



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

WAGNER JORGE RIBEIRO DOMINGUES

**OITO SEMANAS DE SUPLEMENTAÇÃO DE CREATINA
ASSOCIADA À PRÁTICA DE ATIVIDADE FÍSICA NÃO
MELHORA A CAPACIDADE FUNCIONAL, FUNÇÃO E
REGULAÇÃO CARDIOVASCULAR, MAS MANTÉM
ESTÁVEIS MARCADORES DE FUNÇÃO RENAL EM
PACIENTES COM DOENÇA ARTERIAL PERIFÉRICA**

WAGNER JORGE RIBEIRO DOMINGUES

OITO SEMANAS DE SUPLEMENTAÇÃO DE CREATINA ASSOCIADA À PRÁTICA DE ATIVIDADE FÍSICA NÃO MELHORA A CAPACIDADE FUNCIONAL, FUNÇÃO E REGULAÇÃO CARDIOVASCULAR, MAS MANTÉM ESTÁVEIS MARCADORES DE FUNÇÃO RENAL EM PACIENTES COM DOENÇA ARTERIAL PERIFÉRICA

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação Associado em Educação Física – UEL/UEM como requisito para obtenção do título de Doutor em Educação Física.

Orientador: Prof. Dr. Ademar Avelar de Almeida Júnior.

Coorientador: Prof. Dr. Raphael Mendes Ritti-Dias

Londrina
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Domingues, Wagner Jorge Ribeiro.

Oito semanas de suplementação de creatina associada à prática de atividade física não melhora a capacidade funcional função e regulação cardiovascular, mas mantém estáveis marcadores de função renal em pacientes com doença arterial periférica / Wagner Jorge Ribeiro Domingues. - Londrina, 2018.
111 f. : il.

Orientador: Ademar Avelar de Almeida Júnior.

Coorientador: Raphael Mendes Ritti-Dias.

Tese (Doutorado em Educação Física) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Educação Física e Esportes, Programa de Pós-Graduação em Educação Física, 2018.

Inclui bibliografia.

1. Suplementos nutricionais - Tese. 2. Caminhada - Tese. 3. Teste de caminhada - Tese. 4. Claudicação intermitente - Tese. I. de Almeida Júnior, Ademar Avelar. II. Ritti-Dias, Raphael Mendes. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Educação Física e Esportes. Programa de Pós-Graduação em Educação Física. IV. Título.

WAGNER JORGE RIBEIRO DOMINGUES

**OITO SEMANAS DE SUPLEMENTAÇÃO DE CREATINA ASSOCIADA
À PRÁTICA DE ATIVIDADE FÍSICA NÃO MELHORA A
CAPACIDADE FUNCIONAL, FUNÇÃO E REGULAÇÃO
CARDIOVASCULAR, MAS MANTÉM ESTÁVEIS MARCADORES DE
FUNÇÃO RENAL EM PACIENTES COM DOENÇA ARTERIAL
PERIFÉRICA**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação Associado em Educação Física – UEL/UEM como requisito para obtenção do título de Doutor em Educação Física.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Dr. Ademar Avelar de Almeida Júnior
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Crivaldo Gomes Cardoso Júnior
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Leandro Ricardo Altimari
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra. Rita de Cassia Gengo e Silva
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra. Aline Mendes Gerage da Silva
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 14 de maio de 2018.



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Centro de Educação Física e Esporte
Programa de Pós-Graduação em Educação Física

ATA DE DEFESA DE TESE

Aos 14 dias do mês de maio do ano de 2018, na sala 02 do LABESC, desta Universidade, às 14:00 horas, reuniu-se a Banca Examinadora homologada pelo Programa de Pós-Graduação, composta por Dr. Ademar Avelar de Almeida Junior, como presidente da banca, Dra. Aline Mendes Gerage, Dr. Crivaldo Gomes Cardoso Junior, Dr. Leandro Ricardo Altimari e Dra. Rita de Cassia Gengo e Silva na condição de membro remoto. A reunião teve por objetivo julgar o trabalho do estudante Wagner JORGE RIBEIRO DOMINGUES sob o título "EFEITO DE OITO SEMANAS DE SUPLEMENTAÇÃO DE CREATINA ASSOCIADA À PRÁTICA DE EXERCÍCIO FÍSICO NA CAPACIDADE FUNCIONAL, FUNÇÃO E REGULAÇÃO CARDIOVASCULAR E NA FUNÇÃO RENAL DE PACIENTES COM DOENÇA ARTERIAL PERIFÉRICA SINTOMÁTICOS". Os trabalhos foram abertos pelo professor Dr. Ademar Avelar de Almeida Junior. A seguir foi dada a palavra ao estudante para apresentação do trabalho. Cada examinador arguiu o doutorando, com tempos iguais de arguição e resposta. Terminadas as arguições, procedeu-se o julgamento do trabalho, sendo que a professora Dra. Rita de Cassia Gengo e Silva membro remoto enviou simultaneamente o formulário de avaliação o qual foi impresso e anexado à presente ata. A Banca Examinadora concluiu pela APPROVAÇÃO do trabalho. Nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente ata, que vai assinada pelos demais membros da Banca Examinadora.

O estudante deverá reformular seu trabalho no prazo de dias: () SIM (X) NÃO

Se houver alteração no título do trabalho, informar o novo título abaixo:

OITO SEMANAS DE SUPLEMENTAÇÃO DE CREATINA ASSOCIADA À PRÁTICA DE ATIVIDADE FÍSICA NÃO MELHORA A CAPACIDADE FUNCIONAL, FUNÇÃO E REGULAÇÃO CARDIOVASCULAR, MAS MANTÉM ESTÁVEIS MARCADORES DE FUNÇÃO RENAL EM PACIENTES COM DOENÇA ARTERIAL PERIFÉRICA.
OBS.: Este documento não deve conter rasuras ou corretivo e deve ser preenchido de forma legível)

Londrina, 14 de maio de 2018.

PRESIDENTE

Dr. ADEMAR AVELAR DE ALMEIDA JUNIOR UNESP

TITULARES

Dra. ALINE MENDES GERAGEI UFSC

Dr. CRIVALDO GOMES CARDOSO JUNIOR UEL

Dr. LEANDRO RICARDO ALTIMARI UEL

Dra. RITA DE CASSIA GENGO E SILVA USP

DEDICO

Aos meus pais, Jorge e Flávia, por todo o esforço em sempre querer dar o melhor aos seus filhos.

AGRADECIMENTOS

Com certeza, esse é o momento mais difícil da Tese...

A minha noiva, amiga, e companheira de todas as horas, Caroline Ferraz Simões, por ter compreendido e me ajudado durante toda essa caminhada. Enfrentamos diversas dificuldades, mas mesmo assim sempre me apoiou. Ela sempre foi meu porto seguro durante essa caminhada. Com certeza devo tudo isso a ela.

Aos meus sogros, Mauro e Neide, por sempre terem me ajudado em todos os momentos que precisei.

Aos meus pais, Jorge e Flavia, por todo o esforço em me ajudar a realizar este objetivo. A minha irmã, Soraya, que não mediu esforços em me ajudar quando precisei, e à minha tia Alzira, pois é a minha segunda mãe. A minha avó, Noeme (*in memoriam*), pois ela sempre dizia ao me ver: “vou ter um neto doutor”. Com certeza ela está no céu alegre neste momento.

Aos meus amigos e professores, Haldo, Odivaldo e Ewertton, por todo apoio quando sai de Manaus em busca de um sonho.

Aos meus grandes amigos de Recife, Antonio Soares e Bruno Remígio, pois sou muito grato a todo aprendizado e momentos de risada ao qual passamos durante todos esses anos.

Aos meus amigos do Grupo de Estudo e Pesquisa em Intervenções Clínicas nas Doenças Cardiovasculares (GEPICARDIO), Marília, Aline Cabral, Mayara, Franciely, Rômulo, Alúcio e Paulo Longano (Shalom! É “nóis”) pela ajuda nas coletas e risadas durante as horas vagas. Além dos meus coorientadores Raphael Ritti-Dias e Gabriel Cucato. Com certeza, levarei todo o aprendizado para o resto da vida. Sou muito grato a vocês.

Aos médicos do Ambulatório de Cirurgias Vasculares do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, Dr. Glauco Saes, Dr. Antonio Zerati, Dra. Luciana e Dr. Pedro Puech Leão, pela receptividade, colaboração no projeto, além da disponibilização do aparelho de infravermelho proximal (NIRS).

Aos médicos do Hospital Israelita Albert Einstein, Dr. Nelson Wolosker e Dr. Luiz Vicente Rizzo, por terem autorizado a realização do projeto nesta instituição. Além de todos os funcionários (as), enfermeira Sandra, recepcionistas Rose e Jorge, e demais colaboradores. Um agradecimento especial a equipe de estatística, Ana Carolina e Gisele Cristine, pela elaboração de todas as análises do projeto. Muito obrigado!

Ao colega Daniel Boari Coelho, da Universidade Federal do ABC, por todo suporte e paciência junto à extração das análises da NIRS. Muito obrigado!

A todos os pacientes, ao qual convivi durante dois anos, direta e indiretamente, neste ou em outros projetos desenvolvidos pelo GEPICARDIO. Vocês me ensinaram muito como ser humano.

As empresas, CREAPURE® e PROBIÓTICA®, pela doação da creatina e dextrose, respectivamente, utilizada no estudo.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas – FAPEAM, pela bolsa de investigação. Com certeza isso foi primordial para que eu me dedicasse integralmente à Pós-Graduação. A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, por disponibilizar recursos para aquisição da NIRS.

Aos funcionários da Universidade Estadual de Maringá, Dona Dirce, por sempre lembrar de mim quando fazia um café quentinho. Ao “Seu Didi”, por sempre ser prestativo quando lhe pedia algo (ele resolvia mesmo! Rs). A Guisela, por sanar todas as minhas dúvidas relacionadas ao programa, assim como a Ivone (UEL).

Aos colegas integrantes do Grupo de Estudos e Pesquisa em Exercício e Nutrição para a Saúde e no Esporte (GEPENSE), em especial a Pollyana Mayara Nunhes (meu braço direito, mesmo a distância) e ao Tiago Rodrigo pela análise nutricional.

Aos professores da banca examinadora, Prof^a. Dr^a. Aline Gerage, Prof. Dr. Crivaldo Cardoso, Prof. Dr. Leandro Altimari e Prof^a. Dr^a. Rita Gengo, pela compreensão em realizar este processo em tempo hábil. Meu muito obrigado!

Ao meu orientador, Ademar Avelar, por ter apostado na minha vontade. Com certeza serei eternamente grato pela oportunidade. Espero ter correspondido a altura e não te-lô decepcionado como aluno e pessoa. É uma grande honra ser lembrado eternamente como seu primeiro aluno de doutorado.

DOMINGUES, Wagner Jorge Ribeiro. **Oito semanas de suplementação de creatina associada à prática de atividade física não melhora a capacidade funcional função e regulação cardiovascular, mas mantém estáveis marcadores de função renal em pacientes com doença arterial periférica.** 2018. 111 f. Tese (Doutorado em Educação Física) –Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi investigar o efeito de oito semanas de suplementação de creatina associada à prática de atividade física na capacidade funcional, função e regulação cardiovascular e na função renal de pacientes com doença arterial periférica sintomáticos (DAP). Vinte e nove pacientes foram randomizados de maneira duplo-cega para receberem a administração de placebo (dextrose – Grupo PLA) ou creatina monohidratada (Grupo Cr), durante oito semanas (Uma semana – período de carregamento: 20g/ dia, quatro doses de cinco gramas e sete semanas – período de manutenção: cinco gramas, uma dose por dia). Associada à suplementação, todos os pacientes foram orientados a realizar o atividade física em casa (30-45 minutos de caminhada, \geq três vezes/semana), monitorados por um pedômetro. Antes e após o período de intervenção, foram avaliados os parâmetros de marcha (teste de caminhada de 6 minutos), equilíbrio, velocidade de marcha e força de membros inferiores (*Short Physical Performance Battery – SPPB*), saturação de oxigênio do músculo da panturrilha (StO₂), pressão arterial braquial e pressão arterial central, modulação autonômica cardíaca, rigidez arterial (indicador de onda refletida e velocidade de onda de pulso carótida-femoral) e função renal. ANOVA não paramétrica para medidas repetidas foi utilizada, tendo como grupo (PLA e Cr) e o tempo (pré e pós-intervenção). Diferenças estatísticas significativas foram encontradas no tempo para os parâmetros de marcha (tempo e distância de claudicação), pressão arterial braquial e central (pressão arterial sistólica e diastólica) e rigidez arterial (indicador de onda refletida e velocidade de onda de pulso carótida de femoral). Para os demais parâmetros, não foram encontradas diferenças estatísticas significativas no tempo e na interação (grupo x tempo). Oito semanas de suplementação de creatina associada à prática de atividade física não altera os parâmetros de capacidade funcional, função e regulação cardiovascular e função renal de pacientes com claudicação intermitente sintomáticos.

Palavras-chave: Suplementos nutricionais. Caminhada. Teste de caminhada. Doenças cardiovasculares. Claudicação intermitente.

DOMINGUES, Wagner Jorge Ribeiro. **Eight weeks of creatine supplementation associated with physical activity practice does not improve functional capacity and cardiovascular function but maintains stable markers of renal function in patients with peripheral arterial disease.** 2018.111 p. Tese (Doctoral Degree in Physical Education) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

ABSTRACT

The objective of the present study was to investigate the effect of eight weeks of creatine supplementation associated with physical activity on functional capacity, cardiovascular function and regulation, and renal function in patients with symptomatic peripheral arterial disease (PAD). Twenty-nine patients were randomized double-blind to receive placebo (dextrose - PLA group) or creatine monohydrate (Cr Group) for 8 weeks (1 week - loading period: 20g/day, 4 doses of 5g and 7 weeks - maintenance period: 5g, 1 dose/day). Associated with supplementation, all patients were instructed to perform physical activity (home-based exercise) (30-45 minutes of walking, ≥ 3 x/week), monitored by a pedometer. Before and after the intervention period, functional capacity parameters (6-minute walking test), balance, walking speed and lower limb strength (Short Physical Performance Battery - SPPB), calf muscle oxygen saturation (StO₂), brachial blood pressure and aortic blood pressure, autonomic cardiac modulation, arterial stiffness (reflected wave and carotid-femoral pulse wave velocity) and renal function. Non-parametric ANOVA for repeated measurements was used, having as a group (PLA and Cr) and time (pre vs. post-intervention). Significant statistical differences were found in time for functional capacity parameters (time and claudication distance), brachial and central blood pressure (systolic and diastolic) and arterial stiffness (reflected wave and carotid-femoral pulse wave velocity). For the other parameters, no statistically significant differences were found in time and interaction (group x time). Eight weeks of creatine supplementation associated with physical activity does not alter the parameters of functional capacity, cardiovascular function and regulation, and renal function of patients with intermittent symptomatic claudication.

Keywords: Dietary supplements. Walking. Walk test. Cardiovascular diseases. Intermittent claudication.

SIGLA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

DAP	Doença arterial periférica
CI	Claudicação intermitente
NADH	Enzima desidrogenase
ATP	Adenosina trifosfato
Cr	Creatina
ADP	Adenosina difosfato
CHO	Carboidrato
CK	Creatina quinase
DC	Distância de claudicação
DTM	Distância total de marcha
GAA	Guanidino acetato
GABA	Ácido gama-aminobutírico
Home-based exercise	Atividade física em casa
H+	Íons de hidrogênio
HC	Hospital das clínicas
HRV	Heart rate variability
IMC	Índice de massa corporal
ITB	Índice de tornozelo-braço
Kg	quilograma
LIP	Lipídios
mmHg	Milímetros de mercúrio
ml	Mililitros
min	Minuto
m ²	Metro quadrado
NIRS	Near infrared spectroscopy
PCK	Fosfocreatina quinase
PCr	Fosforil creatina
PLA	Placebo
Pi	Fosfato inorgânico
PTN	Proteína
RMSSD	Raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre os intervalos RR normais adjacentes

SDNN	Desvio padrão entre os intervalos RR
PNN50	Porcentagem dos intervalos adjacentes com mais de 50ms
SPPB	Short physical performance battery
StO2	Saturação de oxigênio
TC	Tempo de claudicação
USP	Universidade de São Paulo

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO GERAL E ESTRUTURA DA TESE	13
1.1	Introdução	13
1.2	Objetivos	17
1.3	Estrutura da tese	17
2.	PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS	18
2.1	Caracterização da Pesquisa	18
2.2	Amostra	18
2.3	Desenho experimental do estudo	19
2.4	Triagem	20
2.5	Randomização dos grupos	21
2.6	Classificação dos desfechos	21
2.7	Avaliações pré e pós intervenção	22
2.7.1	Teste caminhada de 6 minutos	22
2.7.2	Saturação de oxigênio do músculo da panturrilha (StO ₂)	23
2.7.3	Short Physical Performance Battery (SPPB).....	23
2.7.4	Pressão arterial braquial	24
2.7.5	Pressão arterial central.....	24
2.7.6	Rigidez arterial	24
2.7.7	Modulação autonômica cardíaca	25
2.7.8	Marcadores de função renal	26
2.7.9	Níveis séricos de creatina plasmática.....	26
2.7.10	Hábitos alimentares	26
2.8	Protocolo de suplementação	27
2.9	Atividade física em casa – <i>Home-based exercise</i>	28
2.10	Análise estatística	28
3.	RESULTADOS	30
3.1	Recrutamento e período de intervenção	30
3.2	Artigo original 1	31
3.3	Artigo original 2	50

3.4	Artigo original 3.....	65
4.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	81
5.	REFERÊNCIAS	82
6.	ANEXOS	88
7.	APÊNDICES	106

1. INTRODUÇÃO GERAL E ESTRUTURA DA TESE

Introdução

Objetivos

Estrutura da Tese

1.1 Introdução

A doença arterial periférica (DAP) afeta três a 10% da população mundial, aproximadamente 202 milhões de pessoas, acometendo 15 a 20% nos indivíduos acima de 70 anos (FOWKES et al., 2013). No Brasil, DAP afeta 10,5% dos indivíduos (MAKDISSE et al., 2008). Uma importante característica a ser observada nesses pacientes é a presença de outras doenças associadas como a doença arterial coronariana, doença arterial cerebral e a alta prevalência de hipertensão arterial, diabetes mellitus, disfunção renal, dislipidemia e síndrome metabólica (STERN et al., 2017), o que contribui para o alto risco de eventos cardiovasculares agudos (WEITZ et al., 1996).

A DAP é geralmente resultado de um processo aterosclerótico, caracterizado pelo estreitamento da luz arterial com redução ou bloqueio do fluxo sanguíneo nas artérias que irrigam as regiões periféricas do corpo (GERHARD-HERMAN, 2017). O processo evolutivo da doença leva ao desenvolvimento do principal sintoma da DAP, a claudicação intermitente (CI), que se refere à dor, formigamento, ardência ou câibras, que ocorrem durante a caminhada e são aliviadas quando os pacientes voltam ao repouso (MCDERMOTT, 2015). Este sintoma nunca está presente em repouso ou exacerbado pela posição (MORLEY et al., 2018).

Pacientes com DAP sintomáticos, apresentam diminuição da capacidade funcional, principalmente sobre capacidade de caminhada (MAUER et al., 2016). Esses pacientes costumam caminhar em passos curtos, por possuir uma cadência lenta devido ao déficit de equilíbrio, o que leva a uma redução da velocidade de marcha e da capacidade de percorrer longas distâncias (CHEN et al., 2017). Nesses pacientes, a baixa da capacidade funcional têm sido associada a um aumento da mortalidade (MORRIS et al., 2014).

O tratamento dos pacientes com DAP envolve alteração ou eliminação dos fatores de risco relacionados a aterosclerose, controle de doenças associadas, modificação no estilo

de vida e aderência à prática de exercício físico (GERHARD-HERMAN, 2017). Especificamente ao exercício físico realizado em casa, este tem sido uma estratégia recomendada para esses pacientes (GERHARD-HERMAN, 2017; MCDERMOTT, 2017). No entanto, esses pacientes tem encontrado algumas barreiras para a prática de atividade física, dentre elas, a dor durante a caminhada (BARBOSA et al., 2015). Isso corre por disfunções metabólicas no músculo da região periférica durante o esforço físico.

As consequências fisiológicas em pacientes com DAP está relacionado ao aumento relativo na expressão mitocondrial, provavelmente causada por uma compensação da insuficiência de oxigênio no músculo periférico durante o esforço físico (RONTROYANNI et al., 2017; SCHAARDENBURGH et al., 2017). Outra deficiência no metabolismo energético de pacientes com DAP está relacionada à cadeia de transporte de elétrons. Essa deficiência afeta as atividades da enzima desidrogenase (NADH) e da ubiquinona: citocromo C oxidorreductase, o que contribui para uma disfunção na produção de adenosina trifosfato (ATP) no músculo exercitado (BRASS; HIATT; GREEN, 2004; RONTROYANNI et al., 2017). Diante disso, é necessário identificar novas estratégias que possam melhorar essa disfunção metabólica e, conseqüentemente a capacidade funcional, e o prognóstico cardiovascular nesses pacientes.

Desde que Harris, Soderlund e Hultman (1992) demonstraram que a suplementação de creatina aumenta o conteúdo de Cr muscular, ao longo dos últimos anos sua utilização tem sido estendida para o campo terapêutico como alternativa de tratamento de doenças musculares (GUALANO et al., 2012; WALLIMANN; HARRIS, 2016; WALLIMANN; RIEK; MÖDDEL, 2016), metabólicas (TARNOPOLSKY, 2007) e, cardiovasculares (BALESTRINO et al., 2016; CORNELISSEN et al., 2010). Adicionalmente, diversos estudos tem demonstrado que a suplementação de Cr é segura, principalmente no que diz respeito a função renal (KREIDER et al., 2017; LUGARESI et al., 2013).

A Creatina é uma substância natural no corpo humano, é parcialmente sintetizada pelos rins, pâncreas e fígado (aproximadamente 1-2g/ dia), bem como ingeridas a partir de alimentos de origem animal (aproximadamente 1-5g/ dia), especialmente carnes vermelhas e peixes. A síntese de creatina ocorre a partir dos aminoácidos arginina, metionina e glicina. No nosso organismo, a Cr é encontrada nas formas livre (60 a 70%) ou fosforilada (30 a 40%), e cerca de 95% é armazenada no músculo esquelético (WALLIMANN; HARRIS, 2016; WALLIMANN; TOKARSKA-SCHLATTNER; SCHLATTNER, 2011).

Nesse contexto, a suplementação de creatina associada à atividade física aparece como uma estratégia a fim de melhorar os desconfortos sofridos por esses pacientes, podendo trazer benefícios para a capacidade funcional. Alguns estudos prospectivos, tem demonstrado efeitos positivos, sendo considerado o principal, a melhora da função física (GUALANO et al., 2014; JOHANNSMEYER et al., 2016). De fato, essa estratégia tem recebido bastante atenção, pois a magnitude dessas mudanças é maior do que as encontradas no em programas de atividade física isolada (GUALANO et al., 2014).

Apesar de bem elucidado na literatura o efeito da suplementação de creatina no desempenho funcional de diversas populações clínicas, poucos estudos têm investigado a adaptação no sistema cardiovascular. Um estudo meta-analítico, demonstrou que pacientes com insuficiência cardíaca, após receberem infusão intravenosa de fosforilcreatina, melhoraram significativamente os parâmetros cardíacos, dentre eles a prevenção de arritmias (MINGXING et al., 2018). Além disso, o efeito da suplementação tem sido evidenciado na atenuação da rigidez arterial (SANCHEZ-GONZALEZ et al., 2011). Entretanto outros estudos, no que diz respeito aos seus efeitos sobre os indicadores de saúde cardiovascular, tem demonstrado resultados controversos (WALLIMANN; HARRIS, 2016).

Os potenciais efeitos ergogênicos da suplementação de creatina na capacidade funcional e no sistema cardiovascular podem estar atrelados a alguns mecanismos. No que diz respeito a capacidade funcional, a creatina atua na rápida provisão de energia durante a contração muscular envolvendo a transferência do grupo N-fosforil para fosforilcreatina (PCr) para adenosina difosfato (ADP) para regenerar adenosina trifosfato (ATP) através de uma reação reversível catalisada pela enzima creatina quinase (CK) (WALLIMANN; TOKARSKA-SCHLATTNER; SCHLATTNER, 2011). Além disso, a Cr é responsável pela transferência de energia das mitocôndrias para o citosol (GREENHAFF, 2001; WALLIMANN; HEMMER, 1994; WYSS; KADDURAH-DAOUK, 2000).

Outra importante função está relacionada ao sistema PCr-PCK, que envolve a manutenção da relação ATP/ADP, melhorando a respiração mitocondrial; atenuando o aumento de ADP e, conseqüentemente, minimizando à perda de nucleotídeos de adenina; promovendo a redução do estresse oxidativo através da ação antioxidante direta e indireta, além da manutenção do pH causada pelo aumento da acidose, utilizando íons de hidrogênio (H^+) durante a reação da enzima CK, além da glicólise e ativação da glicogenólise através da liberação de fosfato inorgânico (Pi), integrando assim a degradação de carboidratos e Cr para

o fornecimento de energia no início do exercício (DEMANT; RHODES, 1999; LAWLER et al., 2002; SESTILI et al., 2011; WALLIMANN; TOKARSKA-SCHLATTNER; SCHLATTNER, 2011).

Do ponto de vista ao sistema cardiovascular, um dos principais mecanismos relacionados a suplementação de creatina está na sua atuação sobre sistema nervoso central. O guanidino acetato (GAA) é um precursor da creatina, no qual é sintetizado pela metilação do GAA (WALLIMANN; TOKARSKA-SCHLATTNER; SCHLATTNER, 2011). Assim, os receptores do ácido gama-aminobutírico (GABA), um dos principais neurotransmissores, inibidor do sistema nervoso central, são ativados pelo GAA de uma forma agonista (KOGA et al., 2005; MEREGE-FILHO et al., 2016). Diante disso, a suplementação de creatina poderia atuar de forma indireta na estimulação do meta-baroreceptor no músculo ativo, podendo contribuir para atenuar a frequência cardíaca, e a pressão arterial (SANCHEZ-GONZALEZ et al., 2011).

Embora as recomendações sobre utilização da creatina para indivíduos com limitação na capacidade funcional e nos indicadores de saúde cardiovascular sejam recomendados, e com base em um único estudo de revisão (CÂMARA; SUZIGAN; STARLING, 2013), no qual apontou escassez de pesquisas referentes a utilização dessa estratégia em pacientes DAP, nenhum estudo se propôs a verificar o efeito da suplementação de creatina associada à atividade física na capacidade funcional, função e regulação cardiovascular e na função renal nesta população. Este tipo de estratégia nutricional parece promissor, visto que esses pacientes possuem limitação de locomoção e um elevado risco cardiovascular.

