

EFEITO DA CREATINA E DO CITRATO DE SILDENAFILA SOBRE O DESEMPENHO FÍSICO DE CAMUNDONGOS

EFFECT OF CREATINE AND SILDENAFIL CITRATE ON THE PHYSICAL PERFORMANCE OF MICE

EFFECTO DE LA CREATINA Y DEL CITRATO DE SILDENAFIL SOBRE EL DESEMPEÑO FÍSICO DE RATONES

Wendel Simões Fernandes¹ (Farmacêutico Bioquímico)
Rodolfo de Paula Vieira¹ (Profissional de Educação Física)
Ricardo César Alves Ferreira¹ (Profissional de Educação Física)
Sérgio César Ferreira¹ (Profissional de Educação Física)
Viviane Gadret Bório Conceição² (Farmacêutica)
Flávia Villaça Morais³ (Biomédica)
Aline Neves Araújo² (Bióloga)
Priscila Ebram de Miranda² (Farmacêutica Bioquímica)
Patrícia Destefano¹ (Profissional de Educação Física)
Wellington Ribeiro⁴ (Farmacêutico)

1. Universidade Federal de São Paulo, Programa de Pós-graduação em Ciências do Movimento Humano e Reabilitação, Santos, SP, Brasil.

2. Universidade Paulista, Instituto de Ciências da Saúde, São José dos Campos, SP, Brasil.

3. Universidade do Vale do Paraíba, Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Laboratório de Biologia Celular e Molecular de Fungos, São José dos Campos, SP, Brasil.

4. Universidade do Vale do Paraíba, Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, São José dos Campos, SP, Brasil.

Correspondência:

Wendel Simões Fernandes
Rua Talim, 330, São José dos Campos, SP, Brasil. 12231-280.
wen_sfernandes@hotmail.com

RESUMO

Introdução: O uso de substâncias com o objetivo de aumentar o rendimento esportivo entre atletas profissionais e amadores é crescente. Tais substâncias podem fazer parte do grupo de suplementos alimentares ou integrar classes farmacológicas. Toda substância empregada para esse fim é denominada de agente ergogênico. O número de opções entre os agentes ergogênicos aumenta a cada dia, favorecendo assim o uso em demasia e sem a devida orientação. Entre os suplementos alimentares, salientamos a utilização de creatina, substância muito difundida no meio esportivo. Já entre os grupos farmacológicos, muitas substâncias são utilizadas. Recentemente, foi divulgado entre os meios de comunicação o uso de citrato de sildenafila por atletas profissionais de várias modalidades esportivas, predominantemente as aeróbicas. **Objetivos:** Comparar e demonstrar as repostas ocasionadas pelo treinamento físico, associadas ao uso de creatina e citrato de sildenafila em camundongos. **Métodos:** Aplicou-se um protocolo de treinamento de natação e, a seguir, empregou-se um eletrofisiógrafo com objetivo de obter parâmetros referentes à intensidade de contração, à área sob a curva e à queda percentual. **Resultados:** As respostas obtidas demonstram ação ergogênica da creatina, visto que alteraram os parâmetros empregados para a mensuração. Já a utilização de citrato de sildenafila não apresentou resultados satisfatórios para enquadrar o fármaco como agente ergogênico. **Conclusão:** A creatina apresenta efeito ergogênico porque reduz a queda percentual após 10 segundos, já a sildenafila não apresentou potencial ergogênico e, curiosamente, demonstrou respostas inferiores quando comparado aos grupos de exercício. **Nível de evidência II; Estudo prospectivo comparativo.**

Descritores: Creatina; Fadiga muscular; Citrato de sildenafila.

