Detecção de creatina na urina de atletas de natação através da técnica de espectroscopia Raman

Letícia Parada Moreira[1], Débora Dias Ferraretto Moura Rocco[1], Alexandre Galvão da Silva[1], Adriana Barrinha Fernandes[2], Marcos Tadeu Tavares Pacheco[1,2], Landulfo Silveira Jr.[1,2]

[1]Universidade Santa Cecília - UNISANTA, Santos, SP, Brasil
[2]Centro de Inovação, Tecnologia e Educação – CITE, Universidade Anhembi Morumbi – UAM, São José dos Campos, SP, Brasil

Email: l_parada_m@hotmail.com

Resumo: O objetivo do presente trabalho foi identificar a presença de creatina na urina de atletas de natação através da técnica Raman. Foram obtidas amostras de urina de 5 nadadores de elite com idades entre 19 e 22 anos da equipe profissional da UNISANTA. Dois destes atletas faziam suplementação com creatina. As amostras de urina de jato único foram coletadas antes e imediatamente após a sessão de treinamento de 150 minutos, sendo conservadas refrigeradas e submetidas à espectroscopia Raman (830 nm, 350 mW, 20 s tempo de coleta). Na comparação dos espectros antes do treinamento, foram observadas diferenças espectrais após a sessão de treinamento, com picos Raman aumentados em 829, 920, 1050 e 1397 cm^{-1}, atribuídos à creatina. O atleta com picos de creatina mais altos foi um dos que relatou suplementação de creatina na dieta. Os atletas que não reportaram a ingestão de creatina também apresentaram picos de creatina, porém de modo menos expressivo, sugerindo concentração basal. Picos elevados de creatina na urina sugerem excesso de suplementação do aminoácido. A partir da análise bioquímica da urina fornecida pela espectroscopia Raman, a suplementação de creatina pode ser ajustada de acordo com a necessidade de cada atleta, contribuindo para a melhora do desempenho esportivo.

Palavras-chave: espectroscopia Raman; creatina; urina; atletas de alto desempenho.

Detection of creatine in the urine of swimming athletes through the technique of Raman spectroscopy

Abstract: The aim of the present study was to identify the presence of creatine in the urine of swimming athletes through the Raman technique. For this, urine samples were obtained from 5 elite swimmers (3 men and 2 women), aged between 19 and 22 years of the UNISANTA professional team. Two were supplemented with creatine. Single stream urine samples were collected before and immediately after 150-minute training session and were stored refrigerated and subjected to Raman spectroscopy (830 nm, 350 mW, 20 s collection time). In the comparison with the spectra before training, spectral differences were observed after the training session, with increase in the Raman peaks at 829, 920, 1050 and 1397 cm^{-1}, attributed to creatine. The athlete with the highest creatine peaks was one that reported supplementation of creatine in the diet. Athletes who did not report creatine intake also had creatine peaks, but in a less expressive way, suggesting basal concentration. High urinary creatine peaks suggest excess amino acid supplementation. From the biochemical analysis of urine provided by Raman spectroscopy, creatine supplementation can be adjusted according to the need of each athlete, contributing to the improvement of performance.

Keywords: Raman spectroscopy, creatine, urine; high performance athletes.

Introdução

O esporte de alto nível requer análises da condição metabólica dos atletas para que o treinamento possa ser aperfeiçoado. Em busca da evolução do desempenho esportivo, nadadores de elite são submetidos a treinamentos extenuantes, tanto na água quanto na terra. Com isso, suplementos nutricionais têm sido amplamente utilizados para que os atletas possam atender suas necessidades nutricionais diárias, mantendo o desempenho esportivo [1].

A creatina é um aminoácido encontrado no cérebro, músculos e sangue, que ao ser convertida em creatinina é excretada na urina [2]. Pesquisadores demonstraram que ao incorporar a suplementação de creatina na dieta de nadadores, a fadiga foi reduzida a partir da diminuição dos níveis de lactato sanguíneo, melhorando assim o desempenho [3]. Ademais, por meio da suplementação de tal aminoácido ocorre um aumento do teor total de creatina e as reservas de fosfocreatina, auxiliando na ressíntese de ATP, além de ganhos de força e massa muscular [4,5].