Desse modo, acreditando que indivíduos com DAP sintomáticos, poderão ter uma maior independência para a realização de atividades da vida diária, devido à uma possível melhora da capacidade funcional, além da redução do risco de mortalidade por eventos cardiovasculares, a hipótese do presente estudo é que a suplementação de creatina associada à prática de atividade física, poderá promover melhoraria da capacidade funcional, do sistema cardiovascular, sem prejudicar a função renal desses pacientes.

1.2 Objetivos

Verificar o efeito de oito semanas de suplementação de creatina associada à prática de atividade física em pacientes com doença arterial periférica sobre a:

- Capacidade funcional e a saturação de oxigênio muscular periférica;
- Pressão arterial braquial, pressão arterial central, rigidez arterial e modulação autonômica cardíaca;
- Função renal

1.3 Estrutura da tese

Esta tese está estruturada no “*Modelo Escandinavo*”, seguindo a instrução normativa 01/2017 do Programa de Pós-Graduação Associado em Educação Física UEL/UEM, composta por quatro capítulos. No primeiro capítulo estão apresentados a introdução, justificativa, problema e objetivos. O capítulo dois é composto pelos procedimentos metodológicos do trabalho. O capítulo três apresenta os resultados composto pelos seguintes artigos: 1) *Effect of creatine supplementation associated with home-based exercise on the functional capacity and muscle oxygen saturation of patients with symptomatic peripheral arterial disease: a randomized double blind clinical trial*; 2) *Creatine supplementation associated with home-based exercise does not change hemodynamic, autonomic and arterial stiffness parameters in patients with symptomatic peripheral arterial disease: A double blind randomized clinical trial*. 3) *Does creatine supplementation affect renal function in patients with peripheral artery disease? A double blind randomized clinical trial*. Capítulo quatro: Considerações finais.

2. PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

Delineamento do estudo

Amostra

Desenho do estudo

Medidas e avaliações

Análise estatística

2.1 Caracterização da Pesquisa

Essa pesquisa caracteriza-se como um ensaio clínico pragmático, aleatorizado, duplo cego, controlado por placebo com testes pré e pós intervenção, com objetivo de verificar a efetividade da suplementação. O presente estudo está cadastrado Clinical Trials – www.clinicaltrials.gov - sob o registro: NCT02993874 (ANEXO I).

2.2 Amostra

Para detectar um aumento da capacidade total de marcha de 25.29 metros com intervalo de confiança (-19, 33; 69, 92) (CARVALHO et al., 2012) considerando poder de 80% e erro alfa de 0,05, seria necessário incluir 76 pacientes (38 em cada grupo), porém não conseguimos atingir esse objetivo. Para tanto, foi realizado o cálculo de poder amostral, com 80% de probabilidade e um tamanho de efeito de 0,05 para observar o efeito da intervenção.

Os pacientes, de ambos os sexos, foram recrutados no Ambulatório de Doenças Vasculares do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo – HC-USP. Após serem esclarecidos de todos os procedimentos do estudo, os pacientes assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice I). Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Israelita Albert Einstein (parecer nº 62601416.7.0000.0071) (ANEXO II) e pelo HC-USP (parecer nº 62601416.7.3003.0068) (ANEXO III).

Foram estabelecidos os seguintes critérios de inclusão: a) Presença de sintomas de CI durante o teste de caminhada de seis minutos, b) índice de tornozelo-braço $<0,90$ em um ou ambos os membros, c) CI sintomática determinada a partir do histórico clínico, d) estar apto à prática de exercício físico em casa, e) não possuir doença renal crônica (depuração de creatinina $< 30\text{ml/min}$).

Para a exclusão dos pacientes foram adotados os seguintes critérios: a) apresentassem agravamento das comorbidades associadas (ex: níveis descontrolados de pressão arterial sistólica e diastólica maiores que 180 mmHg ou 110 mmHg, respectivamente), b) apresentassem algum comprometimento na saúde durante a intervenção.

2.3 Desenho experimental do estudo

O programa de intervenção teve duração de 10 semanas e foi dividido em duas etapas: 1) triagem e 2) protocolo experimental. O protocolo experimental consistiu em avaliações iniciais (pré), oito semanas de suplementação de creatina (Cr) e/ou placebo (PLA) associada à prática de exercício físico, e avaliações pós-intervenção. O desenho experimental do estudo está apresentado na figura 1.

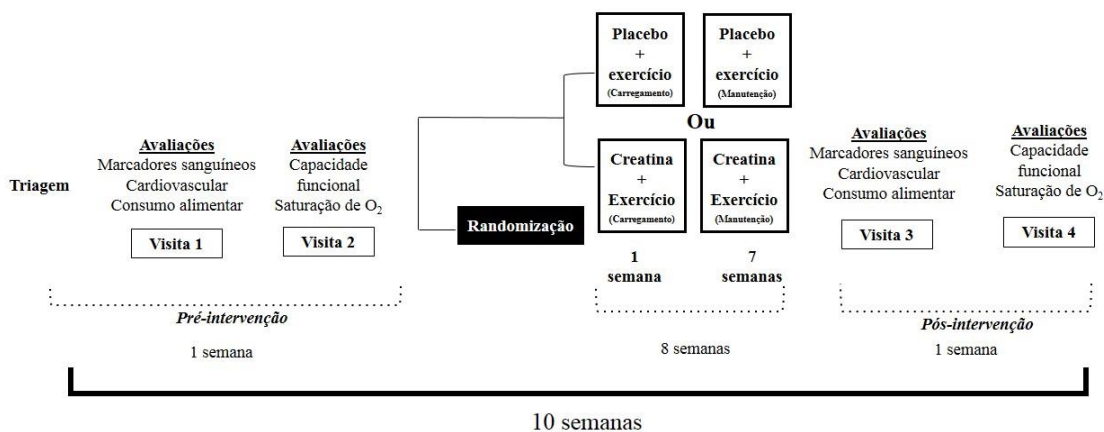


Figura 1. Desenho do estudo

2.4 Triagem

Os pacientes responderam a um questionário pré-estruturado (APÊNDICE II) com o objetivo de obter informações referentes à idade, sexo e fatores de risco cardiovascular (medicamentos, presença de doenças como diabetes, hipertensão, dislipidemia, tabagismo e nível de atividade física). Para obtenção de informações sobre o controle da medicação, foi solicitado que os mesmos trouxessem ao laboratório todos os medicamentos e as receitas para que pudesse fazer o controle da classe medicamentosa, dosagem e a frequência de uso diário. O diagnóstico de confirmação da DAP foi obtido por meio do *San Diego Claudication Questionnaire*. Esse questionário consiste de 10 perguntas sobre as características da dor dos pacientes, permitindo classificar os sintomas em cinco categorias: sem dor, dor em repouso, dor sem ser na panturrilha, dor na panturrilha atípica e sintomas clássicos de CI (CRIQUI et al., 1996).

Além disso, a medida do índice de tornozelo-braço foi obtida por meio da pressão arterial sistólica do braço e do tornozelo nos dois membros (direito e esquerdo), medidas em triplicata. A aferição da pressão arterial foi feita com o uso de um doppler vascular (DV610, Medmega, Brasil) e um esfigmomanômetro aneróide devidamente calibrado. Após posicionar o doppler sobre a artéria braquial (para a medida no braço) e sobre as artérias pediosa ou tibial

posterior (tornozelo), o manguito foi inflado até 20 mmHg acima do nível estimado da pressão arterial sistólica. A determinação da pressão arterial sistólica foi feita no momento do aparecimento do primeiro som (fase I de Korotkoff). As medidas no braço e tornozelo foram realizadas por um único avaliador. Em posse desses dados, foi calculado o ITB de cada lado do corpo por meio da divisão da pressão arterial sistólica do tornozelo (maior pressão arterial sistólica entre os dois pontos anatômicos medidos) pela pressão arterial sistólica do braço (maior pressão arterial sistólica entre os dois braços) (HIRSCH et al., 2006). Foram obtidas também a massa e estatura corporal. Em posse desses dados foi calculado o índice de massa corporal (IMC), por meio do quociente entre o peso (kg) e o quadrado da estatura (m²).

2.5 Randomização dos grupos

Todos os pacientes foram alocados aleatoriamente para os grupos experimentais: Grupo com suplementação de Placebo (PLA) ou grupo com suplementação de creatina (Cr). O sorteio foi definido através de números aleatórios (1 : 1) gerados no site *www.randomizer.org* pareados por sexo, idade e distância total de marcha, de modo que os dois grupos tivessem as mesmas características. O processo de randomização foi realizado por um terceiro pesquisador, experiente, no qual não estava envolvido diretamente com a pesquisa.

2.6 Classificação dos desfechos

O objetivo do estudo foi verificar o efeito da suplementação de creatina associada à prática de exercício físico sobre a capacidade funcional, função e regulação cardiovascular e na função renal de pacientes com DAP sintomáticos. Para tanto, foi considerado como desfecho primário a capacidade de caminhada. Foram considerados desfechos secundários: a) saturação de oxigênio muscular do músculo da panturrilha, b) equilíbrio, velocidade de marcha e força de membros inferiores, c) indicadores de função e regulação cardiovascular, d) função renal. Como variáveis de controle foram considerados: a) níveis séricos de creatina

plasmática, b) ingestão de macronutrientes, c) quantidade de passos realizados no exercício em casa.

2.7 Avaliações pré e pós intervenção

As avaliações foram realizadas antes e após oito semanas de intervenção. As avaliações da capacidade funcional e saturação de oxigênio foram realizadas no Ambulatório de Doenças Vasculares do HC-USP. Os indicadores de função e regulação cardiovascular foram avaliados no laboratório do Grupo de Estudo e Pesquisa em Intervenções Clínicas nas Doenças Cardiovasculares no Hospital Israelita Albert Einstein – Unidade Vila Mariana. Os exames sanguíneos para avaliação da função renal e dos níveis séricos de creatina plasmática foi realizado em um laboratório terceirizado sem custo aos participantes da pesquisa, pagos pelos próprios pesquisadores. Antes das coletas os pacientes foram orientados a manter o padrão alimentar, não realizar exercício físico extenuante, não consumir bebidas alcoólicas 24 horas antes das avaliações, manter a rotina normal de utilização da medicação.

2.7.1 Teste caminhada de 6 minutos

Para a avaliação da capacidade funcional foi utilizado teste de seis minutos em um corredor de 30 metros, seguindo o protocolo previamente descrito (MONTGOMERY; GARDNER, 1998). Para a realização do teste, os pacientes foram instruídos a completar tantas voltas quanto fossem possíveis. Foi permitido ao paciente interromper a caminhada durante o teste caso o sintoma de claudicação se tornasse intolerável, porém o cronômetro não foi interrompido durante este momento. Os pacientes que pararam de caminhar por conta dos sintomas de CI foram encorajados a retornar à caminhada quão breve possível. Ao final do teste, quando foi atingido o tempo de seis minutos, foi identificado a distância total de marcha (DTM). Durante o teste, foi anotado o tempo (TC), bem como a distância de claudicação de cada paciente (DC).

2.7.2 Saturação de oxigênio do músculo da panturrilha (StO₂)

A StO₂ da região da panturrilha foi verificada através da saturação do oxigênio (StO₂) e, foi mensurada continuamente durante 12 minutos, utilizando um método não invasivo, por um aparelho de infravermelho proximal (Near – infrared Spectroscopy – NIRS, PortaMon, Artinis Medical Systems). A NIRS avalia uma combinação de moléculas de oxihemoglobina e desoxi hemoglobina. Devido à variação dos espectros de absorção de ambas as moléculas, obtêm-se a concentração relativa da hemoglobina oxigenada e não oxigenada.

O sensor foi colocado na região da panturrilha, na perna de menor ITB. Antes (3 minutos de avaliação em repouso), durante (6 minutos - esforço) e, após (3 minutos – período de recuperação) ao teste de caminhada de 6 minutos, foram obtidos os valores dos seguintes parâmetros: saturação em repouso (StO₂ repouso). Durante o exercício, o valor mínimo de StO₂ (StO₂ mínimo), o tempo necessário para atingir o valor mínimo (tempo até o mínimo da StO₂). O final do teste de caminhada de 6 minutos foi registrado (final TC – 6 min), bem como o valor máximo da StO₂ da panturrilha durante a recuperação (máxima StO₂). O tempo de recuperação para a StO₂ atingir o valor total (tempo de recuperação da StO₂) e o valor máximo da StO₂ (tempo de recuperação até o máximo da StO₂) do músculo da panturrilha foram registrados (CAVALCANTE et al., 2017; GARDNER et al., 2008).

2.7.3 Short Physical Performance Battery (SPPB)

A capacidade funcional também foi avaliada pelo *SPPB* (GURALNIK et al., 1994), composto por quatro testes que avaliam o equilíbrio, a marcha e a força de membros inferiores. O equilíbrio foi avaliado em três posições dos pés: 1) em paralelo, 2) com o hálux encostado na borda medial do calcanhar e 3) com o hálux encostado na borda posterior do calcanhar. Atribuiu-se 1 ponto se realizado em tempo < 10”; zero se fosse > 10”, para os dois primeiros testes. No terceiro teste, a pontuação varia de zero para < 3”; 1 entre 3” e 9, 99”; e 2 se for > 10”.

Para avaliação da marcha foi utilizado um cronômetro para registrar o tempo que o indivíduo levou para percorrer um corredor de 4 metros (ida e volta), repetindo duas vezes o

percurso. A pontuação do instrumento variou de: zero, quando incapaz; 1, se $> 8,70''$; 2 se o tempo variou entre $6,21$ e $8,70''$; 3 entre $4,82''$ e $6,20''$; e 4, se o tempo fosse $< 4,82''$.

A força muscular dos membros inferiores foi obtida por meio do tempo que o indivíduo levou para levantar-se de uma cadeira com os membros superiores cruzados sobre o peito, repetindo o teste cinco vezes consecutivas. Os escores variam de acordo com o tempo gasto: zero quando incapaz; 1, se $> 16,7''$; 2 entre $13,7''$ e $16,69''$; 3, tempo entre $11,2''$ e $13,69''$; e 4 se tempo $< 11,19''$. O escore total da bateria de teste, obtido pela soma das pontuações de cada teste, permite valores entre zero e 12 pontos.

2.7.4 Pressão arterial braquial

A pressão arterial braquial foi avaliada por meio de um monitor eletrônico digital (HEM-742, Omron Healthcare, Japão), com deflação e inflação automático de ar. Para essa medida, os pacientes permaneceram por dez minutos em repouso sentado. Foram realizadas três medidas consecutivas, com um minuto de intervalo, em ambos os braços. O valor utilizado foi a média das duas últimas medidas, conforme recomendado pelas diretrizes nacionais (MALACHIAS et al., 2016).

2.7.5 Pressão arterial central

A medida da pressão arterial central foi obtida pela análise da onda de pulso da artéria radial por meio da técnica de tonometria de aplanção (SphygmoCor, AtCor Medical Australia). Para tanto, após pelo menos 15 minutos de repouso na posição supina, foram utilizados 11 segundos de gravação da onda da pressão arterial radial. Após esse procedimento o Software SphyngmoCor deriva a onda de pressão da aorta ascendente, equivalente à onda de pressão medida por um cateter invasivo. Foram obtidas as pressões centrais: sistólica e diastólica (SIEBENHOFER et al., 1999). Para melhorar a acurácia na medida, somente foram considerados válidos, os valores cujos índices eram maiores que 90%.

2.7.6 Rigidez arterial

A rigidez arterial periférica foi obtida seguindo os mesmos procedimentos para obtenção da pressão arterial central. Foram obtidos os parâmetros de pressão de pulso, índice de aumento e índice de aumento corrigido por 75 batimentos por minuto pela técnica de tonometria de aplanção e análise da onda radial (SphygmoCor, AtCor Medical Australia) (O'ROURKE; PAUCA; JIANG, 2001).

Utilizando a mesma técnica, a avaliação da rigidez arterial central foi obtida a partir da velocidade da onda de pulso seguindo as orientações da *Clinical Application of Arterial Stiffness, Task Force III* (VAN BORTEL et al., 2002). Para tanto, as ondas de pulso carótida-femoral foram registradas sequencialmente por transdutores transcutâneos posicionados sobre as artérias. O registro eletrocardiográfico foi obtido simultaneamente às medidas como padrão de referência para calcular o tempo de trânsito da onda de acordo com o método “*foot-to-foot*”. As distâncias entre as superfícies foram medidas pelo avaliados entre o ponto de maior pulso carotídeo e da fúrcula esternal; e entre a fúrcula esternal e o ponto de maior pulso da artéria femoral. A distância percorrida pela onda de pulso foi calculada pela subtração da distância mais distal e a proximal. A velocidade de onda de pulso foi calculada como = distância percorrida pela onda de pulso (m)/ tempo de trânsito da onda (s).

2.7.7 Modulação autonômica cardíaca

A modulação autonômica do sistema cardiovascular foi avaliada pela técnica da variabilidade da frequência cardíaca. Para tanto, após pelo menos 20 minutos de repouso, os pacientes permaneceram 10 minutos deitados, período no qual foram registrados os intervalos RR, por meio de um monitor de frequência cardíaca previamente validado (V800, Polar Electro, Finlândia). Foi considerado um sinal válido aqueles com pelo menos cinco minutos de sinal estacionário. Após a coleta, os intervalos RR foram exportados para o programa Kubios HRV (Version 3.0, Biosignal Analysis and Medical Imaging Group, Finlândia), cujas análises foram realizadas (domínio do tempo e da frequência). Os parâmetros do domínio do tempo, desvio padrão de todos os intervalos RR (SDNN), raiz quadrada da média do quadrado das diferenças entre os intervalos RR normais adjacentes (RMSSD) e porcentagem dos intervalos adjacentes com mais de 50ms (PNN50) foram obtidos. Os parâmetros do domínio da frequência foram obtidos pela técnica da análise espectral, utilizando o método

autorregressivo, com a ordem do modelo de 12 pelo critério de Akaike. Consideraram-se como fisiologicamente significativas as frequências entre 0,04 e 0,4 Hz, sendo o componente de baixa frequência representado pelas oscilações entre 0,04 e 0,15 Hz e o componente de alta frequência entre 0,15 e 0,4 Hz. O poder de cada componente espectral será calculado em termo(s) normalizado (os), que foi realizado dividindo-se o poder de cada banda pelo poder total, do qual foi subtraído o valor de banda de muito baixa frequência (<0,004 Hz), sendo o resultado multiplicado por 100 (TASK FORCE OF THE EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY, 1996).

2.7.8 Marcadores de função renal

Os marcadores de função renal foram analisados por meio da depuração de creatinina em amostra de 24 horas. Para isso, foram coletadas amostras de sangue, na veia antecubital, e armazenadas em tubos de 10 ml (BD Vacutainer) contendo coágulo separador (coagulador separador de soro Z). A urina foi coletada durante um período de 24 horas em um recipiente sem conservante, negligenciando a primeira coleta. Para mensuração do volume urinário foram consideradas amostras de 500 a 1000 ml. Os níveis de creatinina urinária foram determinados pelo método de *Jaffé* sem desproteínização (TOORA; RAJAGOPAL, 2002).

2.7.9 Níveis séricos de creatina plasmática

Para verificar se os pacientes ingeriram a suplementação recomendada de creatina, foi realizado o exame de creatina plasmática, em uma sub-amostra (n= 9 pacientes), pelo método de Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massa (LC – MS/MS) (KATZ et al., 1998; KENKEL, 2010).

2.7.10 Hábitos alimentares

Para avaliação do consumo alimentar foi aplicado o recordatório alimentar de 24 horas. Os participantes foram questionados quanto ao consumo de alimentos e bebidas durante as 24 horas que antecederam a sessão experimental. Registro fotográfico e utensílios de cozinha (copos, xícaras e talheres) foram utilizados para orientar os pacientes em caso de dúvidas e assim minimizar a sub e/ou superestimação das quantidades. A avaliação nutricional foi realizada pelo programa Nutripad 2.0. Os participantes foram orientados, também, para manterem seus hábitos alimentares ao longo do estudo. A ingestão de água foi *ad libitum*. Foram avaliados os seguintes macronutrientes: carboidratos (CHO), proteínas (PTN) e lipídios (LIP).

2.8 Protocolo de suplementação

Os participantes foram direcionados para receberem as seguintes substâncias:

- Creatina monohidratada (Creapure, Trostberg, Alemanha®) ou Placebo (dextrose – Probiótica, Brasil®)
 - Carregamento – 4 doses de 5g/ dia, durante 1 semana (7 dias)
 - Manutenção – 1 dose diária de 5g/ dia, durante 7 semanas (49 dias) subsequentes.
 - Os suplementos foram oferecidos em forma de sachês com cor e textura semelhantes. Os participantes foram orientados a ingerirem os sachês de manhã, no almoço, a tarde e a noite no período de carregamento, e após o almoço na fase de manutenção. Foi enfatizado que todos mantivessem seus hábitos alimentares rotineiros durante todo o período de duração do estudo (figura 2). A creatina monohidratada fornecida aos pacientes possui em elevado grau de pureza conforme o relatório fornecido pelo fabricante (ANEXO IV). Todo o procedimento de cegamento e entrega dos suplementos aos participantes do estudo foram realizados por uma terceira pessoa, ao qual não estava envolvida diretamente ao estudo.

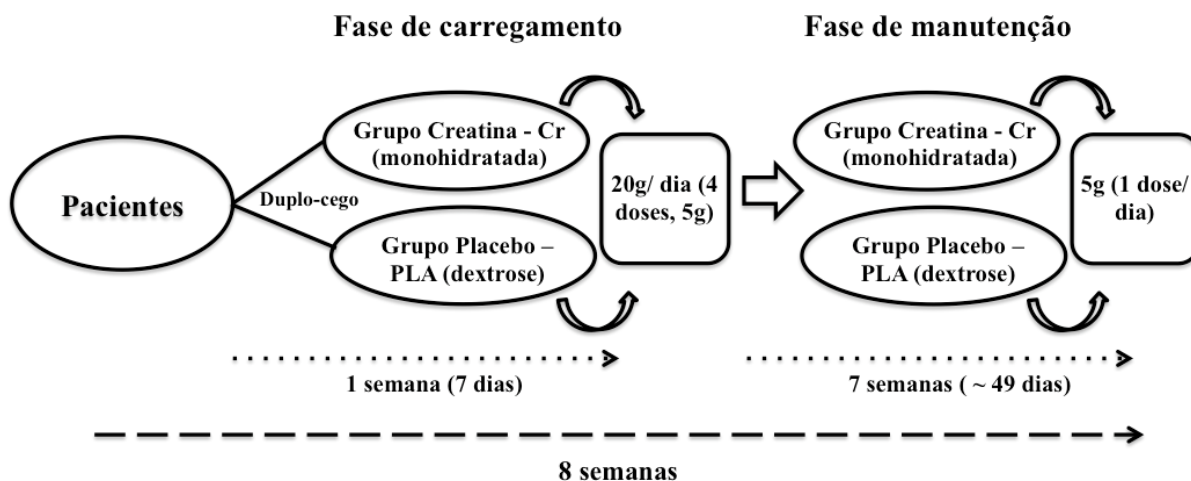


Figura 2. Protocolo de suplementação aos pacientes do estudo

2.9 Atividade física em casa – *Home-based exercise*

Todos os indivíduos foram orientados a realizarem 30 a 45 minutos de caminhada, por um período ≥ 3 vezes por semana, segundo as recomendações internacionais para tratamento em pacientes com DAP (GERHARD-HERMAN, 2017; HIRSCH et al., 2006). Todos os pacientes foram monitorados por um monitor (Polar A300, Finlândia), previamente validado (BOESELT et al., 2016), para mensurar a quantidade de passos realizados. A cada semana, todos os pacientes eram estimulados, por meio de ligações telefônicas.

2.10 Análise estatística

A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de *Shapiro-Wilk*. O perfil dos pacientes foi comparado entre os dois grupos estudados por meio do teste de Qui-quadrado (variáveis categóricas) e teste *U-Mann-Whitney* (variáveis numéricas ou categóricas ordinais). Para avaliar as variáveis do desfecho primário (capacidade funcional), além dos desfechos secundários (saturação de oxigênio muscular, SPPB, marcadores de função renal) e variáveis de controle (níveis séricos de creatina plasmática, macronutrientes e quantidades de passos realizados), no período pré e pós intervenção, considerando o efeito de grupo e interação entre

grupo x tempo, foram utilizadas a ANOVA não-paramétrica (*ANOVA NPar*) para medidas repetidas. Quando identificadas interações significativas, foi utilizado o *post hoc* de Bonferroni. As análises foram conduzidas no programa R (R Core Team, 2017). O nível de significância global foi de 5%.

3. RESULTADOS

Recrutamento e período de intervenção

Artigo original 1

Effect of creatine supplementation associated with home-based exercise on the functional capacity and muscle oxygen saturation of patients with symptomatic peripheral arterial disease: a randomized double blind clinical trial.

Artigo original 2

Creatine supplementation associated with home-based exercise does not change hemodynamic, autonomic and arterial stiffness parameters in patients with symptomatic peripheral arterial disease: A double blind randomized clinical trial

Artigo original 3

Does creatine supplementation affect renal function in patients with peripheral artery disease? A double blind randomized clinical trial

3.1 Recrutamento e período de intervenção

O período de recrutamento e intervenção do presente estudo ocorreu entre janeiro de 2016 à junho de 2017.

3.2 Artigo original 1

Original article

Effect of creatine supplementation associated with home-based exercise on the functional capacity and muscle oxygen saturation of patients with symptomatic peripheral arterial disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial.

Headings: Creatine supplementation in PAD patients

Wagner Jorge Ribeiro Domingues¹, Raphael Mendes Ritti-Dias², Gabriel Grizzo Cucato³, Nelson Wolosker³, Antonio Eduardo Zerati⁴, Daniel Boari Coelho⁵, Pedro Puech-Leão⁶, Ademar Avelar⁷.

¹Physical Education and Sport Center, Londrina State University, Londrina, Parana, Brazil;

²Postgraduate Program in Rehabilitation Sciences, Nove de Julho University, Sao Paulo, Brazil, ³Israel Institute of Education and Research, Albert Einstein Hospital, Sao Paulo Brazil,

⁴Cancer Institute of Sao Paulo, Sao Paulo, Brazil, ⁵Department of Biomedical Engineering, Federal University of ABC, ⁶Faculty of Medicine Sao Paulo University, Sao Paulo, Brazil,

⁷Department of Physical Education State University of Maringa, Maringa, Brazil.