ABSTRACT

Introduction: The use of substances to enhance sports performance among professional and amateur athletes is increasing. Such substances may either be included in the group of dietary supplements or fall into pharmacological classes. Every substance used for this purpose is called an ergogenic agent. The number of ergogenic options available increases every day, favoring overuse and use without proper guidance. Among the dietary supplements, we highlight the use of creatine, a substance widespread in sports. Among the pharmacological groups, many drugs are used. Recently the use of sildenafil citrate by professional athletes from various predominantly aerobic sports modalities was reported in the media. **Objective:** To compare and demonstrate the responses caused by physical training associated with the use of creatine and sildenafil citrate in mice. **Methods:** A swim training protocol was applied and then an electrophysiograph was used in order to obtain parameters related to contraction intensity, the area under the curve and the percentage drop. **Results:** The responses obtained demonstrated the ergogenic action of creatine because it altered the parameters used for measurement. The use of sildenafil citrate did not yield satisfactory results to frame the drug as an ergogenic agent. **Conclusion:** Creatine has an ergogenic effect, reducing the percentage drop after 10 seconds, while sildenafil demonstrated no ergogenic potential and, interestingly, resulted in weaker responses when compared to the exercise groups. **Evidence level II; Comparative prospective study.**

Keywords: Creatine; Muscle fatigue; Sildenafil citrate.

RESUMEN

Introducción: El uso de sustancias con el objetivo de aumentar el rendimiento deportivo entre atletas profesionales y amateurs es creciente. Tales sustancias pueden formar parte del grupo de suplementos alimentarios o integrar clases farmacológicas. Toda sustancia empleada para ese fin es denominada agente ergogénico. El número de opciones entre los agentes ergogénicos aumenta cada día, favoreciendo así su uso excesivo y sin la debida orientación. Entre los suplementos alimentarios, se destaca el uso de creatina, sustancia muy difundida en el medio deportivo. Ya entre los grupos farmacológicos, muchas sustancias son usadas. Recientemente, fue divulgado entre los medios de comunicación el uso de citrato de sildenafil por atletas profesionales, de varias modalidades deportivas, predominantemente las aeróbicas. **Objetivos:** Comparar y demostrar las respuestas ocasionadas por el entrenamiento físico, asociadas al uso de creatina y citrato de sildenafil en ratones. **Métodos:** Se aplicó un protocolo de entrenamiento de natación y, a continuación, se usó un electrofisiógrafo con el objetivo de obtener parámetros referentes a la intensidad de contracción, al área bajo la curva y a la caída porcentual. **Resultados:** Las respuestas obtenidas demuestran



acción ergogénica de la creatina, visto que alteraron los parámetros empleados para la medición. Ya el uso de citrato de sildenafil no presentó resultados satisfactorios para encuadrar al fármaco como agente ergogénico. Conclusión: La creatina presenta efecto ergogénico porque reduce la caída porcentual después de 10 segundos, mientras que el sildenafil no presentó potencial ergogénico y, curiosamente, demostró respuestas inferiores cuando comparado a los grupos de ejercicio. Nivel de evidencia II; Estudio prospectivo comparativo.

Descriptor: Creatina; Fatiga muscular; Citrato de sildenafil.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1517-869220212702153173>

Artigo recebido em 12/08/2015 aprovado em 04/11/2020

INTRODUÇÃO

Atualmente o uso de substâncias para aumento da performance física e da estética corporal vem sofrendo uma crescente, tais substâncias, denominadas de ergogênicas, atraindo a atenção de atletas profissionais e amadores com o intuito na melhora do desempenho físico em competições ou simplesmente com o objetivo de benefícios estéticos.¹ Entre as substâncias utilizadas pelos atletas podemos citar algumas classes farmacológicas, tais como vasodilatadores, broncodilatadores, hormônios esteróides e o extenso grupo de suplementos alimentares.² Vale ressaltar que outros recursos ergogênicos podem ser utilizados, além dos nutricionais e farmacológicos.

O número de opções entre substâncias ergogênicas cresce a cada dia e o acesso a esses recursos acaba se tornando relativamente fácil, tanto para atletas como para seus treinadores.^{3,4} Baseado nesse crescente número de compostos utilizados, podemos observar a utilização de substâncias já conhecidas para este fim, como é o caso da creatina, mas também podemos encontrar substâncias que apresentam outras finalidades, sendo utilizadas como ativos ergogênicos, que é o caso do citrato de sildenafil, um medicamento utilizado no tratamento de disfunção erétil.

