

## Respostas Interindividuais à Suplementação Oral de Citrulina Malato na Hipotensão Pós-Exercício em Hipertensos: Uma Análise de 24 Horas

*Inter-Individual Responses to Citrulline Malate Oral Supplementation on Post-Exercise Hypotension in Hypertensives: A 24-Hour Analysis*

Juliano Casonatto,<sup>1</sup> Daniel Massaharu Enokida,<sup>2</sup> Kamila Grandolfi

Universidade Norte do Paraná, Londrina, PR – Brasil

### Resumo

**Fundamento:** Estudos demonstraram de maneira persuasiva que a citrulina tem um papel fundamental no sistema arginina-óxido nítrico, aumentando a biodisponibilidade do óxido nítrico, um importante mediador da vasodilatação periférica.

**Objetivo:** Analisar a responsividade interindividual da hipotensão pós-exercício após suplementação aguda com citrulina em hipertensos.

**Métodos:** Quarenta hipertensos foram aleatoriamente designados para um dos quatro grupos experimentais (controle-placebo, controle-citrulina, exercício-placebo e exercício-citrulina). Eles ingeriram placebo ou citrulina malato [CM] (6 gramas). Durante a sessão de exercício, os indivíduos realizaram 40 minutos de caminhada/corrida em esteira a 60-70% da FC de reserva. Para a sessão de controle, os indivíduos permaneceram sentados em repouso por 40 minutos. A medida da pressão arterial (PA) no consultório foi realizada a cada 10 minutos até completar 60 minutos após a sessão experimental. O dispositivo ambulatorial de PA foi programado para fazer as leituras a cada 20 minutos (tempo de vigília) e a cada 30 minutos (tempo de sono) ao longo de 24 horas de monitoramento. A significância estatística foi definida como  $p < 0,05$ .

**Resultados:** Diferentemente de outros grupos experimentais, não houve “não respondedores” no exercício/citrulina (EC) para “acordado” (PA sistólica e diastólica) e “24 horas” (PA diastólica). Os tamanhos de efeito foram mais consistentes no EC para a resposta sistólica e diastólica da PA ambulatorial. Os efeitos foram “grandes” ( $> 0,8$ ) para “acordado”, “dormindo”, e para “24 horas” apenas no EC para a PA diastólica.

**Conclusão:** A suplementação com CM pode aumentar os efeitos hipotensivos pós-exercício em hipertensos. Além disso, a prevalência de “não respondedores” é menor quando associada ao exercício aeróbico e à suplementação com CM. (Arq Bras Cardiol. 2019; 113(2):218-228)

**Palavras-chave:** Exercício; Hipertensão; Monitoração Ambulatorial da Pressão Arterial; Citrulina; Aminoácidos; Óxido Nítrico; Suplementos Nutricionais.

### Abstract

**Background:** Studies have persuasively demonstrated that citrulline has a key role in the arginine-nitric oxide system, increasing nitric oxide bioavailability, an important mediator of peripheral vasodilation.

**Objective:** To analyze the inter-individual post-exercise hypotension responsiveness following acute citrulline supplementation in hypertensives.

**Methods:** Forty hypertensives were randomly assigned to one of the four experimental groups (control-placebo, control-citrulline, exercise-placebo, and exercise-citrulline). They ingested placebo or citrulline malate [CM] (6 grams). During the exercise session, individuals performed 40 minutes of walking/running on a treadmill at 60-70% of HR reserve. For the control session, the individuals remained seated at rest for 40 minutes. Office blood pressure (BP) was taken every 10 minutes until completing 60 minutes after the experimental session. The ambulatory BP device was programmed to take the readings every 20 minutes (awake time) and every 30 minutes (sleep time) over the course of 24 hours of monitoring. Statistical significance was defined as  $p < 0.05$ .

**Results:** Unlike the other experimental groups, there were no “non-responders” in the exercise/citrulline (EC) for “awake” (systolic and diastolic BP) and “24 hours” (diastolic BP). The effect sizes were more consistent in the EC for systolic and diastolic ambulatory BP response. The effects were “large” ( $> 0.8$ ) for “awake”, “asleep”, and “24 hours” only in the EC for diastolic BP.

**Conclusion:** CM supplementation can increase the post-exercise hypotensive effects in hypertensives. In addition, the prevalence of non-responders is lower when associated with aerobic exercise and CM supplementation. (Arq Bras Cardiol. 2019; 113(2):218-228)

**Keywords:** Exercise; Hypertension; Blood Pressure Monitoring Ambulatory; Citrulline; Amino Acids; Nitric Oxide; Dietary Supplements.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

**Correspondência:** Juliano Casonatto •

Universidade Norte do Paraná - Rua Marselha, 591. CEP 86041-140, Londrina, PR – Brasil

E-mail: juliano2608@hotmail.com

Artigo recebido em 28/08/2018, revisado em 29/10/2018, aceito em 14/11/2018

DOI: 10.5935/abc.20190115

## Introdução

A hipotensão pós-exercício (HPE) é definida como uma redução sustentada da pressão arterial (PA) após uma única sessão de exercícios.<sup>1</sup> Essa redução transitória pode durar até 22h após a conclusão de uma sessão de exercícios.<sup>2</sup> Por esse motivo, a HPE é considerada atualmente um importante fenômeno fisiológico,<sup>1</sup> o qual pode desempenhar um papel crucial no controle da PA. É importante enfatizar que a HPE é um fenômeno fisiológico caracterizado por uma redução na PA após o exercício em comparação com os valores pré-exercício ou da sessão de controle, sendo possível manter essa redução por algumas horas.<sup>3</sup> Portanto, para que a HPE seja clinicamente significativa, é necessário que uma magnitude expressiva seja mantida durante algumas horas. Além disso, estudos anteriores relataram que a magnitude da HPE após uma única sessão de exercícios estava correlacionada com alterações crônicas na PA em repouso após um período de treinamento físico.<sup>4-8</sup>

No entanto, apesar dessa possível relação, alguns indivíduos apresentam HPE (ou seja, “respondedores”) enquanto outros não (isto é, “não respondedores”). Estudos anteriores identificaram “respondedores” e “não respondedores” em populações não hipertensas<sup>4,8-10</sup> e hipertensas.<sup>5,6,11</sup> Isso significa que, no mesmo grupo de intervenção, alguns indivíduos podem demonstrar HPE, enquanto outros não apresentam alterações ou apresentam até mesmo aumento da resposta da PA ao treinamento físico. De fato, os resultados dos estudos de HPE geralmente estão limitados a apresentar as respostas médias da redução da PA no grupo de treinamento, ignorando variações interindividuais que podem levar a erros de interpretação, pois os efeitos positivos de um determinado protocolo de treinamento podem não ser totalmente aplicáveis individualmente para cada pessoa.<sup>12</sup>

Por outro lado, estudos demonstraram de forma persuasiva que a citrulina (um aminoácido não essencial) tem um papel fundamental no sistema arginina-óxido nítrico, aumentando a biodisponibilidade do óxido nítrico (NO),<sup>13</sup> um importante mediador da vasodilatação periférica. Assim, é possível que a HPE seja mais pronunciada após a suplementação com citrulina, especialmente em hipertensos, uma vez que as respostas da PA seriam diferentes, pois a HPE pode ser causada por diferentes mecanismos em indivíduos normotensos e hipertensos. Estudos anteriores mostraram que indivíduos hipertensos têm redução do débito cardíaco,<sup>2,14</sup> enquanto indivíduos normotensos apresentam redução na resistência periférica total.<sup>14-16</sup> Por esse motivo, uma estratégia de vasodilatação não-farmacológica pode ajudar pacientes hipertensos a ativar outro mecanismo de HPE, juntamente com diminuição do débito cardíaco, resultando em efeitos adicionais de HPE.