Corresponding author:

Wagner Jorge Ribeiro Domingues, MD

Londrina State University, Physical Education Department, Rodovia Celso Garcia Cid, km 380, Campus Universitário, Londrina, Parana, 86051-990, Brazil.

ABSTRACT

The objective of this study was to verify the effect of eight weeks of creatine supplementation associated with home-based exercise on functional capacity and oxygen saturation of the calf muscle (StO₂) in patients with symptomatic peripheral arterial disease (PAD). Twenty-nine patients were randomized double-blind to receive placebo (dextrose) (PLA group) or creatine (Cr group), for 8 weeks (1 week - loading: 20g/day, 4 doses/5g and 7 weeks - maintenance: 5g, 1 dose/day). Associated with supplementation, all patients were recommended to perform the home-based exercise (30-45 minutes walk $\geq 3x$ / week) monitored by pedometer. Before and after the intervention period, functional capacity (six-minute walking test and Short physical performance battery) and StO₂ parameters were evaluated. Non-parametric ANOVA (ANOVA *NPar*) for repeated measurements was used to verify the effect of the intervention. Statistical differences on pre versus post intervention moments were found for the initial claudication distance (ICD) (PLA – pre 124 \pm 72 vs post 155 \pm 90; Cr – 124 \pm 73 vs post 195 \pm 108 meters, $p = 0.006$) and claudication onset time (COT) (PLA – pre 101 \pm 64 vs post 133 \pm 104; Cr – pre 122 \pm 65 vs post 183 \pm 104 meters, $p = 0.022$). For the other parameters no statistical differences were found between the moments and in the interaction between the groups ($p > 0.05$). Eight weeks of creatine supplementation associated with home-based exercise does not modify the parameters of functional capacity and oxygen saturation of the calf in symptomatic patients PAD. In addition, for the ICD and COT parameters the intervention demonstrated similar increases for the placebo and creatine groups. This trial is registered with NCT02993874

Key words: Dietary supplements, walking, walk test, oxygenation, peripheral arterial disease.

INTRODUCTION

Walking impairment observed in peripheral artery disease (PAD) patients with claudication symptoms is an important problem, since it represents a main barrier for physical activity practice (BARBOSA et al., 2015), leading to a progressive cycle of physical deconditioning. In these patients, walking impairment has been associated with a worse cardiovascular profile, with increased limb loss and mortality. Therefore, improvements in walking capacity is one of the primary therapeutic targets in these patients (MENÊSES et al., 2017; RITTI-DIAS et al., 2010).

Creatine and phosphocreatine are naturally bioenergetic compounds, essential for adenosine triphosphate homeostasis. Previous studies have shown that Cr supplementation improved neuromuscular performance in patients with chronic diseases, including McArdle's disease (VORGET et al., 2000), amyotrophic lateral sclerosis (ANDREASSEN et al., 2001), and heart failure (CARVALHO et al., 2012). The mechanisms underlying these improvements include the increase in muscle glycogen content (WALLIMANN; HARRIS, 2016; WALLIMANN; TOKARSKA-SCHLATTNER; SCHLATTNER, 2011) and the improvement of the capacity to perform anaerobic activities (CRISAFULLI et al., 2018). Thereby, as patients with claudication frequently perform anaerobic physical activities, since frequently the physical activity is under ischemia, it is possible that creatine supplementation increases the walking capacity of these patients.

Therefore, the objective of the present study was to verify the effect of eight weeks of creatine supplementation associated with home-based exercise on functional capacity and muscle oxygen saturation in patients with peripheral arterial disease with symptoms of intermittent claudication

METHODS

Study Design

Before the beginning of the experimental protocol, a questionnaire was applied to evaluate the socio-demographic characteristics, medical history and a clinical examination. Subsequently, the patients were submitted to the supplementation protocol for eight weeks

associated with home-based exercise. Before and after the intervention period, a battery of tests was applied to evaluate the functional capacity in addition to oxygen saturation parameters (Figure 1).

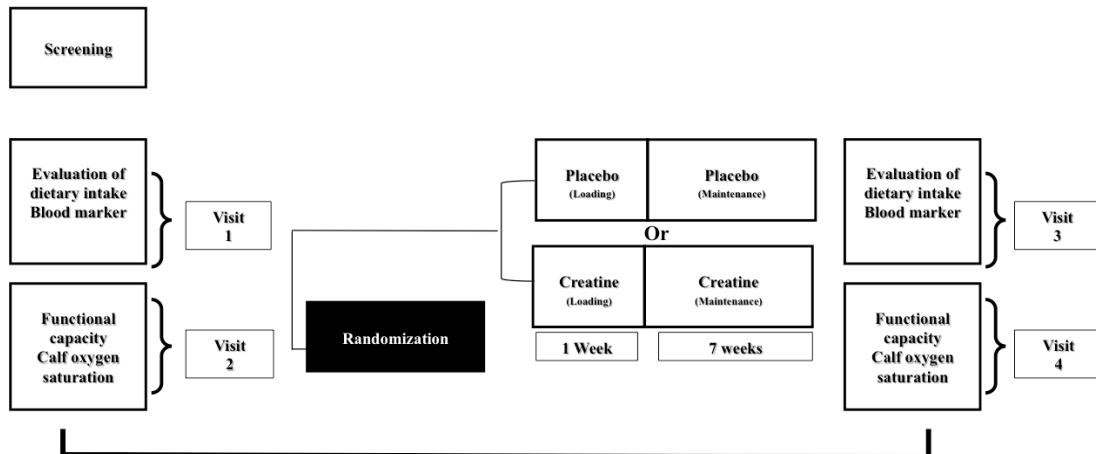


Figure 1. Study design

Patients

Twenty-nine patients of both sexes were recruited at the Hospital das Clínicas, University of São Paulo, Brazil. The inclusion criteria were: presence of intermittent claudication symptoms during the six-minute walking test, ankle brachial index (ABI) <0.90 in one or both lower limbs, and absence of chronic renal insufficiency (creatinine clearance <30ml/min). All patients signed the written consent and the experimental protocol was approved by the Institutional Ethics Committee (62601416.7.0000.0071). This work is registered in Clinical Trials, number: NCT02993874.

Preliminary assessment

Clinical characteristics were obtained during a vascular consultation. Body mass (kg) and stature (m) were measured (Welmy, São Paulo, Brazil) and body mass index was calculated. The ABI was calculated by the quotient between ankle systolic and brachial systolic blood pressure. Brachial blood pressure was measured using the auscultation

technique, while ankle blood pressure (in the dorsalis pedis artery or posterior tibial artery) was measured with a Doppler ultrasound (Martec DV600, Ribeirão Preto, Brazil). An aneroid sphygmomanometer was appointed in both measurements, as previously described (HIRSCH et al., 2006).

Creatine supplementation protocol and blinding procedure

Patients received Cr monohydrate (Creapure, Trostberg, Germany) supplementation or placebo (PLA) (dextrose) (Probiótica, São Paulo, Brazil) in a randomized double-blind study in two phases. Phase 1 - loading: 1 week - 20 grams (4 doses of 5 grams/day). Phase 2 - Maintenance: 7 weeks - 5 g/day. During the loading phase, supplements were presented in four packages and patients were instructed to ingest the supplement packages at breakfast, lunch, dinner, and before bed time. During the maintenance phase, patients consumed the supplement as a single dose with their lunch. The supplement packages were coded so that neither the investigators nor the participants were aware of the contents until completion of the analyses. The supplements were provided by a staff member of our research team who did not participate in the data acquisition, analyses, or interpretation.

Plasma creatine levels were performed in a sub-sample (n=9) using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (FL SPD-20A Shimadzu®, Kyoto, Japan), as previously described (BUCHBERGER; FERDIG, 2004).

Home-based exercise

All patients were instructed to perform 30 to 45 minutes of walking, ≥ 3 times a week according to the recommendations (GERHARD-HERMAN, 2017; HIRSCH et al., 2006). All patients were monitored by pedometer (polar A300, Finland) previously validated (BOESELT et al., 2016) to verify the number of steps performed.

Measurements

Functional capacity test

Six-minute walk test (6MWT) - To analyze the walking capacity, each patient was underwent to a 6MWT supervised by trained kinesiologist. Two cones were placed 30 meters apart in a marked corridor as previously described (MONTGOMERY; GARDNER, 1998). Patients were instructed to walk as many laps around the cones as possible and to inform when the claudication symptom occurred. It is worth to mention that none of the patients stopped during the test. The kinesiologist recorded the initial claudication distance (ICD), claudication onset time (COT) and total walking distance (TWD) to evaluate the walking capacity. In PAD patients, 6MWT presents high reliability with the intraclass correlation coefficient ranging between 0.94 and 1.00, and the coefficient of variation ranging between 0.4 and 1.6% (MONTGOMERY; GARDNER, 1998).

Short physical performance battery (SPPB) – The SPPB constitutes in assessing the usual walking speed (4-meter test), lower limb strength (sit-up test), and balance. Scores from 1 to 4 for each task were assigned. Individuals "unable to perform" including those who tried and failed or did not feel safe to perform the task. For these, scores were scored 0. Summing up the three individual categorical scores, a summary performance score was created for each participant (0-12), with higher scores indicating better test performance (GURALNIK et al., 1994).

Calf muscle oxygen saturation (StO₂)

Calf muscle microcirculation was assessed using near infrared spectroscopy (NIRS, PortaMon, Artinis Medical Systems) through a sensor attached on the leg with lowest ABI. The sensor was attached to the skin on the medial portion of gastrocnemius muscle and a number of calf muscle StO₂ variables were obtained before, during, and after six-minute walk test (Figure 2). Before the test, a baseline measure of calf muscle StO₂ was obtained at rest (sitting position) during 3 minutes to allowance stabilization of the values (baseline StO₂). During exercise, the minimum calf muscle StO₂ value (minimum StO₂) was obtained, as the time taken to reach the minimum value (time to minimum) and the absolute drops in calf muscle StO₂ from rest (baseline StO₂) to the minimum exercise value (minimum StO₂) . The end of the 6MWT was recorded (6MWT end), as well as the maximal calf StO₂ value during recovery (maximal StO₂) in the sitting position. The recovery times for calf muscle StO₂ to reach the full resting value (recovery time), and the maximum calf muscle StO₂ value (recovery time to maximum) were calculated (CAVALCANTE et al., 2017; GARDNER et

al., 2008).

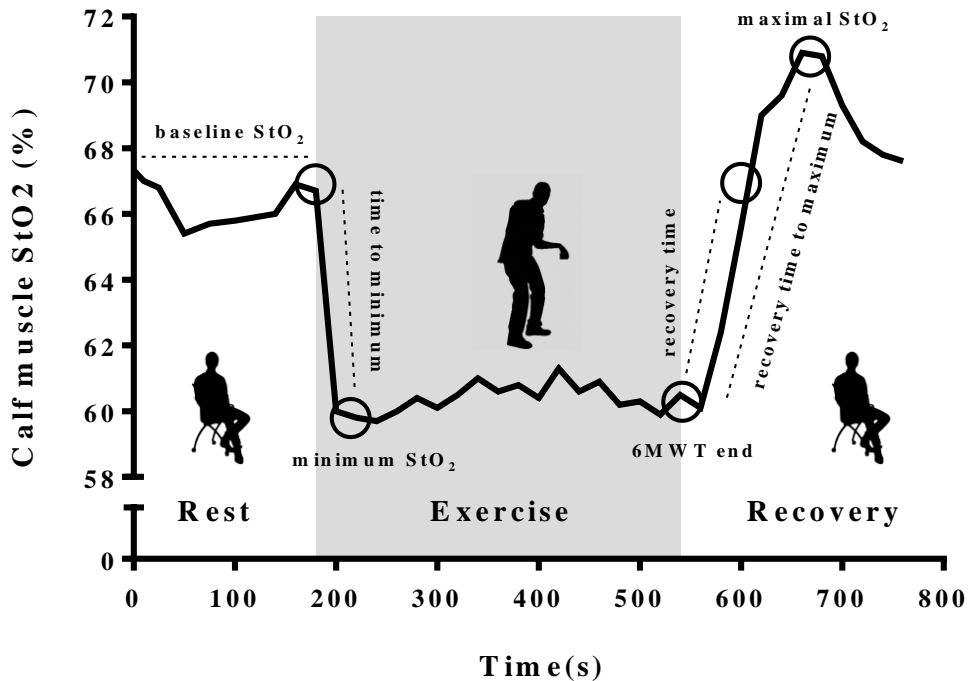


Figure 2. Calf oxygen saturation parameters obtained before, during and after the 6-minute walk test in symptomatic Peripheral artery disease StO₂ – Calf oxygen saturation. % percentage. s – seconds.

Dietary intake

For the evaluation of food consumption, the 24-hour food recall was applied. Participants will be questioned about the consumption of food and beverages during the 24 hours prior to the experimental session. Photographic record and kitchen utensils (glasses, cups and cutlery) will be used to guide patients in case of doubts and thus minimize the under and/or overestimation of the quantities. Total caloric intake, amount, and macronutrient (carbohydrate – CHO; proteins – PTN; lipids – LIP) ratios were determined using a software (Nutripad 2.0, Brazil). Participants were instructed to maintain their eating habits throughout the study. The water intake was ad libitum.

Statistical analysis

The normality of the data was verified by the Shapiro-Wilk test. The comparison between the general characteristics of the sample was performed by the t-test for independent samples or U Mann-whitney test, depending on its distribution. The categorical data were compared by the Chi-square test. The baseline values were assessed by U mann-whitney test. To verify the effect of supplementation *ANOVA*. *NPar* for repeated measures was performed. The level of significance was <0.05 . The power of the sample was calculated with a power of 80% and effect size = 0.05 (GPower software 3.19).

RESULTS

Twenty-nine patients completed the study. Initially, 160 patients were interviewed for eligibility in this study; of these, 118 did not meet the inclusion criteria, 5 refused to participate and 5 were not included for other reasons such as: difficulty in communication (two subjects), difficulty in traveling because they lived far away (one subject), being involved in another study (two subjects). During the intervention period, three patients were excluded for the following reasons: withdrawal after preliminary examinations due to personal problems (n = 1), gastric discomfort (n = 1), and pleural effusion (n = 1) (Figure 3).

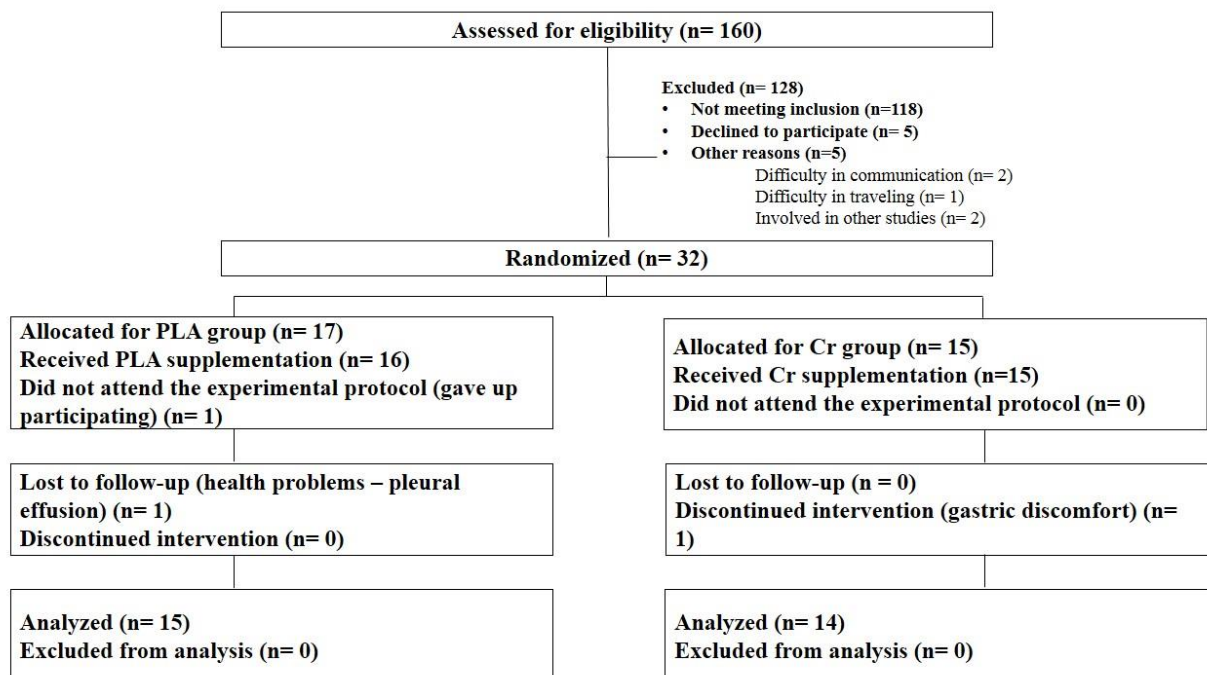


Figure 3. Flow diagram

The general characteristics were similar between the groups ($p < 0.05$) (Table 1).

Table 1. Characteristics of the study participants (n=29).

	PLA (N=15)	Cr (N= 14)	p-value
Women (%)	54	46	0.56
Age (years)	64 ± 8	64 ± 10	0.54
Weight (kg)	77 ± 10	68 ± 17	0.18
Height (m)	1.64 ± 0.09	1,60 ± 0.06	0.21
Body mass index (kg/m ²)	28.7 ± 3.1	26.7 ± 6.5	0.43
Ankle-brachial index (mmHg)	0.50 ± 0.13	0.51 ± 0.16	1.00
ICD (m)	143 ± 84	143 ± 65	0.88
TWD (m)	371 ± 81	344 ± 82	0.65
<i>Related comorbidities (%)</i>			
Hypertension	86.7	78.6	0.67
Diabetes	60.0	50.0	0.43
Dyslipidemia	6.7	7.1	0.74
Current smoking	78.6	78.6	0.68
Coronary artery disease	46.7	28.6	0.26

PLA – Placebo group. Cr – Creatine group. Values expressed in mean and standard deviation (numerical data). ICD – initial claudication distance. TWD - total waking distance. Values expressed in relative frequency (categorical data).

For the parameters of functional capacity, significant differences were found pre vs. post intervention for ICD ($p = 0.006$) and COT ($p = 0.022$). However, no significant interaction was found between the PLA vs. Cr groups for ICD ($F = 0.030$, $p = 0.861$), COT ($F = 0.001$, $p = 0.981$) and TWD (time: $p = 0.532$; interaction: $F = 0.198$, $p = 0.657$) parameters. In addition, no significant differences were found in time ($p = 0.392$) and interaction for SPPB ($F = 0.134$, $p = 0.714$) (Figure 4).

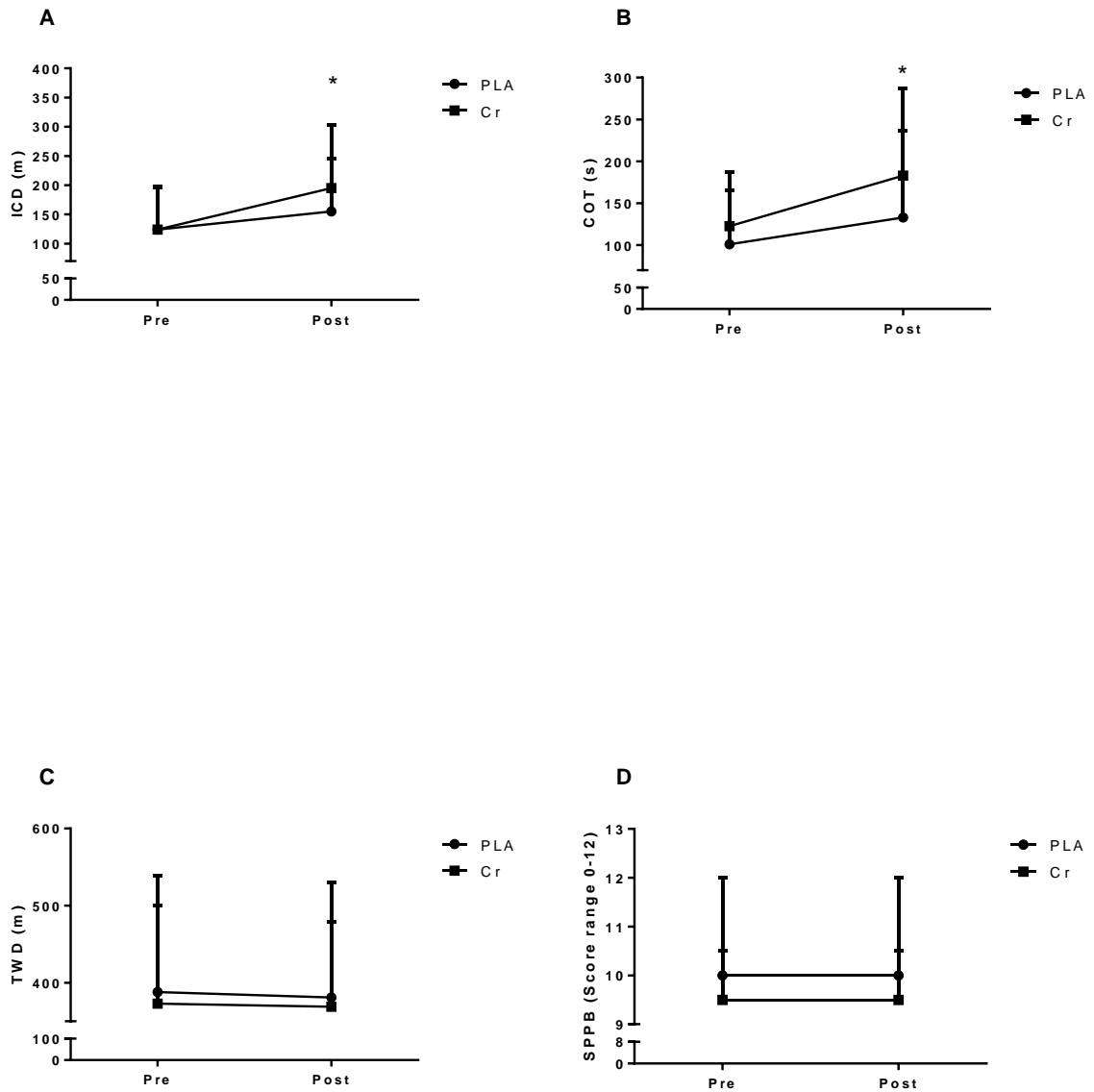


Figure 4. Functional capacity parameters obtained during the 6-minute walk test in patients with symptomatic peripheral arterial disease (n = 29; PLA = 15 and Cr = 14). *Significant difference pre vs. post intervention ($p < 0.05$). A – Initial claudication distance (ICD). B – Claudication onset time (COT). C – Total walking distance (TWD). D – Short physical performance battery (SPPB). PLA – Placebo group. Cr – Creatine group. m – meters.

In the parameters of StO_2 , no statistically significant differences were found in the time of intervention and in the interaction between the PLA vs. Cr groups the following parameters: baseline StO_2 (time: $p = 0.063$; interaction: $F = 0.187$; $p = 0.665$), minimum StO_2 (time: $p = 0.993$; interaction: $F = 1,374$; $p = 0.241$), time to minimum (time: $p = 0.936$; interaction: $F = 0.281$, $p = 0.292$), 6MWT end (time: $p = 0.450$; interaction: $F = 2.334$, $p = 0.126$), maximal StO_2 (time: $p = 0.170$; interaction: $F = 0.281$, $p = 0.596$), recovery time (time: $p = 0.995$; interaction: $F = 0.019$, $p = 0.889$) and recovery time to maximum (time: $p = 0.728$; interaction: $F = 0.165$, $p = 0.684$) (figure 5).

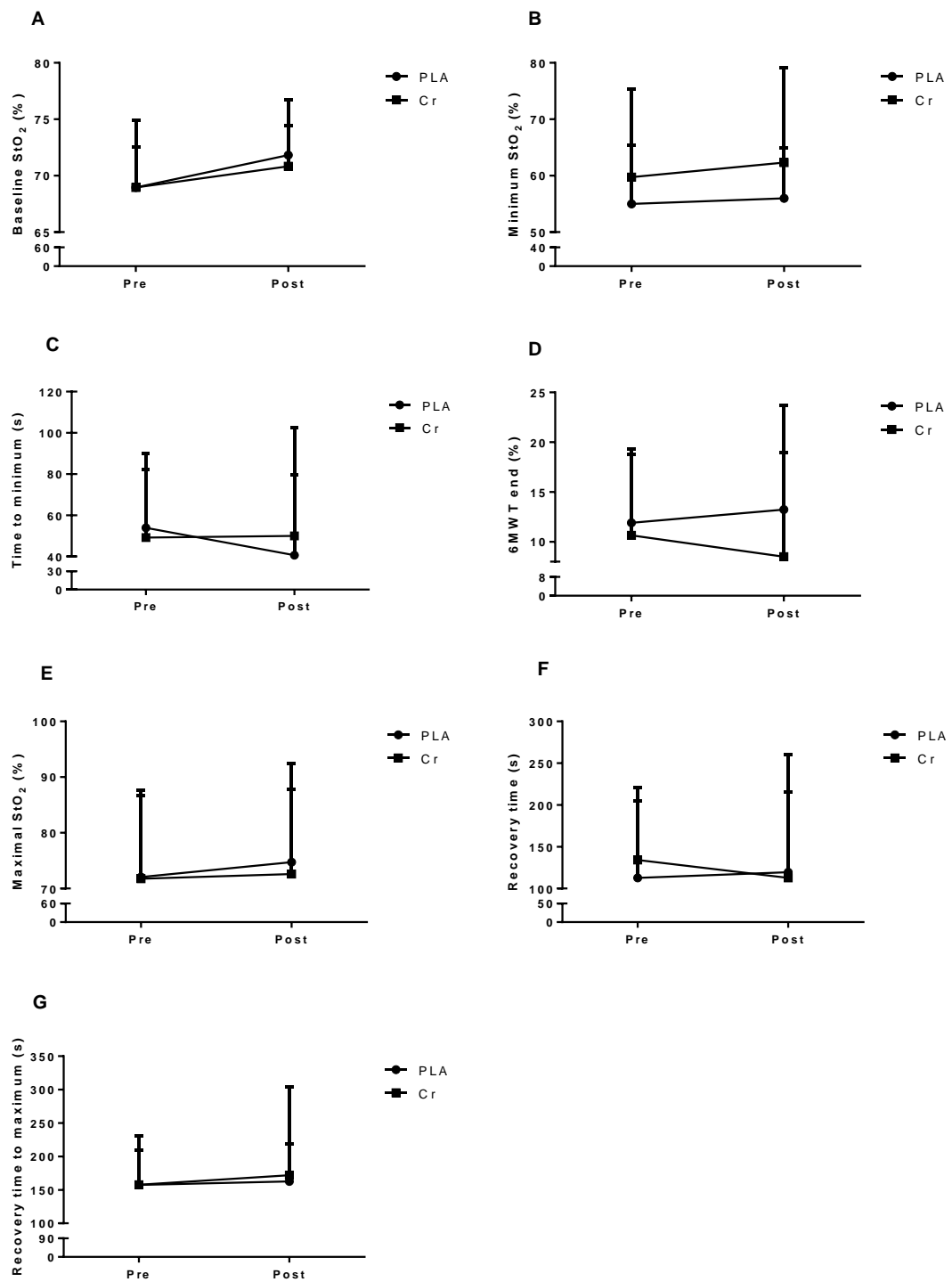


Figure 5. Calf oxygen saturation parameters obtained before, during and after the 6-minute walk test before and after 8 weeks of creatine supplementation (N=29; PLA = 15 and Cr = 14). StO₂ – Calf oxygen saturation. PLA – placebo group. Cr – creatine group. % percentage. s – seconds.