O protocolo experimental utilizado, consiste no isolamento do nervo ciático e do músculo tibial de camundongos, e posterior conexão ao eletroígrafo, com estimulações elétricas controladas. Em modelos animais o músculo tibial anterior é de significativo interesse para pesquisas, devido ao seu tamanho relativamente grande, por sua inervação pelo nervo ciático e sua mesclada composição de tipo de fibras musculares, por essas características tem sido amplamente utilizada como ferramenta de estudos.⁵

A decisão de se utilizar um agente ergogênico, sem a devida orientação é baseada em supostos benefícios que o próprio consumidor imagina alcançar, ignorando possíveis malefícios que esta prática pode causar.⁶ Desta maneira o presente trabalho apresenta como justificativa a elucidação dos efeitos ergogênicos tanto da creatina, que apresenta utilização bem difundida nos meios esportivos e do fármaco sildenafil, que recentemente apresentou através da mídia relatos de uso como substância ergogênica, predominantemente em modalidades aeróbicas.

Desta forma o objetivo principal do estudo é observar as mudanças causadas pela utilização de creatina e sildenafil, associada a um protocolo de treinamento aeróbio em camundongos.

MÉTODOS

Todos os experimentos foram aprovados pelo comitê de ética do uso de animais em pesquisa da Universidade do Vale do Paraíba, sob o protocolo A04/CEUA/2014. Todo o estudo foi realizado no laboratório de Fisiologia e Farmacodinâmica, do Instituto de Pesquisa e desenvolvimento, na Universidade do Vale do Paraíba.

Trata-se de um estudo experimental envolvendo camundongos swiss machos, submetidos ao treinamento de natação com o acréscimo de carga. Após o protocolo de treinamento os animais foram submetidos a procedimento cirúrgico para isolar o nervo ciático e o tendão tibial direito, possibilitando assim a conexão do animal ao eletrofisiógrafo. A partir da estimulação elétrica induzida foram obtidos os parâmetros referentes a intensidade de contração, área sob a curva e queda percentual pós 10 segundos.

Animais

Foram utilizados 24 camundongos swiss, machos, pesando entre 25-30 gramas, proveniente do biotério Anilab Campinas. Todos os animais passaram por um período de adaptação de 2 semanas ao biotério da Universidade do Vale do Paraíba, antes do início dos experimentos. Os animais foram mantidos em gaiolas forradas com maravalha e lotação máxima de 5 animais, sem restrição de água e ração, e em ciclos claro e escuro de 12 horas.

Grupos Experimentais

Os animais foram divididos em quatro grupos, contendo seis animais por grupo, na seguinte disposição:

- Grupo (sedentário): animais sedentários, não suplementados, mantidos a ração e água.
- Grupo (natação): animais submetidos ao protocolo de treinamento de natação, não suplementados, mantidos a ração e água.
- Grupo (natação + sildenafil): animais submetidos ao protocolo de treinamento de natação, recebendo o fármaco citrato de sildenafil (10mg/kg), durante todo o protocolo de treinamento, mantidos a ração e água.
- Grupo (natação + creatina): animais submetidos ao protocolo de treinamento de natação, recebendo suplementação de creatina (1g/kg), durante todo o protocolo de treinamento, mantido a ração e água.

Administração do Citrato de Sildenafil

O citrato de sildenafil foi administrado por via intraperitoneal diariamente durante todo o experimento, 30 minutos antes da realização do protocolo de treinamento, baseado no pico de ação da substância.⁷ O fármaco foi obtido em forma de matéria prima bruta (PharmaNostra, lote 0500520115c, São José dos Campos, SP). Para ser administrado o fármaco foi solubilizado em salina, dando origem a uma solução. A dose utilizada foi de 10 mg/kg.⁶

Administração de Creatina

A creatina foi administrada por via oral com o auxílio de uma agulha de gavagem, a administração foi realizada diariamente 30 minutos antes da realização do protocolo de treinamento, o suplemento foi obtido em sua forma comercial monohidratada (Universal Nutrition, EUA, lote 186167b). O esquema de administração foi dividido em duas etapas, a primeira semana de experimento consistiu em fase de carregamento, onde a dose foi de 5g/kg de massa corporal do animal, a segunda etapa foi denominada de fase de manutenção, sendo a dose de 1g/kg de massa corporal do animal.⁸ A creatina foi solubilizada em água para facilitar a administração ao animal.

