atenção e hiperatividade, depressão, distúrbios ou lesões pós traumáticas) são necessários.

7. Conclusão

O protocolo de suplementação com creatina por sete dias mostrou-se incapaz de provocar aumento nas concentrações cerebrais de Cr ou melhorar o desempenho cognitivo em crianças saudáveis. Esses dados sugerem que essa população depende principalmente da síntese cerebral do que a Cr exógena para manter a homeostase desse nutriente no cérebro.

8. Referências

Allen PJ. Creatine metabolism and psychiatric disorders: Does creatine supplementation have therapeutic value? *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* (36).pp. 1442–1462, 2012

Alves et al. Creatine supplementation associated or not with strength training upon emotional and cognitive measures in older women: a randomized double-blind study. *PLoS One.*;8(10):e76301. Epub 2013/10/08a, 2013

Alves et al. Creatine supplementation in fibromyalgia: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2013;65(9):1449-59. Epub /04/05b, 2013

Ames A. CNS energy metabolism as related to function. *Brain Research Reviews* 34 42–68 , 2000

Andres et al. Functions and effects of creatine in the central nervous system. *Brain Research Bulletin*. (76): pp.329-343, 2008

Arbuthnott K, Frank J. Trail making test, part B as a measure of executive control: validation using a set-switching paradigm. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*.. (22): pp.518-528, 2000

Attwell D, Laughlin SB. An energy budget for signaling in the grey matter of the brain. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. 2001. (21):pp.1133–1145.

Béard E, Braissant O. Synthesis and transport of creatine in the CNS: importance for cerebral functions. *Journal of Neurochemistry*.; 115(2):pp.297-313, 2010.

Benton D, Donohoe R. The influence of creatine supplementation on the cognitive functioning of vegetarians and omnivores. *British Journal of Nutrition*.; pp.1-6, 2010

Blüml et al. Metabolic Maturation of the Human Brain From Birth Through Adolescence: Insights From In Vivo Magnetic Resonance Spectroscopy *Cerebral Cortex* December;23:2944–2955, 2013

Braissant et al. Endogenous synthesis and transport of creatine in the rat brain: an in situ hybridization study. *Molecular Brain Research*; (86): pp.193- 201, 2001

Braissant et al. Creatine deficiency syndromes and the importance of creatine synthesis in the brain. *Amino Acids*.;40(5):1315-24. Epub 2011/03/11, 2011

Brewer GJ, Wallimann TH. Protective Effect of the Energy Precursor Creatine Against Toxicity of Glutamate and b-Amyloid in Rat Hippocampal Neurons. *Journal of Neurochemistry.* ; (4), pp.1968–1978, 2007

Burklen et al. The Creatine Kinase/Creatine Connection to Alzheimer's disease: CK Inactivation, APP-CK Complexes, and Focal Creatine Deposits. *Journal of Biomedicine and Biotechnology.*; (3):35936, 2006

Chugan et al. Evidence of altered energy metabolism in autistic children. *Prog. Neuro-Psychopharmacology*, 23, pp 635 - 641, 1999.

Chugani et al. Positron emission tomography study of human brain functional development. *Ann. Neurol.* 22, 487–497, 1987

Chiron, et al. Changes in regional cerebral blood flow during brain maturation in children and adolescents. *J. Nucl. Med.* 33, 696–703, 1992.

Dechent et al. Increase of total creatine in human brain after oral supplementation of creatine-mono-hydrate. *American Journal of Physiology.*.. 277.pp. 698–704, 1999

Erecinska et al.. Energy metabolism in mammalian brain during development. *Progress in neurobiology*;73(6):397-445, . 2004

Giedd et al. Brain development during childhood and adolescence: a longitudinal MRI study. *Nature Neuroscience* 2, 861 - 863, 1999

Gualano et al. Exploring the therapeutic role of creatine supplementation. *Amino Acids.*.. 38:pp. 31-44, 2010

Gualano et al. In sickness and in healthy: the widespread application of creatine supplementation. *Amino Acids.* (43):pp.519–529, 2012.