Table 2 shows the parameters of home-based exercise, macronutrients (CHO, PTN and LIP), and plasma creatine. For the home-based exercise (number of steps) significant statistical differences were found in the pre vs. post intervention time ($p < 0.05$). In addition, for the amount of macronutrients, significant statistical differences were found for LIP ($p < 0.05$). For the other parameters (CHO and PTN), no significant statistical differences were found in the pre vs. post intervention and between PLA vs. Cr groups ($p > 0.05$). For plasma creatine, significant interaction was found between the PLA vs Cr groups ($p < 0.05$).

Table 2. Comparison of the number of steps, plasma creatine and macronutrient variables before and after supplementation period.

	PLA (N=15)	Cr (N= 14)	<i>F</i>	Group	Time	Interaction
Home based exercise						
<i>Number of steps</i>						
Pre	24010 ± 28573	28325 ± 12984	1.139	0.400	0.002*	0.286
Post	32574 ± 44434	40988 ± 24229				
<i>Carbohydrate (g)</i>						
Pre	199.5 ± 160.7	175.7 ± 101.9	0.058	0.176	0.066	0.810
Post	161.0 ± 131.9	109.9 ± 108.0				
Proteins (g)						
Pre	41.2 ± 24.9	48.2 ± 32.4	1.090	0.673	0.415	0.296
Post	51.8 ± 41.9	56.6 ± 40.8				
Lipids (g)						
Pre	39.0 ± 38.3	50.1 ± 38.2	0.006	0.616	0.042*	0.936
Post	32.9 ± 16.3	42.5 ± 42.2				
<i>Plasma creatine (mmol/L)</i>						
Pre	21.5 ± 38.9	32.1 ± 61.5	9.634	0.008	0.001	0.002 [#]
Post	30.7 ± 39.8	163.2 ± 42.6				

PLA – Placebo group. Cr – Creatine group. *Significant difference pre vs. post intervention. [#]Interaction significant difference between PLA vs. Cr groups. Data expressed as median and interquartile range.

DISCUSSION

This is the first study to verify the effect of creatine supplementation associated with home-based exercise in patients with PAD with symptoms of intermittent claudication. The main finding of the study was that creatine supplementation did not affect the increases in walking capacity obtained with home-based exercise training. In addition, any parameters of the calf muscle oxygen saturation were also altered by the use of creatine.

It is noteworthy that plasma creatine results demonstrated that patients adhered to creatine supplementation, as plasma creatine levels increased from 40.5 ml/dl to almost 160 ml/dl. This results were similar to Harris (HARRIS; SÖDERLUND; HULTMAN, 1992) who also reported increases in muscle creatinine to values close to 160 mmol/kg of dry muscle, after a period of creatine supplementation.

In this study, both groups presented improvement in the parameters of ICD and COT. This probably occurred due to the home-based exercise. As in other studies, home-based exercise is recommended for these patients to promote an improvement in walking capacity parameters (LI et al., 2015; OAKLEY; SPAFFORD; BEARD, 2017). Additionally, the decrease in the amount of lipids consumed in patients of both groups was not a factor that influences the walking parameters, since they are not preferentially usable by the cell as an energy source (PATKOVA A, JOSKOVA V, HAVEL E, KOVARIK M, KUCHAROVA M, ZADAK Z, 2017). However, macronutrient (CHO, PTN and LIP) levels were similar between the groups, indicating that they did not influence the results of the present study.

These findings agree with previous studies attempting to verify the effect of creatine supplementation on functional capacity in other populations (CARVALHO et al., 2012; GUALANO et al., 2014). Recent studies have shown that oxygen saturation of the calf muscle is reduced during a walking test, reaching minimum values before the end of the exercise (GARDNER et al., 2008). Our findings did not demonstrate significant differences before and after the period of creatine supplementation associated with home-based exercise on oxygen saturation in the calf muscle.

A likely mechanism linked to this may be related to creatine, making a role in the rapid provision of energy in the muscles of the type II fiber (HOWDEN et al., 2015). It is noteworthy that patients with symptomatic PAD present pain during walking, especially in

the region of the calf muscle, where type I fibers predominate. In addition, studies have shown that creatine supplementation improves functional capacity parameters associated mainly with strength training (GUALANO et al., 2014; JOHANNSMEYER et al., 2016).

The practical application of this study indicates that creatine supplementation does not improve functional capacity and StO₂ in patients with PAD. However, just as in previous studies, only home-based exercise is able to improve some of these parameters (MCDERMOTT, 2017).

The present study has some limitations. The small sample size limits us to compare the effects of supplementation between groups. In addition, creatine supplementation was performed for 8 weeks, and it is not known whether longer periods of supplementation promote improvements in functional capacity and microcirculation.

CONCLUSION

Eight weeks of creatine supplementation associated with home-based exercise does not influence functional capacity and oxygen saturation parameters in the calf muscle in patients with peripheral arterial disease with symptoms of intermittent claudication. In addition, for the ICD and COT parameters the intervention demonstrated similar increases for the placebo and creatine groups.

DECLARATION OF CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no conflicts of interest.

ACKNOWLEDGMENT

To FAPEAM (Foundation for Research Support of the State of Amazonas) by the research grant for this research. To nutritionist Tiago Rodrigo for nutritional analysis.

REFERENCES

- ANDREASSEN, O. A. et al. Increases in cortical glutamate concentrations in transgenic amyotrophic lateral sclerosis mice are attenuated by creatine supplementation. **Journal of neurochemistry**, v. 77, n. 2, p. 383-390, 2001.
- BARBOSA, J. P. et al. Barriers to physical activity in patients with intermittent claudication. **International journal of behavioral medicine**, v. 22, n. 1, p. 70-76, 2015.
- BOESEL, T. et al. Validity and usability of physical activity monitoring in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). **PloS one**, v. 11, n. 6, p. e0157229, 2016.
- BUCHBERGER, W.; FERDIG, M. Improved high- performance liquid chromatographic determination of guanidino compounds by pre- column derivatization with ninhydrin and fluorescence detection. **Journal of separation science**, v. 27, n. 15- 16, p. 1309-1312, 2004.
- CARVALHO, A. P. P. F. et al. Influence of creatine supplementation on the functional capacity of patients with heart failure. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 99, n. 1, p. 623-629, 2012.
- CAVALCANTE, B. R. et al. Graduated Compression Stockings Does Not Decrease Walking Capacity and Muscle Oxygen Saturation during 6-Minute Walk Test in Intermittent Claudication Patients. **Annals of vascular surgery**, v. 40, p. 239-242, 2017.
- CRISAFULLI, D. L. et al. Creatine-electrolyte supplementation improves repeated sprint cycling performance: A double blind randomized control study. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 15, n. 1, p. 21, 2018.
- GARDNER, A. W. et al. Calf muscle hemoglobin oxygen saturation characteristics and exercise performance in patients with intermittent claudication. **Journal of vascular surgery**, v. 48, n. 3, p. 644-649, 2008.
- GERHARD-HERMAN, M. D. et al. 2016 AHA/ACC guideline on the management of patients with lower extremity peripheral artery disease: executive summary: a report of the

American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. **Circulation**, v. 135, n. 12, p. e686-e725, 2017.

GUALANO, B. et al. Creatine supplementation and resistance training in vulnerable older women: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. **Experimental gerontology**, v. 53, p. 7-15, 2014.

GURALNIK, J. M. et al. A short physical performance battery assessing lower extremity function: association with self-reported disability and prediction of mortality and nursing home admission. **Journal of gerontology**, v. 49, n. 2, p. M85-M94, 1994.

HARRIS, R. C.; SÖDERLUND, Karin; HULTMAN, Eric. Elevation of creatine in resting and exercised muscle of normal subjects by creatine supplementation. **Clinical science**, v. 83, n. 3, p. 367-374, 1992.

HIRSCH, Alan T. et al. ACC/AHA 2005 Practice Guidelines for the management of patients with peripheral arterial disease (lower extremity, renal, mesenteric, and abdominal aortic). **circulation**, v. 113, n. 11, p. e463-e654, 2006.

HOWDEN, D. et al. The Effects of Creatine Supplementation on Muscular Strength and Endurance in Mice. **2015 NCUR**, 2015.

JOHANNSMEYER, S. et al. Effect of creatine supplementation and drop-set resistance training in untrained aging adults. **Experimental gerontology**, v. 83, p. 112-119, 2016.

LI, Y. et al. Effect of structured home-based exercise on walking ability in patients with peripheral arterial disease: a meta-analysis. **Annals of vascular surgery**, v. 29, n. 3, p. 597-606, 2015.

MCDERMOTT, M. M. Exercise training for intermittent claudication. **Journal of vascular surgery**, v. 66, n. 5, p. 1612-1620, 2017.

MENÊSES, A. L. et al. Combined Lower Limb Revascularisation and Supervised Exercise Training for Patients with Peripheral Arterial Disease: A Systematic Review of Randomised Controlled Trials. **Sports Medicine**, v. 47, n. 5, p. 987-1002, 2017.

MONTGOMERY, P. S.; GARDNER, Andrew W. The clinical utility of a six- minute walk test in peripheral arterial occlusive disease patients. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 46, n. 6, p. 706-711, 1998.

OAKLEY, C.; SPAFFORD, C.; BEARD, J. D. A Three Month Home Exercise Programme Augmented with Nordic Poles for Patients with Intermittent Claudication Enhances Quality of Life and Continues to Improve Walking Distance and Compliance After One Year. **European Journal of Vascular and Endovascular Surgery**, v. 53, n. 5, p. 704–709, 2017.

PATKOVA, A. et al. Energy, Protein, Carbohydrate, and Lipid Intakes and Their Effects on Morbidity and Mortality in Critically Ill Adult Patients: A Systematic Review. **Advances in Nutrition**, v. 8, n. 4, p. 624-634, 2017

RITTI-DIAS, R. M. et al. Strength training increases walking tolerance in intermittent claudication patients: randomized trial. **Journal of vascular surgery**, v. 51, n. 1, p. 89-95, 2010.

VORGERD, M. et al. Creatine therapy in myophosphorylase deficiency (McArdle disease): a placebo-controlled crossover trial. **Archives of Neurology**, v. 57, n. 7, p. 956-963, 2000

WALLIMANN, T.; HARRIS, R. Creatine: a miserable life without it. **Amino Acids**, v. 48, n. 8, p. 1739–1750, 2016.

WALLIMANN, T.; TOKARSKA-SCHLATTNER, M.; SCHLATTNER, U. The creatine kinase system and pleiotropic effects of creatine. **Amino acids**, v. 40, n. 5, p. 1271–1296, 2011.

3.3 Artigo original 2

Original article

Creatine supplementation associated with home-based exercise does not change hemodynamic, autonomic and arterial stiffness parameters in patients with peripheral arterial disease

Headings: Creatine supplementation in PAD patients

Wagner Jorge Ribeiro Domingues¹, Raphael Mendes Ritti-Dias², Gabriel Grizzo Cucato³, Nelson Wolosker³, Antonio Eduardo Zerati⁴, Pedro Puech-Leão⁵, Ademar Avelar⁶.

¹Physical Education and Sport Center, Londrina State University, Londrina, Parana, Brazil; ²Postgraduate Program in Rehabilitation Sciences, Nove de Julho University, Sao Paulo, Brazil, ³Israel Institute of Education and Research, Albert Einstein Hospital, Sao Paulo Brazil, ⁴Cancer Institute of Sao Paulo, Sao Paulo, Brazil, ⁵Faculty of Medicine Sao Paulo University, Sao Paulo, Brazil, ⁶Department of Physical Education State University of Maringa, Maringa, Brazil.

Corresponding author:

Wagner Jorge Ribeiro Domingues, MD

Londrina State University, Physical Education Department, Rodovia Celso Garcia Cid, km 380, Campus Universitário, Londrina, Parana, 86051-990, Brazil.

ABSTRACT

The aim of this study was to verify the effect of eight weeks of creatine supplementation associated with home-based exercise on hemodynamic, autonomic and arterial stiffness parameters in patients with peripheral arterial disease (PAD). Twenty-nine patients were randomized double-blind to receive placebo (dextrose) (PLA group) or creatine (Cr group). Associated with supplementation, all patients were recommended to perform the home-based exercise (30-45 minutes walk $\geq 3x/$ week) monitored by pedometer. Before and after the intervention period, blood pressure (brachial and aortic), autonomic modulation and arterial stiffness (Augmentation index, Augmentation index normalized to heart rate, and carotid-femoral pulse wave velocity) parameters were evaluated. Non-parametric ANOVA (ANOVA *NPar*) for repeated measurements was used to verify the effect of the intervention. Similar changes were found for systolic and diastolic pressure, systolic and diastolic aortic pressure, pulse pressure, augmentation index and carotid-femoral pulse wave velocity ($p < 0.05$). No significant differences were found for the other parameters ($p > 0.05$). Eight weeks of creatine supplementation associated with home-based exercise does not change hemodynamic, autonomic and arterial stiffness parameters in PAD patients. This trial is registered with NCT02993874

Key words: Dietary supplements, blood pressure, arterial stiffness, cardiovascular diseases, peripheral arterial disease.

INTRODUCTION

Patients with peripheral arterial disease (PAD) have, for the most part, hypertension (YEH et al., 2016), alterations in cardiac autonomic modulation (CHAHAL; VOHRA; SYNGLE, 2017), and increases in arterial stiffness (CATALANO et al., 2014). An of the recommendations to minimize these changes is to stop smoking and perform physical activity (GERHARD-HERMAN, 2017). However, these patients face some barriers (BARBOSA et al., 2015). For the improvement of these parameters, some therapeutic strategies have been indicated (CÂMARA; SUZIGAN; STARLING, 2013).

Creatine supplementation is an endogenously synthesized amine (kidneys, liver and pancreas) or can be obtained by diet. Studies have reported that creatine supplementation has shown benefits to the cardiovascular system (BALESTRINO et al., 2016). In fact, this may occur in meta-baroreceptors, promoting blood pressure reduction, autonomic modulation and attenuation of arterial stiffness (SANCHEZ-GONZALEZ et al., 2011).

Therefore, none study was proposed to investigate the effect of creatine supplementation in patients with PAD. Thus, aim of this study was to verify the effect of eight weeks of creatine supplementation associated with home-based exercise on hemodynamic, autonomic and arterial stiffness parameters in patients with peripheral arterial disease (PAD).

METHODS

Study Design

Before the beginning of the experimental protocol, a questionnaire was applied to evaluate the socio-demographic characteristics, medical history and a clinical examination. Subsequently, the patients were submitted to the supplementation protocol for eight weeks associated with home-based exercise. Before and after the intervention period, hemodynamic parameters, autonomic parameters and arterial stiffness were evaluated (Figure 1).

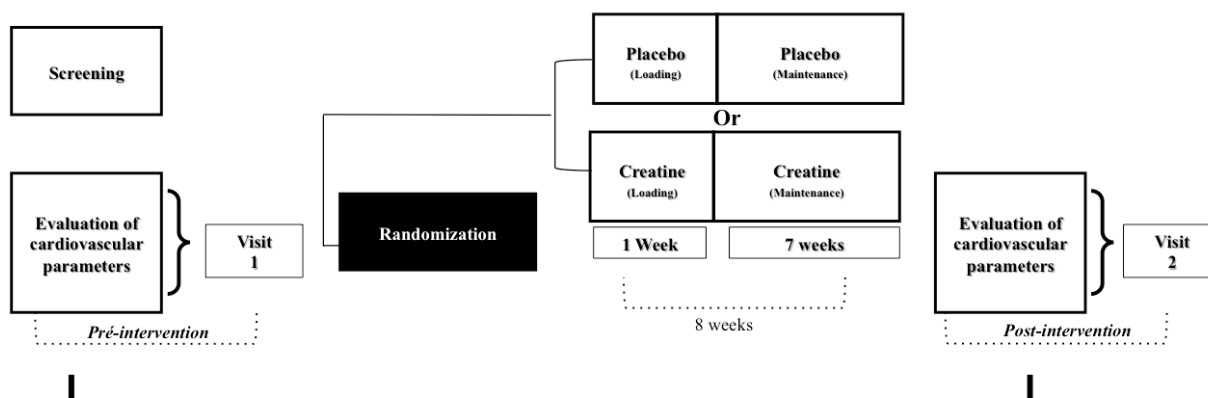


Figure 1. Study design

Participants

Twenty-nine patients of both sexes were recruited at the Hospital das Clínicas, University of São Paulo, Brazil. The inclusion criteria were: ankle brachial index <0.90 in one or both lower limbs, and absence of chronic renal insufficiency (creatinine clearance <30ml/min), to be able to practice physical exercise at home. All patients signed the written consent and the experimental protocol was approved by the Institutional Ethics Committee (62601416.7.0000.0071). This work is registered in Clinical Trials, number: NCT02993874.

Preliminary assessment

Clinical characteristics were obtained during a vascular consultation. Body mass (kg) and stature (m) were measured (Welmy, São Paulo, Brazil) and body mass index was calculated. The ankle brachial index (ABI) was calculated by the quotient between ankle systolic and brachial systolic blood pressure. Brachial blood pressure was measured using the auscultation technique, while ankle blood pressure (in the dorsalis pedis artery or posterior tibial artery) was measured with a Doppler ultrasound (Martec DV600, Ribeirão Preto, Brazil). An aneroid sphygmomanometer was employed in both measurements, as previously described (HIRSCH et al., 2006).

Creatine supplementation protocol and blinding procedure

Patients received Cr monohydrate (Creapure, Trostberg, Germany) supplementation or placebo (PLA) (dextrose) (Probiótica, São Paulo, Brazil) in a randomized double-blind study in two phases. Phase 1 - loading: 1 week - 20 grams (4 doses of 5 grams/day). Phase 2 - Maintenance: 7 weeks - 5 g/day. During the loading phase, supplements were presented in four packages and patients were instructed to ingest the supplement packages at breakfast, lunch, dinner, and before bed time. During the maintenance phase, patients consumed the supplement as a single dose with their lunch. The supplement packages were coded so that neither the investigators nor the participants were aware of the contents until completion of the analyses. The supplements were provided by a staff member of our research team who did participate in the data acquisition, analyses, or interpretation.

Home-based exercise

All patients were instructed to perform 30 to 45 minutes of walking, ≥ 3 times a week according to the recommendations (GERHARD-HERMAN, 2017; HIRSCH et al., 2006). All patients were monitored by pedometer (polar A300, Finland) previously validated (BOESELT et al., 2016) to verify the number of steps performed.

Measurements

The brachial blood pressure was evaluated by an electronic monitor (OMRON HEM-7200, Japan) in triplicate for the measurement of systolic (SBP) and diastolic (DBP) blood pressure (MALACHIAS et al., 2016).

The aortic blood pressure was evaluated by the technique of aplanation tonometry (SphyngmoCor, ATCOR Medical Australia), in which the indicators systolic blood pressure (aortic SBP), diastolic blood pressure (aortic DBP), pulse pressure (aortic PP), augmentation index (AIx) and augmentation index 75 bpm (AIx75 bpm), measured in the radial artery were obtained and transferred to a software previously validated (O'ROURKE; PAUCA; JIANG, 2001; SIEBENHOFER et al., 1999).

The carotid femoral - pulse wave velocity (cf-PWV) was measured by the aplanation tonometry technique following the international guidelines (VAN BORTEL et al., 2002). To verify cf-PWV, the distance between the carotid artery and the suprasternal notch and the femoral artery to the suprasternal notch were measured using a standard tape.

Simultaneously, the ECG heart rate was assessed according to the foot-to-foot method. The difference between the two points was measured. Then, the distance between the two arteries was divided by the time difference.

For the determination of resting autonomic cardiac modulation (heart rate variability – HRV), RR intervals obtained by a heart rate monitor (POLAR, V800, Lake Success, NY, USA). Patients undertook a supine position for 20 minutes, with the final 10 minutes used to examine for resting HRV. Two evaluators visually inspected the data and any inappropriate or premature RR interval was corrected by interpolating data. Any RR interval with a difference greater than 20% compared with adjacent intervals was automatically and visually filtered. The results were transferred to a dedicated HRV software package (Kubios HRV 3.0, University of Eastern Finland) for further analysis. The following time domain variables were examined for each recording: standard deviation of all RR intervals (SDNN), root mean square of the squared differences between adjacent normal RR intervals (RMSSD), and the percentage of adjacent intervals over 50ms (PNN50). Additionally, frequency domain variables were calculated via an autoregressive method. Briefly, distinct biological signals responsible for modulating HR (i.e. between the brain and heart) were identified via a mathematical analysis of the variation in time between successive heartbeats. The signals operating at frequencies between 0.04 and 0.4 Hz were considered physiologically significant with the low frequency (LF) component represented by oscillations between 0.04 and 0.15 Hz, and the high frequency (HF) component represented by oscillations between 0.15 and 0.4 Hz. The power of each spectral component was normalized by dividing the power of each spectrum band by the total variance, minus the value of the very low frequency band (< 0.04 Hz), and multiplying the result by 100 (TASK FORCE OF THE EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY, 1996).

Statistical analysis

The normality of the data was verified by the Shapiro-Wilk test. The comparison between the general characteristics of the sample was performed by the t-test for independent samples or Mann-whitney U test, depending on its distribution. The categorical data were compared by the Chi-square test. The baseline values were assessed by U mann-whitney test. To verify the effect of supplementation *ANOVA NPar* for repeated measures was performed.

The level of significance was $p < 0.05$. The power of the sample was calculated with a power of 80% and effect size = 0.05 (GPower software 3.19).

RESULTS

Twenty-nine patients completed the study. Initially, 160 patients were interviewed for eligibility in this study; of these 118 did not meet the inclusion criteria, 5 refused to participate and 5 were not included for other reasons such as: difficulty in communication (two subjects), difficulty in traveling because they lived far away (one subjects), being involved in another study (two subjects). During the intervention period, three patients were excluded for the following reasons: withdrawal after preliminary examinations due to personal problems ($n = 1$), gastric discomfort ($n = 1$), and pleural effusion ($n = 1$) (Figure 2).

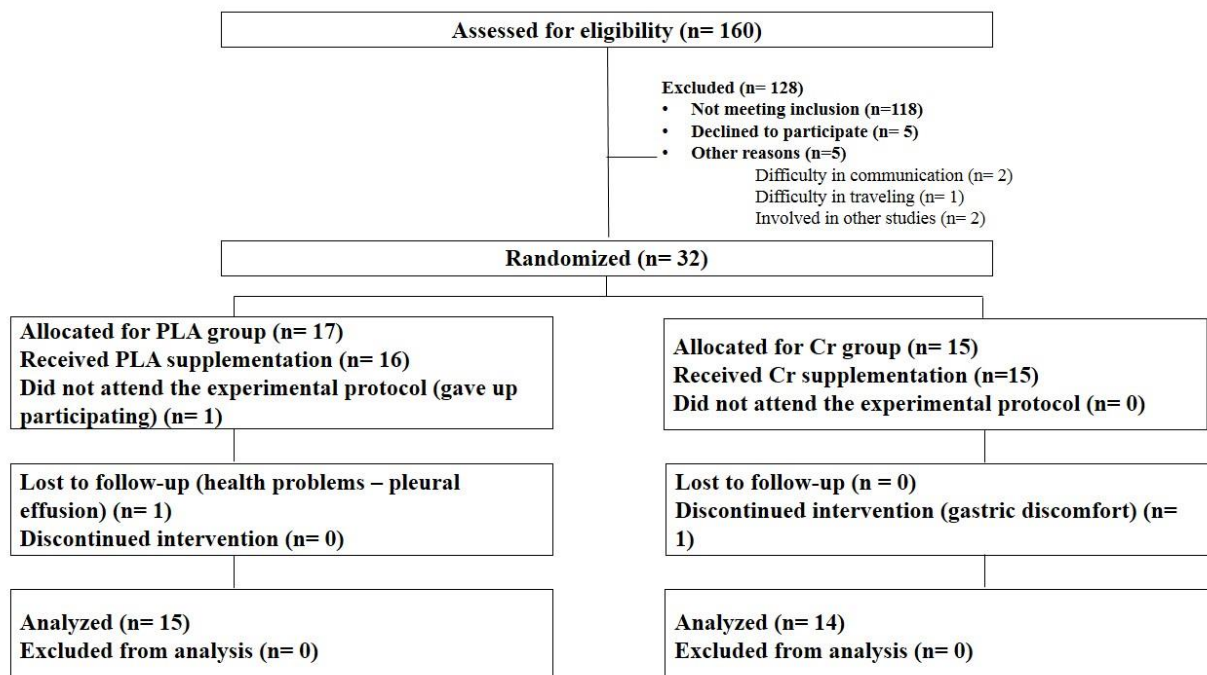


Figure 2. Flow diagram

The general characteristics were similar between the groups ($p < 0.05$) (Table 1).

Table 1. General characteristics of study participants (n = 29).

	PLA (N=15)	Cr (N= 14)	p-value
Women (%)	54	46	0.56
Age (years)	64 ± 8	64 ± 10	0.54
Weight (kg)	77 ± 10	68 ± 17	0.18
Height (m)	1.64 ± 0.09	1,60 ± 0.06	0.21
Body mass index (kg/m ²)	28.7 ± 3.1	26.7 ± 6.5	0.43
Ankle-brachial index (mmHg)	0.50 ± 0.13	0.51 ± 0.16	1.00
TWD (m)	371 ± 81	344 ± 82	0.65
<i>Related comorbidities (%)</i>			
Hypertension	86.7	78.6	0.67
Diabetes	60.0	50.0	0.43
Dyslipidemia	6.7	7.1	0.74
Current smoking	78.6	78.6	0.68
Coronary artery disease	46.7	28.6	0.26

PLA – Placebo group. Cr – Creatine group. Values expressed in mean and standard deviation (numerical data). TWD - total waking distance. Values expressed in relative frequency (categorical data).