Protocolo De Treinamento

O protocolo de treinamento utilizado consiste em sessões de natação, com duração de 30 minutos, 5 vezes por semana, durante 6 semanas. O treinamento foi realizado em caixas com dimensões aproximadas de (100 cm x 70 cm x 50 cm) contendo água previamente aquecida e monitorada (30-34 °C). Os animais passaram por período de adaptação de duas semanas, para minimizar efeitos relacionados ao estresse que o exercício poderia causar aos animais. Após o período de adaptação todos os animais foram submetidos ao protocolo, tendo na base da cauda uma célula de peso, correspondente a 70% da carga máxima suportada por cada animal. A determinação do peso foi realizada no teste de carga máxima. O tempo de permanência na água foi criteriosamente cronometrado e nenhum

animal praticou exercício além do estipulado no protocolo. Após as sessões todos os animais foram secos manualmente com o auxílio de toalhas, e recolocados em suas respectivas caixas de contenção.

Teste De Carga Máxima

O teste de carga máxima foi realizado de modo individual, sendo adicionadas células de carga correspondentes 1%, 2%, 3% etc. do peso do animal, submetendo o mesmo a 3 minutos de natação, e 1 minuto de recuperação antes do aumento da carga, até sua exaustão, determinando assim a carga máxima suportada. A exaustão do animal foi determinada pela incapacidade do mesmo em se manter na superfície.⁸ O teste de carga máxima foi essencial para se determinar a carga no treinamento de natação, sendo 70% da carga máxima suportada, o valor utilizado no treinamento.⁹

Protocolo De Anestesia

Os animais foram anestesiados utilizando Xilazina 2% e Ketamina 10%, via intraperitoneal. Durante a indução anestésica, os animais foram monitorados e aquecidos com a presença constante de luz. Logo após a observação da perda dos reflexos foram submetidos ao procedimento cirúrgico.

Procedimento Cirúrgico

O procedimento cirúrgico visa isolar o nervo ciático e o tendão tibial, conectando-os respectivamente aos eletrodos e ao transdutor isométrico, interligados ao fisiógrafo. Com o animal anestesiado e posicionado na mesa cirúrgica, foi realizada uma incisão cutânea longitudinal na face anterior da região tibial, sob a qual se encontra o tendão tibial, o mesmo foi isolado e conectado ao transdutor isométrico (UGO BASILE). O nervo ciático foi isolado através de incisão no músculo e conectado ao eletrodo dipolo (UGO BASILE). O músculo tibial foi submetido a uma tensão constante de 1g e foi estimulado indiretamente por pulso 4V, 0,2 Hz e 2 milissegundos de duração por contração. Durante 3 minutos as contrações foram mantidas de maneira seriada, após esse tempo foi induzido uma contração tetânica de 10 segundos de duração, esse processo foi repetido mais duas vezes. Para se induzir as contrações tetânicas a frequência foi aumentada para 50 Hz. Ao final do procedimento obtivemos 3 contrações tetânicas por cada animal. Todas as contrações foram registradas pelo fisiógrafo GEMINI 7070 da UGO BASILE. Em modelos animais o músculo tibial anterior é de significativo interesse para pesquisas, devido ao seu tamanho relativamente grande, por sua inervação pelo nervo ciático e sua mesclada composição de tipo de fibras musculares, por essas características tem sido amplamente utilizada como ferramenta de estudos⁵. A intensidade de força de contração foi medida a partir de um padrão utilizado equivalente a 1,0 grama. A queda percentual foi medida determinando o pico de contração máxima e o pico existente após os 10 segundos de contração tetânica. A área sob a curva (AUC) foi determinada através do cálculo do trapézio de acordo com a seguinte fundamentação: Sabe-se que pela fundamentação do Cálculo Diferencial e Integral que se $f(x)$ é uma função contínua no intervalo $[a,b]$, então esta função tem uma primitiva no mesmo, ou seja, existe $f(x)$ tal que $f'(x)=f(x)$. Para resolver o problema de aproximação do cálculo de área sobre uma determinada curva temos a Regra do Trapézio. O conceito da regra do trapézio é aproximar a função $f(x)$ por um polinômio de ordem 1 (reta). Podemos perceber que, nessa aproximação a integral da função $f(x)$ pode ser aproximada pela área do trapézio.¹⁰