Greenhaff et al. Influence of oral creatine supplementation of muscle torque during repeated bouts of maximal voluntary exercise in man. *Clinical Science (Lond).*; 84(5):pp.565-71, 1993

Harris et al. Elevation of creatine in resting and exercised muscle of normal subjects by creatine supplementation. *Clinical Science (Lond).*.. 83: pp.367-374, 1992

Hammett et al. Dietary supplementation of creatine monohydrate reduces the human fMRI BOLD signal. *Neuroscience letters.*;479(3):201-5, 2010

Henke et al. Human hippocampus establishes associations in memory. *Hippocampus*.;7(3):249-56. Epub 1997/01/01, 1997

Item et al.. Arginine:glycine amidinotransferase deficiency: the third inborn error of creatine metabolism in humans. *American journal of human genetics*.;69(5):1127-33, 2001

in 't Zandt HJ, de Groof AJ, Renema WK, Oerlemans FT, Klomp DW, Wieringa B, . Heerschap A. Presence of (phospho) creatine in developing and adult skeletal muscle of mice without mitochondrial and cytosolic muscle creatine kinase isoforms. *Journal Physiology*.; 548: pp.847-58, 2003

in 't Zandt HJ, Renema WK, Streijger F, Jost C, Klomp DW, Oerlemans F, et al. Cerebral creatine kinase deficiency influences metabolite levels and morphology in the mouse brain: a quantitative in vivo ¹H and ³¹P magnetic resonance study. *Journal of neurochemistry*;90(6):1321-30, . 2004

Kandel E, Hudspet H. Overall Perspective. In: Kandel E.R, Schwartz J.H, Jessell, T.M, Siegelbaum, A.J. *Principles of neural science*. Fifth Edition. The McGraw-Hill Companies;; pp. 5-6, 2013

Kaldis et al. 'Hot spots' of creatine kinase localization in brain: Cerebellum, hippocampus and choroid plexus. *Dev Neurosci-Basel*.;18(5-6):542-54, 1996

Kane MJ, Engle RW. The role of prefrontal cortex in working-memory capacity, executive attention, and general fluid intelligence: An individual-differences perspective. *Psychonomic Bulletin & Review*.;9(4):637-71, 2002

Klopstock T, Elstner M, Bender A. Creatine in mouse models of neurodegeneration and aging. *Amino Acids*. 40: pp.1297-303, 2011;

Ling J, Kritikos M, Tiplady B. Cognitive effects of creatine ethyl ester supplementation. *Behavioural pharmacology*.;20(8):673-9, 2009

Lyo et al.. Multinuclear magnetic resonance spectroscopy of high-energy phosphate metabolites in human brain following oral supplementation of creatine-monohydrate. *Psychiatry Research: Neuroimaging*. pp 87–100, 2003.

Marshall WA, Tanner JM. Variations in the pattern of pubertal changes in boys. *Arch Dis Child*.;45(239):13-23. Epub 1970/02/01, 1970

McKenna. et al., A. Energy metabolism of the brain. In: Siegel, GJ, Albers, RW, Brady, ST, Price, DL. *Basic neurochemistry*. Seventh Edition. Elsevier;. pp. 531-552, 2006

McMorris et al. Effect of creatine supplementation and sleep deprivation, with mild exercise, on cognitive and psychomotor performance, mood state, and plasma concentrations of catecholamines and cortisol. *Psychopharmacology* 185, 93e103., 2006

McMorris et al. Creatine supplementation, sleep deprivation, cortisol, melatonin and behavior. *Physiology Behavior*.. 90(1):pp.21–28, 2007a

McMorris et al. Creatine supplementation and cognitive performance in elderly individuals. *Aging, Neuropsychology, and Cognition: A Journal on Normal and Dysfunctional Development*.. 14(5):pp.517–528, 2007b

Oliveira RM, Charchat-Fichman H. Brazilian children performance on Rey's Auditory Verbal Learning Paradigm. *Arquivos em Neuropsiquiatria*; 66(1):pp.40-44, 2008

Pan JW, Takahashi K. Cerebral energetic effects of creatine supplementation in humans. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology*.;292(4):R1745-R50, 2007

Provencher, S. W. Estimation of metabolite concentrations from localized in vivo proton NMR spectra. *Magnetic Resonance Medicine*, 30:pp. 672–679, 1993.