Significant increases in the number of steps (home-based exercise) pre vs post intervention were found for both groups: (PLA - pre 24010 ± 28573 vs post 32574 ± 44434; Cr-31422 ± 12984 vs post 45037 ± 24229 meters, p = 0.002). However, there was no significant interaction (p = 0.286).

Similar adaptations before and after intervention were found for hemodynamic parameters brachial SBP, brachial DBP, aortic SBP, aortic DBP and aortic PP (p <0.05). However, no significant interactions were found for the other parameters (p > 0.05) (Figure 3).

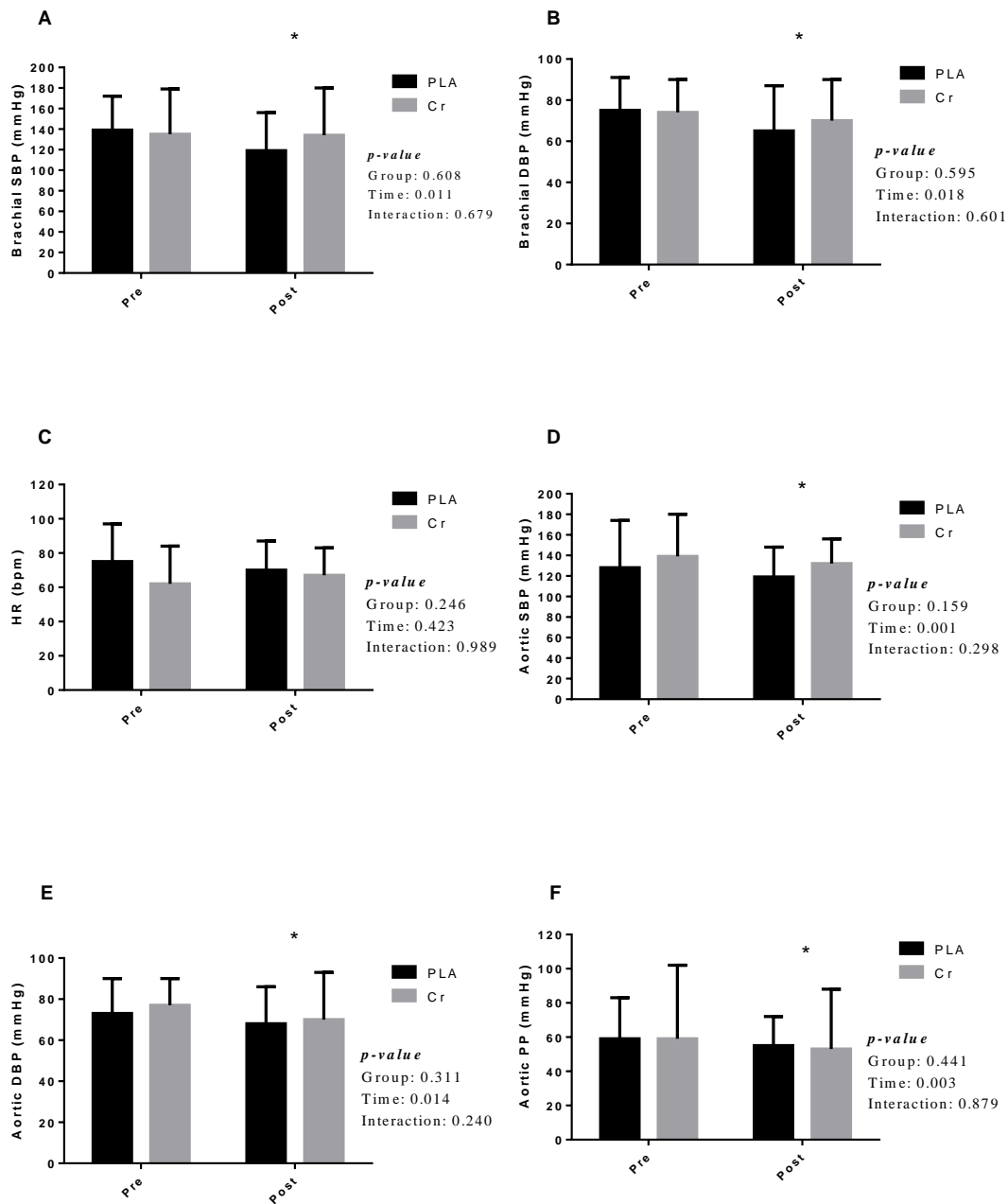


Figure 3. Hemodynamic parameters before and after the intervention . PLA – placebo group. Cr – creatine group. SBP – systolic blood pressure. DPB – diastolic blood pressure. HR – heart rate. PP – pulse pressure. mmHg – millimeters of mercury. Bpm – beats per minute. *Significant statistical difference between pre vs. post-intervention. Values expressed in median and interquartile range.

For the parameters of arterial stiffness, AIx and cf-PWV, statistically significant differences in time (pre vs post intervention) were found. However, ANOVA did not identify interactions between groups in any of the parameters analyzed (AIx, AIx 75 and cf-PWV) (Figure 4).

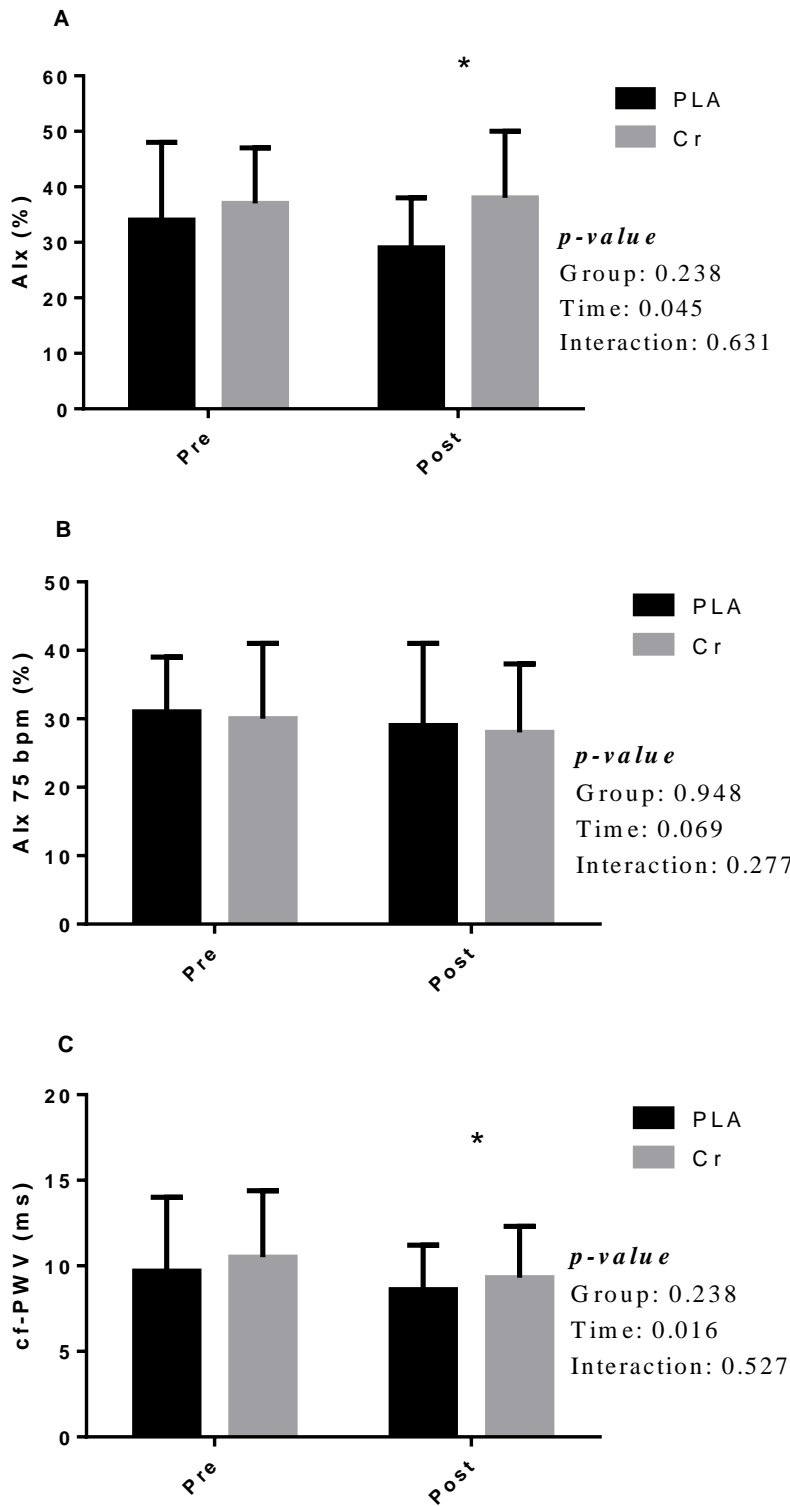


Figure 4. Parameters of arterial stiffness before and after the intervention period. PLA – placebo group. Cr – creatine group. AIx – Augmentation index. AIx 75 – Augmentation index normalized to heart rate. cf-PWV – carotid-femoral pulse wave velocity. % - percentage. ms – meters per second. *Significant statistical difference between pre vs. post-intervention. Values expressed in median and interquartile range.

In the parameters of autonomic modulation, no statistical differences were found in time and interaction ($p > 0.05$) (table 2).

Table 2. Comparison before and after intervention between placebo (PLA) and creatine (Cr) groups for automatic modulation data. (n = 29).

	PLA (n= 15)	Cr (n=14)	F	Group	Time	Interaction
<i>RR interval (ms)</i>						
Pre	860 ± 236	973 ± 345	1.468	0.474	0.410	0.226
Post	903 ± 173	982 ± 319				
<i>SDNN (ms)</i>						
Pre	24 ± 16	27 ± 34	1.831	0.779	0.662	0.176
Post	25 ± 34	21 ± 20				
<i>RMSSD (ms)</i>						
Pre	20 ± 18	31 ± 42	3.710	0.699	0.747	0.054
Post	27 ± 50	21 ± 27				
<i>PNN50 (ms)</i>						
Pre	1 ± 9	3 ± 27	1.233	0.776	0.535	0.267
Post	4 ± 13	1 ± 7				
<i>LF (nu)</i>						
Pre	46 ± 25	57 ± 25	0.743	0.150	0.061	0.389
Post	49 ± 34	49 ± 18				
<i>HF (nu)</i>						
Pre	54 ± 23	43 ± 25	0.727	0.152	0.061	0.394
Post	51 ± 34	50 ± 18				

PLA – placebo group. Cr – creatine group. SBP – Values expressed in median and interquartile range.

DISCUSSION

The main finding of this study was that after eight weeks of creatine supplementation associated with home-based exercise did not promote changes in hemodynamic, autonomic parameters and arterial stiffness

Our findings confront previous studies that verified the effect of creatine supplementation on hemodynamic parameters and arterial stiffness in healthy young subjects (SANCHEZ-GONZALEZ et al., 2011). A probable mechanism related to this behavior may be related to the comorbidities associated in the study participants. In fact, in extreme health conditions, creatine may not be able to reverse cardiovascular dysfunction (ALVES et al., 2012). This is because creatine metabolism acts differently among individuals (SOLIS et al., 2017). In fact, more than 80% of the participants in the present study had arterial hypertension, which is possibly a limiting factor for creatine performance.

Our results support previous studies, in which it was found that creatine supplementation did not promote changes in HRV in adults (MERT et al., 2017). A probable explanation for this phenomenon may be related to the effect of creatine on the central nervous system (KOGA et al., 2005). The Gamma-aminobutyric acid (GABA), an important neurotransmitter of the central nervous system, is activated by guanidino acetate (precursor of creatine). GABA is directly responsible for the regulation of muscle tone, which could promote sympathetic and parasympathic nervous system control. However the action of creatine on the central nervous system is questionable, as it is not known if it could overcome the blood-brain barrier (BÉARD; BRAISSANT, 2010).

The practical application of this study reveals that supplementing PAD individuals with creatine associated with home-based exercise was not able to change the cardiovascular parameters of these individuals. However, as in previous studies, home-based exercise is an important strategy to improve these parameters. This is a possible explanation for the similar behavior between groups in blood pressure and arterial stiffness indicators.

The present study has some limitations. The small sample size limits us to compare the effects of supplementation between groups. In addition, creatine supplementation was performed for 8 weeks, and it is not known whether longer periods of supplementation promote improvements in BP, arterial stiffness and modulation autonomic parameters. Our

findings are limited to patients with PAD and we do not know whether these results are true of other populations.

CONCLUSION

Eight weeks of creatine supplementation associated with home based exercise does not change hemodynamic, autonomic and arterial stiffness parameters in patients with PAD.

DECLARATION OF CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no conflicts of interest.

ACKNOWLEDGMENT

To FAPEAM (Foundation for Research Support of the State of Amazonas) by the research grant for this research.

REFERENCES

- ALVES, C. R. et al. No effect of creatine supplementation on oxidative stress and cardiovascular parameters in spontaneously hypertensive rats. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 9, n. 1, p. 13, 2012.
- BALESTRINO, M. et al. Potential of creatine or phosphocreatine supplementation in cerebrovascular disease and in ischemic heart disease. **Amino Acids**, v. 48, n. 8, p. 1955–1967, 2016.
- BARBOSA, J. et al. Barriers to Physical Activity in Patients with Intermittent Claudication. **International Journal of Behavioral Medicine**, v. 22, n. 1, p. 70–76, 2015.
- BÉARD, E.; BRAISSANT, O. Synthesis and transport of creatine in the CNS: Importance for cerebral functions. **Journal of Neurochemistry**, v. 115, n. 2, p. 297–313, 2010.

BOESEL, T. et al. Validity and usability of physical activity monitoring in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). **PLoS one**, v. 11, n. 6, p. e0157229, 2016.

CÂMARA, L. C.; SUZIGAN, E. M.; STARLING, M. A. Creatine supplementation as a potential therapeutic aid in peripheral arterial obstructive disease rehabilitation. **Acta Fisiátrica**, v. 20, n. 3, p. 152–156, 2013.

CATALANO, M. et al. Aortic augmentation index in patients with peripheral arterial disease. **Journal of Clinical Hypertension**, v. 16, n. 11, p. 782–787, 2014.

CHAHAL, S.; VOHRA, K.; SYNGLE, A. Association of sudomotor function with peripheral artery disease in type 2 diabetes. **Neurological Sciences**, v. 38, n. 1, p. 151–156, 2017.

GERHARD-HERMAN, Marie D. et al. 2016 AHA/ACC guideline on the management of patients with lower extremity peripheral artery disease: executive summary: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. **Circulation**, v. 135, n. 12, p. e686-e725, 2017.

HIRSCH, Alan T. et al. ACC/AHA 2005 Practice Guidelines for the management of patients with peripheral arterial disease (lower extremity, renal, mesenteric, and abdominal aortic). **circulation**, v. 113, n. 11, p. 463-654, 2006.

KOGA, Y. et al. Brain creatine functions to attenuate acute stress responses through GABAergic system in chicks. **Neuroscience**, v. 132, n. 1, p. 65–71, 2005.

MALACHIAS, M. V. B. et al. 7ª Diretriz brasileira de hipertensão arterial. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 107, n. 3, p. 1-103, 2016.

MERT, K. U. et al. Effects of creatine supplementation on cardiac autonomic functions in bodybuilders. **Pacing and Clinical Electrophysiology**, v. 40, n. 6, p. 721–727, 2017.

O'ROURKE, Michael F.; PAUCA, Alfredo; JIANG, Xiong- Jing. Pulse wave analysis. **British Journal of clinical Pharmacology**, v. 51, n. 6, p. 507-522, 2001.

SANCHEZ-GONZALEZ, M. A. et al. Creatine supplementation attenuates hemodynamic and arterial stiffness responses following an acute bout of isokinetic exercise. **European Journal of Applied Physiology**, v. 111, n. 9, p. 1965–1971, 2011.

SIEBENHOFER, A. et al. The reproducibility of central aortic blood pressure measurements in healthy subjects using applanation tonometry and sphygmocardiography. **Journal of human hypertension**, v. 13, n. 9, p. 625–629, 1999.

SOLIS, M. Y. et al. Effect of age, diet, and tissue type on PCr response to creatine supplementation. **Journal of Applied Physiology**, v. 123, n. 2, p. 407–414, 2017.

TASK FORCE OF THE EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY et al. Heart rate variability, standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. **circulation**, v. 93, v. 5, p. 1043-1065, 1996.

VAN BORTEL, L. M. et al. Clinical applications of arterial stiffness, task force III: Recommendations for user procedures. **American Journal of Hypertension**, v. 15, n. 5, p. 445–452, 2002.

YEH, C.-H. et al. High Systolic and Diastolic Blood Pressure Variability Is Correlated with the Occurrence of Peripheral Arterial Disease in the First Decade following a Diagnosis of Type 2 Diabetes Mellitus: A New Biomarker from Old Measurement. **BioMed Research International**, v. 2016, p. 1–8, 2016.

3.4 Artigo original 3

Original article

Does creatine supplementation affect renal function in patients with peripheral artery disease? A double blind randomized clinical trial

Headings: Creatine supplementation in PAD patients

Wagner Jorge Ribeiro Domingues¹, Raphael Mendes Ritti-Dias², Gabriel Grizzo Cucato³, Nelson Wolosker³, Antonio Eduardo Zerati⁴, Pedro Puech-Leão⁵, Pollyana Mayara Nunhes⁶, Andre Alberto Moliterno⁶, Ademar Avelar⁶.

¹State University of Londrina, Londrina, Brazil, ²Nove de Julho University, São Paulo, Brazil, ³Hospital Israelita Albert Einstein, Sao Paulo Brazil, ⁴Cancer Institute of Sao Paulo, Sao Paulo, Brazil, ⁵Sao Paulo University, Sao Paulo, Brazil, ⁶State University of Maringa, Maringa, Brazil.

Number of words: 2574

Financial support: FAPEAM (Foundation for Research Support of the State of Amazonas) for supporting this research

Corresponding author:

Wagner Jorge Ribeiro Domingues, MD

Londrina State University, Physical Education Department, Rodovia Celso Garcia Cid, km 380, Campus Universitário, Londrina, Parana, 86051-990, Brazil.

Phone: +55 44 3011 4315. Fax: +55 44 3011 4470

E-mail: wagnerfef@gmail.com

ABSTRACT

The objective of this study was to verify the effects of eight weeks of creatine supplementation on the renal function in patients with peripheral arterial disease. Twenty-nine patients, of both genders, were randomized in a double-blind manner for administration of creatine monohydrate (n = 14) or placebo (PLA, n = 15). The supplementation protocol consisted of a one week loading period (4 doses, 5g/day) followed by a seven week maintenance period (1 dose, 5g/day). Before and after the supplementation period, markers of renal function, serum creatinine, creatinine excretion rate, and creatinine clearance were evaluated. The Generalized Estimation Equation Model was used for comparison between groups. No significant differences were found between the groups before and after the supplementation period in any of the renal function markers ($P > 0.05$). Eight weeks of creatine supplementation does not alter the renal function of patients with peripheral arterial disease.

key words: Peripheral arterial disease; dietary supplements; safety; renal insufficiency

INTRODUCTION

Peripheral arterial disease (PAD) affects more than 200 million individuals worldwide (FOWKES et al., 2013). In Brazil, PAD affects 10.5% of individuals over 18 years of age and is higher in the age group above 50 years (MAKDISSE et al., 2008). Symptomatic PAD impairs walking capacity, representing the main barrier to perform physical activity (BARBOSA et al., 2015). Therefore, one of the primary therapeutic targets in these patients is improvement in walking capacity (MENÊSES et al., 2017; RITTI-DIAS et al., 2010).

Creatine (Cr) and phosphocreatine are naturally bioenergetic compounds, essential for adenosine triphosphate homeostasis. Previous studies have shown that Cr supplementation improved neuromuscular performance in patients with chronic diseases, including McArdle's disease (VORGET et al., 2000), amyotrophic lateral sclerosis (ANDREASSEN et al., 2001), and heart failure (KUETHE et al., 2006).

Despite these positive effects, concerns have been raised regarding the potential adverse effects of Cr supplementation on renal function (GUALANO et al., 2008a), given that some case reports describe impairments in renal function after Cr supplementation (KUEHL; GOLDBERG; ELLIOT, 1998; GREENHAFF, 1998). For example, Kuehl et al (KUEHL; GOLDBERG; ELLIOT, 1998) reported impairment in renal function after regular Cr supplementation for 3 months, which was reverted one month after discontinuation of the supplementation. Greenhaff (1998), reported deterioration in renal function after two months of Cr supplementation in a 25-year-old man with a previous history of renal dysfunction.

Considering the potential of Cr supplementation to counteract walking impairment in PAD patients, it is necessary to understand the effects on renal function of these patients, who usually present comorbidities (ABOYANS et al., 2006). Thus, in the present study we report the effects of eight weeks of oral Cr supplementation on markers of renal function in symptomatic PAD patients.

METHOD

Sample and ethical considerations

Twenty-nine patients of both sexes were recruited at the Hospital das Clínicas, University of São Paulo, Brazil. The inclusion criteria were: presence of intermittent claudication symptoms during the six-minute walking test, ankle brachial index <0.90 in one or both lower limbs, and absence of chronic renal insufficiency (creatinine clearance $<30\text{ml/min}$). All patients signed the written consent and the experimental protocol was approved by the Institutional Ethics Committee (Clinical Trials: NCT02993874).

Preliminary assessment

Clinical characteristics were obtained during a vascular consultation. Body mass (kg) and stature (m) were measured (Welmy, São Paulo, Brazil) and body mass index was calculated. The ankle brachial index was calculated by the quotient between ankle systolic and brachial systolic blood pressure. Arm blood pressure was measured using the auscultation technique, while ankle blood pressure (in the dorsalis pedis artery or posterior tibial artery) was measured with a Doppler ultrasound (Martec DV600, Ribeirão Preto, Brazil). An aneroid sphygmomanometer was employed in both measurements, as previously described (HIRSCH et al., 2006).

Creatine supplementation protocol and blinding procedure

Patients received Cr monohydrate (Creapure®, AlzChem Trostberg GmbH, Germany) supplementation or placebo (PLA) (dextrose) (Probiotica, São Paulo, Brazil) in a randomized double-blind study in two phases. Phase 1 - loading: 1 week - 20 grams (4 doses of 5 grams/day). Phase 2 - Maintenance: 7 weeks - 5 g/day. During the loading phase, supplements were presented in four packages and patients were instructed to ingest the supplement packages at breakfast, lunch, dinner, and before bed time. During the maintenance phase, patients consumed the supplement as a single dose with their lunch. The supplement packages were coded so that neither the investigators nor the participants were aware of the contents until completion of the analyses. The supplements were provided by a staff member of our research team who did not participate in the data acquisition, analyses, or interpretation (figure 1).

Plasma creatine levels were performed in a sub-sample (n=9) using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (FL SPD-20A Shimadzu®, Kyoto, Japan), as previously described (KATZ, 1998; KENKEL, 1999).

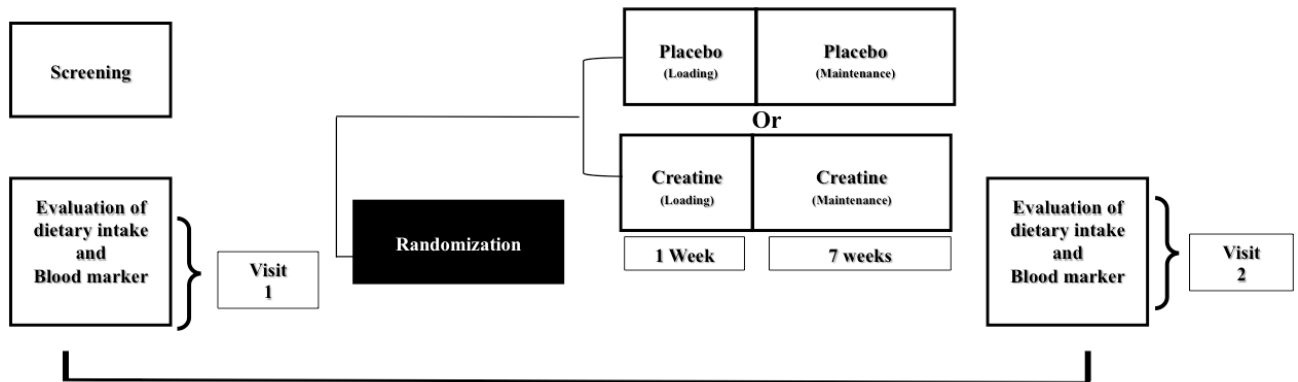


Figure 1. Study design

Dietary intake

For the evaluation of food consumption, the 24-hour food recall was applied. Participants will be questioned about the consumption of food and beverages during the 24 hours prior to the experimental session. Photographic record and kitchen utensils (glasses, cups and cutlery) will be used to guide patients in case of doubts and thus minimize the under and/or overestimation of the quantities. Total caloric intake, amount, and macronutrient (carbohydrate – CHO; proteins – PTN; lipids – LIP) ratios were determined using a software (Nutripad 2.0, Brazil). Participants were instructed to maintain their eating habits throughout the study. The water intake was ad libitum.

Renal function

The markers of renal function, serum creatinine, creatinine excretion rate, and creatinine clearance were analyzed through blood samples collected from the antecubital vein and stored in 10 ml tubes (BD Vacutainer®) containing separator clot (Z Serum separator clot). Urine was collected during the 24-hour period, neglecting the first collection. For measurement of urinary volume, beakers of 500 to 1000 ml were used. Blood and urinary

creatinine levels were determined by the Jaffé method without deproteinization (TOORA; RAJAGOPAL, 2002).

Statistical analysis

Normality of the data was analyzed by the Shapiro-Wilk test. The comparison between the general characteristics of the sample was performed using the t-test for independent samples or Mann-Whitney U test, depending on data distribution. The categorical data were compared by the Chi-square test. The Generalized Estimation Equation Model was used to compare adherence and markers of renal function between groups. All analyzes were performed using SPSS (Statistical Package for Social Sciences), version 21. Statistical significance was defined as $p < 0.05$.

RESULTS

Thirty-five patients volunteered for the study and 32 met the inclusion criteria. Three patients were excluded for the following reasons: withdrawal after preliminary examinations due to personal problems ($n = 1$), gastric discomfort ($n = 1$), and pleural effusion ($n = 1$). Thus, 29 patients completed the experimental protocol. Patient characteristics are shown in table 1.