Eutanásia

Os animais foram submetidos à eutanásia, utilizando o agente químico cloreto de potássio (KCl) 20% em solução, através de injeção intracardiaca. O procedimento de eutanásia foi realizado com os animais ainda anestesiados.

Análises Estatísticas

Foi utilizado One-Way Anova seguido de teste Tukey-Kramer de comparação múltipla. O valor de p menor que 0,05 foi considerado como diferença estatística de significância.

RESULTADOS

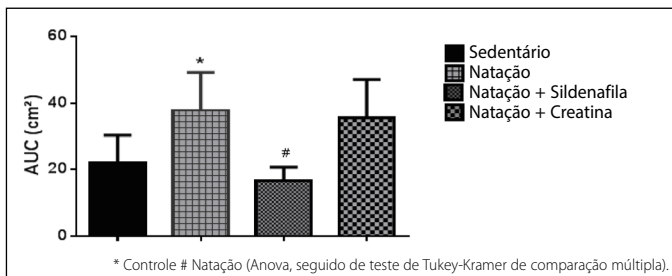


Figura 1. Área sob a curva. Os dados representam a média \pm desvio padrão. $n=6$, $p<0,05$ quando comparado com a resposta obtida para os grupos.

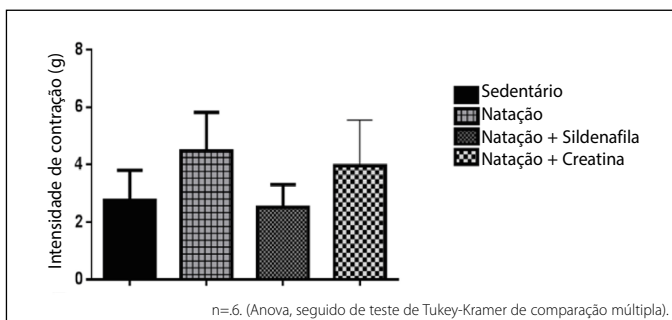


Figura 2. Intensidade de contração. Os dados representam a média \pm desvio padrão. $n=6$. (Anova, seguido de teste de Tukey-Kramer de comparação múltipla).

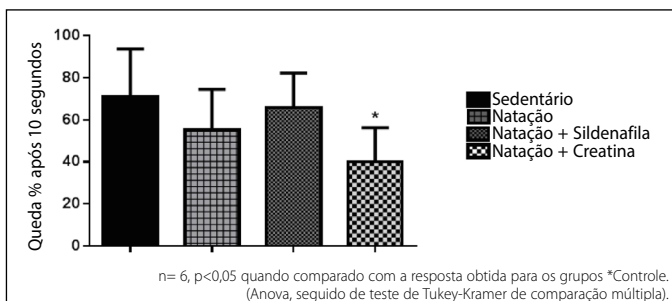


Figura 3. Queda percentual após 10 segundos de contração tetânica. Os dados representam a média \pm desvio padrão. $n=6$, $p<0,05$ quando comparado com a resposta obtida para os grupos *Controle. (Anova, seguido de teste de Tukey-Kramer de comparação múltipla).

DISCUSSÃO

Os efeitos causados pelos exercícios físicos aplicados através de protocolos contínuos de treinamentos são descritos em literaturas. Alterações estruturais e metabólicas no tecido muscular esquelético podem resultar em respostas de aumento de *performance*, causando possivelmente acréscimo na força de contração, amplitude de contração e resistência a fadiga.^{11,12} A questão a ser discutida é a resposta gerada através da associação de exercícios físicos com possíveis recursos ergogênicos, no caso a creatina e o citrato de sildenafil, que são os alvos do trabalho em questão. Os resultados encontrados demonstram o efeito ergogênico da creatina, porém refutam o possível efeito ergogênico, atribuído ao citrato de sildenafil.