Outros experimentos observaram que o plasma e o NO salivar estavam associados à HPE após exercícios aeróbicos<sup>17-20</sup> e resistidos<sup>17</sup> em indivíduos com doenças crônicas. Além disso, a suplementação de citrulina mostrou-se promissora apresentando evidências pré-clínicas (animais) de proteção aterogênica-endotelial, e também estão disponíveis evidências preliminares de benefícios induzidos pela citrulina para a saúde muscular e metabólica (por vias vasculares e não vasculares) em populações suscetíveis/mais velhas.<sup>21</sup>

Por essas razões, este estudo teve como objetivo analisar a responsividade interindividual da HPE após uma suplementação aguda com citrulina em hipertensos. Nossas hipóteses foram: i) haveria uma variabilidade interindividual na responsividade da PA após uma única sessão de exercícios aeróbicos e ii) a suplementação oral com citrulina poderia contribuir para reduzir a taxa de “não-respondedores”.

## Métodos

### Participantes

Após o cálculo do tamanho amostral (ver sessão de análise estatística), 40 indivíduos hipertensos e sedentários participaram do estudo. Todos os voluntários (ambos os sexos) eram adultos sem deficiência osteoarticular e tinham autorização médica para praticar exercício físico. Os participantes foram recrutados de um projeto de programa de exercícios ligado à universidade que oferecia sessões de alongamento e exercícios funcionais para a comunidade externa. O estudo atendeu a Declaração de Helsinque e o Comitê de Ética Institucional aprovou todos os procedimentos e protocolos experimentais (78697617.4.0000.0108). Cada participante foi informado de todos os riscos potenciais e procedimentos experimentais, após o que o consentimento informado foi obtido. A Tabela 1 mostra as características básicas dos participantes.

### Desenho do estudo

Foi realizado um ensaio clínico duplo-cego, controlado por placebo, de grupos paralelos (Figura 1). Os participantes foram alocados aleatoriamente (utilizando uma tabela de números aleatórios - <https://www.random.org/>) em quatro grupos experimentais diferentes (exercício/citrulina [EC]; exercício/placebo [EP]; controle/citrulina [CC]; controle/placebo [CP]). Os participantes ingeriram um sachê contendo citrulina malato (6 gramas) ou placebo (6 gramas de amido de milho) dissolvido em água.

As substâncias foram ingeridas 120 minutos antes da sessão experimental ou de controle. Medidas antropométricas foram realizadas antes do período de descanso. A sessão de exercícios consistiu em um aquecimento de 5 min (50% de 65% da FC [frequência cardíaca] de reserva) e 40 minutos de corrida/caminhada a 60-70% da FC de reserva em uma esteira. Isto foi seguido por um período de desaquecimento progressivo (5 minutos). A intensidade do exercício também foi avaliada com base na Escala de Percepção Subjetiva do Esforço de Borg<sup>22</sup> (score da PSE 6-20). O score da PSE foi coletado a cada 5 minutos ao longo de 40 minutos durante o período de exercício de corrida/caminhada. A intensidade do exercício era reduzida caso o participante relatasse PSE  $\geq$  15, independentemente da FC. Na sessão de controle, os participantes permaneceram sentados em uma sala silenciosa por 40 min.

Após as sessões de exercício/controle, a PA foi medida a cada 10 minutos ao longo de 60 minutos (fase laboratorial). Em seguida, os participantes tiveram permissão de 15 minutos para tomar banho e trocar de roupa antes que o aparelho de PA ambulatorial fosse anexado ao seu braço. A PA ambulatorial foi registrada por 24 horas. Os participantes foram convidados a retornar ao laboratório no dia seguinte para remover o dispositivo.

Tabela 1 – Características dos participantes e medicamentos anti-hipertensivos

	Controle-Placebo		Controle-Citrulina		Exercício-Placebo		Exercício-Citrulina		F	p
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP		
Idade (anos)	62,3	18,7	60,6	16,8	52	15,2	58,6	8,6	0,864	0,469
Peso (kg)	77,2	16,5	76,5	9,0	79,6	17,2	72,5	13,1	0,419	0,740
Altura (m)	1,66	0,11	1,59	0,08	1,61	0,08	1,58	0,09	1,309	0,286
IMC	27,9	4,2	30,6	4,6	30,8	6,5	29,1	5,8	0,625	0,603
CC (cm)	98,2	9,9	101,4	9,1	98,5	14,9	99,1	11,1	0,159	0,923
	N	%	N	%	N	%	N	%		
BB	3	30	5	50	5	50	3	30		
IECA	5	50	3	30	4	40	6	60		
DIUR	0	0	1	10	0	0	1	10		
BB+IECA	2	20	1	10	0	0	0	0		
IECA+DIUR	0	0	0	0	0	0	0	0		
BB+IECA+DIUR	0	0	0	0	1	10	0	0		

DP: desvio padrão; IMC: índice de massa corporal; CC: circunferência da cintura; BB: betabloqueadores; IECA: inibidor da enzima conversora de angiotensina; DIUR: diuréticos.

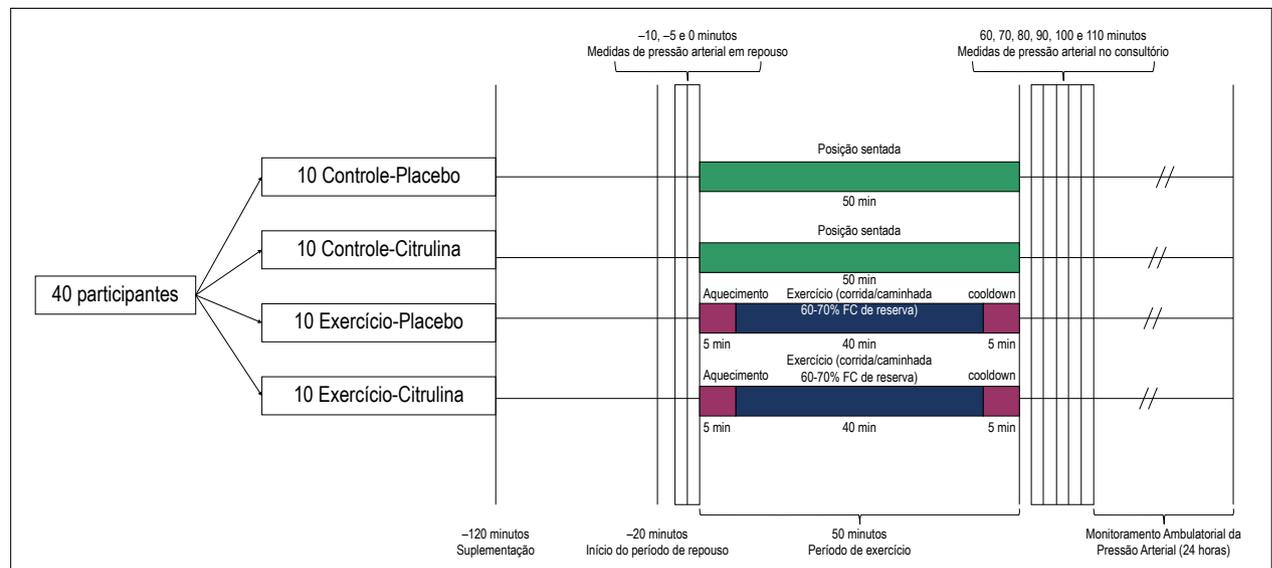


Figura 1 – Desenho do estudo.