Rae et al. Oral creatine monohydrate supplementation improves brain performance: a double-blind, placebo-controlled, cross-over trial. *Proc Biol Sci*.; 270: pp.2147-50, 2003

Rae C, Broer. Creatine as a booster for human brain function. How might it work? *Neurochemistry International*: 89, 2015

Raven, JC. *Matrizes Progressivas. Escala Geral* – Rio de Janeiro: CEPA. 2002.

Rawson et al. Creatine supplementation does not improve cognitive function in young adults. *Physiol Behav*;95(1-2):130-4. Epub 2008/06/27, 2008

Rawson E, Venezia C. Use of creatine in the elderly and evidence for effects on cognitive function in young and old *Amino Acids*: 40:1349–1362, 2011

Robson, SL, Wood, B. Hominin life history: reconstruction and evolution. *Journal of Anatomy*.: 212, pp 394–425, 2008

Stanley, et al. Metabolic fuel and hormone responses to fasting in newborn infants. *Pediatrics* 64, 613–619, 1979

Salomons et al. NM, Marsden D, Schwartz C, Cecil KM, et al. Xlinked creatine transporter defect: an overview. *Journal of Inherited Metabolic Disease.*; 26: pp. 309-18, 2003

Schulze et al. Lack of creatine in muscle and brain in an adult with GAMT deficiency. *Annals of Neurology.*; (53): pp.248-25, 2003

Solis et al. Brain creatine depletion in vegetarians? A cross-sectional (1)H-magnetic resonance spectroscopy ((1)H-MRS) study. *Br J Nutr.*;111(7):1272-4. Epub 2013/12/03, 2014

Spreeen S, Strauss E. *A Compendium of Neuropsychological Tests*. 2 ed: 1998.

Stöckler et al. Creatine deficiency in the brain: a new, treatable inborn error of metabolism. *Pediatric Research*; 36: pp. 409–13, 1994

Stockler et al. Creatine replacement therapy in guanidinoacetate methyltransferase deficiency, a novel inborn error of metabolism. *Lancet*. 348(9030):789-90. Epub 1996/09/21, 1996;

Stroop, JR. Studies of interference in serial verbal reactions. *Journal of Experimental Psychology*. (18).pp. 643-62, 1935

Stockler-Ipsiroglu S, Karnebeek CDMV. Cerebral Creatine Deficiencies: A Group of Treatable Intellectual Developmental Disorders. *Seminars Neurology.*;34:pp.350–356, 2014

Takahashi et al. Developmental Changes of Cerebral Blood Flow and Oxygen Metabolism in Children. *AJNR Am J Neuroradiol* 20:917–922, May, 1999

Turner et al.. Creatine supplementation enhances corticomotor excitability and cognitive performance during oxygen deprivation. *J Neurosci.*;35(4):1773-80, 2015

Terjung et al. American College of Sports Medicine roundtable. The physiological and health effects of oral creatine supplementation. *Medicine and Science and Sports Exercise*.32: pp.706-717, 2000

Wallimann et al. Intracellular compartmentation, structure and function of creatine kinase isoenzymes in tissues with high and fluctuating energy demands: the 'phosphocreatine circuit' for cellular energy homeostasis. *Biochemical Journal*. 281(1):pp.21–40, 1992

Wallimann et al. U. The creatine kinase system and pleiotropic effects of creatine. *Amino Acids*.. 40(5):pp.1271-96, 2011

Wyss M, Wallimann T. Creatine metabolism and the consequences of creatine depletion in muscle. *Mol Cell Biochem.*;133-134:51-66. Epub 1994/04/01, 1994

Watanabe et al.. Effects of creatine on mental fatigue and cerebral hemoglobin oxygenation. *Neuroscience Research.*, 42: pp.279-285, 2002