Analisando as respostas obtidas referentes à área sob a curva (figura 1) é demonstrado uma diferença significativa entre os grupos controle e natação, fortalecendo o raciocínio de alterações causadas pelo treinamento físico. Essas alterações parecem estar relacionadas a fatores neurais e a hipertrofia muscular que ocorre quando o exercício é realizado com acréscimo de peso.¹³

O protocolo de exercício realizado nesse estudo utiliza o princípio da sobrecarga, se baseando, portanto na indução de um distúrbio da homeostasia do animal para que o organismo responda de maneira positiva, processo conhecido como adaptação fisiológica positiva.¹⁴ Quando respeitado o tempo de recuperação entre as sessões de exercícios ocorre adaptação positiva, através do remodelamento metabólico e

morfológico das miofibrilas, mediado pela ativação gênica que resulta em mudanças na massa muscular.^{15,16}

Existe uma elevada área sob a curva que devemos considerar, mesmo não apresentando significância estatística quando analisamos o grupo natação associado ao uso de creatina, podendo ser interpretado como resposta do treinamento físico realizado por esses animais. Sendo assim o resultado elevado desse parâmetro não deve ser atribuído ao uso da creatina e sim ao protocolo de treinamento realizado. O mesmo raciocínio não é utilizado para justificar os resultados apresentados pelo grupo natação associado ao uso de sildenafil, já que os animais passaram pelo mesmo protocolo de treinamento e apresentaram respostas bem inferiores quando comparados aos outros grupos exercitados.

O parâmetro determinado pela intensidade de contração (figura 2) não apresenta diferenças significativas estatisticamente, porém é possível perceber a tendência de melhores resultados nos grupos natação e natação associado ao uso de creatina, atribuindo esses resultados as adaptações positivas causadas pelo exercício físico, contrapondo as conclusões encontradas em trabalho que atribui a creatina potencial de melhora no desempenho de força muscular, porém em programas de treinamentos direcionados para força muscular.¹⁷

Já o grupo natação associado ao uso de sildenafil demonstra resultado muito similar ao grupo sedentário. Porém esses resultados corroboram com os resultados apresentados em trabalho, que demonstra que a sildenafil diminuiu significativamente a capacidade de corrida em teste realizado com ratos, sendo a diminuição intensificada quando aumentada a dose do fármaco.⁷

O parâmetro envolvendo a queda percentual após 10 segundos de contração tetânica (figura 3) está diretamente ligado com a resistência e a fadiga muscular, sendo que o grupo que apresenta a menor queda demonstra uma resistência a fadiga aumentada. No trabalho em questão é o grupo natação associado a utilização de creatina. Esse aumento pode ser atribuído pelo mecanismo de reposição de Creatina Fosfato (PCr) nas células musculares, causada pela ingestão de creatina. Quando um exercício físico é realizado por determinado tempo os níveis de ATP são reduzidos e fisiologicamente recomposto através das moléculas de PCr, porém com o estímulo físico mantido o estoque de PCr também é reduzido.^{18,19,20}

De acordo com pesquisas realizadas envolvendo a ingestão de creatina dividida em duas fases, uma de carregamento e outra de manutenção foi constatado o aumento de 20% nos níveis de creatina muscular.^{21,22} Fato que pode favorecer a manutenção dos níveis de PCr e melhorar o limiar a fadiga.