O protocolo do estudo foi registrado em ClinicalTrials.gov (NCT03378596).

### Antropometria

O peso foi aferido por balança antropométrica digital (Urano, OS 180A, Canoas, Brasil), com precisão de 0,1 kg, e a altura foi medida por um estadiômetro com precisão de 0,1 cm, de acordo com os procedimentos descritos por Gordon et al.<sup>23</sup> O índice de massa corporal foi definido como a massa corporal (kg) dividida pelo quadrado da altura.

### Pressão arterial no consultório (fase laboratorial)

As medidas da PA no consultório foram realizadas com um dispositivo oscilométrico (Omron MX3 Plus, Bannockburn, EUA) previamente validado para medidas clínicas em adultos.<sup>24</sup>

Primeiramente, os participantes permaneceram sentados (período de repouso) em um ambiente calmo, silencioso e termoneutro (22°C a 24°C) por 20 min. A PA foi medida três vezes durante o período de descanso (aos 10 min, 15 min e 20 min). O valor da PA em repouso foi considerado como a média dessas três medidas. Imediatamente após as sessões (de exercício ou controle), a PA foi medida em um ambiente silencioso por 60 minutos. As medidas da PA foram realizadas de acordo com as recomendações da *American Heart Association*.<sup>25</sup>

### Medidas de pressão arterial ambulatorial (fase ambulatorial)

As medidas da PA ambulatorial foram realizadas com um aparelho oscilométrico (Dyna-MAPA - São Paulo, Brasil) acoplado no braço esquerdo, sempre pelo mesmo

investigador, de acordo com procedimentos descritos pela *American Heart Association*.<sup>25</sup> Os participantes receberam instruções para manter o braço estendido durante as medidas. O aparelho foi calibrado por comparação direta com um esfigmomanômetro de mercúrio, por um técnico treinado, de acordo com as recomendações.<sup>25</sup>

O monitor foi configurado para registrar a PA sistólica e diastólica e a FC a cada 20 minutos durante o “dia” (08:00 às 23:00) e a cada 30 minutos durante a “noite” (23:00 às 08:00) para reduzir distúrbios no sono. A tela do dispositivo foi eletronicamente ocultada para evitar *feedback*. Todos os participantes foram instruídos a registrar e relatar seu tempo de sono em um diário no dia seguinte.

Os dados foram gravados na memória do dispositivo e, em seguida, enviados para um computador, através de um software específico (Aplicativo Dyna Mapa - Versão 5.0.382.12), para análise. A média das leituras válidas ficou acima de 90% para todos os participantes.

### Análise estatística

Assumindo um desvio padrão (DP) de 5 mmHg<sup>26</sup> para a PA sistólica, um alfa de 5% e um poder estatístico desejado de 80% para detectar uma diferença mínima de 7 mmHg,<sup>26</sup> para cada grupo foram necessários 7 indivíduos. O teste de Shapiro-Wilk foi empregado para avaliar a normalidade da distribuição dos dados. Os dados são apresentados no texto como média e DP. O teste de homogeneidade de Levene foi aplicado antes da ANOVA unidirecional. Os testes de comparações múltiplas de Turkey (caso a homogeneidade tenha sido determinada) ou de Games-Howell (caso a homogeneidade não tenha sido determinada) foram empregados para examinar diferenças entre pares de ensaios. O tamanho de efeito do teste *t* pareado foi calculado ( $d = \text{média}/\text{DP}$ ). Os resultados dos períodos (60 minutos, acordado, dormindo e 24 horas) foram obtidos pela média dos respectivos períodos. A significância estatística foi definida como  $p < 0,05$ .

Para avaliar a responsividade interindividual da PA, primeiro avaliamos a reprodutibilidade da PA pré-exercício entre os minutos “-10” e “0” das medidas de PA em repouso (ver Figura 1). Para essa análise, foram considerados os coeficientes de correlação intraclasse (ICC, modelo 2, k), coeficiente de variação (CV) e erro padrão da medida (EPM). O CV entre as medidas de PA pré-exercício foi calculado da seguinte forma:  $CV = 100 \times (2 \times (DP_d / \sqrt{2}) / (X_1 + X_2))$ . O  $DP_d$  representa o DP das diferenças entre as 2 medições, e  $X_1$  e  $X_2$  representam a média de 2 medições, respectivamente.  $EPM = DP \times \sqrt{(1 - ICC)}$ , com DP representando o desvio-padrão da primeira medida da PA pré-exercício, sendo utilizado como uma medida de variabilidade, mas principalmente para o cálculo da mínima mudança detectável (MMD). A MMD, que é a mudança mínima necessária para fornecer confiança de que os resultados não são uma variação aleatória ou erro de medição, foi calculada da seguinte forma:  $MMD = z\text{-escore}(IC95\%) \times EPM \times \sqrt{2}$ . Todos os procedimentos acima mencionados foram adotados de acordo com Haley e Fragala-Pinkham<sup>27</sup> e Darter et al.,<sup>28</sup> Os participantes foram considerados como “respondedores” se a PA atingisse um valor igual ou superior à MMD.

A análise estatística foi realizada utilizando o sistema SPSS, versão 20, para *Windows*.

## Resultados

A intensidade do exercício foi reduzida para três participantes (15 [EC], 18 e 19 [EP]) porque relataram  $PSE \geq 15$ . A intensidade do exercício baseada na FC de reserva variou entre 51-59% durante o tempo ( $9 \pm 3$  minutos) em que eles não conseguiram manter 60-70% da FC de reserva.

Os resultados das variáveis relacionadas ao cálculo da MMD foram: 0,915 (ICC), 5,08 (CV), 5,25 (EPM) e 2,37 (MMD) para PA sistólica, e 0,846 (ICC), 5,64 (CV), 3,74 (EPM) e 1,69 (MMD) para PA diastólica.

A Tabela 2 apresenta as alterações absolutas e relativas da PA nos diferentes grupos experimentais. Uma redução significativa na PA sistólica foi identificada para o grupo EC quando comparada com o CP nos primeiros 60 minutos (alterações relativas) após a sessão experimental. Os mesmos efeitos de redução foram observados ao longo de 24 horas (mudanças absolutas) e para os períodos “acordado” e 24 horas, considerando as mudanças relativas ( $\Delta\%$  Acordado e  $\Delta\%$  24 horas) em comparação com o grupo CP. Não foram encontradas diferenças significativas para o CC e EP.

A Tabela 3 apresenta os tamanhos de efeito do teste *t* pareado (repouso vs. 60 min, “acordado”, “dormindo” e 24 horas) para cada grupo experimental. Considerando a PA sistólica, o grupo CP apresentou um efeito significativo no grupo “dormindo” e 24 horas, o grupo EP mostrou efeito significativo para os grupos “acordado” e “dormindo”, e o EC mostrou efeito significativo para todos os períodos (60 min, “acordado”, “dormindo” e 24 horas). Além disso, considerando a PA diastólica, o grupo CP apresentou efeito significativo para o grupo “dormindo”, o CC apresentou efeito significativo para 60 min, “dormindo” e 24 horas, o grupo EP apresentou efeito significativo para “acordado” e “dormindo”, e o EC apresentou um efeito significativo para os grupos “acordado”, “dormindo” e 24 horas.