Table 1. Clinical characteristics of the patients (N= 29)

	PLA (N=15)	Cr (N= 14)	p-value
Women (%)	54	46	0.56
Age (years)	64 ± 8	64 ± 10	0.54
Weight (kg)	77 ± 10	68 ± 17	0.18
Height (m)	1.64 ± 0.09	1,60 ± 0.06	0.21
Body mass index (kg/m ²)	28.7 ± 3.1	26.7 ± 6.5	0.43
Ankle-brachial index (mmHg)	0.50 ± 0.13	0.51 ± 0.16	1.00
ICD (m)	143 ± 84	143 ± 65	0.88
TWD (m)	371 ± 81	344 ± 82	0.65
<i>Related comorbidities (%)</i>			
Hypertension	86.7	78.6	0.67
Diabetes	60.0	50.0	0.43
Dyslipidemia	6.7	7.1	0.74
Current smoking	78.6	78.6	0.68
Coronary artery disease	46.7	28.6	0.26

PLA – Placebo group. Cr – Creatine group. Values expressed in mean and standard deviation (numerical data). ICD – initial claudication distance. TWD - total waking distance. Values expressed in relative frequency (categorical data).

For macro nutrient parameters, there was no significant interaction for CHO, PTN and LIP ($p > 0.05$).

Patients taking Cr presented higher plasma creatine levels than the placebo group (PLA – pre $32.8 \pm 22.2 \mu\text{mol/l}$ vs. post $32.8 \pm 21.9 \mu\text{mol/l}$; Cr - pre $40.8 \pm 33.9 \mu\text{mol/l}$ vs. post $159.5 \pm 22.7 \mu\text{mol/l}$; $p = <0.001$) (figure 2).

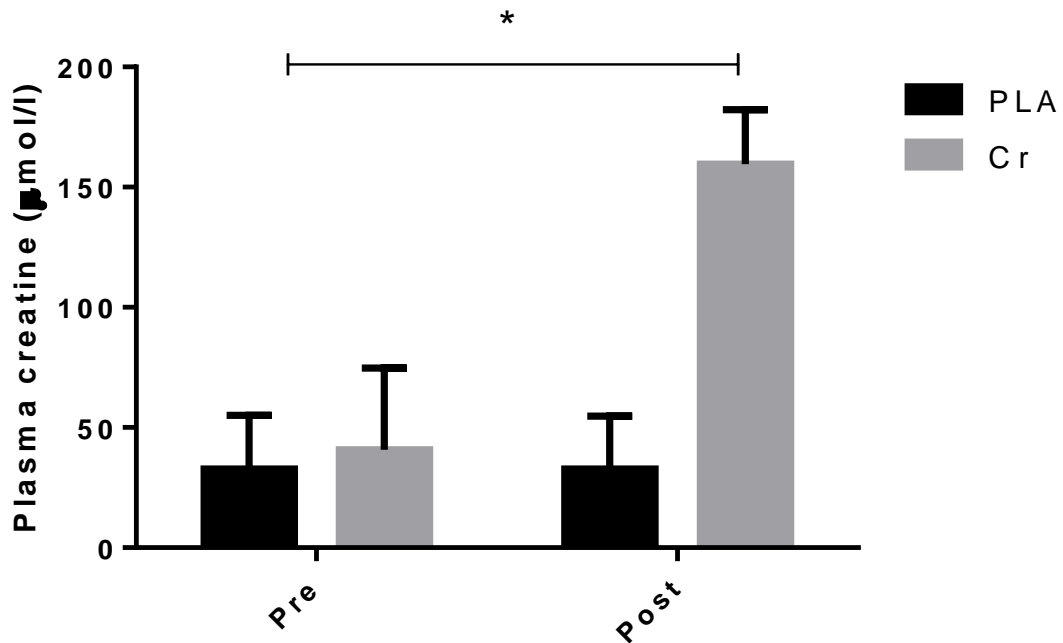


Figure 2. Plasma creatine after supplementation. PLA (n=15) and Cr (n=14). *Significant interaction between groups. Mean and standard deviation values.

Figure 3 presents the results of Cr on the markers of renal function. No significant differences were found between groups for serum creatinine (Cr - pre 1.00 ± 0.15 ml/dl vs. post 1.07 ± 0.16 ml/dl; PLA pre 1.30 ± 0.53 ml/dl vs. post 1.36 ± 0.47 ml/dl, $p = 0.590$), creatinine excretion rate (Cr - pre 81.73 ± 43.80 mg/dl vs. post 102.92 ± 59.57 mg/dl; PLA pre 74.37 ± 38.90 mg/dl vs. post 86.22 ± 39.94 mg/dl, $p = 0.560$), or creatinine clearance (Cr pre 108 ± 59 ml.min⁻¹1.73 m⁻² vs. post 117 ± 52 ml.min⁻¹1.73 m⁻²; PLA pre 88 ± 49 ml.min⁻¹1.73 m⁻² vs. post 82 ± 47 ml.min⁻¹1.73 m⁻², $p = 0.366$).

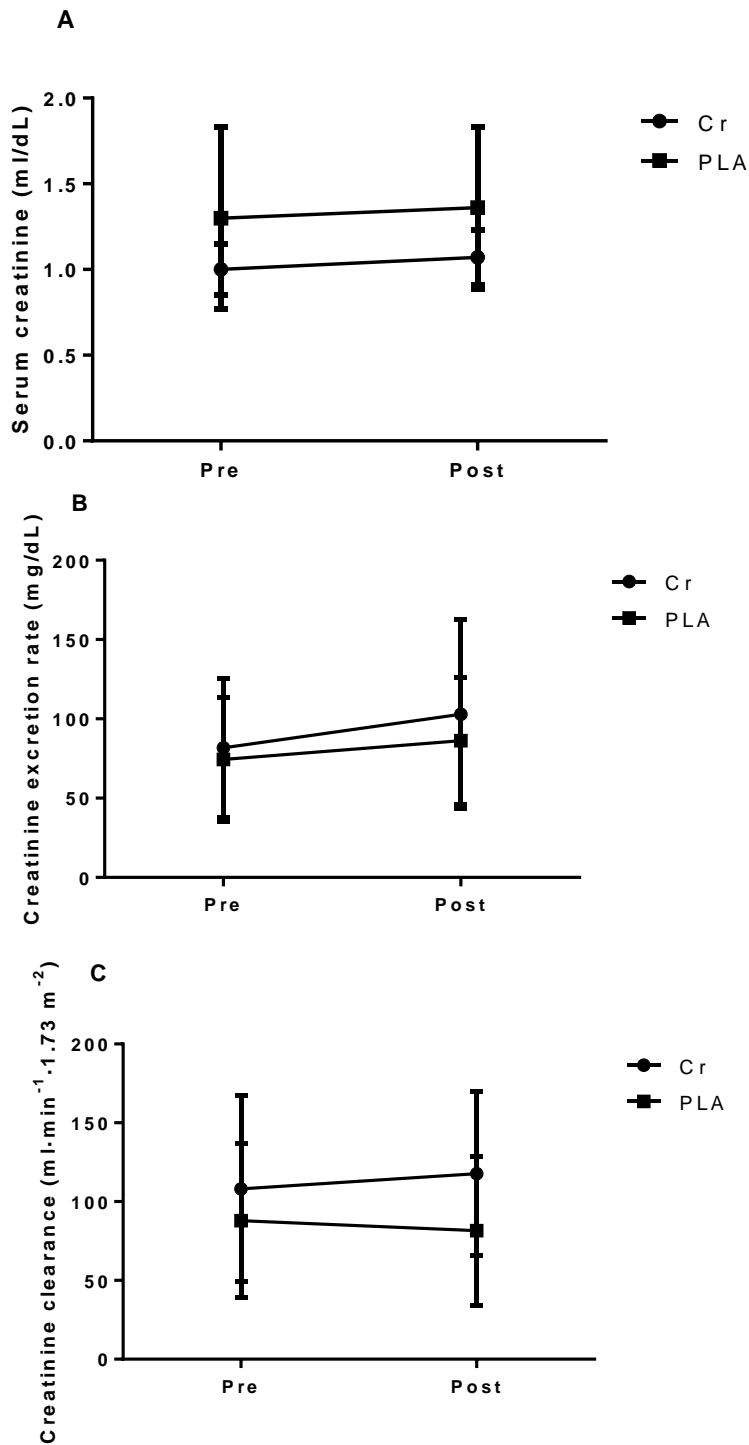


Figure 3. Markers of renal function data: (A) serum creatinine, (B) creatinine excretion rate, and (C) creatinine clearance. PLA (n=15) and Cr (n=14). Data are expressed as mean and standard deviation.

Figure 4 shows the individual responses to Cr supplementation of markers of renal function. Alterations in the markers of renal function were within the normal range for all patients.

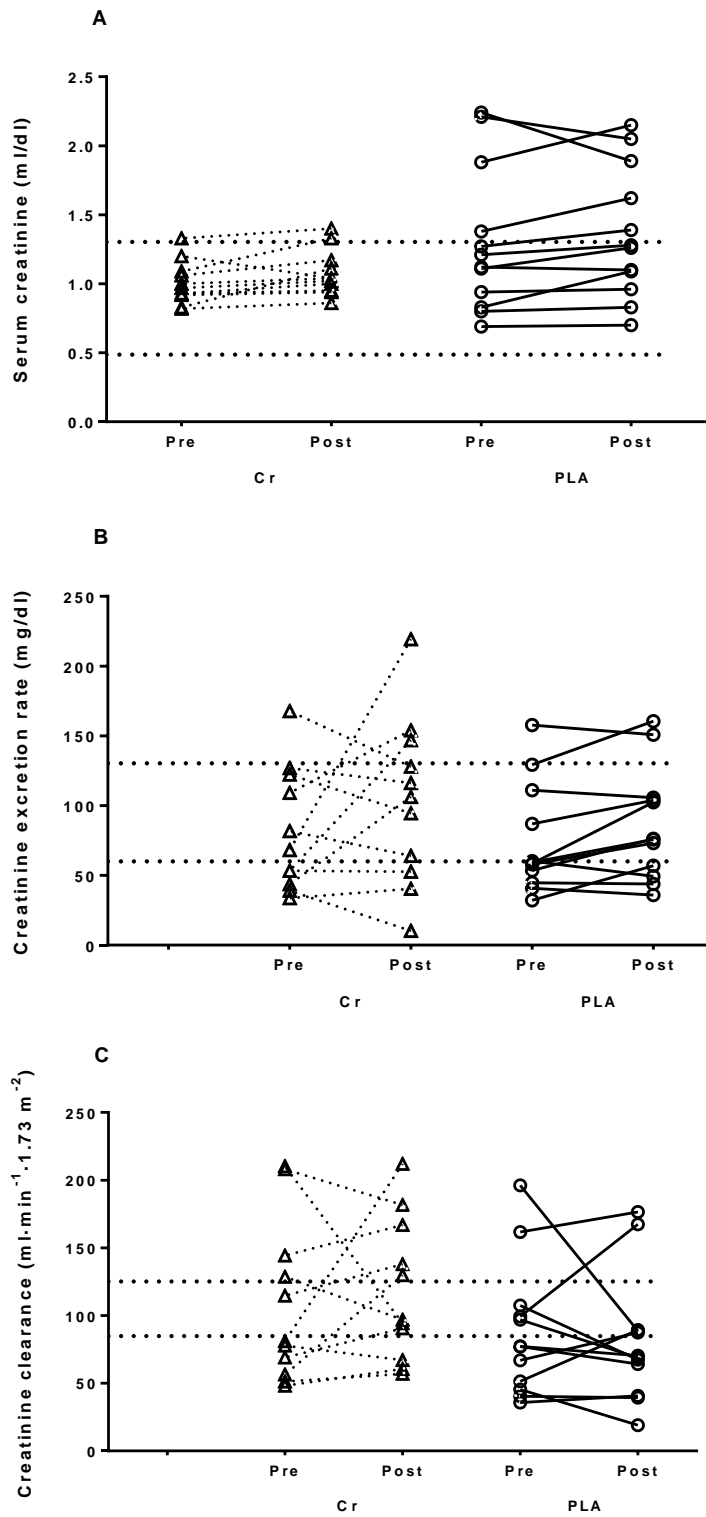


Figure 4. Individual data of renal function markers: (A) serum creatinine, (B) creatinine excretion rate, and (C) creatinine clearance for Cr (n=11) and PLA (n=12) groups. Reference value (Brazilian Society of Cardiology): dashed line.

DISCUSSION

The results of the present study showed that 8 weeks of Cr supplementation, composed of 1 week of loading and 7 weeks of maintenance, did not alter markers of renal function in patients with symptomatic PAD.

The results of plasma creatine demonstrated that patients adhered to Cr supplementation, as the plasma creatine levels increased from 40.5 ml/dl to almost 160 ml/dl. This results were similar to Harris (HARRIS; SÖDERLUND; HULTMAN, 1992) who also reported increases in muscle creatinine to values close to 160 mmol/kg of dry muscle, after a period of Cr supplementation. In addition, macronutrient parameters, CHO, PTN and LIP did not influence markers of renal function.

In this study, creatinine clearance, the gold standard marker of renal function was not altered after Cr supplementation. Similar results were observed in healthy young individuals (GUALANO et al., 2008b; LUGARESI et al., 2013), and patients with diabetes (GUALANO et al., 2011a, 2011b), chronic heart failure (CARVALHO et al., 2012; CORNELISSEN. et al., 2010), and kidney disease (GUALANO et al., 2010). Gualano et al (GUALANO et al., 2011b) performed Cr supplementation in patients with diabetes at doses of 5g for 12 weeks. Additionally, the same group of researchers performed a Cr supplementation protocol in a single kidney patient for 35 days (20g/day for 5 days, followed by 5g/day for the next 30 days) (GUALANO et al., 2010). This demonstrates that regardless of protocol, time, and sample, creatine supplementation does not affect renal function. In addition, the results expand current knowledge, showing that Cr supplementation is considered safe even in patients at high risk of renal and cardiovascular disease.

Individual analyzes of renal function markers demonstrated that there was large intra-individual heterogeneity in both groups. It is well established that variability in markers of renal function is a risk factor in the progression of chronic kidney disease and death (PERKINS et al., 2012; TSENG et al., 2015). A recent study showed that diabetic patients

have a 7% higher risk of dialysis/death due to variability in renal function markers (PERKINS et al., 2012). It is noteworthy that half of the participants in the present study (Cr 50% and PLA 60%) were diabetic, which is one of the possible factors responsible for the intra-individual heterogeneity. Based on this, we could infer that if there was an alteration in renal function markers in these patients, it may be related to the associated diseases, and not the creatine supplementation.

From a practical point of view, the results of this study indicate the safety of creatine supplementation for patients with peripheral artery disease. Therefore, interventions based on Cr supplementation can be used in order to improve muscular performance in PAD patients, known to present muscle atrophy (TARNOPOLSKY et al., 2004), reduced strength, and walking impairment.

The present study has some limitations. The small sample size limited the comparison between groups. Our results are restricted to patients with PAD without chronic renal failure, and whether these results are replicable in patients with PAD with renal impairment, needs to be investigated. Cr supplementation was performed for 8 weeks, and it is not known if longer periods of Cr supplementation affect markers of renal function.

Patients were using antihypertensive drugs that may affect renal responses. However, since the majority of PAD patients are under hypertension drug therapy, our findings increase the practical applicability of the results.

CONCLUSION

Eight weeks of creatine supplementation does not alter markers of renal function in patients with symptomatic PAD.

DECLARATION OF CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no conflicts of interest.

FUNDING

To FAPEAM (Foundation for Research Support of the State of Amazonas) for supporting this research

REFERENCES

ABOYANS, V. et al. Risk factors for progression of peripheral arterial disease in large and small vessels. **Circulation**, v. 113, n. 22, p. 2623–2629, 2006.

ANDREASSEN, O. A. et al. Increases in cortical glutamate concentrations in transgenic amyotrophic lateral sclerosis mice are attenuated by creatine supplementation. **Journal of Neurochemistry**, v. 77, n. 2, p. 383–390, 2001.

BARBOSA, J. P. et al. Barriers to physical activity in patients with intermittent claudication. **International Journal of Behavioral Medicine**, v. 22, n. 1, p. 70–76, 2015.

CARVALHO, A. P. P. F. et al. Influence of creatine supplementation on the functional capacity of patients with Heart failure. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 99, n. 1, p. 623–629, 2012.

CORNELISSEN, V. A. et al. Effect of creatine supplementation as a potential adjuvant therapy to exercise training in cardiac patients: a randomized controlled trial. **Clinical rehabilitation**, v. 24, n. 11, p. 988-999, 2010.

FOWKES, F. Gerald R. et al. Comparison of global estimates of prevalence and risk factors for peripheral artery disease in 2000 and 2010: a systematic review and analysis. **The Lancet**, v. 382, n. 9901, p. 1329-1340, 2013.

GREENHAFF, Paul. Renal dysfunction accompanying oral creatine supplements. **The Lancet**, v. 352, n. 9123, p. 233, 1998.

GUALANO, B. et al. A suplementação de creatina prejudica a função renal ? **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 14, p. 68–73, 2008.

GUALANO, B. et al. Effects of creatine supplementation on renal function: A randomized,

double-blind, placebo-controlled clinical trial. **European Journal of Applied Physiology**, v. 103, n. 1, p. 33–40, 2008.

GUALANO, B. et al. Effect of short-term high-dose creatine supplementation on measured GFR in a young man with a single kidney. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 55, n. 3, p. e7-e9, 2010.

GUALANO, B. et al. Creatine in Type 2 Diabetes: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 43, n. 5, p. 770–778, 2011.

GUALANO, B. et al. Creatine supplementation does not impair kidney function in type 2 diabetic patients: A randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial. **European Journal of Applied Physiology**, v. 111, n. 5, p. 749–756, 2011.

HARRIS, R. C.; SÖDERLUND, K.; HULTMAN, E. Elevation of creatine in resting and exercised muscle of normal subjects by creatine supplementation. **Clinical science**, v. 83, n. 3, p. 367–74, 1992.

HIRSCH, Alan T. et al. ACC/AHA 2005 Practice Guidelines for the management of patients with peripheral arterial disease (lower extremity, renal, mesenteric, and abdominal aortic). **circulation**, v. 113, n. 11, p. 463-654, 2006.

KATZ, Elena. **Handbook of HPLC**. M. Dekker, 1998.

KENKEL, John. **A primer on quality in the analytical laboratory**. CRC Press, 1999.

KUEHL, K.; GOLDBERG, L.; ELLIOT, D. Renal insufficiency after creatine supplementation in a college football athlete. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 30, n. 5, p. 235, 1998.

KUETHE, F. et al. Creatine supplementation improves muscle strength in patients with congestive heart failure. **Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 61, n. 3, p. 218-222, 2006.

LUGARESI, R. et al. Does long-term creatine supplementation impair kidney function in resistance-trained individuals consuming a high-protein diet? **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 10, n. 1, p. 26, 2013.

MAKDISSE, M. et al. Prevalence and risk factors associated with peripheral arterial disease in the Hearts of Brazil Project. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 91, n. 6, p. 370–382, 2008.

MALACHIAS, M. V. B. et al. 7ª Diretriz brasileira de hipertensão arterial. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 107, n. 3, p. 1-103, 2016.

MENÊSES, A. L. et al. Combined Lower Limb Revascularisation and Supervised Exercise Training for Patients with Peripheral Arterial Disease: A Systematic Review of Randomised Controlled Trials. **Sports Medicine**, v. 47, n. 5, p. 987–1002, 2017.

PERKINS, R. M. et al. Variability in estimated glomerular filtration rate is an independent risk factor for death among patients with stage 3 chronic kidney disease. **Kidney International**, v. 82, n. 12, p. 1332–1338, 2012.

RITTI-DIAS, R. M. et al. Strength training increases walking tolerance in intermittent claudication patients: Randomized trial. **Journal of Vascular Surgery**, v. 51, n. 1, p. 89–95, 2010.

TARNOPOLSKY, M. A. et al. Creatine monohydrate enhances strength and body composition in Duchenne muscular dystrophy. **Neurology**, v. 62, n. 10, p. 1771-1777, 2004.

TOORA, B. D.; RAJAGOPAL, G. Measurement of creatinine by Jaffe's reaction - Determination of concentration of sodium hydroxide required for maximum color development in standard, urine and protein free filtrate of serum. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 40, n. 3, p. 352–354, 2002.

TSENG, C.-L. et al. Variability in estimated glomerular filtration rate values is a risk factor in chronic kidney disease progression among patients with diabetes. **BMC Nephrology**, v. 16, n. 1, p. 34, 2015.

VORGERD, M. et al. Deficiency, Creatine therapy in myophosphorylase Trial., (McArdle disease): a placebo-controlled crossover. **Archives of neurology**, v. 57, p. 956–963, 2000.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Oito semanas de suplementação de creatina associada a prática de atividade física, parece não promover alterações na capacidade funcional, saturação de oxigênio muscular, função e regulação cardiovascular em pacientes com doença arterial periférica sintomáticos. Além disso, a creatina parece ser segura no que diz respeito a função renal desses pacientes.

5. REFERÊNCIAS

- BALESTRINO, M. et al. Potential of creatine or phosphocreatine supplementation in cerebrovascular disease and in ischemic heart disease. **Amino Acids**, v. 48, n. 8, p. 1955–1967, 2016.
- BARBOSA, J. et al. Barriers to Physical Activity in Patients with Intermittent Claudication. **International Journal of Behavioral Medicine**, v. 22, n. 1, p. 70–76, 2015.
- BOESEL, T. et al. Validity and usability of physical activity monitoring in patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD). **PLoS ONE**, v. 11, n. 6, p. 1–11, 2016.
- BRASS, E. P.; HIATT, W. R.; GREEN, S. Skeletal muscle metabolic changes in peripheral arterial disease contribute to exercise intolerance: a point-counterpoint discussion. **Vascular Medicine**, v. 9, n. 4, p. 293–301, 2004.
- CÂMARA, L. C.; SUZIGAN, E. M.; STARLING, M. A. Creatine supplementation as a potential therapeutic aid in peripheral arterial obstructive disease rehabilitation. **Acta Fisiátrica**, v. 20, n. 3, p. 152–156, 2013.
- CARVALHO, A. P. P. F. et al. Influence of creatine supplementation on the functional capacity of patients with Heart failure. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 99, n. 1, p. 623–629, 2012.
- CAVALCANTE, B. R. et al. Graduated Compression Stockings Does Not Decrease Walking Capacity and Muscle Oxygen Saturation during 6-Minute Walk Test in Intermittent Claudication Patients. **Annals of Vascular Surgery**, v. 40, n. December, p. 239–242, 2017.
- CHEN, X. et al. Prediction of 6-minute walk performance in patients with peripheral artery disease. **Journal of Vascular Surgery**, v. 66, n. 4, p. 1202–1209, 2017.
- CORNELISSEN, V. A. et al. Effect of creatine supplementation as a potential adjuvant therapy to exercise training in cardiac patients: a randomized controlled trial. **Clinical rehabilitation**, v. 24, n. 11, p. 988–999, 2010.

CRIQUI, M. H. et al. The correlation between symptoms and non-invasive test results in patients referred for peripheral arterial disease testing. **Vascular medicine (London, England)**, v. 1, n. 1, p. 65–71, 1996.

DEMANT, T. W.; RHODES, E. C. Effects of creatine supplementation on exercise performance. **Sports medicine (Auckland, N.Z.)**, v. 28, n. 1, p. 49–60, 1999.

FOWKES, F. G. R. et al. Comparison of global estimates of prevalence and risk factors for peripheral artery disease in 2000 and 2010: a systematic review and analysis. **Lancet**, v. 382, n. 9901, p. 1329–40, 2013.

GARDNER, A. W. et al. Calf muscle hemoglobin oxygen saturation characteristics and exercise performance in patients with intermittent claudication. **Journal of vascular surgery : official publication, the Society for Vascular Surgery [and] International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter**, v. 48, n. 3, p. 644–649, 2008.

GERHARD-HERMAN, ET AL. 2016 AHA / ACC Guideline on the Management of Patients With Lower Extremity Peripheral Artery Disease. **Circulation**, v. 21, n. 12, p. 726–779, 2017.

GREENHAFF, P. L. The creatine-phosphocreatine system: there's more than one song in its repertoire. **Journal of physiology**, v. 537, n. 3, p. 657, 2001.

GUALANO, B. et al. In sickness and in health: The widespread application of creatine supplementation. **Amino Acids**, v. 43, n. 2, p. 519–529, 2012.

GUALANO, B. et al. Creatine supplementation and resistance training in vulnerable older women: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. **Experimental Gerontology**, v. 53, p. 7–15, 2014.

GURALNIK, J. M. et al. A short physical performance battery assessing lower extremity function: association with self-reported disability and prediction of mortality and nursing home admission. **Journal of gerontology**, v. 49, n. 2, p. 85–94, 1994.

HARRIS, R. C.; SÖDERLUND, K.; HULTMAN, E. Elevation of creatine in resting and exercised muscle of normal subjects by creatine supplementation. **Clinical science**, v. 83, n. 3, p. 367–74, 1992.

HIRSCH, A. T. et al. ACC/AHA Guidelines for the Management of Patients with Peripheral Arterial Disease (Lower Extremity, Renal, Mesenteric, and Abdominal Aortic). **Journal of Vascular and Interventional Radiology**, v. 17, n. 9, p. 1383–1398, 2006a.

HIRSCH, A. T. et al. ACC/AHA 2005 Practice Guidelines for the Management of Patients With Peripheral Arterial Disease (Lower Extremity, Renal, Mesenteric, and Abdominal Aortic). **Circulation**, v. 113, n. 11, p. 463–465, 2006b.

JOHANNSMEYER, S. et al. Effect of creatine supplementation and drop-set resistance training in untrained aging adults. **Experimental Gerontology**, v. 83, p. 112–119, 2016.

KATZ, Elena. **Handbook of HPLC**. M. Dekker, 1998.

KENKEL, John. **Analytical chemistry for technicians**. CRC Press, 2010

KOGA, Y. et al. Brain creatine functions to attenuate acute stress responses through GABAergic system in chicks. **Neuroscience**, v. 132, n. 1, p. 65–71, 2005.

KREIDER, R. B. et al. International Society of Sports Nutrition position stand: Safety and efficacy of creatine supplementation in exercise, sport, and medicine. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 14, n. 1, p. 1–18, 2017.

LAWLER, J. M. et al. Direct antioxidant properties of creatine. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 290, n. 1, p. 47–52, 2002.

LUGARESI, R. et al. Does long-term creatine supplementation impair kidney function in resistance-trained individuals consuming a high-protein diet? **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 10, n. 1, p. 26, 2013.

MAKDISSE, M. et al. Prevalence and risk factors associated with peripheral arterial disease in the Hearts of Brazil Project. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 91, n. 6, p. 370–382, 2008.

