

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GISLAINE CRISTINA DE SOUZA

EFEITO DA INGESTÃO DE CAFÉINA SOBRE A RESPOSTA SISTÊMICA,
METABOLISMO INTRAMUSCULAR E O DESENVOLVIMENTO DA FADIGA
NEUROMUSCULAR DURANTE EXERCÍCIO AERÓBIO NO DOMÍNIO SEVERO

CURITIBA

2021

GISLAINE CRISTINA DE SOUZA

EFEITO DA INGESTÃO DE CAFEÍNA SOBRE A RESPOSTA SISTÊMICA,
METABOLISMO INTRAMUSCULAR E O DESENVOLVIMENTO DA FADIGA
NEUROMUSCULAR DURANTE EXERCÍCIO AERÓBIO NO DOMÍNIO SEVERO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Educação Física, do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Educação Física.

Orientador: Prof. Dr. Adriano Eduardo Lima da Silva

CURITIBA

2021

Universidade Federal do Paraná
Sistema de Bibliotecas
(Giana Mara Seniski Silva – CRB/9 1406)

Souza, Gislaine Cristina de

Efeito da ingestão de cafeína sobre a reposta sistêmica, metabolismo intramuscular e o desenvolvimento da fadiga neuromuscular durante exercício aeróbio no domínio severo. / Gislaine Cristina de Souza. – Curitiba, 2021.

106 p.: il.

Orientador: Adriano Eduardo Lima da Silva.

Tese (doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Educação Física.

1. Exercícios aeróbicos. 2. Cafeína. 3. Fadiga. 4. Ventilação pulmonar.
I. Título. II. Silva, Adriano Eduardo Lima da. III. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Educação Física.

CDD (22. ed.) 613.71

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em EDUCAÇÃO FÍSICA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **GISLAINE CRISTINA DE SOUZA** intitulada: **"EFEITO DA INGESTÃO DE CAFEÍNA SOBRE A RESPOSTA SISTÊMICA, METABOLISMO INTRAMUSCULAR E O DESENVOLVIMENTO DA FADIGA NEUROMUSCULAR DURANTE EXERCÍCIO AERÓBIO NO DOMÍNIO SEVERO"**, sob orientação do Prof. Dr. ADRIANO EDUARDO LIMA DA SILVA, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 01 de Fevereiro de 2021.

Assinatura Eletrônica

03/02/2021 10:09:59.0

ADRIANO EDUARDO LIMA DA SILVA
Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

03/02/2021 14:35:31.0

MARCOS DAVID DA SILVA CAVALCANTE
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO)

Assinatura Eletrônica

03/02/2021 16:20:18.0

GLEBER PEREIRA
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

03/02/2021 20:37:18.0

ROMULO CÁSSIO DE MORAES BERTUZZI
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO)

Dedico esta tese de doutorado ao eterno Professor Doutor Fernando Roberto de Oliveira (*in memoriam*), um incentivador, amorista e contador de histórias que jamais será esquecido. Sua mania de transformar seu trabalho árduo em esperança sempre será um exemplo para muitos. Pois, “Todo aperto sempre será pouco!”.

AGRADECIMENTOS

À Deus, meu pai Oxalá, todos os orixás, santos e anjos que me deram forças para jamais perder o foco e a fé durante todo esse percurso do doutorado e na execução deste trabalho.

Aos meus pais, Silvia Souza e Maurício Souza, por acreditarem no meu potencial e serem sempre ouvintes e parceiros para o que fosse necessário.

Ao meu *namorado* Giovani Marques pela compreensão e companheirismo em todos os momentos, por estar sempre me apoiando em todas as minhas decisões na execução de um doutorado “itinerante” e se doar inteiramente a essa causa durante todos esses anos.

Ao meu orientador Adriano E. Lima-Silva, que acredito ter se tornado um grande amigo nessa caminhada. Agradeço por ter me aceitado como sua orientanda, por ser tão paciente e compreensivo em todos os momentos, repassando o máximo de sua experiência, tanto na manutenção da vida acadêmica, como em fazer piadas ruins.