As porcentagens de “respondedores” e “não-respondedores” nos diferentes grupos experimentais para diferentes períodos de tempo (60 min, “acordado”, “dormindo” e 24 horas) são mostradas na tabela 4. As porcentagens dos “respondedores” da PA sistólica variaram de 20% (CC) a 90% (EC) para 60 min; 60% (CC e EP) a 100% (EC) para “acordado”; 60% (CC e EP) a 90% (EC) para “dormindo”; e 60% (CC e EP) a 90% (EC) para 24 horas.

As porcentagens dos respondedores de PA diastólica variaram de 10% (CC) a 40% (CP) para 60 min; 50% (CP) a 100% (EC) para “acordado”; 70% (CP) a 100% (CC e EC) para “dormindo”; e 60% (CP) a 100% (EC) para 24 horas.

As alterações absolutas da PA sistólica e diastólica para cada grupo experimental nos grupos 60 min, “acordado”, “dormindo” e 24 horas são apresentadas nas Figuras 1 (sistólica) e 2 (diastólica). Todos os participantes do grupo EC demonstraram uma redução na PA sistólica nos grupos 60 min, “acordado” e 24 horas. Para o período de sono, apenas um participante do EC (número 23) não apresentou redução na PA sistólica (Figura 2).

**Tabela 2 – Alterações na pressão arterial absolutas (repouso, 60min, acordado, dormindo e 24 horas) e relativa ( $\Delta\%$  60 min,  $\Delta\%$  acordado,  $\Delta\%$  dormindo,  $\Delta\%$  24 horas)**

	Controle-Placebo		Controle-Citrulina		Exercício-Placebo		Exercício-Citrulina		F	p
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP		
<b>PAS</b>										
Repouso (mmHg)	140	19	132	15	136	12	142	20	0,714	0,550
60 min (mmHg)	138	19	137	14	130	9	127	15	1,240	0,310
Acordado (mmHg)	127	11	128	8	124	11	126	8	0,334	0,801
Dormindo (mmHg)	125	16	120	14	126	10	126	15	0,465	0,709
24 horas (mmHg)	128	11	125	9	127	10	125	13	0,216	0,884
$\Delta\%$ 60 min	-2,3	3,4	5,4	9,4	-6,3	11,4	-15,0**	8,1	9,737	< 0,001
$\Delta\%$ Acordado	-9,7	12,5	-4,2	12,3	-9,1	15,2	-21,0	16,7	2,469	0,078
$\Delta\%$ Dormindo	-15,8	14,0	-9,8	16,2	-9,5	19,5	-17,0	14,1	0,588	0,627
$\Delta\%$ 24 horas	-11,5	12,4	-6,0	12,6	-9,2	16,3	-20,1	16,8	1,935	0,141
<b>PAD</b>										
Repouso (mmHg)	82	5	80	9	86	11	85	10	0,889	0,456
60 min (mmHg)	83	9	84	8	86	10	85	10	0,237	0,870
Acordado (mmHg)	80	8	75	8	79	7	71	9	2,847	0,051
Dormindo (mmHg)	75	11	70	8	76	10	71	10	1,083	0,369
24 Horas (mmHg)	82	8	73	7	79	8	71*	9	3,999	0,015
$\Delta\%$ 60 min	0,4	5,9	4,1	4,8	1,0	7,2	0,1	7,4	0,796	0,504
$\Delta\%$ Acordado	-1,5	5,2	-4,7	7,3	-6,8	8,1	-13,9†	6,2	5,917	0,002
$\Delta\%$ Dormindo	-6,6	9,1	-10,0	8,0	-9,2	11,1	-13,2	7,3	0,923	0,439
$\Delta\%$ 24 horas	-3,3	6,1	-6,8	6,9	-7,6	8,4	-14,5*	6,4	4,505	0,009

DP: desvio padrão; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica;  $\Delta\%$ : +/- porcentagem de alteração do valor de "descanso". \*:  $p < 0,05$  vs. controle-placebo (post-hoc de Tukey); \*\*:  $p < 0,05$  vs. controle-placebo e controle-citrulina (post-hoc de Games-Howell); †:  $p < 0,05$  vs. controle-placebo e controle-citrulina (post-hoc de Tukey).

**Tabela 3 – Tamanho de efeito do teste t pareado (versus repouso [d = média/DP])**

	Controle-Placebo		Controle-Citrulina		Exercício-Placebo		Exercício-Citrulina	
	TE	p	TE	p	TE	p	TE	p
<b>PAS</b>								
60 min	0,61	0,084	-0,56	0,109	0,53	0,127	1,81	< 0,001
Acordado	0,69	0,055	0,26	0,428	1,00	0,011	0,74	0,042
Dormindo	0,73	0,044	0,65	0,068	0,83	0,027	0,78	0,034
24 horas	0,92	0,017	0,48	0,156	0,57	0,102	0,88	0,020
<b>PAD</b>								
60 min	-0,12	0,717	-0,91	0,018	-0,12	0,707	-0,01	0,968
Acordado	0,32	0,333	0,71	0,051	0,81	0,030	2,06	< 0,001
Dormindo	0,84	0,027	1,21	0,004	0,90	0,019	2,16	< 0,001
24 horas	0,04	0,905	0,97	0,014	0,65	0,071	2,27	< 0,001

DP: desvio padrão; TE: tamanho do efeito; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica.

**Tabela 4 – Porcentagem de respondedores e não respondedores e alterações percentuais interindividuais (mín; máx) nos grupos Controle-Placebo, Controle-Citrulina, Exercício-Placebo e Exercício-Citrulina**

	Controle-Placebo		Controle-Citrulina		Exercício-Placebo		Exercício-Citrulina	
	N	Mín:Máx (%)	N	Mín:Máx (%)	N	Mín:Máx (%)	N	Mín:Máx (%)
<b>PAS</b>								
<b>60 min</b>								
Respondedores	5	(-2;-7)	2	(-2;-4)	7	(-2;-17)	9	(-2;-18)
Não-respondedores	5	(-1;2)	8	(-1;17)	3	(0;10)	1	(-1;-1)
<b>Acordado</b>								
Respondedores	8	(-2;-18)	6	(-4;-16)	6	(-9;-24)	10	(-3;-33)
Não-respondedores	2	(0;9)	4	(5;16)	4	(2;13)	0	-
<b>Dormindo</b>								
Respondedores	8	(-5;-21)	6	(-2;-33)	6	(-8;-32)	9	(-3;-28)
Não-respondedores	2	(4;7)	4	(-1;9)	4	(0;13)	1	(1;1)
<b>24 horas</b>								
Respondedores	8	(-5;-18)	6	(-2;-20)	6	(-6;-26)	9	(-2;-31)
Não-respondedores	2	(0;9)	4	(-1;14)	4	(1;11)	1	(-1;-1)
<b>PAD</b>								
<b>60 min</b>								
Respondedores	4	(-3;-13)	1	(-7;-7)	3	(-3;-10)	3	(-3;-13)
Não-respondedores	6	(0;12)	9	(1;14)	7	(-1;18)	7	(-2;22)
<b>Acordado</b>								
Respondedores	5	(-3;-13)	7	(-2;-19)	6	(-3;-21)	10	(-8;-27)
Não-respondedores	5	(-1;10)	3	(0;10)	4	(-1;1)	0	-
<b>Dormindo</b>								
Respondedores	7	(-6;-30)	10	(-1;-31)	8	(-3;-28)	10	(-6;-28)
Não-respondedores	3	(2;5)	0	-	2	(6;6)	0	-
<b>24 horas</b>								
Respondedores	6	(-3;-15)	8	(-1;-20)	8	(-3;-22)	10	(-7;-25)
Não-respondedores	4	(-2;6)	2	(5;5)	2	(-2;2)	0	-

PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica.