A espectroscopia Raman (ER) é uma técnica óptica não invasiva, não destrutiva e sem a exigência de preparação ou uso de reagentes [6]. Nesse sentido, pesquisadores têm demonstrando vantagens da ER quando comparada a outros métodos tradicionais de análise bioquímica na urina, como a rapidez, não necessidade de preparação das amostras, especificidade molecular, além da aplicação da técnica em outros processos biológicos e metabólitos essenciais para a saúde [7-10].

Dada a importância da dieta nutricional no desempenho esportivo, o esporte de alto nível requer análise da condição metabólica do atleta para que as cargas de treinamento e a nutrição possam ser ajustadas individualmente e personalizada.

Objetivos

Este trabalho tem por objetivo identificar a presença de creatina na urina de atletas de natação utilizando a espectroscopia Raman, sendo que alguns destes atletas relataram receber suplementação de creatina antes do treinamento. A comparação é efetuada pela identificação dos picos Raman de creatina em amostras de urina coletada antes e após treinamento.

Material e Métodos

Foram coletadas amostras de urina de 5 nadadores de elite (3 homens, 2 mulheres), entre 19 e 22 anos, da equipe profissional de natação da Universidade Santa Cecília. Todos os atletas realizavam acompanhamento nutricional e treinavam em dois períodos (matutino e vespertino), seis vezes por semana, e duas vezes por semana treinavam de madrugada. O

estudo foi aprovado pelo comitê de ética da Universidade Santa Cecília, sob Protocolo No. 1.133.024. Todos os participantes leram e assinaram o consentimento livre e informado, antes de serem incluídos na pesquisa.

No dia da coleta, os atletas estavam 48 h sem exercício para evitar efeitos agudos. As amostras de urina de jato único foram coletadas antes e imediatamente após uma sessão de treinamento de 150 minutos, armazenadas em refrigeração (4 °C) e submetidas à espectroscopia Raman (espectrômetro Raman dispersivo, modelo Dimension P1, Lambda Solutions Inc., Waltham, MA, EUA, excitação 830 nm, potência laser 350 mW, faixa espectral entre 400 e 1800 cm^{-1}). Os espectros foram coletados com tempo de exposição de 20 s, processados visando retirada da fluorescência e de picos de raios cósmicos. Os espectros foram plotados a fim de identificar as diferenças entre os espectros antes e depois do exercício.

Resultados

A Figura 1 apresenta os espectros Raman das amostras de urina dos atletas 1 ao 5 antes e após treino, sendo que 1 e 2 (Figura 1A e 1B) ingeriram suplementação com creatina e 3, 4 e 5 (Figura 1D, 1 E e 1F) não ingeriram creatina, porém ingeriram suplementação que não consta creatina nos rótulos dos mesmos. A Figura 1C apresenta o espectro da creatina obtido de Bell, Stewart e Speers (2012) [11].