Ao meu eterno “*desorientador*” Fernando De-Oliveira (*in memoriam*) por todos os ensinamentos para a vida e por ter sido uma luz na minha caminhada. Ele e o CRIA-Lavras são os grandes culpados por eu ter chegado até aqui. Acredito que posso afirmar: “*Lutei com leões!*”.

Ao professor André Luiz Felix Rodacki (UFPR) por apoiar direta e indiretamente em vários momentos da minha formação na pós-graduação, sendo crucial para que esse doutorado fosse realizado.

Ao professor David J. Bishop (Victoria University – Austrália) por nos ajudar na criação de um desenho experimental inovador e, prontamente, se disponibilizar para auxiliar na condução do estudo, sendo um dos grandes idealizadores desse projeto.

Ao Grupo de Pesquisa em Performance Humana (UFPR/UTFPR) pelo companheirismo, paciência e colaboração. Em especial a Ana Carla S. Mariano e a Pâmela S. Santos que auxiliaram na coleta de dados e acompanharam meus desesperos e alegrias, sempre resilientes e prontamente dispostas para que tudo fosse executado da melhor maneira possível. Lógico, com “resenhas” memoráveis e muito sushi, chocolate e paçoca.

Ao Grupo de Estudo em Desempenho Aeróbio (USP) pelo acolhimento, em especial ao Professor Rômulo Bertuzzi por todo auxílio e por ter sido um co-orientador em tantos momentos, estando prontamente disposto a me auxiliar. E ao Luiz Riani, André Casanova e Júlio Hasegawa, grandes companheiros na loucura de conduzir uma coleta que fizesse biópsia muscular ainda no cicloergômetro. E, também, ao Arthur Gáspari e Alex Castro (UNICAMP) pelo auxílio nas análises e pela disposição em deixar esse doutorado ainda mais interessante com uma passagem pelo LNBio em Campinas.

Ao Programa de Pós-Graduação em Educação Física da Universidade Federal do Paraná, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pela concessão da bolsa de doutorado e a população brasileira pelo financiamento dessa bolsa. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“Rir muito e com frequência; ganhar o respeito de pessoas inteligentes e o afeto das crianças; merecer a consideração de críticos honestos e suportar a traição de falsos amigos; apreciar a beleza, encontrar o melhor nos outros; deixar o mundo um pouco melhor, seja por uma saudável criança, um canteiro de jardim ou uma redimida condição social; saber que ao menos uma vida respirou mais fácil porque você viveu.

Isso é ter sucesso!

(RALPH WALDO EMERSON)