Todos os participantes do EC apresentaram uma redução na PA diastólica nos grupos "acordado", "dormindo" e 24 horas (Figura 3).

## Discussão

Os principais achados deste estudo foram: (i) houve considerável variabilidade da responsividade interindividual nas respostas sistólica e diastólica da PA seguindo todos os protocolos experimentais, (ii) apesar da variabilidade da responsividade interindividual, a HPE ocorreu somente quando associada à suplementação com CM. Que seja de nosso conhecimento, este é o primeiro relato de análise interindividual da HPE após uma única sessão de exercício aeróbico precedido pela suplementação com CM em indivíduos hipertensos.

Ao contrário de outros grupos experimentais, não houve "não-respondedores" no EC para os grupos "acordado"

(PA sistólica e diastólica) e 24 horas (PA diastólica). Estes resultados são interessantes, uma vez que os "não respondedores" foram geralmente identificados em populações não-hipertensas<sup>9,10</sup> e hipertensas.<sup>5,6</sup> É importante esclarecer que, em um grupo de intervenção, alguns indivíduos podem demonstrar melhora em um determinado desfecho ("respondedor"), enquanto outros não apresentam alterações ou apresentam até mesmo uma resposta adversa ao treinamento físico ("não respondedores" ou "respondedores adversos").<sup>9</sup> De fato, a heterogeneidade das respostas ao treinamento físico é uma preocupação atual das investigações sobre exercícios,<sup>29</sup> já que mesmo amostras homogêneas podem demonstrar uma ampla gama de respostas heterogêneas.<sup>12</sup> Além disso, os resultados da HPE geralmente estão limitados a apresentar reduções médias no grupo experimental, ignorando as variações interindividuais,<sup>12</sup> o que pode levar a erros de interpretação, já que nem todos os indivíduos respondem favoravelmente.

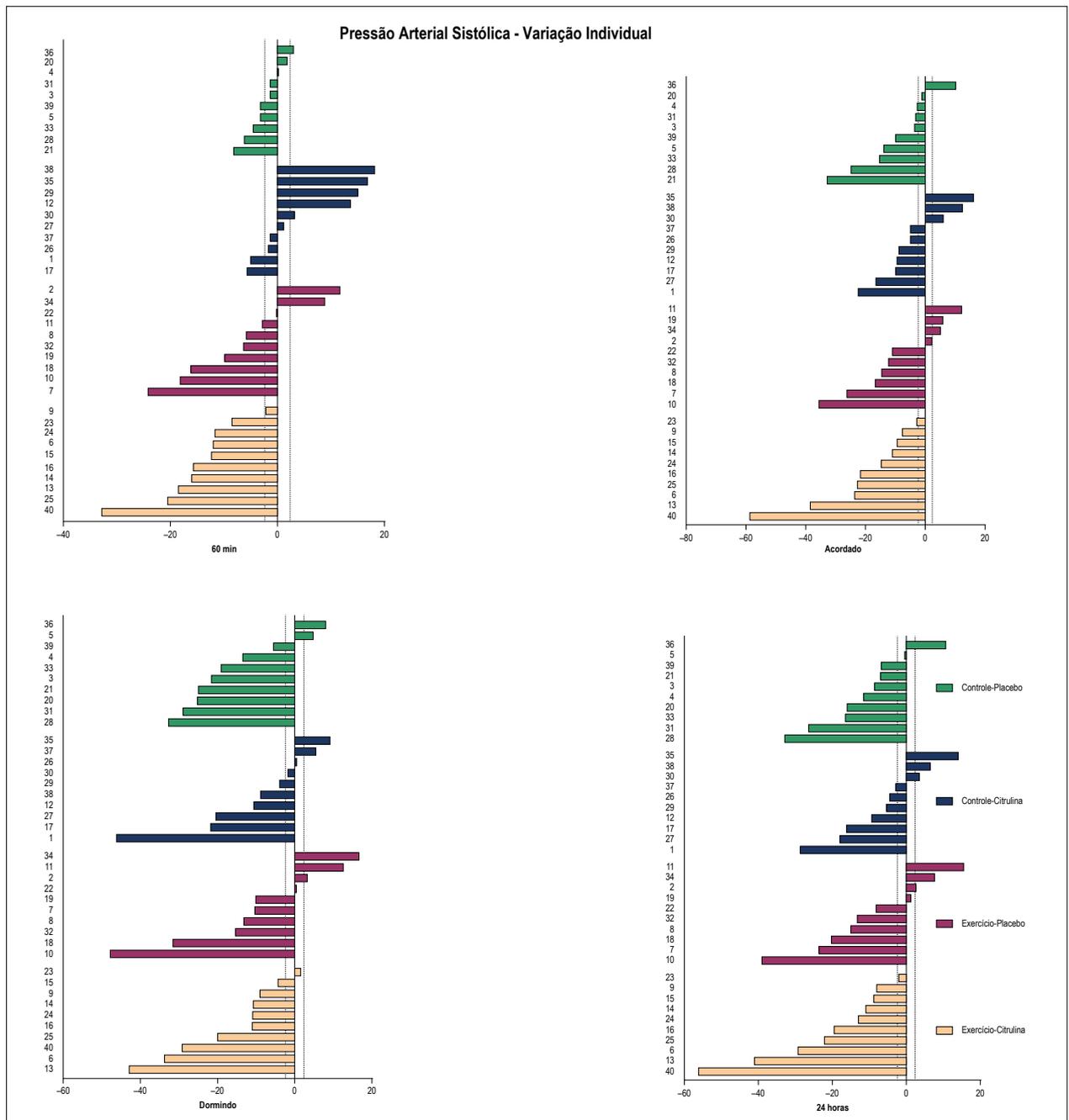


Figura 2 – Alterações individuais - Pressão arterial sistólica. Linha tracejada: MMD (mínima mudança detectável).

É importante considerar que os resultados relatados por medidas de tendência central podem variar dependendo da análise. Em estudos médicos, é comum realizar medições antes e depois das intervenções médicas. Como medir as mudanças a partir da linha basal é uma questão comum colocada pelos pesquisadores. Por exemplo, no presente estudo, quando os valores absolutos foram utilizados para comparações intergrupos (Tabela 2), não foram encontradas diferenças estatísticas para a PA sistólica. Por outro lado, utilizando a diferença percentual (delta), uma redução significativa foi encontrada no EC para o grupo “60 min” pós-exercício. Outra inconsistência pode ser observada na análise da PA

diastólica. Quando valores absolutos foram utilizados para comparações intergrupos, uma diferença significativa foi encontrada na EC para “24 horas” pós-exercício. Por outro lado, utilizando a diferença percentual, foram encontradas reduções significativas no EC para “acordado” e “24 horas” pós-exercício. Em situações específicas, alguns estudos (por exemplo, Vickers)<sup>30</sup> sugeriram evitar o uso de alterações percentuais. Apesar dessas inconsistências, os médicos podem preferir escolher o método que demonstrará mais claramente a melhoria da saúde. Alguns pesquisadores podem escolher o método mais bem compreendido pela maioria das pessoas interessadas na pesquisa.