Outro fator atribuído a creatina que pode justificar a melhora no limiar a fadiga consiste no efeito de tamponamento causado pela molécula de PCr. Ao ocorrer a conversão de ADP em ATP através da PCr são consumidos íons hidrogênio, aumentando assim o pH local e amenizando os efeitos negativos que a acidose pode trazer para o rendimento muscular.^{23,24}

Novamente o grupo natação associado ao uso de sildenafil não demonstrou resultados que possam enquadrar a substância como um agente ergogênico, corroborando com estudo realizado utilizando atletas, onde é demonstrado que em situações normais de altitudes a sildenafil não é capaz de melhorar o rendimento esportivo, porém em situações de altitudes elevadas o fármaco apresenta tendências a melhorar a performance, partindo do princípio que nessas situações um quadro de hipóxia é instalado, sendo portanto a vasodilatação induzida pelo uso da droga nessas situações vantajosa, para melhores resultados físicos.^{25,26,16}

Desta forma os resultados demonstram a ação ergogênica da creatina, atuando no aumento de limiar a fadiga. Já a sildenafil não apresentou melhora na performance esportiva, evidenciando resultados bem similares ao grupo sedentário.

CONCLUSÃO

Os resultados apresentados demonstram que a creatina pode ser interpretada como um agente ergogênico, pois interfere no rendimento esportivo, sendo eficaz na diminuição da queda percentual pós 10 segundos, favorecendo assim um aumento no limiar a fadiga muscular. Apesar de muitos trabalhos demonstrarem a atuação da creatina sobre o aumento de força, os resultados apresentados no presente trabalho não evidenciam essa alteração. Os dados envolvendo o grupo natação associado ao uso de sildenafil demonstram que a utilização do fármaco não induz melhora no desempenho esportivo.

Todos os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES: Cada autor contribuiu individual e significativamente para o desenvolvimento deste artigo. WSF: contribuição na concepção, desenho do trabalho, treinamento e procedimentos cirúrgicos, coleta de dados, interpretação dos dados, redação e revisão do trabalho; RVP: interpretação dos dados, redação e revisão do trabalho; RCAF: contribuição na concepção, desenho do trabalho, treinamento e procedimentos cirúrgicos, coleta de dados, interpretação dos dados; SCF: interpretação dos dados, redação e revisão do trabalho; VGB: interpretação dos dados, redação e revisão do trabalho; FVM: interpretação dos dados, redação e revisão do trabalho; ANA: interpretação dos dados, redação e revisão do trabalho; PEM: interpretação dos dados, redação e revisão do trabalho; PD: interpretação dos dados, redação e revisão do trabalho; WR: contribuição na concepção, desenho do trabalho, treinamento e procedimentos cirúrgicos, coleta de dados, interpretação dos dados, redação e revisão do trabalho e orientação de todo o protocolo experimental.