MALACHIAS, M. V. B. et al. 7ª Diretriz brasileira de hipertensão arterial. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 107, n. 3, p. 1-103, 2016.

MAUER, K. et al. Clot Strength is Negatively Associated with Ambulatory Function in Patients with Peripheral Artery Disease and Intermittent Claudication. **Angiology**, v. 70, n. 12, p. 773–779, 2016.

MCDERMOTT, M. M. Exercise training for intermittent claudication. **Journal of Vascular Surgery**, v. 66, n. 5, p. 1612–1620, 2017.

MCDERMOTT, M. M. G. Lower Extremity Manifestations of Peripheral Artery Disease: The Pathophysiologic and Functional Implications of Leg Ischemia. **Circulation Research**, v. 116, n. 9, p. 1540–1550, 2015.

MEREGE-FILHO, C. A. A. et al. Does brain creatine content rely on exogenous creatine in healthy youth? A proof-of-principle study. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 44, n. 0, p. 1–25, 2016.

MINGXING, F. et al. Phosphocreatine in Cardiac Surgery Patients: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. **Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia**, v. 32, n. 2, p. 762–770, 2018.

MONTGOMERY, P. S.; GARDNER, A. W. The clinical utility of a six-minute walk test in peripheral arterial occlusive disease patients. **J Am Geriatr Soc**, v. 46, n. 6, p. 706–711, 1998.

MORLEY, R. L. et al. Peripheral artery disease. **Bmj**, v. 5842, n. February, p. j5842, 2018.

MORRIS, D. R. et al. Association of lower extremity performance with cardiovascular and all-cause mortality in patients with peripheral artery disease: A systematic review and meta-

analysis. **Journal of the American Heart Association**, v. 3, n. 4, p. 1–12, 2014.

O'ROURKE, M. F.; PAUCA, A.; JIANG, X.-J. Pulse wave analysis. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 51, n. 6, p. 507–522, 2001.

RONTOYANNI, V. G. et al. Mitochondrial bioenergetics in the metabolic myopathy accompanying peripheral artery disease. **Frontiers in Physiology**, v. 8, n. MAR, 2017.

SANCHEZ-GONZALEZ, M. A. et al. Creatine supplementation attenuates hemodynamic and arterial stiffness responses following an acute bout of isokinetic exercise. **European Journal of Applied Physiology**, v. 111, n. 9, p. 1965–1971, 2011.

SCHAARDENBURGH, M. et al. Exercise in claudicants increase or decrease walking ability and the response relates to mitochondrial function. **Journal of Translational Medicine**, v. 15, n. 1, p. 1–10, 2017.

SESTILI, P. et al. **Creatine as an antioxidant. Amino acids**, 2011.

SIEBENHOFER, A. et al. The reproducibility of central aortic blood pressure measurements in healthy subjects using applanation tonometry and sphygmocardiography. **Journal of human hypertension**, v. 13, n. 9, p. 625–629, 1999.

STERN, J. R. et al. A Meta-analysis of Long-term Mortality and Associated Risk Factors following Lower Extremity Amputation. **Annals of Vascular Surgery**, v. 42, n. April, p. 322–327, 2017.

TARNOPOLSKY, M. A. Clinical use of creatine in neuromuscular and neurometabolic disorders. **Sub-cellular biochemistry**, v. 46, p. 183–204, 2007.

TASK FORCE OF THE EUROPEAN SOCIETY OF CARDIOLOGY et al. Heart rate variability, standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. **circulation**, v. 93, v. 5, p. 1043-1065, 1996.

TOORA, B. D.; RAJAGOPAL, G. Measurement of creatinine by Jaffe's reaction -

Determination of concentration of sodium hydroxide required for maximum color development in standard, urine and protein free filtrate of serum. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 40, n. 3, p. 352–354, 2002.

VAN BORTEL, L. M. et al. Clinical applications of arterial stiffness, task force III: Recommendations for user procedures. **American Journal of Hypertension**, v. 15, n. 5, p. 445–452, 2002.

WALLIMANN, T.; HARRIS, R. Creatine: a miserable life without it. **Amino Acids**, v. 48, n. 8, p. 1739–1750, 2016.

WALLIMANN, T.; HEMMER, W. Creatine kinase in non-muscle tissues and cells. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 133–134, n. 1, p. 193–220, 1994.

WALLIMANN, T.; RIEK, U.; MÖDDEL, M. Intradialytic creatine supplementation: a scientific rationale for improving the health and quality of life of dialysis patients. **Medical Hypotheses**, v. 99, p. 1–14, 2016.

WALLIMANN, T.; TOKARSKA-SCHLATTNER, M.; SCHLATTNER, U. The creatine kinase system and pleiotropic effects of creatine. **Amino acids**, v. 40, n. 5, p. 1271–1296, 2011.

WEITZ, J. I. et al. **Diagnosis and treatment of chronic arterial insufficiency of the lower extremities: A critical review** *Circulation*, 1996.

WYSS, M.; KADDURAH-DAOUK, R. **Creatine and Creatinine Metabolism** *Physiological reviews*, 2000.

6. ANEXOS

Anexo I – Registro no ClinicalTrials

Anexo II – Carta de aprovação do comitê de ética Hospital Israelita Albert Einstein

Anexo III – Carta de aprovação do comitê de ética do Hospital das Clínicas – USP

Anexo IV – Carta de aprovação do comitê de ética da Universidade Estadual de Maringá

Anexo V – Controle de qualidade da creatina - CREAPURE

ANEXO I – Registro no *ClinicalTrials*

ClinicalTrials.gov

A service of the U.S. National Institutes of Health
[Try our beta test site](#)

Creatine Supplementation in Patients With Intermittent Claudication.

This study is not yet open for participant recruitment. (see [Contacts and Locations](#))

Verified February 2017 by State University of Maringá

Sponsor:

State University of Maringá

Collaborator:

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas

Information provided by (Responsible Party):

Ademar Avelar de Almeida Junior, State University of Maringá

ClinicalTrials.gov Identifier:

NCT02993874

First received: December 12, 2016

Last updated: February 10, 2017

Last verified: February 2017

[History of Changes](#)

[Full Text View](#)

[Tabular View](#)

[No Study Results Posted](#)

[Disclaimer](#)

[How to Read a Study Record](#)

▶ Purpose

The aim of this study will be to verify the effect of creatine supplementation associated to clinical treatment of the functional capacity in patients with intermittent claudication.

Condition	Intervention
Intermittent Claudication	Dietary Supplement: Creatine Dietary Supplement: Placebo

Study Type: **Interventional**

Study Design: Allocation: Randomized
 Intervention Model: Parallel Assignment
 Masking: Participant, Investigator
 Primary Purpose: Treatment

Official Title: **Effect of Creatine Supplementation Associated to Clinical Treatment of the Functional Capacity of Patients With Intermittent Claudication.**

Resource links provided by NLM:

[Drug Information](#) available for: [Creatine monohydrate](#)

[U.S. FDA Resources](#)

Further study details as provided by State University of Maringá:

Primary Outcome Measures:

- Change walking capacity [Time Frame: Baseline, one and eight weeks]
 The walking capacity will be assessed through a six-minute walk test, before and after one week (Loading - 7 days) and after 7 weeks of supplementation (Maintenance - 49 days) in both groups (Cr and PLA).

Secondary Outcome Measures:

- Change oxygen saturation [Time Frame: Baseline, one and eight weeks]
 Oxygen saturation will be assessed on calf region during the six-minute walk test through Near-infrared spectroscopy (NIRS, PortaMon, Artinis Medical Systems) before, after one week (Loading - 7 days) and after 7 weeks of supplementation (Maintenance - 49 days) in both groups (Cr and PLA).
- Change Short Physical Performance Battery [Time Frame: Baseline, one and eight weeks]
 Functional capacity will be assessed through a Short Physical Performance Battery test, after one week (Loading - 7 days) and after 7 weeks of supplementation (Maintenance - 49 days) in both groups (Cr and PLA).

- Change cognitive function [Time Frame: Baseline, one and eight weeks]

For cognitive aspects evaluation the following procedures will be taken: Stroop test (Victoria Stroop test and N-Back (Operational Memory) will be performed after one week (Loading - 7 days) and after 7 weeks of supplementation (Maintenance - 49 days) in both groups (Cr and PLA).

Other Outcome Measures:

- Change brachial blood pressure. [Time Frame: Baseline, one and eight weeks]

Brachial blood pressure will be assessed through an automatic monitor (HEM-742, Omron Healthcare, Japan) before, after one week (Loading - 7 days) and after 7 weeks of supplementation (Maintenance - 49 days) in both groups (Cr and PLA).

- Change arterial stiffness [Time Frame: Baseline, one and eight weeks]

The arterial stiffness will be evaluated by the applanation tonometry method (SphygmoCor, AtCor Medical, Australia) before, after one week (Loading - 7 days) and after 7 weeks of supplementation (Maintenance - 49 days) in both groups (Cr and PLA).

- Change autonomic cardiac modulation [Time Frame: Baseline, one and eight weeks]

The autonomic cardiac modulation will be evaluated through a heart rate monitor (Polar, RS 800, USA) after one week (Loading - 7 days) and after 7 weeks of supplementation (Maintenance - 49 days) in both groups (Cr and PLA).

- Change vasodilatory capacity [Time Frame: Baseline and eight weeks]

Vasodilatation capacity will be assessed by ultrasound imaging (HDI 5000 Sono CT, Philips, The Netherlands) after one week (Loading - 7 days) and after 7 weeks of supplementation (Maintenance - 49 days) in both groups (Cr and PLA).

- Change body composition [Time Frame: Baseline and eight weeks]

Body composition will be evaluated after one week (Loading - 7 days) and after 7 weeks of supplementation (Maintenance - 49 days) in both groups (Cr and PLA) using the bio-electrical bioimpedance method (BIS 4200B Xitron Technologies, Inc, San Diego, PLA).

- Creatine plasma [Time Frame: Baseline, one and eight weeks]

Creatine plasma will be evaluated by the High Performance Liquid Chromatography (HPLC) method (FL SPD-20A Shimadzu®, Kyoto, Japan), after one week (loading - 7 days) and after 7 weeks of supplementation (maintenance - 49 days) in both The groups (Cr and PLA).

- Change of Renal function markers - Cystatine C [Time Frame: Baseline, one and eight weeks]

Cystatine C will be measured by Immunonephelometry, measuring the seric levels by a nephelometer (Behring - BN II, Marburg, Germany)

- Food habits [Time Frame: Baseline, one and eight weeks]

For food intake evaluation a 24-hour food diary will be required by previously trained nutritionists, using the nutritional evaluation program Avanutry 3.1.4

Estimated Enrollment: 90
 Anticipated Study Start Date: March 1, 2017
 Estimated Study Completion Date: February 2019
 Estimated Primary Completion Date: December 2018 (Final data collection date for primary outcome measure)

Arms	Assigned Interventions
Experimental: Creatine Creatine monohydrate (Cr) Loading - 4 doses of 5g / day for 7 days Maintenance - 1 dose of 3g / day for 49 days Clinical treatment (30-45 minutes of walking, 3 times per week)	Dietary Supplement: Creatine The experimental group will ingest for seven days (Loading - phase 1), 5g (4x/day) of creatine monohydrate associated with the clinical treatment (30-45 minutes of walking, 3 times a week). Subsequently, they will ingest for 49 days (Maintenance - phase 2), 3g (1x / day) creatine monohydrate associated with clinical treatment (30-45 minutes of walking, 3 times a week). They will be given guidance by telephone, so that they can reach the necessary recommendations for the study. Other Name: Creatine and clinical treatment
Placebo Comparator: Placebo Dextrose Loading - 4 doses of 5g / day for 7 days Maintenance - 1 dose of 3g / day for 49 days Clinical treatment (30-45 minutes of walking, 3 times per week)	Dietary Supplement: Placebo The placebo group will ingest for seven days (Loading - phase 1), 5g (4x / day) of dextrose associated to clinical treatment (30-45 minutes of walking, 3 times per week). Subsequently, they will ingest for 49 days (Maintenance phase 2), 3g (1x / day) of dextrose associated with the clinical treatment (30-45 minutes of walking, 3 times a week). They will be given guidance by telephone, so that they can reach the necessary recommendations for the study. Other Name: Placebo and clinical treatment

Detailed Description:

The aim of this study will be to verify the effect of creatine supplementation associated to clinical treatment of the functional capacity in patients with intermittent claudication. The sample will be composed by patients with intermittent claudication of both sexes. The patients will be randomized in a double-blind procedure to receive during seven days (loading) and posteriorly 49 days (maintenance) a creatine (Cr) supplementation or placebo (PLA), associated to the clinical treatment. Before ("baseline"), after "loading" period and after the maintenance period of supplementation, the patients will go through a functional capacity evaluation. The functional capacity evaluation will be evaluated by a six minute-walking test. For statistical analysis it will be used the ANOVA of two factors for repeated measurements, having the (Cr and PLA) group and the time (pre, post-loading and post-maintenance), and when needed the post-hoc of Newman keuls. The adopted level of significance will be $P < 0.05$.

► Eligibility

Ages Eligible for Study: 50 Years and older (Adult, Senior)
 Sexes Eligible for Study: All
 Accepts Healthy Volunteers: No

Criteria

Inclusion Criteria:

- symptom of pain during the six-minute walk test limited by leg pain due to intermittent claudication.
- present peripheral artery disease (Ankle-arm index < 0.90) in one or both limbs.
- Asymptomatic intermittent claudication determined from the clinical history.
- Not have muscle or joint injuries that make it impossible to practice physical activity.

Exclusion Criteria:

- not attending more than 15% of the intervention sessions or visits to the laboratory.
- Stick to a physical activity program in addition to that offered by the study.
- do not use medication regularly.
- aggravation of the disease

► Contacts and Locations

Choosing to participate in a study is an important personal decision. Talk with your doctor and family members or friends about deciding to join a study. To learn more about this study, you or your doctor may contact the study research staff using the Contacts provided below. For general information, see [Learn About Clinical Studies](#).

Please refer to this study by its ClinicalTrials.gov identifier: NCT02993874

Contacts

Contact: Ademar Avelar, PhD 5544984376050 ademaravelar@yahoo.com.br
 Contact: Wagner Domingues, MD 5511982841355 wagnerfef@gmail.com

Locations

Brazil

Israel Institute of Education and Research Albert Einstein **Not yet recruiting**
 Sao Paulo, Brazil, 05652900
 Contact: Wagner Domingues, MD 5511982841355 wagnerfef@gmail.com

Sponsors and Collaborators

State University of Maringá
 Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas

Investigators

Principal Investigator: Ademar Avelar, PhD State University of Maringá
 Study Director: Raphael Ritti-Dias, PhD Israel Institute of Education and Research Albert Einstein
 Study Director: Gabriel Cucato, PhD Israel Institute of Education and Research Albert Einstein

► More Information

Responsible Party: Ademar Avelar de Almeida Junior, PhD, State University of Maringá
 ClinicalTrials.gov Identifier: [NCT02993874](#) [History of Changes](#)
 Other Study ID Numbers: Creatine PAD
 Study First Received: December 12, 2016
 Last Updated: February 10, 2017

Studies a U.S. FDA-regulated Drug Product: No
Studies a U.S. FDA-regulated Device Product: No

Keywords provided by State University of Maringá:

Ergonomic resources
Walking capacity
Peripheral artery disease

Additional relevant MeSH terms:

Intermittent Claudication
Arteriosclerosis
Arterial Occlusive Diseases

Vascular Diseases
Cardiovascular Diseases
Signs and Symptoms

ClinicalTrials.gov processed this record on February 20, 2017

Anexo II –Carta de aprovação do comitê de ética Hospital Israelita Albert Einstein



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Efeito da suplementação de creatina associado ao tratamento clínico na capacidade funcional de pacientes com claudicação intermitente

Pesquisador: RAPHAEL MENDES RITTI DIAS

Área Temática:

Versão: 6

CAAE: 62601416.7.0000.0071

Instituição Proponente: Hospital Israelita Albert Einstein-SP

Patrocinador Principal: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas - FAPEAM

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.068.434

Apresentação do Projeto:

Avaliação das respostas encaminhadas para responder as pendências emitidas em parecer anterior.

Objetivo da Pesquisa:

-

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Adicionados conforme solicitado

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

-

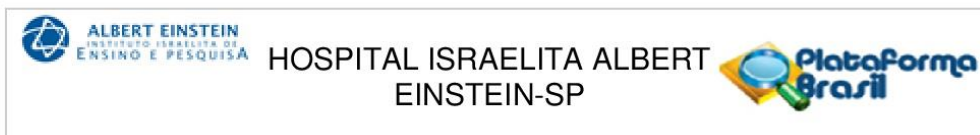
Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

TCLE está redigido em linguagem clara e acessível, utilizando-se das estratégias mais apropriadas à cultura, faixa etária, condição socioeconômica e autonomia dos convidados a participar da pesquisa.

Recomendações:

É atribuição do CEP "acompanhar o desenvolvimento dos projetos, por meio de relatórios semestrais dos pesquisadores e de outras estratégias de monitoramento, de acordo com o risco

Endereço: Av. Albert Einstein 627 - 2ss
Bairro: Morumbi **CEP:** 05.652-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2151-3729 **Fax:** (11)2151-0273 **E-mail:** cep@einstein.br



Continuação do Parecer: 2.068.434

inerente à pesquisa". Por isso o/a pesquisador/a responsável deverá encaminhar para o CEP Einstein os Relatórios Parciais a cada seis meses e o Relatório Final de seu projeto, até 30 dias após o seu término.

Segundo a Resolução CNS 466/2012 o pesquisador responsável deve prever procedimentos que assegurem a confidencialidade e a privacidade, a proteção da imagem e a não estigmatização dos participantes da pesquisa, garantindo a não utilização das informações em prejuízo das pessoas e/ou das comunidades, inclusive em termos de autoestima, de prestígio e/ou de aspectos econômico-financeiros.

Em estudos prospectivos e intervencionistas e/ou com participação de população vulnerável, solicita-se que o TCLE aprovado apresente o carimbo do CEP.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Após adequações, os seguintes documentos foram Aprovados nesta Emenda:

- 1-Projeto de Pesquisa - Versão 5 – Data de alteração 24/04/2017;
- 2-Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - Versão 5 – Data 12/05/2017.

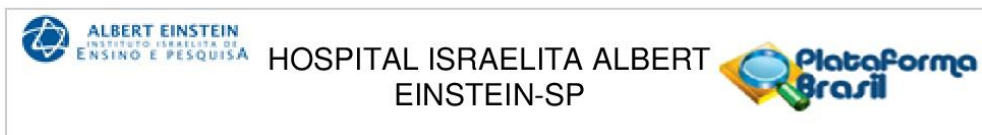
Considerações Finais a critério do CEP:

DOCUMENTAÇÃO APROVADA PELO CEP DO HOSPITAL ISRAELITA ALBERT EINSTEIN EM REGIME AD-REFERENDUM.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_847314 E1.pdf	12/05/2017 19:32:08		Aceito
Outros	Carta_Resposta_Parecer2060815.pdf	12/05/2017 19:31:22	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Versao5.pdf	12/05/2017 19:17:18	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Outros	Declaracao_de_responsabilidade_e_assistencia.pdf	05/05/2017 09:15:34	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura	Projeto_parecer1979960_versao5.pdf	05/05/2017 09:13:05	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito

Endereço: Av. Albert Einstein 627 - 2ss
Bairro: Morumbi **CEP:** 05.652-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2151-3729 **Fax:** (11)2151-0273 **E-mail:** cep@einstein.br



Continuação do Parecer: 2.068.434

Investigador	Projeto_parecer1979960_versao5.pdf	05/05/2017 09:13:05	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Orçamento	Orcamento.pdf	03/02/2017 17:22:02	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Outros	Carta_de_anuencia_HC.pdf	03/02/2017 17:11:11	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Outros	Carta_EMENDA_CEP.pdf	03/02/2017 17:09:06	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Outros	Termo_de_compromisso.pdf	20/12/2016 18:11:45	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	Recurso_CEP.pdf	20/12/2016 18:09:04	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto_Plataforma_Brasil.pdf	18/11/2016 16:13:44	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Infra_estrutura_declaracao_das_instituicoes.pdf	18/11/2016 16:11:31	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Declaração de Pesquisadores	ResponsabilidadeInvestigador.pdf	08/11/2016 18:15:06	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Outros	Termo_de_anuencia_de_participantes_projeto.pdf	02/11/2016 01:16:08	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	02/11/2016 00:43:54	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 17 de Maio de 2017

Assinado por:
Fabio Pires de Souza Santos
(Coordenador)

Endereço: Av. Albert Einstein 627 - 2ss
Bairro: Morumbi **CEP:** 05.652-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2151-3729 **Fax:** (11)2151-0273 **E-mail:** cep@einstein.br

Anexo III – Carta de aprovação do comitê de ética do Hospital das Clínicas – USP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito da suplementação de creatina associado ao tratamento clínico na capacidade funcional de pacientes com claudicação intermitente

Pesquisador: RAPHAEL MENDES RITTI DIAS

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 62601416.7.3003.0068

Instituição Proponente: Hospital Israelita Albert Einstein-SP

Patrocinador Principal: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas - FAPEAM

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.126.484

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo prospectivo, com delineamento de grupos randomizados controlados, duplo-cego com testes pré e pós-intervenção. Os participantes serão recrutados no Hospital Israelita Albert Einstein e no Ambulatório de CI do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (HC-USP) e as coletas serão realizadas no Hospital Israelita Albert Einstein. Os participantes serão abordados durante a rotina habitual de atendimento e após a explicação sobre o desenvolvimento do projeto, eles serão questionados sobre o interesse na participação.

O programa de intervenção terá duração de 8 semanas e será dividido em três etapas. A primeira etapa será para avaliar características sócio demográficas, histórico médico e exame físico. A segunda etapa consistirá na fase de da suplementação de creatina (Cr) ou placebo (PLA), no qual será dividida na fase de carga e manutenção, associado a recomendação clínica. Todas as avaliações serão realizadas no início do estudo

("baseline"), após o período de carregamento (7 dias de suplementação) e após o período de manutenção (49 dias de suplementação) de Cr ou PLA.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Verificar o efeito da suplementação de creatina associada ao tratamento clínicos

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 2.126.484

na capacidade funcional em pacientes com claudicação intermitente (CI).

Objetivo Secundário:

a) Analisar o efeito da suplementação de creatina associado ao tratamento clínico sobre:

- Capacidade de caminhada;
- Comportamento metabólico (saturação de oxigênio)
- Equilíbrio;
- Capacidade de sentar e levantar

b) Monitorar o efeito da suplementação de creatina associado a recomendação clínica nos indicadores de saúde cardiovascular:

- Pressão arterial braquial;
- Pressão arterial central;
- Rigidez arterial;
- Modulação autonômica cardíaca
- Fluxo sanguíneo basal e capacidade vasodilatadora

c) Monitorar o efeito da suplementação de creatina associado a recomendação clínica na composição corporal:

- Massa gorda
- Massa isenta de gordura
- Percentual de gordura
- Água extra e intra celular

d) Verificar o efeito da suplementação de creatina associado a recomendação clínica na função cognitiva:

- Atenção seletiva e controle inibitório;
- Componente executivo central da memória operacional.

e) Verificar o efeito da suplementação de creatina associado a recomendação clínica nos:

- Creatina plasmática;
- Marcador de função renal – Cistatina C

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Apesar de considerados mínimos, possíveis riscos poderão acontecer como: desconfortos na coleta sanguínea, cansaço durante os exercício físico e dores musculares posteriores as sessões de exercício. Adicionalmente os pacientes poderão sentir incômodo ao responder os questionários.

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappelq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 2.126.484

Procedimentos específicos serão adotados na tentativa de amenizar estes possíveis riscos, como escolha de um profissional amplamente experiente para a coleta de sangue, realização de um protocolo de familiarização (menor intensidade) aos exercícios e caso necessário, será realizado um intervalo durante o preenchimento dos questionários.

Benefícios:

Aspectos Sociais: Proporcionar informações que possam favorecer o aumento da capacidade de caminhada de indivíduos com claudicação intermitente. Fornecer realização de exames médicos e programa suplementação e orientação sobre o tratamento clínico aos voluntários da pesquisa. **Aspectos econômicos:** O aumento da capacidade de caminhada poderá proporcionar aos indivíduos cumprirem a recomendação clínica fornecida a eles pelos médicos (30 minutos de caminhada 3x por semana). Adicionalmente os indivíduos poderão ter uma redução do risco cardiovascular, bem como reduzir os eventos cardiovasculares agudos, tais como: infarto agudo do miocárdio e acidente vascular encefálico, logo proporcionará redução dos custos com internação hospitalar, bem como com seguro saúde e aposentadoria por invalidez.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Estudo relevante e demonstra elementos suficientes e metodologia adequada que garantem a execução do mesmo.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos de apresentação obrigatória estão bem descritos e adequados ao que se destinam.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Estudo aprovado para início do recrutamento dos pacientes, intervenção e análise dos dados coletados.