RESUMO

A cafeína (CAF) aumenta a capacidade de manutenção no consumo máximo de oxigênio durante um exercício aeróbio no domínio severo realizado em cicloergômetro, entretanto os mecanismos desse fenômeno ainda não foram explorados. No presente estudo, foi testada a hipótese de que a CAF poderia preservar a saturação arterial de oxigênio via aumento da ventilação pulmonar, o que poderia atenuar a taxa de desenvolvimento de fadiga periférica durante o exercício aeróbio no domínio severo. Para verificar essa hipótese, foram realizados dois estudos experimentais separadamente. No primeiro desenho experimental, dez homens fisicamente ativos realizaram dois testes até a exaustão no domínio de intensidade severo após a ingestão de CAF ou placebo (PLA). Nas quatro visitas seguintes, o mesmo exercício foi realizado após a ingestão de PLA ou CAF, mas o exercício foi interrompido após completar 50% e 75% da duração do teste até a exaustão do PLA. Em uma visita adicional, após a ingestão de CAF, o mesmo exercício foi realizado, porém com interrupção no momento exato da exaustão do PLA (isotime). No segundo desenho experimental, dez homens fisicamente ativos realizaram dois testes até a exaustão no domínio de intensidade severo após a ingestão de CAF ou PLA, sendo realizada biópsia do músculo vasto lateral antes e imediatamente após o exercício. A ingestão de CAF aumentou o tempo até a exaustão no primeiro desenho experimental ($p=0.017$), que foi associado com um maior tempo de manutenção no consumo máximo de oxigênio ($p=0.006$). A ingestão de CAF também aumentou a ventilação pulmonar ($p=0.021$) e preservou a saturação arterial de oxigênio ($p=0.014$). O recrutamento muscular (mensurado via atividade eletromiográfica) e o desenvolvimento de fadiga central (mensurado pela alteração do baseline para o pós-teste na ativação voluntária) foram atenuados com a ingestão de CAF ($p<0.05$). O desenvolvimento de fadiga periférica (mensurado pela alteração do baseline para o pós-teste na força de contração evocada no quadríceps) também foi atenuado com a ingestão de CAF ($p<0.05$). A ingestão de CAF também aumentou o tempo até a exaustão no segundo desenho experimental ($p<0.001$). Os metabólitos intramusculares AMP, creatina e lactato aumentaram após o exercício ($p<0.05$), enquanto creatina fosfato reduziu após o exercício ($p<0.05$). Nenhum metabólito intramuscular foi afetado pela ingestão de CAF ($p>0.05$). Em conclusão, o aumento na capacidade de se manter no consumo máximo de oxigênio durante o exercício aeróbio no domínio severo com a ingestão de CAF está associado a uma melhora na resposta ventilatória, prevenindo a redução da oxigenação arterial induzida pelo exercício, concomitante a atenuação no desenvolvimento da fadiga periférica, sem alterar o nível crítico de metabólitos intramusculares atingidos ao final do exercício, assim como, melhora do recrutamento muscular e da tolerância a fadiga central. Em conjunto, esses resultados sugerem que a CAF pode influenciar múltiplos sistemas fisiológicos, os quais podem contribuir para melhorar o desempenho durante um exercício aeróbio de intensidade severa.

Palavras-chave: Fadiga neuromuscular. Saturação arterial de oxigênio. Ventilação pulmonar. Metabólitos intramusculares. Resistência aeróbia.

ABSTRACT

Caffeine (CAF) increases the ability to maintain maximal oxidative metabolic rate during a high-intensity whole-body exercise, but the mechanisms involved in this phenomenon is underexplored. In the present study we tested the hypothesis that CAF would preserve arterial oxygenation via increased pulmonary ventilation, which would attenuate peripheral fatigue development during a high-intensity whole-body exercise. Two experimental studies were carried out separately to test this hypothesis. In the first experimental design, ten physically active men performed two task-to-failure trials at severe-intensity domain, after ingesting of either CAF or placebo (PLA). In the following four visits, the same exercise was performed after either CAF or PLA ingestion, but exercise was discontinued after completing 50% and 75% of the duration of PLA trial. An additional trial with CAF ingestion was also performed with interruption at the moment of PLA exhaustion (isotime). In the second experimental design, ten physically active men performed two task-to-failure trials at severe-intensity domain after ingesting of either CAF or PLA, and vastus lateralis muscle biopsies were carried out before and immediately after exercise. In the first experimental study, CAF ingestion increased time to task failure ($p=0.017$), which was associated with longer time maintained at maximal oxidative metabolic rate ($p=0.006$). The CAF ingestion also increased pulmonary ventilation ($p=0.021$) and preserved arterial oxygen saturation ($p=0.014$). Muscle recruitment (measured via electromyography) and central fatigue development (measured via baseline to post-trial change in voluntary activation) were attenuated with CAF ingestion ($p<0.05$). Peripheral fatigue development (measured via baseline to post-trial change in quadriceps twitch force) was also attenuated with CAF ingestion ($p<0.05$). In the second experimental study, CAF ingestion also increased time to task failure ($p<0.001$). The intramuscular metabolites AMP, creatine and lactate increased after exercise ($p<0.05$), while creatine phosphate reduced after exercise ($p<0.05$); however, intramuscular metabolites were not affected by CAF ingestion ($p>0.05$). In conclusion, the increase in ability to maintain maximal oxidative metabolic rate during a high-intensity whole-body exercise with CAF ingestion is associated with an improvement in the ventilatory response, preventing exercise-induced reduction in arterial oxygenation, which is concomitant with the attenuation in the development of peripheral fatigue without modification in the critical level of intramuscular metabolites reached at the end of exercise. CAF also improves muscular recruitment and increases tolerance to central fatigue. In summary, these results suggest that CAF can influence multiple physiological systems, which might contribute to improve performance during a high-intensity whole-body exercise.