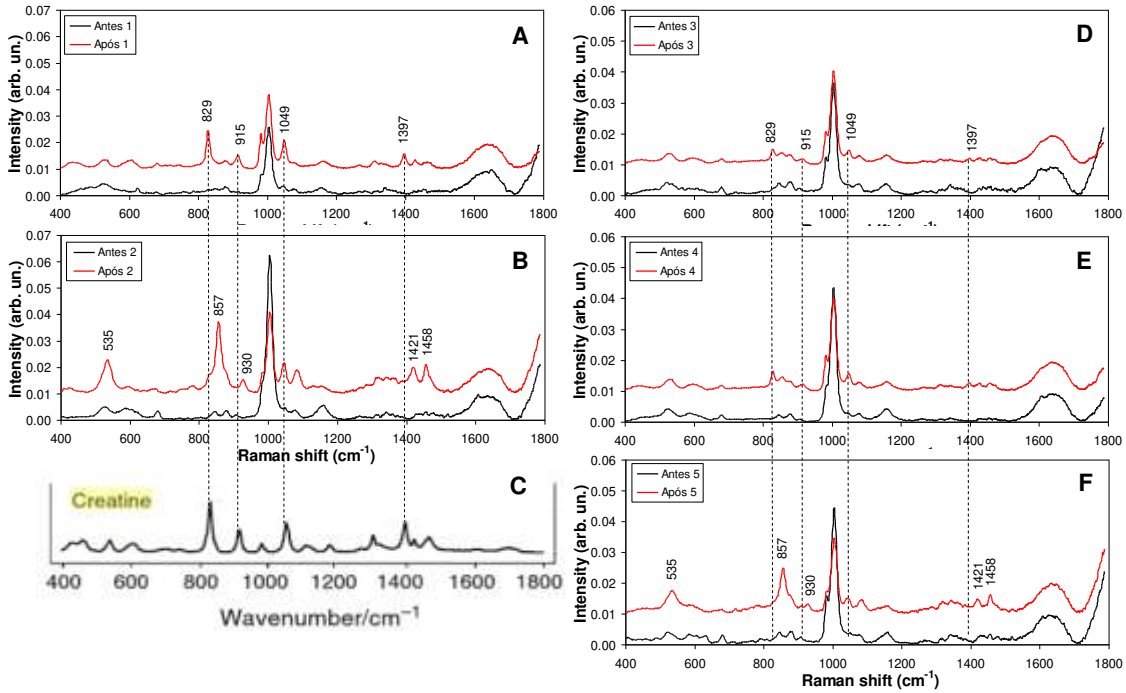

Figura 1. Espectros Raman de urina de sujeitos: (A) e (B) que ingeriram creatinina, (D), (E) e (F) que não ingeriram creatina e (C) espectro de creatina da literatura [11].

Os resultados apresentados na Figura 1 demonstraram que um dos dois sujeitos que ingeriram creatina apresentou picos característicos deste composto na urina, como os picos em 829, 915, 1049 e 1397 cm^{-1} (Figura 1A), enquanto que o outro sujeito não apresentou tais picos (Figura 1B). Porém, este segundo apresentou picos que podem ser relacionados com corpos cetônicos (hidroxibutirato), como os picos em 857, 930, 1421 e 1458 cm^{-1} [12]. Outros dois sujeitos que relataram não ingerir o suplemento creatina apresentaram picos característicos deste na urina.

Discussão

A presença de picos característicos de creatina em sujeitos que não relataram ingeri-la sugere uma concentração de creatina basal. De acordo com o metaboloma da urina humana [13], em indivíduos saudáveis é esperada uma concentração basal de creatina de até 448 μM/mM de creatinina. Todavia, buscando descartar a presença de creatina em outros suplementos reportados pelos atletas, mesmo que em menor quantidade como elemento secundário, a composição de cada um destes foi analisada e não foi verificada a presença de creatina nos demais suplementos.

O armazenamento e o consumo de creatina ocorrem no músculo esquelético, com uma taxa máxima de 160 mmol/kg [14]. Pesquisadores [15] verificaram que metade da quantidade de creatina ingerida por atletas foi excretada quando as doses eram aumentadas, sugerindo que esse aminoácido tem uma absorção limitada e seu excesso é excretado na urina sem metabolização. Por essa razão, é possível que os sujeitos que apresentaram picos de creatina na urina estejam ingerindo quantidades excessivas deste aminoácido, o que em longo prazo pode promover sobrecarga na função renal e hepática [16].

Conclusões

Por meio da espectroscopia Raman foi possível detectar os picos de creatina na urina dos atletas antes e após a sessão de treinamento de 150 minutos de natação. Nesse sentido, a partir da informação bioquímica da urina fornecida pela espectroscopia Raman, a suplementação de creatina pode ser ajustada de acordo com a necessidade de cada atleta, sendo um elemento importante para a melhora do desempenho esportivo.

Agradecimentos: Os autores agradecem o suporte financeiro da CAPES, parcial da FAPESP (Processo No. 2009/01788-5), e os atletas e a comissão técnica da equipe de natação da Universidade Santa Cecília pela colaboração.