Considerações Finais a critério do CEP:

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappelq.adm@hc.fm.usp.br



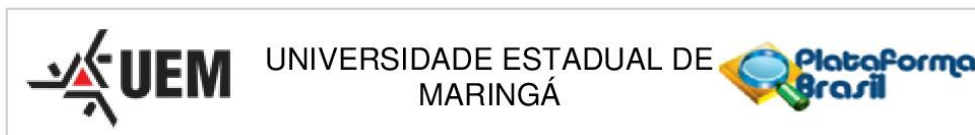
Continuação do Parecer: 2.126.484

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_847314 E1.pdf	12/05/2017 19:32:08		Aceito
Outros	Carta_Resposta_Parecer2060815.pdf	12/05/2017 19:31:22	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Versao5.pdf	12/05/2017 19:17:18	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_847314 E1.pdf	05/05/2017 09:19:22		Aceito
Outros	Declaracao_de_responsabilidade_e_assistencia.pdf	05/05/2017 09:15:34	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_parecer1979960_versao5.pdf	05/05/2017 09:13:05	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Versao4.pdf	24/04/2017 11:28:27	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Outros	CARTA_RESPOSTA_Parecer_1979960.pdf	24/04/2017 11:03:27	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_847314 E1.pdf	10/03/2017 17:44:16		Aceito
Outros	Carta_resposta_parecer_1954342pdf.pdf	10/03/2017 17:40:17	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_847314 E1.pdf	03/02/2017 17:26:14		Aceito
Orçamento	Orcamento.pdf	03/02/2017 17:22:02	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Brochura Pesquisa	Brochura_Pesquisa.pdf	03/02/2017 17:17:40	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Outros	Carta_de_anuencia_HC.pdf	03/02/2017 17:11:11	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Outros	Carta_EMENDA_CEP.pdf	03/02/2017 17:09:06	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Detalhado_Brochura_do_investigador.pdf	03/02/2017 17:02:40	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Outros	Termo_de_compromisso.pdf	20/12/2016 18:11:45	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	Recurso_CEP.pdf	20/12/2016 18:09:04	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de	TCLE_Versao_2.pdf	20/12/2016 18:06:15	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Anexo IV – Carta do Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Estadual de Maringá



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito da suplementação de creatina associado ao tratamento clínico na capacidade funcional de pacientes com claudicação intermitente

Pesquisador: RAPHAEL MENDES RITTI DIAS

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 62601416.7.3001.0104

Instituição Proponente: Hospital Israelita Albert Einstein-SP

Patrocinador Principal: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas - FAPEAM

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.145.402

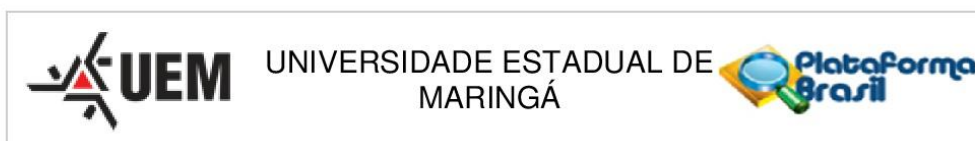
Apresentação do Projeto:

Trata-se de emenda a projeto de pesquisa proposto multicêntrico proposto por pesquisador vinculado ao Hospital Israelita Albert Einstein-SP, com patrocínio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas - FAPEAM.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo Primário será verificar o efeito da suplementação de creatina associada ao tratamento clínicos na capacidade funcional em pacientes com claudicação intermitente (CI). Os objetivos Secundários serão: a) Analisar o efeito da suplementação de creatina associado ao tratamento clínico sobre: Capacidade de caminhada; Comportamento metabólico (saturação de oxigênio); Equilíbrio; Capacidade de sentar e levantar; b) Monitorar o efeito da suplementação de creatina associado a recomendação clínica nos indicadores de saúde cardiovascular: Pressão arterial braquial; Pressão arterial central; Rigidez arterial; Modulação autonômica cardíaca; Fluxo sanguíneo basal e capacidade vasodilatadora; c) Monitorar o efeito da suplementação de creatina associado a recomendação clínica na composição corporal: Massa gorda; Massa isenta de gordura; Percentual de gordura; Água extra e intra celular; d) Verificar o efeito da suplementação de creatina associado a recomendação clínica na função cognitiva: Atenção seletiva e controle inibitório; Componente executivo central da memória operacional; e) Verificar o efeito da

Endereço: Av. Colombo, 5790, UEM-PPG, sala 4
Bairro: Jardim Universitário **CEP:** 87.020-900
UF: PR **Município:** MARINGÁ
Telefone: (44)3011-4597 **Fax:** (44)3011-4444 **E-mail:** copep@uem.br



Continuação do Parecer: 2.145.402

suplementação de creatina associado a recomendação clínica nos: Creatina plasmática; Marcador de função renal – Cistatina C.

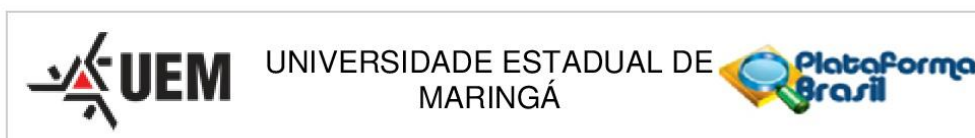
Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Avalia-se que os possíveis riscos a que estarão submetidos os sujeitos da pesquisa serão suportados pelos benefícios apontados.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo prospectivo, com delineamento de grupos randomizados controlados, duplo-cego com testes pré e pós-intervenção. Os participantes serão recrutados no Hospital Israelita Albert Einstein e no Ambulatório de CI do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (HC-USP) e as coletas serão realizadas no Hospital Israelita Albert Einstein. Os participantes serão abordados durante a rotina habitual de atendimento e após a explicação sobre o desenvolvimento do projeto, eles serão questionados sobre o interesse na participação. Após um cálculo amostral, considerando poder de 80% e erro alfa de 0,05, foi estimado um número de 76 (38 por grupo) pacientes clinicamente diagnosticados com CI. A esse valor serão adicionados 20% para garantir poder adequado mesmo com eventuais interrupções e desistências, totalizando assim 90 pacientes (45 por grupo). A avaliação clínica de cada paciente para determinar a capacidade de participação dos mesmos ao projeto caberá ao médico vascular da equipe do HC-USP com base no histórico individual do paciente, nos exames laboratoriais e, nos progressos de quadro clínico. Previamente a coleta de dados os pacientes serão informados sobre os procedimentos envolvidos na realização do estudo e assinarão o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). A abordagem e seleção dos pacientes respeitarão todos os procedimentos éticos previstos na resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde. Antes das medidas e avaliações os voluntários serão orientados a realizarem uma refeição leve e utilizarem roupas leves. Eles deverão seguir também as seguintes recomendações: não realizar exercícios físicos pelo menos 24 horas antes, não ingerir bebidas alcoólicas e cafeinadas, não fumar 12 horas antes da sessão, e manter a rotina normal de utilização da medicação. -Triagem: San Diego Claudication Questionnaire, Índice de Tornozelo-Braço (ITB). Protocolo de suplementação: Creatina monohidratada (Cr) ou Placebo (dextrose) - Carregamento – 4 doses de 5g/ dia, durante 7 dias, Manutenção – 1 dose diária de 3g/ dia, durante 49 dias subsequentes. Os suplementos serão oferecidos em forma de cápsulas com cor e textura semelhantes. Os participantes serão orientados a ingerirem os comprimidos de manhã, no almoço, a tarde e a noite no período de loading e após o almoço na fase de manutenção. Será enfatizado que todos mantenham seus hábitos alimentares rotineiros durante todo o período de duração do estudo. Recomendação clínica

Endereço: Av. Colombo, 5790, UEM-PPG, sala 4
Bairro: Jardim Universitário **CEP:** 87.020-900
UF: PR **Município:** MARINGÁ
Telefone: (44)3011-4597 **Fax:** (44)3011-4444 **E-mail:** copep@uem.br



Continuação do Parecer: 2.145.402

Todos os indivíduos serão orientados a realizarem 30 a 45 minutos de caminhada, pelo menos 3 vezes por semana, segundo as recomendações internacionais para tratamento em pacientes com CI(49). Todos os pacientes serão monitorados por um pedômetro (Polar Electro, Finland) para mensurar a quantidade de passos realizados.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresenta folha de rosto devidamente preenchida e assinada pelo responsável institucional; o cronograma de execução é compatível, prevendo a coleta dos dados no período de 03/07/2017 a 05/03/2018. O orçamento prevê gastos na ordem de R\$ 12.223,66 sob a responsabilidade do pesquisador. Apresenta autorização do local onde a pesquisa será realizada. O TCLE apresenta as garantias mínimas preconizadas pela resolução 466/2012 CNS. Apresenta resposta a todas as pendências.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O Comitê Permanente de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Maringá é de parecer favorável à aprovação da emenda ao protocolo de pesquisa apresentada.

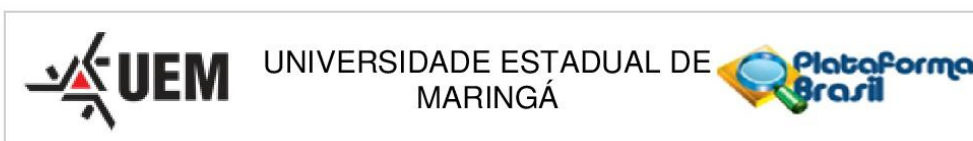
Considerações Finais a critério do CEP:

Face ao exposto e considerando a normativa ética vigente, este Comitê se manifesta pela aprovação do protocolo de pesquisa em tela.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_847314 E1.pdf	12/05/2017 19:32:08		Aceito
Outros	Carta_Resposta_Parecer2060815.pdf	12/05/2017 19:31:22	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Versao5.pdf	12/05/2017 19:17:18	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Outros	Declaracao_de_responsabilidade_e_assistencia.pdf	05/05/2017 09:15:34	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_parecer1979960_versao5.pdf	05/05/2017 09:13:05	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Orçamento	Orcamento.pdf	03/02/2017 17:22:02	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Outros	Carta_de_anuencia_HC.pdf	03/02/2017	RAPHAEL MENDES	Aceito

Endereço: Av. Colombo, 5790, UEM-PPG, sala 4
Bairro: Jardim Universitário **CEP:** 87.020-900
UF: PR **Município:** MARINGÁ
Telefone: (44)3011-4597 **Fax:** (44)3011-4444 **E-mail:** copep@uem.br



Continuação do Parecer: 2.145.402

Outros	Carta_de_anuencia_HC.pdf	17:11:11	RITTI DIAS	Aceito
Outros	Carta_EMENDA_CEP.pdf	03/02/2017 17:09:06	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Outros	Termo_de_compromisso.pdf	20/12/2016 18:11:45	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	Recurso_CEP.pdf	20/12/2016 18:09:04	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto_Plataforma_Brasil.pdf	18/11/2016 16:13:44	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Infraestrutura_declaracao_das_instituicoes.pdf	18/11/2016 16:11:31	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Declaração de Pesquisadores	ResponsabilidadeInvestigador.pdf	08/11/2016 18:15:06	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Outros	Termo_de_anuencia_de_participantes_projeto.pdf	02/11/2016 01:16:08	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	02/11/2016 00:43:54	RAPHAEL MENDES RITTI DIAS	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

MARINGÁ, 28 de Junho de 2017

Assinado por:
Ricardo Cesar Gardiolo
(Coordenador)

Endereço: Av. Colombo, 5790, UEM-PPG, sala 4
Bairro: Jardim Universitário **CEP:** 87.020-900
UF: PR **Município:** MARINGÁ
Telefone: (44)3011-4597 **Fax:** (44)3011-4444 **E-mail:** copep@uem.br

Anexo V – Controle de qualidade da creatina – CREAPURE

DON/13/APR/2017 11:32

AlzChem Trbg. 2-ANA ▲ FAX Nr. :+49 8621 86-2860

S. 002



AlzChem AG - Postfach 12 62 - 83303 Trostberg - Germany

AlzChem Order No.: 32170822

Date: 2017-04-13

Page 1 of 2

Certificate of Analysis

Customer: Ademar Avelar de Almeida Junior Department of Physical Education, 87020-900 MARINGA, PARANA

Product: **Creapure® (ultrapure creatine monohydrate)**

Lot-No. **704441**

Quantity: 25 kg

Production Date: 13.02.2017

Retest Date: 13.02.2020

Manufacturer: AlzChem AG, Trostberg, Germany

Country of Origin: Germany

This fax is intended only for the use of the above mentioned addresses. It is confidential and may contain legally privileged information. Unauthorized reading, copying, disclosure or use is prohibited. If you received this fax through an error, please destroy your copy and telephone or fax us immediately.

Parameter	Method	Unit	Specification	Results
Assay ¹ (HPLC)	107-138/1	[%]	≥ 99.9	102.5
Creatinine (HPLC)	107-138/1	[mg/kg]	≤ 100	34
Dicyandiamide (HPLC)	107-138/1	[mg/kg]	≤ 50	23
Dihydrotriazine (HPLC)	107-138/1	[mg/kg]	≤ 3	< 3 (=LOD)

¹ Calculated as creatine monohydrate; creatine monohydrate theoretically contains 12.1 % water of crystallization.

LOD = Limit of Detection

Office Germany: AlzChem AG, Dr.-Albert-Frank-Straße 32, 83308 Trostberg
Phone +49 8621/86-0, Fax +49 8621/86-2911

Office USA: AlzChem LLC, 880 Village Trace, Bldg. 20, Ste. A, Marietta, GA 30067, USA
Phone 770-864-0371, Fax 770-864-0375

This information and all further technical advice are based on AlzChem's present knowledge and experience. However, AlzChem assumes no liability for providing such information and advice including the extent to which such information and advice may relate to existing third party intellectual property rights, especially patent rights. In particular, AlzChem disclaims all CONDITIONS AND WARRANTIES, WHETHER EXPRESS OR IMPLIED, INCLUDING THE IMPLIED WARRANTIES OF FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE OF MERCHANTABILITY. ALZCHEM SHALL NOT BE RESPONSIBLE FOR CONSEQUENTIAL, INDIRECT OR INCIDENTAL DAMAGES (INCLUDING LOSS OF PROFITS) OF ANY KIND. AlzChem reserves the right to make any changes according to technological progress or further developments. It is the customer's responsibility and obligation to carefully inspect and test any incoming goods. Performance of the product(s) described herein should be verified by testing and carried out only by qualified experts. It is the sole responsibility of the customer to carry out and arrange for any such testing. Reference to trade names used by other companies is neither a recommendation, nor an endorsement of any product and does not imply that similar products could not be used.

DON/13/APR/2017 11:32

AlzChem Trbg. 2-ANA

FAX Nr. :+49 8621 86-2860

S. 003



AlzChem AG - Postfach 12 62 - 83303 Trostberg - Germany

AlzChem Order No.: 32170822

Date: 2017-04-13

Page 2 of 2

Periodic controlsMicrobiology

Parameter	Method [§]	Unit	Specification	Results
Moulds and yeasts	Ph. Eur. 2.6.12 B	[cfu/g]	≤ 50	< 10
Total aerobic plate counts	Ph. Eur. 2.6.12 B	[cfu/g]	≤ 1000	< 10
Coliform bacteria	Ph. Eur. 2.6.12 B	[neg/g]	neg/g	neg/g
E. coli	Ph. Eur. 2.6.13 B	[neg/g]	neg/g	neg/g
Salmonella sp.	Ph. Eur. 2.6.13 B	[neg/25 g]	neg/25 g	neg/25 g
Staphylococcus aureus	Ph. Eur. 2.6.13 B	[neg/g]	neg/g	neg/g

Heavy Metals

Parameter	Method	Unit	Specification	Results
Mercury	107-022/1	[mg/kg]	≤ 0.10	< 0.011 [§]
Cadmium	107-022/2	[mg/kg]	≤ 0.1	< 0.001 [§]
Lead	107-022/2	[mg/kg]	≤ 0.1	< 0.014 [§]
Arsenic	107-022/1	[mg/kg]	≤ 0.1	< 0.002 [§]

[§] Limit of Detection, [§] Ph. Eur. methods harmonised with USP methods

The results based on our measures for quality assurance are in accordance with our specification.
For further questions regarding the mentioned figures please fax to +49-8621-86-2860.

AlzChem AG
Analytical Department

Office Germany: AlzChem AG, Dr.-Albert-Frank-Straße 32, 83303 Trostberg
Phone +49 8621/86-0, Fax +49 8621/86-2811

Office USA: AlzChem LLC, 860 Village Trace, Bldg. 20, Ste. A, Marietta, GA 30067, USA
Phone 770-804-0371, Fax 770-804-0375

This information and all further technical advice are based on AlzChem's present knowledge and experience. However, AlzChem assumes no liability for providing such information and advice including the extent to which such information and advice may relate to existing third party intellectual property rights, especially patent rights. In particular, AlzChem disclaims all CONDITIONS AND WARRANTIES, WHETHER EXPRESS OR IMPLIED, INCLUDING THE IMPLIED WARRANTIES OF FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE OF MERCHANTABILITY. ALZCHEM SHALL NOT BE RESPONSIBLE FOR CONSEQUENTIAL, INDIRECT OR INCIDENTAL DAMAGES (INCLUDING LOSS OF PROFITS) OF ANY KIND. AlzChem reserves the right to make any changes according to technological progress or further developments. It is the customer's responsibility and obligation to carefully inspect and test any incoming goods. Performance of the product(s) described herein should be verified by testing and carried out only by qualified experts. It is the sole responsibility of the customer to carry out and arrange for any such testing. Reference to trade names used by other companies is neither a recommendation, nor an endorsement of any product and does not imply that similar products could not be used.

7. APÊNDICES

Apêndice I - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Apêndice II – Ficha de triagem

APÊNDICE I – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



ALBERT EINSTEIN
INSTITUTO ISRAELITA DE
ENSINO E PESQUISA

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 Nº: SEXO: .M F

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

ENDEREÇO Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE

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

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: **EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE CREATINA ASSOCIADO AO TRATAMENTO CLÍNICO NA CAPACIDADE FUNCIONAL DE PACIENTES COM CLAUDICAÇÃO INTERMITENTE**

2. PESQUISADOR: Raphael Mendes Ritti Dias

CARGO/FUNÇÃO: Pesquisador Visitante no Instituto Israelita de Ensino Albert Einstein

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO X RISCO MÉDIO

RISCO BAIXO RISCO MAIOR

4. DURAÇÃO DA PESQUISA: 3 anos

1 – O senhor está sendo convidado para participar de uma pesquisa que tem o objetivo avaliar o efeito da suplementação de creatina associado ao tratamento clínico na capacidade funcional de pacientes com claudicação intermitente

2 – Um dos responsáveis pela pesquisa explicará detalhadamente todos os procedimentos no primeiro contato. Ao concordar em participar, o senhor será submetido aos seguintes procedimentos:

- O pesquisador explicará os benefícios da utilização da suplementação de creatina
- Os benefícios da realização da prática de atividade física no tratamento de sua doença;
- Responderá alguns questionários sobre informações gerais, histórico de saúde, gravidade dos sintomas da doença, atividade física e capacidade funcional;
- Fará uma caminhada em um corredor durante 6 minutos;
- Utilizará um aparelho infravermelho na panturrilha durante o teste de caminhada;
- Fará uma caminhada rápida em um corredor de 4 metros;
- Fará um teste de equilíbrio;
- Fará um teste simples de força muscular na sua mão;
- Fará um teste de sentar e levantar;

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE CREATINA ASSOCIADO AO TRATAMENTO CLÍNICO NA CAPACIDADE FUNCIONAL DE PACIENTES COM CLAUDICAÇÃO INTERMITENTE. Versão 5 – Data 12/05/2017 1

CEP/Einstein
Versão Aprovada
do Costa



- Fará uma avaliação na qual serão medidos: sua pressão arterial no braço e na perna, os batimentos do seu coração utilizando uma cinta na altura do seu tórax;
 - Fará uma medida em que será posicionado um pequeno aparelho que não causa nenhuma dor no seu punho, braço, pescoço e na sua virilha
 - Realizará exame, onde será posicionado um sensor de ultrassonografia na região do braço direito;
 - Fará medidas de antropometria com um auxílio de uma fita métrica, além de uma avaliação para medida de composição corporal onde serão colocados alguns eletrodos em seu corpo;
 - Fará testes de atenção e raciocínio com auxílio de um computador, não sendo necessário saber ou não utilizá-lo;
 - Realizará exames de sangue após um jejum mínimo de 8 horas. Esta avaliação será realizada por um laboratório particular com profissionais capacitados;
 - Receberá recomendações para praticar atividades físicas por 8 semanas.
 - Fará ingestão por oito semanas da suplementação de creatina.
 - Repetirá as medidas após 7 e 49 dias.
- 3 – Descrição dos desconfortos e riscos esperados nos procedimentos do Item 2
Todos os procedimentos desta pesquisa são seguros e bem tolerados. Entretanto, alguns desconfortos podem ocorrer. De maneira geral, pode-se esperar:
- a) A utilização de creatina apresenta risco mínimo para a saúde, podendo, em casos extremos, levar a uma piora da função renal;
 - b) Em todos os testes que envolverem exercício físico poderá haver cansaço tanto durante quanto ao final do mesmo;
 - c) A medida realizada na virilha por gerar constrangimento, pois o senhor ficará com roupa íntima e no geral, você pode esperar desconforto no braço durante a coleta de sangue e um ligeiro incômodo durante as medidas de pressão no braço e na perna.
- 4 – O benefício deste estudo para o senhor se relaciona ao fato do senhor receber gratuitamente uma avaliação do seu coração, sua saúde física e cardiovascular, além de orientação específicas sobre melhores cuidados sobre a sua doença.
- 5 – O senhor terá acesso, quando quiser, às informações constantes nesta declaração ou a qualquer outra informação que deseje sobre este estudo, incluindo os resultados de seus exames. O principal investigador é o Dr. Raphael Mendes Ritti Dias que pode ser encontrado no endereço – Rua Madre Cabrini, 462, Vila Mariana - Telefone: (11)2151-1001. Além disso, caso o senhor tenha alguma dúvida em relação aos procedimentos éticos desta pesquisa, o senhor deverá ligar no Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Israelita Albert Einstein – Telefone: (11) 21513729. Reclamações, elogios e sugestões deverão ser encaminhadas ao Sistema de Atendimento ao Cliente (SAC) por meio do telefone (11) 2151-0222 ou formulário identificado como fale conosco disponível na página da pesquisa clínica <https://www.einstein.br/pesquisa/pesquisa-clinica> ou pessoalmente.
- 6 – O senhor pode retirar seu consentimento e desistir de participar da pesquisa a qualquer momento, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;
- 7 – As informações obtidas nesta pesquisa serão analisadas em conjunto com as de outros pacientes, não sendo divulgado sua identificação em nenhum momento;
- 8 – O senhor poderá, quando quiser, ter acesso às informações constantes nesta declaração ou a qualquer outra informação que deseje sobre este estudo, incluindo os resultados de seus exames.
- 9 – Não há nenhum tipo de custos para o senhor relacionado aos exames, consultas deste projeto. Entretanto, também não há nenhum tipo de compensação por despesas pessoais, como transporte e lanche, decorrentes desta participação. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional relacionada aos procedimentos experimentais, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.
- 10 – Os dados coletados serão utilizados exclusivamente para os fins desta pesquisa.



"Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo **EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE CREATINA ASSOCIADO AO TRATAMENTO CLÍNICO NA CAPACIDADE FUNCIONAL DE PACIENTES COM CLAUDICAÇÃO INTERMITENTE**.

Eu discuti com a equipe de pesquisa do Dr. **Raphael Mendes Ritti Dias** 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, semianalfabetos 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 ____ / ____ / ____

5. **Você sente essa dor quando caminha em velocidade normal em terreno plano?**
 1. Não 2. Sim 9. Não tenho certeza
6. **A dor desaparece enquanto você está caminhando?**
 1. Não 2. Sim 9. Não tenho certeza
7. **O que você faz quando sente essa dor ao caminhar?**
 1. Paro ou diminuo a velocidade de caminhada 2. Continuo andando normalmente
8. **O que acontece com essa dor se você permanece em pé parado?**
 1. Diminui ou desaparece 2. Não muda (se não muda, não continue a responder)
9. **Em quanto tempo desaparece essa dor?**
 1. 10 minutos ou menos 2. Mais de 10 minutos

SINTOMAS DA DAP					
A. PAD – Questões específicas					
() Direita () Esquerda () Ambas	Fraca	Moderada	Razoável	Muita	Extrema
Dores ou câibras na barriga da perna (ou nádegas)?	4	3	2	1	0
Distância	Nenhuma	Fácil	Médio	Difícil	Muito difícil
Caminhar em lugares fechados, como dentro de casa?	4	3	2	1	0
Caminhar 15 metros?	4	3	2	1	0
Caminhar 50 metros (meio quarteirão)?	4	3	2	1	0
Caminhar 100 metros (um quarteirão)?	4	3	2	1	0
Caminhar 200 metros (dois quarteirões)?	4	3	2	1	0
Caminhar 300 metros (três quarteirões)?	4	3	2	1	0
Caminhar 500 metros (cinco quarteirões)?	4	3	2	1	0
Velocidade					
Caminhar um quarteirão vagorosamente (2,4 km)?	4	3	2	1	0
Caminhar um quarteirão em velocidade média (3,2 km)?	4	3	2	1	0
Caminhar um quarteirão rapidamente (4,8 km)?	4	3	2	1	0
Caminhar um quarteirão correndo ou trotando (8,0 km)?	4	3	2	1	0
Escadas					
Subir um lance de escadas (oito degraus)?	4	3	2	1	0
Subir dois lances de escada (16 degraus)?	4	3	2	1	0
Subir três lances de escada (24 graus)?	4	3	2	1	0

“Eu gosto de fazer atividades físicas”! O que você diria dessa afirmação:

- Discordo totalmente
- Discordo em partes
- Nem concordo, nem discordo
- Concordo em parte
- Concordo totalmente

Considera-se fisicamente ativo o adulto que acumula pelo menos 30 minutos diários de atividades físicas em 5 ou mais dias da semana. Em relação aos seus hábitos de prática de atividades físicas, você diria que:

- Sou fisicamente ativo há mais de 6 meses
- Sou fisicamente ativo há menos de 6 meses
- Não sou, mas pretendo me tornar fisicamente ativo nos próximos 30 dias
- Não sou, mas pretendo me tornar fisicamente ativo nos próximos 6 meses
- Não sou, e não pretendo me tornar fisicamente ativo nos próximos 6 meses

ESTILO DE VIDA					
	Não	As vezes	Quase sempre	Sempre (sim)	
Você conhece sua pressão arterial	0			3	
Você controla a sua glicemia e seu colesterol	0			3	
Você ingere álcool todo dia	0			3	
Você sempre usa o seu medicamento na hora correta?	0			3	
Sua alimentação diária inclui ao menos 5 porções de frutas e verduras	0	1	2	3	
Você evita ingerir alimentos gordurosos (carnes gordas, frituras) e doces	0	1	2	3	
Realiza exercícios que envolvam força e alongamento muscular 2x/sem	0	1	2	3	
No seu dia a dia, você caminha ou pedala como meio de transporte	0	1	2	3	
Você procura cultivar amigos e está satisfeito com seus relacionamentos	0	1	2	3	
Seu lazer inclui reuniões com amigos, atividades esportivas em grupo	0	1	2	3	
Você procura ser ativo em sua comunidade, sentindo-se útil no seu ambiente social	0	1	2	3	
Tenho alguém para conversar as coisas que são importantes para mim	0	1	2	3	
Você reserva tempo (ao menos 5 minutos) todos os dias para relaxar	0	1	2	3	
Você mantém uma discussão sem alterar-se, mesmo quando contrariado	0	1	2	3	
Durmo bem e me sinto descansado	0	1	2	3	
Sinto-me com raiva e hostil	0	1	2	3	
Aparento estar com pressa	0	1	2	3	
Penso de forma positiva e otimista	0	1	2	3	
Sinto-me triste e oprimido	0	1	2	3	
Estou satisfeito com a minha vida	0	1	2	3	
Ingiro bebidas que contêm cafeína (café, chás ou "colas")	Nunca	1 a 2 vezes	3 a 6x/dia	7 a 10x/dia	Mais de 10x/dia
	0	1	2	3	4