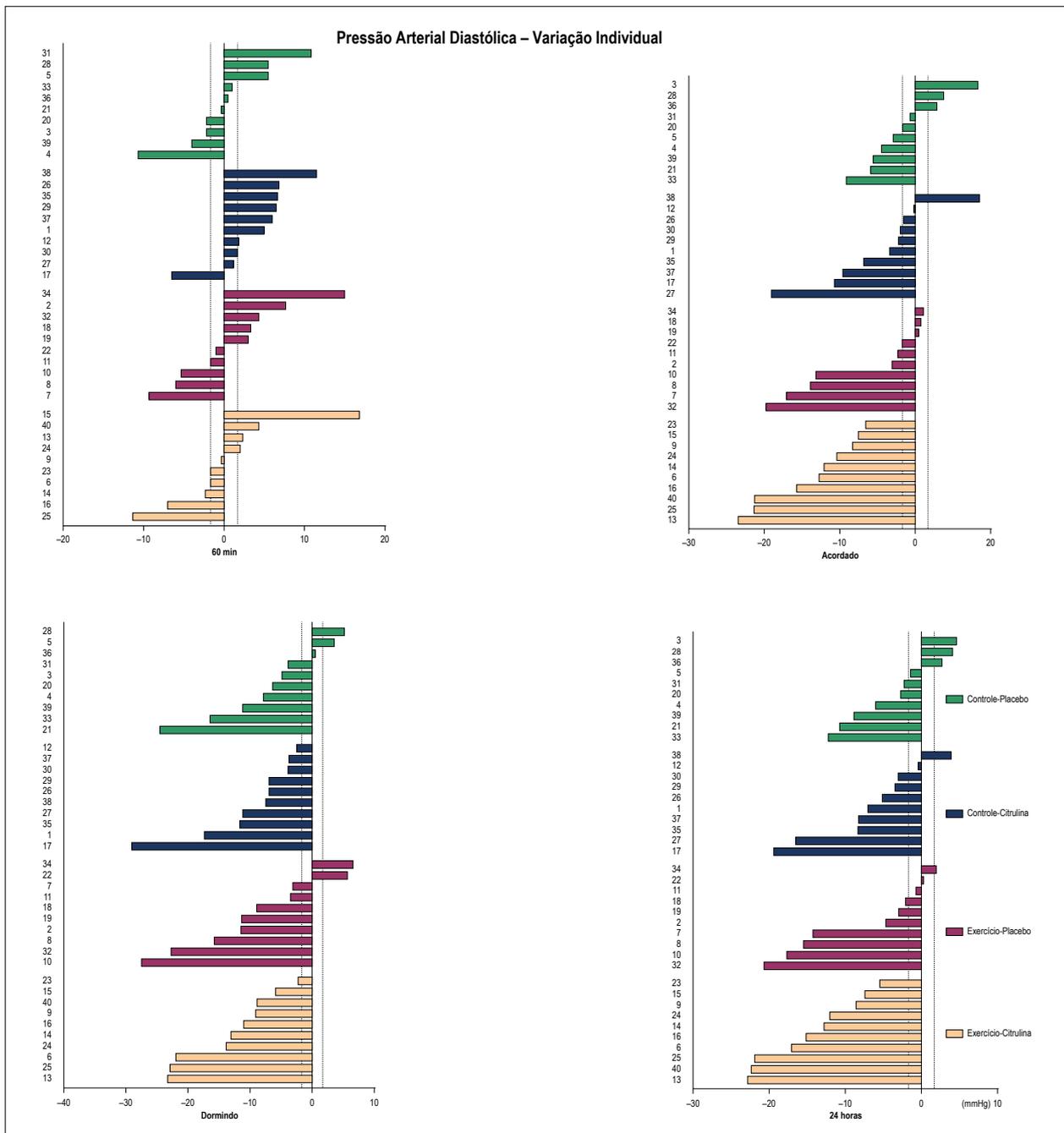


Figura 3 – Alterações individuais - Pressão arterial diastólica. Linha tracejada: MMD (mínima mudança detectável).

No entanto, uma das questões mais comuns que conduz a avaliação dos programas de intervenção é "como este efeito se compara com os efeitos de outras intervenções?". Portanto, estudos anteriores encorajaram o uso do "tamanho de efeito" em estudos quantitativos.<sup>31</sup> Pesquisadores são frequentemente estimulados a relatar tamanhos de efeito por três razões. Primeiro, por apresentarem a magnitude dos efeitos relatados em uma métrica padronizada; segundo, os tamanhos de efeito permitem que os pesquisadores extraiam conclusões meta-analíticas comparando tamanhos de efeito

padronizados entre estudos e, terceiro, tamanhos de efeito de estudos anteriores podem ser utilizados no planejamento de um novo estudo, fornecendo uma indicação do tamanho médio da amostra necessária.<sup>32</sup> No presente estudo, descobrimos que os tamanhos de efeito (do teste *t* pareado [versus repouso]) foram mais consistentes no grupo EC para as respostas sistólica e diastólica da PA ambulatorial; entretanto, é importante ressaltar que para a PA diastólica os efeitos foram "grandes" (> 0,8) para "acordado", "dormindo" e "24 horas" no grupo EC.

Apesar de algumas inconsistências nos resultados do "tamanho de efeito" para a PA sistólica e diastólica em outros grupos experimentais, a porcentagem de "respondedores" e "não respondedores" e mudanças percentuais interindividuais nos diferentes grupos (Tabela 4) podem ajudar o entendimento. Não houve "não-respondedores" no grupo EC para as respostas da PA sistólica e diastólica para "acordado" (sistólica e diastólica), "dormindo" e "24 horas" (diastólica). Essas respostas são importantes, considerando-se que a resposta da PA após uma única sessão de exercício foi considerada uma ferramenta clínica preditiva simples que pode ajudar a identificar e gerenciar indivíduos com "alta responsividade" e "baixa responsividade" ao treinamento físico.<sup>33</sup>

Em relação aos mecanismos fisiológicos que podem estar envolvidos nessa resposta, hipotetizamos que a redução da resistência vascular devido ao aumento da concentração de NO poderia potencializar a HPE. Estudos anteriores relataram que a suplementação oral com citrulina aumenta a concentração plasmática de arginina e aumenta a produção de NO pelo ciclo citrulina-NO.<sup>34,35</sup> É justamente devido à essa vasodilatação, resultante da maior liberação de NO, que a suplementação oral com citrulina pode potencializar a resposta da HPE, especialmente em indivíduos hipertensos. É importante ressaltar que os hipertensos apresentam deficiência nos moduladores da vasodilatação periférica, como um mecanismo de compensação, de forma que o sistema nervoso autônomo pode trabalhar para reduzir o débito cardíaco.<sup>2,14</sup> Por essa razão, esperamos que a suplementação oral com citrulina possa contribuir para melhorar os mecanismos de vasodilatação periférica em indivíduos hipertensos, resultando em maior magnitude e/ou duração da HPE. Infelizmente, no presente estudo, não avaliamos importantes biomarcadores de NO, como o nitrito e o nitrato.