Keywords: Neuromuscular fatigue. Arterial oxygen saturation. Pulmonary ventilation.

Intramuscular metabolites. Aerobic endurance.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - CURVA HIPERBÓLICA DA RELAÇÃO POTÊNCIA E TEMPO QUE DEFINE A TRANSIÇÃO DO DOMÍNIO PESADO PARA O SEVERO.....	27
FIGURA 2 - DESENHO EXPERIMENTAL DO ESTUDO 1.....	46
FIGURA 3 - LINHA DO TEMPO DOS PROCEDIMENTOS NOS TESTES EXPERIMENTAIS DO ESTUDO 1.....	47
FIGURA 4 - DESENHO EXPERIMENTAL DO ESTUDO 2.....	48
FIGURA 5 - LINHA DO TEMPO DOS PROCEDIMENTOS NOS TESTES EXPERIMENTAIS DO ESTUDO 2.....	49
FIGURA 6 - FIGURA ILUSTRATIVA DE UMA CVIM E DA SEQUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE ESTÍMULOS ELÉTRICOS PARA DETERMINAÇÃO DA FUNÇÃO NEUROMUSCULAR EM UMA TENTATIVA.....	54
FIGURA 7 - SEQUÊNCIA PARA OBTENÇÃO DO TECIDO MUSCULAR: 1) ANESTESIA; 2) INCISÃO COM BISTURI; 3) ENTRADA COM AGULHA DE BERGSTRÖM E; 4) POSTERIOR ARMAZENAMENTO.....	55
FIGURA 8 - VENTILAÇÃO PULMONAR (\dot{V}_E) EM 50%, 75% E NA EXAUSTÃO (EX) DE UM EXERCÍCIO AERÓBIO DE INTENSIDADE SEVERA APÓS A INGESTÃO DE PLACEBO (PLA, QUADRADO PRETO) E CAFEÍNA (CAF, QUADRADO VAZIO).63	
FIGURA 9 - PRODUÇÃO DE DIÓXIDO DE CARBONO ($\dot{V}CO_2$) EM 50%, 75% E NA EXAUSTÃO (EX) DE UM EXERCÍCIO AERÓBIO DE INTENSIDADE SEVERA APÓS A INGESTÃO DE PLACEBO (PLA, QUADRADO PRETO) E CAFEÍNA (CAF, QUADRADO VAZIO).....	63
FIGURA 10 - CONSUMO DE OXIGÊNIO ($\dot{V}O_2$) EM 50%, 75% E NA EXAUSTÃO (EX) DE UM EXERCÍCIO AERÓBIO DE INTENSIDADE SEVERA APÓS A INGESTÃO DE PLACEBO (PLA, QUADRADO PRETO) E CAFEÍNA (CAF, QUADRADO VAZIO).....	64
FIGURA 11 - FREQUÊNCIA CARDÍACA (FC) EM 50%, 75% E NA EXAUSTÃO (EX) DE UM EXERCÍCIO AERÓBIO DE INTENSIDADE SEVERA APÓS A INGESTÃO DE PLACEBO (PLA, QUADRADO PRETO) E CAFEÍNA (CAF, QUADRADO VAZIO).65	