Referências bibliográficas

1. Bassit RA, Malverdi MA (1998). Avaliação nutricional de triatletas. Revista Paulista de Educação Física, 12 (1): 42-53.
2. Traiperm N, Gatterer H, Pariwat P, Burtscher M (2016). Energy metabolism, liver and kidney function in adolescent marathon runners. European Journal of Clinical Investigation, 46 (1): 27-33.
3. Roshan VD, Babaei H, Hosseinzadeh M, Arendt-Nielsen L (2013). The effect of creatine supplementation on muscle fatigue and physiological indices following intermittent swimming bouts. Journal of Sports Medicine and Physical Fitness, 53 (3): 232-239.
4. Glaister M, Lockey RA, Abraham CS, Staerck A (2006). Creatine supplementation and multiple sprint running performance. Journal of Strength and Conditioning Research, 20 (2): 273-277.
5. Kreider RB (2003). Effects of creatine supplementation on performance and training adaptations. Molecular and Cellular Biochemistry, 244 (1-2): 89-94.
6. Bispo JAM, de Sousa Vieira EE, Silveira L, Fernandes AB (2013). Correlating the amount of urea, creatinine, and glucose in urine from patients with diabetes mellitus and hypertension with the risk of developing renal lesions by means of Raman spectroscopy and principal component analysis. Journal of Biomedical Optics, 18 (8): 087004-087004.
7. Guimarães AE, Pacheco MTT, Silveira L, Barsottini D, Duarte J, Villaverde AB, Zângaro RA (2006). Near infrared Raman spectroscopy (NIRS): A technique for doping control. Journal of Spectroscopy, 20 (4): 185-194.
8. Izquierdo-Lorenzo I, García-Ramos JV, Sanchez-Cortes S (2013). Vibrational characterization and surface-enhanced Raman scattering detection of probenecid doping drug. Journal of Raman Spectroscopy, 44 (10): 1422-1427.
9. Almeida ML, Saatkamp CJ, Fernandes AB, Pinheiro ALB, Silveira L (2016). Estimating the concentration of urea and creatinine in the human serum of normal and dialysis patients through Raman spectroscopy. Lasers in Medical Science, 31 (7): 1415-1423.
10. Saatkamp CJ, de Almeida ML, Bispo JAM, Pinheiro ALB, Fernandes AB, Silveira L (2016). Quantifying creatinine and urea in human urine through Raman spectroscopy aiming at diagnosis of kidney disease. Journal of Biomedical Optics, 21 (3): 037001.
11. Bell SEJ, Stewart SP, Speers SJ (2012). Raman Spectroscopy of Drugs of Abuse. In: Infrared and Raman Spectroscopy in Forensic Science. Chalmers JM, Edwards HGM, Hargreaves MD. Chichester: John Wiley & Sons; 2012. p. 323.
12. Moreira LP, Silveira L, da Silva AG, Fernandes AB, Pacheco MTT, Rocco DDFM (2017). Raman spectroscopy applied to identify metabolites in urine of physically active subjects. Journal of Photochemistry and Photobiology B, no prelo. doi: 10.1016/jphotobiol.2017.
13. Bouatra S, Aziat F, Mandal R, Guo AC, Wilson MR, Knox C, Bjorndahl TC, Krishnamurthy R, Saleem F, Liu P, Dame ZT, Poelzer J, Huynh J, Yallou FS, Psychogios N, Dong E, Bogumil R, Roehring C, Wishart DS (2013). The human urine metabolome. PloS One, 8 (9): e73076.
14. Shavandi N, Samiei A, Afshar R, Saremi A, Sheikhhoseini R (2012). The effect of exercise on urinary gamma-glutamyltransferase and protein levels in elite female karate athletes. Asian Journal of Sports Medicine, 3 (1): 41-46.
15. Burke LM (2001). Energy needs of athletes. Canadian Journal of Applied Physiology, 26 (Suppl.): S202-S219.
16. McArdle WD, Katch FL, Katch VL (2011). Fisiologia do exercício: Nutrição, energia e desempenho humano. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1172p.