Independentemente dos mecanismos envolvidos nessa resposta, o presente estudo demonstrou que o exercício associado à suplementação com citrulina (intermediário do metabolismo do NO) causou maior efeito hipotensor, e que esse efeito pode durar até 24 horas. Esse achado sugere que o NO pode estar envolvido nessa resposta,<sup>36</sup> podendo ser hiperestimulado pelo exercício somado à citrulina, em comparação com cada um isoladamente.

Com relação aos resultados dos grupos CP e CC, esperávamos que a suplementação aguda com citrulina, independente do exercício, pudesse contribuir para melhorar o efeito da hipotensão, resultando em uma menor prevalência de "não respondedores" em comparação com o CP. Contradizendo nossa hipótese, os resultados indicam que a suplementação aguda com citrulina não esteve relacionada à menor prevalência de "não respondedores". Estudos anteriores demonstraram que a ingestão aguda de citrulina aumentou a síntese de NO, mas a vasodilatação mediada pelo endotélio não melhorou em idosos com insuficiência cardíaca.<sup>37</sup> Estudos recentes avaliaram a função endotelial após alguns dias de suplementação com citrulina. Bailey et al.,<sup>38</sup> encontraram aumentos nos níveis de nitrito (21%) após 7 dias de suplementação com citrulina em homens jovens saudáveis. Da mesma forma, a suplementação oral com citrulina (6 g/dia) por 7 dias aumentou os níveis plasmáticos de nitrato em 37% em homens de meia-idade

com rigidez arterial aumentada.<sup>39</sup> Evidências sugerem que os níveis de PA em repouso podem influenciar o efeito hipotensor da suplementação com citrulina. Por exemplo, estudos anteriores encontraram reduções na PA (7/3 mmHg) após 8 semanas de suplementação com citrulina (6 g/dia) em mulheres obesas na pós-menopausa, pré-hipertensas e hipertensas.<sup>40</sup> Portanto, supomos que a suplementação com citrulina (sem exercício) pode induzir vasodilatação somente depois de algumas semanas.

Apesar dos achados interessantes deste estudo, é importante considerar que não há um consenso na distinção entre "respondedores" e "não respondedores" devido à falta de concordância na definição de "resposta" como uma mudança clinicamente relevante ou claramente mensurável.<sup>41</sup> Além disso, as medidas da PA incorporam algum grau de erro (ruído de instrumentação + ruído biológico), e alterações podem ocorrer devido a fatores independentes da intervenção (variabilidade biológica).<sup>42</sup> Por essa razão, os autores decidiram não aplicar um construto teórico (baseado em DP, intervalos de confiança ou mudança mínima digna de nota) para determinar até que ponto as mudanças foram o resultado direto da intervenção ou de causas externas efetivamente "aleatórias". Por outro lado, é importante ressaltar que, independente do grau teórico de erro adotado, o grupo EC apresentou mais indivíduos "responsivos" em todas as situações hipotéticas.

Algumas limitações deste estudo devem ser consideradas. Os resultados dos poucos estudos disponíveis diferem consideravelmente, tornando as comparações relativamente difíceis. Embora as terapias medicamentosas não tenham sido alteradas durante o estudo, os pacientes estavam usando diferentes tipos de medicação, e esse fator pode ter afetado os resultados. Além disso, recomenda-se que estudos futuros incluam medidas de disponibilidade de NO, como nitrito e nitrato. Essas medidas, associadas à avaliação de mecanismos importantes como a resistência vascular periférica e o débito cardíaco, podem nos ajudar a compreender a ação da citrulina associada ao exercício em hipertensos.

## Conclusão

Esses resultados sugerem que a suplementação aguda de CM pode aumentar os efeitos hipotensivos pós-exercício em hipertensos. Além disso, a prevalência de "não respondedores" é menor quando associamos exercícios aeróbicos e suplementação com CM.

## Mensagens clínicas

- Houve considerável variabilidade da responsividade interindividual nas respostas da PA sistólica e diastólica seguindo-se todos os protocolos experimentais.
- Apesar da variabilidade da resposta interindividual, houve uma potencialização da HPE através da suplementação com CM.

## Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa, Análise estatística e Obtenção de financiamento: Casonatto J; Obtenção de

dados: Enokida DM, Grandolfi K; Análise e interpretação dos dados: Casonatto J, Enokida DM, Grandolfi K; Redação do manuscrito: Casonatto J, Enokida DM; Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Grandolfi K.

### Potencial conflito de interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

### Fontes de financiamento

O presente estudo foi financiado pela FUNADESP.

### Vinculação acadêmica

Este artigo é parte de dissertação de Mestrado de Daniel Massaharu Enokida pela Universidade Norte do Paraná.

### Aprovação ética e consentimento informado

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Norte do Paraná sob o número de protocolo CAAE: 78697617.4.0000.0108 - Número do Parecer: 2.593.090. Todos os procedimentos envolvidos nesse estudo estão de acordo com a Declaração de Helsinki de 1975, atualizada em 2013. O consentimento informado foi obtido de todos os participantes incluídos no estudo.