FIGURA 12 - SATURAÇÃO ARTERIAL DE OXIGÊNIO (SAO ₂) EM 50%, 75% E NA EXAUSTÃO (EX) DE UM EXERCÍCIO AERÓBIO DE INTENSIDADE SEVERA APÓS A INGESTÃO DE PLACEBO (PLA, QUADRADO PRETO) E CAFEÍNA (CAF, QUADRADO VAZIO).....	65
FIGURA 13 - PERCEPÇÃO SUBJETIVA DE ESFORÇO GERAL (PSE _G , A) E LOCAL (PSE _L , B) EM 50%, 75% E NA EXAUSTÃO (EX) DE UM EXERCÍCIO AERÓBIO DE INTENSIDADE SEVERA APÓS A INGESTÃO DE PLACEBO (PLA, QUADRADO PRETO) E CAFEÍNA (CAF, QUADRADO VAZIO).	66
FIGURA 14 - ATIVIDADE ELETROMIOGRÁFICA (RMS) EM 50%, 75% E NA EXAUSTÃO (EX) DE UM EXERCÍCIO AERÓBIO DE INTENSIDADE SEVERA APÓS A INGESTÃO DE PLACEBO (PLA, QUADRADO PRETO) E CAFEÍNA (CAF, QUADRADO VAZIO).....	67
FIGURA 15 - FADIGA GLOBAL REPRESENTADA PELA CONTRAÇÃO VOLUNTÁRIA ISOMÉTRICA MÁXIMA (CVIM) APÓS 50%, 75% E EXAUSTÃO (EX) DE UM EXERCÍCIO AERÓBIO DE INTENSIDADE SEVERA APÓS A INGESTÃO DE PLACEBO (PLA, QUADRADO PRETO) E CAFEÍNA (CAF, QUADRADO VAZIO).	69
FIGURA 16 - FADIGA CENTRAL REPRESENTADA PELA ATIVAÇÃO VOLUNTÁRIA (AV) APÓS 50%, 75% E EXAUSTÃO (EX) DE UM EXERCÍCIO AERÓBIO DE INTENSIDADE SEVERA APÓS A INGESTÃO DE PLACEBO (PLA, QUADRADO PRETO) E CAFEÍNA (CAF, QUADRADO VAZIO).	70
FIGURA 17 - FADIGA PERIFÉRICA REPRESENTADA PELA FORÇA EVOCADA PELO ESTÍMULO POTENCIALIZADO DE 1HZ (Q _{TWPOT} ; A), ESTÍMULO DUPLO DE 10 HZ (Q _{TW10} ; B), ESTÍMULO DUPLO DE 100 HZ (Q _{TW100} ; C) APÓS 50%, 75% E EXAUSTÃO (EX) DE UM EXERCÍCIO AERÓBIO DE INTENSIDADE SEVERA APÓS A INGESTÃO DE PLACEBO (PLA, QUADRADO PRETO) E CAFEÍNA (CAF, QUADRADO VAZIO).....	71
FIGURA 18 - CONCENTRAÇÃO INTRAMUSCULAR DE ADENOSINA MONOFOSFATO (AMP) ANTES E APÓS UM EXERCÍCIO AERÓBIO DE INTENSIDADE APÓS A INGESTÃO DE PLACEBO (PLA) E CAFEÍNA (CAF).	74
FIGURA 19 - CONCENTRAÇÃO INTRAMUSCULAR DE CREATINA FOSFATO (A) E CREATINA (B) ANTES E APÓS UM EXERCÍCIO AERÓBIO DE INTENSIDADE SEVERA APÓS A INGESTÃO DE PLACEBO (PLA) E CAFEÍNA (CAF).....	74

FIGURA 20 - CONCENTRAÇÃO DE LACTATO INTRAMUSCULAR ANTES E APÓS
UM EXERCÍCIO AERÓBIO DE INTENSIDADE SEVERA APÓS A INGESTÃO DE
PLACEBO (PLA) E CAFEÍNA (CAF).....75