REFERÊNCIAS

1. Fontana KE, Valdes H, Baldissera V. Glutamina como suplemento ergogênico. *Rev Bras Ciênc Med*. 2003;11(3):91-6.
2. Souza R, Ceni GC. Uso de suplementos alimentares e auto percepção corporal de praticantes de musculação em academias de Palmeiras das Missões – RS. *Rev Bras Nutr Esport*. 2014;8(43):20-9.
3. Molinero O, Marquez S. Use of nutritional supplements in sports: risks, Knowledge and behavioural-related factors. *Nutr Hosp*. 2009;24(2):128-34.
4. Ribas Filho D, Silva FBB, Botura RI. Avaliação do uso de ergogênicos por praticantes de academia no Noroeste e Nordeste no estado de São Paulo. *Intern J Nutrology*. 2014;7(2):05-10.
5. Shin RH, Vathana T, Giessler GA, Friedrich PF, Bishop AT, Shin AY. Isometric tetanic force measurement method of the tibialis anterior in the rat. *Microsurgery*. 2008; 28(6):452-7.
6. Santos MAA, Santos RP. Uso de suplementos alimentares como forma de melhorar a performance nos programas de atividade física em academias de ginástica. *Rev Pau Educ Fis*. 2002;16(2):174-85.
7. Rinaldi B, Donniacuo N, Sodano L, Gritti G, Signoriello S, Parreta E, et al. Effects of sildenafil on the gastrocnemius and cardiac muscles of rats in model of prolonged moderate exercise training. *PlosOne*. 2013;8(7):1-13.
8. Souza RA, Santos RM, Osório RAL, Cogo JC, Priante Júnior ACG, Martins RABL, et al. Influência da suplementação aguda e crônica de creatina sobre as concentrações sanguíneas de glicose e lactato de ratos wistar. *Rev Bras Med Esporte*. 2006;12(6):361-5.
9. Osorio RAL, Silveira VLF, Maldjian S, Morales Júnior A, Christofani JF, Russo AK, et al. Swimming of pregnant rats at different water temperatures. *Comp Biochem Physiol A MollIntegr Physiol*. 2003;135(4):605-11.
10. Ruggiero MAG, Lopes VL. Cálculo Numérico Aspectos Teóricos E Computacionais. São Paulo: Mackron Books; 1998.
11. Kraemer WJ, Ratmess MA. Hormonal responses and adaptations to resistance exercise and training. *Sports Med*. 2005;35(23):339-6.
12. Baltgalvis KA, Call JA, Cochran GD, Laker RC, Yan Z, Lowe DA. Exercise training improves plantar flexor muscle function in mdx mice. *Med Sci Sports Exerc*. 2012;44(9):1671-9.
13. Dias RMR, Cyrino ES, Salvador EP, Nakamura FY, Pina FLC, Oliveira AR. Impacto de oito semanas de treinamento com pesos sobre a força muscular de homens e mulheres. *Rev Bras Med Esporte*. 2005;11(4):224-9.
14. Toigo M, Boutellier U. New fundamental resistance exercise determinants of molecular and cellular muscle adaptations. *Eur J Appl Physiol*. 2006;97(15):643-63.
15. Smith LL. Tissue trauma: the underlying cause of overtraining syndrome? *J Strength Cond Res*. 2004;18(6):185-93.
16. Walters J. Muscle hypertrophy and pseudohypertrophy. *Pract Neurol*. 2017;17(5):369-79.
17. 17. Corrêa DA, Lopes CR. Efeitos da suplementação de creatina no treinamento de força. *Rev Bras Nutr Esportiva*. 2014;8(45):180-6.
18. Wang CC, Fang CC, Lee YH, Yang MT, Chan KH. Effects of 4-Week Creatine Supplementation Combined with Complex Training on Muscle Damage and Sport Performance. *Nutrients*. 2018;10(11):1640.
19. Hummer E, Suprak DN, Buddhadev HH, Brilla L, San Juan JG. Creatine electrolyte supplement improves anaerobic power and strength: a randomized double-blind control study. *J Int Soc Sports Nutr*. 2019;16(1):24.
20. Sampaio CRSF, Aidar FJ, Ferreira ARP, Santos JLD, Marçal AC, Matos DG, et al. Can Creatine Supplementation Interfere with Muscle Strength and Fatigue in Brazilian National Level Paralympic Powerlifting? *Nutrients*. 2020;12(9):2492.
21. Stares A, Bains M. The Additive Effects of Creatine Supplementation and Exercise Training in an Aging Population: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *J Geriatr Phys Ther*. 2020;43(2):99-112.
22. Volek JS, Kraemer WJ, Bush JA, Boetes M, Incledon T, Clark KL, et al. Creatine supplementation enhances muscular performance during high-intensity resistance exercise. *J Am Diet Assoc*. 1997;97(7):765-70.
23. Lambert CP, Flynn MG. Fatigue during high intensity intermittent exercise. *Sports Med*. 2002;32(8):511-22.
24. Gomes RV, Aoki MS. Suplementação de creatina anula o efeito adverso do exercício de endurance sobre o subsequente desempenho de força. *Rev Bras Med Esporte*. 2005;11(2):131-4.
25. Hsu AR, Barnhot KE, Grundmann NK, Lin JH, MacCallun SW, Frierlander AL. Sildenafil improves cardiac output and exercise performance during acute hypoxia, but not normoxia. *J Appl Physiol*. 2006;100(6):2031-40.
26. Carter EA, Sheel AW, Milsom WK, Koehle MS. Sildenafil does not improve performance in 16.1 km cycle exercise time-trial in acute hypoxia. *PLoS One*. 2019;14(1):e0210841.