## Referências

1. Kenney MJ, Seals DR. Postexercise hypotension. Key features, mechanisms, and clinical significance. *Hypertension*. 1993;22(5):653-64.
2. Rondón MUB, Alves MJ, Braga AM, Teixeira OT, Barretto AC, Krieger EM, et al. Postexercise blood pressure reduction in elderly hypertensive patients. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39(4):676-82.
3. Halliwill JR, Buck TM, Laceywell AN, Romero SA. Postexercise hypotension and sustained postexercise vasodilatation: what happens after we exercise? *Exp Physiol*. 2013;98(1):7-18.
4. Hecksteden A, Grutters T, Meyer T. Association between postexercise hypotension and long-term training-induced blood pressure reduction: a pilot study. *Clin J Sport Med*. 2013;23(1):58-63.
5. Kiviniemi AM, Hautala AJ, Karjalainen JJ, Piira OP, Lepojarvi S, Ukkola O, et al. Acute post-exercise change in blood pressure and exercise training response in patients with coronary artery disease. *Front Physiol*. 2015 Jan 12;5:526.
6. Moreira SR, Cucato GG, Terra DF, Ritti-Dias RM. Acute blood pressure changes are related to chronic effects of resistance exercise in medicated hypertensives elderly women. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2016;36(3):242-8.
7. Liu S, Goodman J, Nolan R, Lacombe S, Thomas SG. Blood pressure responses to acute and chronic exercise are related in prehypertension. *Med Sci Sports Exerc*. 2012;44(9):1644-52.
8. Tibana RA, de Sousa NM, da Cunha Nascimento D, Pereira GB, Thomas SG, Balsamo S, et al. Correlation between acute and chronic 24-hour blood pressure response to resistance training in adult women. *Int J Sports Med*. 2015;36(1):82-9.
9. Costa EC, Dantas TC, de Farias Junior LF, Frazao DT, Prestes J, Moreira SR, et al. Inter- and intra-individual analysis of post-exercise hypotension following a single bout of high-intensity interval exercise and continuous exercise: a pilot study. *Int J Sports Med*. 2016;37(13):1038-43.
10. Bonsu B, Terblanche E. The training and detraining effect of high-intensity interval training on post-exercise hypotension in young overweight/obese women. *Eur J Appl Physiol*. 2016;116(1):77-84.
11. Lima AH, Miranda AS, Correia MA, Soares AH, Cucato GG, Sobral Filho DC, et al. Individual blood pressure responses to walking and resistance exercise in peripheral artery disease patients: are the mean values describing what is happening? *J Vasc Nurs*. 2015;33(4):150-6.
12. Buford TW, Roberts MD, Church TS. Toward exercise as personalized medicine. *Sports Med*. 2013;43(3):157-65.
13. Breuillard C, Cynober L, Moinard C. Citrulline and nitrogen homeostasis: an overview. *Amino Acids*. 2015;47(4):685-91.
14. Floras JS, Wesche J. Haemodynamic contributions to post-exercise hypotension in young adults with hypertension and rapid resting heart rates. *J Hum Hypertens*. 1992;6(4):265-9.
15. Coats AJ, Conway J, Isea JE, Pannarale G, Sleight P, Somers VK. Systemic and forearm vascular resistance changes after upright bicycle exercise in man. *J Physiol*. 1989 Jun;413:289-98.
16. Isea JE, Piepoli M, Adamopoulos S, Pannarale G, Sleight P, Coats AJ. Time course of haemodynamic changes after maximal exercise. *Eur J Clin Invest*. 1994;24(12):824-9.
17. Coelho-Junior HJ, Irigoyen MC, Aguiar SDS, Goncalves IO, Camara NOS, Cenedeze MA, et al. Acute effects of power and resistance exercises on hemodynamic measurements of older women. *Clin Interv Aging*. 2017 Jul 11;12:1103-14.
18. Santana HA, Moreira SR, Asano RY, Sales MM, Cordova C, Campbell CS, et al. Exercise intensity modulates nitric oxide and blood pressure responses in hypertensive older women. *Aging Clin Exp Res*. 2013;25(1):43-8.
19. Asano RY, Browne RAV, Sotero RC, Sales MM, Moraes JFVN, Campbell CS, et al. Cycling above rather than below lactate threshold is more effective for nitric oxide release and post-exercise blood pressure reduction in individuals with type-2 diabetes. *Motriz*. 2013;19(3):633-40.
20. Simoes HG, Asano RY, Sales MM, Browne RA, Arsa G, Motta-Santos D, et al. Type 2 diabetes elicits lower nitric oxide, bradykinin concentration and kallikrein activity together with higher DesArg(9)-BK and reduced post-exercise hypotension compared to non-diabetic condition. *PLoS One*. 2013;8(11):e80348.
21. Allerton TD, Proctor DN, Stephens JM, Dugas TR, Spielmann G, Irving BA. L-Citrulline supplementation: impact on cardiometabolic health. *Nutrients*. 2018;10(7):pii: E921.
22. Borg G. Borg's perceived exertion and pain scales. Champaign: Human Kinetics; 1998.
23. Gordon CC, Chumlea WC, Roche AF. Stature, recumbent length, and weight. In: Lohman TG, Roche AF, Martorell R, editors. Champaign: Human Kinetics Books; 1988. 3-8 p.
24. Coleman A, Freeman P, Steel S, Shennan A. Validation of the Omron MX3 Plus oscillometric blood pressure monitoring device according to the European Society of Hypertension international protocol. *Blood Press Monit*. 2005;10(3):165-8.
25. Pickering TG, Hall JE, Appel LJ, Falkner BE, Graves J, Hill MN, et al. Recommendations for blood pressure measurement in humans and experimental animals: part 1: blood pressure measurement in humans: a statement for professionals from the Subcommittee of Professional and Public Education of the American Heart Association Council on High Blood Pressure Research. *Circulation*. 2005;111(5):697-716.

26. Casonatto J, Tinucci T, Dourado AC, Polito M. Cardiovascular and autonomic responses after exercise sessions with different intensities and durations. *Clinics (Sao Paulo)*. 2011;66(3):453-8.
27. Haley SM, Fragala-Pinkham MA. Interpreting change scores of tests and measures used in physical therapy. *Phys Ther*. 2006;86(5):735-43.
28. Darter BJ, Rodriguez KM, Wilken JM. Test-retest reliability and minimum detectable change using the K4b2: oxygen consumption, gait efficiency, and heart rate for healthy adults during submaximal walking. *Res Q Exerc Sport*. 2013;84(2):223-31.
29. Mann TN, Lamberts RP, Lambert MI. High responders and low responders: factors associated with individual variation in response to standardized training. *Sports Med*. 2014;44(8):1113-24.
30. Vickers AJ. The use of percentage change from baseline as an outcome in a controlled trial is statistically inefficient: a simulation study. *BMC Med Res Methodol*. 2001;1:6.
31. Sullivan GM, Feinn R. Using effect size-or why the P value is not enough. *J Grad Med Educ*. 2012;4(3):279-82.
32. Lakens D. Calculating and reporting effect sizes to facilitate cumulative science: a practical primer for t-tests and ANOVAs. *Front Psychol*. 2013 Nov 26;4:863.
33. Luttrell MJ, Halliwill JR. Recovery from exercise: vulnerable state, window of opportunity, or crystal ball? *Front Physiol*. 2015 Jul 22;6:204.
34. Schwedhelm E, Maas R, Freese R, Jung D, Lukacs Z, Jambrecina A, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of oral L-citrulline and L-arginine: impact on nitric oxide metabolism. *Br J Clin Pharmacol*. 2008;65(1):51-9.
35. Mori M. Regulation of nitric oxide synthesis and apoptosis by arginase and arginine recycling. *J Nutr*. 2007;137(6 Suppl 2):1616S-20S.
36. McKinley-Barnard S, Andre T, Morita M, Willoughby DS. Combined L-citrulline and glutathione supplementation increases the concentration of markers indicative of nitric oxide synthesis. *J Int Soc Sports Nutr*. 2015 Jun 10;12:27.
37. Kim IY, Schutzler SE, Schrader A, Spencer HJ, Azhar G, Deutz NE, et al. Acute ingestion of citrulline stimulates nitric oxide synthesis but does not increase blood flow in healthy young and older adults with heart failure. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2015;309(11):E915-24.
38. Bailey SJ, Blackwell JR, Lord T, Vanhatalo A, Winyard PG, Jones AM. L-Citrulline supplementation improves O2 uptake kinetics and high-intensity exercise performance in humans. *J Appl Physiol (1985)*. 2015;119(4):385-95.
39. Ochiai M, Hayashi T, Morita M, Ina K, Maeda M, Watanabe F, et al. Short-term effects of L-citrulline supplementation on arterial stiffness in middle-aged men. *Int J Cardiol*. 2012;155(2):257-61.
40. Wong A, Alvarez-Alvarado S, Jaime SJ, Kinsey AW, Spicer MT, Madzima TA, et al. Combined whole-body vibration training and L-citrulline supplementation improves pressure wave reflection in obese postmenopausal women. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2016;41(3):292-7.
41. Hecksteden A, Kraushaar J, Scharhag-Rosenberger F, Theisen D, Senn S, Meyer T. Individual response to exercise training - a statistical perspective. *J Appl Physiol (1985)*. 2015;118(12):1450-9.
42. Swinton PA, Hemingway BS, Saunders B, Gualano B, Dolan E. A statistical framework to interpret individual response to intervention: paving the way for personalized nutrition and exercise prescription. *Front Nutr*. 2018 May 28;5:41.