Wyss M, Kaddurah-Daouk R. Creatine and creatinine metabolism. *Physiological Reviews.* 80: pp. 1107-1213, 2000

Zhang et al.. Segmentation of brain MR images through a hidden Markov random field model and the expectation-maximization algorithm. *Ieee Transactions on Medical Imaging.*;20(1):45-57, 2001

Zoelch et al. Necessity of tissue volume composition correction for internal referencing Proceedings of the 23rd Annual Meeting and Exhibition of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine. 1977

9. Anexos.

ANEXO I – Aprovação comitê de ética



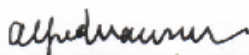
Hospital das Clínicas da FMUSP
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
CAPPesq

Ao
Departamento de Clínica Médica

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa-CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, **APROVOU** na sessão datada de 11.12.2013 a execução do subprojeto intitulado: "**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE CREATINA SOBRE A COGNIÇÃO DE CRIANÇAS SAUDÁVEIS**", que será dissertação de mestrado do aluno **CARLOS ALBERTO ABUJABRA MEREJE FILHO**, tendo como orientador o **PROF. DR. BRUNO GUALANO**.

O referido projeto faz parte do **Protocolo de Pesquisa nº 0646/10**, intitulado "**SEGURANÇA EFICÁCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE CREATINA EM PACIENTES COM DERMATOMIOSITE DE INICIO JUVENIL**", que tem como pesquisadora responsável **PROFA. DRA. ELOISA SILVA DUTRA DE OLIVEIRA BONFÁ**.

CAPPesq, 06 de janeiro de 2014.


PROF. DR. ALFREDO JOSÉ MANSUR
Coordenador
Comissão de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa - CAPPesq

Anexo II – Termo de consentimento livre e esclarecido

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

MODELO DE TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M F

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE

CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)

DOCUMENTO DE IDENTIDADE :SEXO: M F

DATA NASCIMENTO.:/...../.....

ENDEREÇO: Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE:

CEP: TELEFONE: DDD (.....)

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: **“EFICÁCIA E SEGURANÇA DA SUPLEMENTAÇÃO DE CREATINA EM PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO DE INÍCIO JUVENIL”**

2. PESQUISADOR : **Profª Drª Eloísa Silva Dutra de Oliveira Bonfá,**

CARGO/FUNÇÃO: Profa Titular

UNIDADE DO HCFMUSP: **Unidades de Reumatologia (HCFMUSP)**

PESQUISADORES EXECUTANTES: **Ana Paula Tanaka Hayashi e Carlos Alberto Abujabra Merege Filho**

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO x RISCO MÉDIO

RISCO BAIXO RISCO MAIOR

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 8 meses

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

1 – O presente projeto, intitulado: “**EFICÁCIA E SEGURANÇA DA SUPLEMENTAÇÃO DE CREATINA EM PACIENTES COM DERMATOMIOSITE DE INÍCIO JUVENIL**” tem como objetivo investigar a efetividade e a segurança da suplementação de creatina associada em pacientes com Dermatomiosite de início Juvenil, bem como os possíveis efeitos bioquímicos e fisiológicos responsáveis por eventuais adaptações.

O tempo total do estudo será de 8 meses, sendo que nos três primeiros meses os participantes serão divididos aleatoriamente em dois grupos: i) Placebo (5g/dia de dextrose) (PL) e ii) Creatina (5g/dia) (Cr). Após um intervalo de 2 meses sem intervenção, os mesmos pacientes vão retornar à pesquisa e começar a consumir o outro suplemento (diferente do primeiro utilizado) por mais 3 meses. Desta forma, todos os pacientes vão consumir os dois suplementos (PL e Cr). Um grupo controle, formado por voluntários saudáveis, também participarão do estudo e realizarão alguns dos testes descritos no tópico abaixo (testes cognitivos e ressonância magnética). Os resultados desse grupo controle servirão como comparativo para aqueles do grupo de pacientes. Além disso, ajudarão a entender os efeitos da suplementação de creatina sobre a cognição e concentrações de fosforilcreatina (substrato derivado da creatina) no músculo e no cérebro.

2 e 3 - Antes da intervenção e depois 12 semanas de cada suplementação, será realizada uma bateria de exames.

A avaliação clínica será realizada por meio de questionários de atividade da doença, força e função muscular. A avaliação da força muscular e a atividade da doença serão aferidas através dos escores: Childhood Myositis Assessment Scale (CMAS), Manual Muscle Testing (MMT) e Disease Activity Score (DAS).

A avaliação funcional da qualidade de vida relacionada à saúde nas duas doenças será feita pelo Childhood Health Assessment Questionnaire (CHAQ), que foi validado para o português brasileiro. O questionário pediátrico de qualidade de vida (PEDS QL) será determinado para os pacientes e seus respectivos pais. Avaliações

global do paciente/familiar e médico será determinadas pela Escala Visual Analógica (EVA).

Para a realização dos exames laboratoriais, os pacientes deverão comparecer ao LACRE em jejum noturno de 12 horas. Serão coletados 15 ml de sangue para as análises de sódio, potássio, uréia, creatinina, cistatina C, aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, creatina quinase (CPK), lactato desidrogenase, aldolase, proteína C-reativa e velocidade de hemossedimentação. Esses exames avaliam a função renal e hepática, a inflamação e o dano muscular.

Serão também realizadas testes cognitivos, que avaliarão os efeitos da suplementação de creatina sobre a memória, aprendizagem, velocidade de raciocínio e atenção.

Serão conduzidas avaliações nutricionais com todos os pacientes e responsáveis legais por meio de recordatórios alimentares em três dias não consecutivos (dois dias úteis e 1 do final de semana).

Por fim, as concentrações de fosforilcreatina (substrato derivado da creatina) no interior do músculo e cérebro serão determinadas por meio de espectroscopia de fósforo por ressonância magnética (^{31}P -ERM). Este exame será realizado na Ressonância Magnética (HCFMUSP).

É importante ressaltar que os voluntários saudáveis realizarão apenas os testes cognitivos e a avaliação de ressonância magnética.

4- Durante os testes físicos, os pacientes poderão relatar cansaço e dor muscular, que deverão desaparecer com o repouso adequado. A coleta de sangue exige uma pequena picada de agulha. Os possíveis eventos adversos relacionados a suplementação de creatina incluem: desconforto gastrointestinal e ganho de peso por retenção de água. Estudos em humanos jamais associaram o uso da creatina a danos renais, hepáticos ou qualquer outro efeito deletério mais grave.

No entanto, poucos trabalhos em crianças foram realizados, de maneira que a segurança da suplementação será avaliada.

5 - Os participantes suplementados com creatina poderão apresentar benefícios na capacidade física, o que poderia se refletir em melhoras das atividades da vida diária e consequentemente na qualidade de vida.

6 – Relação de procedimentos alternativos que possam ser vantajosos, pelos quais, o paciente pode escolher;

7 - Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é a Prof^a Dr^a Eloísa Silva Dutra de Oliveira Bonfá que pode ser encontrada no endereço Av. Dr. Arnaldo, 455 3º andar, sala 3131 - Cerqueira César – 01246-903, São Paulo nos telefone(s) 3061-7490. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnet.usp.br

8 - É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;

9 - Todas as informações obtidas neste estudo serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente;

10 - Também é de direito do participante e responsável legal obter os resultados parciais da pesquisa, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores;

11 - Não haverá despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

12 – Comprometo-me a utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo: ***“EFICÁCIA E SEGURANÇA DA SUPLEMENTAÇÃO DE CREATINA EM PACIENTES COM DERMATOMIOSITE DE INÍCIO JUVENIL ”***.

Eu discuti com a Prof^a Dr^a Eloísa Silva Dutra, Ana Paula Tanaka Hayashi ou Carlos Alberto Abujabra Merege Filho sobre a minha decisão em participar nesse

estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal Data ____ / ____ / ____

Assinatura da testemunha Data ____ / ____ / ____

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo Data ____ / ____ / ____