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - TEMPO ATÉ A EXAUSTÃO E PARÂMETROS DA CINÉTICA DE CONSUMO DE OXIGÊNIO ($\dot{V}O_2$) DURANTE UM EXERCÍCIO REALIZADO NO DOMÍNIO SEVERO ATÉ A EXAUSTÃO APÓS A INGESTÃO DE CAFEÍNA (CAF) E PLACEBO (PLA).	62
TABELA 2 - VALORES ABSOLUTOS DA FUNÇÃO NEUROMUSCULAR NO BASELINE, PRÉ-TESTE E PÓS-TESTE DURANTE O EXERCÍCIO AERÓBIO DE INTENSIDADE SEVERA ATÉ A EXAUSTÃO E QUANDO INTERROMPIDO A 50% E 75% DA EXAUSTÃO DO PLACEBO APÓS A INGESTÃO DE PLACEBO E CAFEÍNA, ASSIM COMO, O ISOTIME, EM QUE O TESTE COM CAFEÍNA CORRESPONDEU AO TEMPO DO TESTE ATÉ A EXAUSTÃO DO PLACEBO.	68
TABELA 3 - TEMPO ATÉ A EXAUSTÃO DURANTE UM EXERCÍCIO AERÓBIO NO DOMÍNIO SEVERO REALIZADO ATÉ A EXAUSTÃO APÓS A INGESTÃO DE CAFEÍNA (CAF) E PLACEBO (PLA).	73

LISTA DE SIGLAS

%RMS _{CVIM}	- Normalizado pelo RMS calculado pelos valores da CVIM
μM	- Micromolar
5-HT	- Serotonina Monoamina (5-hidroxitripina)
ADP	- Adenosina Difosfato
AMP	- Adenosina Monofosfato
ANOVA	- Análise de Variância
ATP	- Adenosina Trifosfato
AV	- Ativação Voluntária Máxima
Ca ²⁺	- Cálcio
CAF	- Cafeína
Cl ⁻	- Cloreto
Cm	- Centímetro
CONEP	- Conselho Nacional de Ética em Pesquisa
CVIM	- Contração Voluntária Isométrica Máxima
DP	- Desvio Padrão
EEFE-USP	- Escola de Educação Física e Esportes da Universidade de São Paulo
EMG	- Atividade Eletromiográfica
ES	- Tamanho de Efeito
EX	- Exaustão
FC	- Frequência Cardíaca
FC _{máx}	- Frequência Cardíaca Máxima
FID	- Decaimentos de Indução Livre
GET	- Limiar de Troca Gasosa
h	- Horas
H ⁺	- Hidrogênio
Hz	- Hertz
IC	- Intervalo de Confiança
IPAQ	- Questionário Internacional De Atividade Física
K ⁺	- Potássio
Kg	- Kilograma
L·min ⁻¹	- Litros por minuto

Ladesp Esportivo	- Laboratório de Determinantes Energéticos de Desempenho Esportivo
Lb	- <i>line broadening</i>
LNBio	- Laboratório Nacional de Biociências
log ₁₀	- Expressão logarítmica
mA	- Miliamper
mg	- Miligrama
mg.dia ⁻¹	- Miligrama por dia
mg.kg ⁻¹	- Miligramas por peso corporal
Mg ²⁺	- Magnésio
MHz	- Megahertz
min	- Minutos
ml	- Mililitros
mm	- Milímetros
mmHg	- Milímetros de mercúrio
MRT	- Tempo Médio de Resposta
Ms	- Milissegundos
mV	- Milivolts
Na ⁺	- Sódio
O ₂	- Oxigênio
Onda-M	- Potencial de Ação Muscular
PC	- Potência Crítica
PCr	- Fosfocreatina Muscular
Pi	- Fosfato Inorgânico
PSE	- Percepção Subjetiva de Esforço
PSE _G	- Percepções Subjetivas de Esforço Geral
PSE _L	- Percepções Subjetivas de Esforço Local
Q _{tw}	- Força de Contração do Quadríceps Gerada pelo Estimulo de 1 Hz
Q _{tw10}	- Força de Contração do Quadríceps Gerada pelo Estimulo de 10 Hz
Q _{tw100}	- Força de Contração do Quadríceps Gerada pelo Estimulo de 100Hz
RMN	- Ressonância Magnética Nuclear
RMS	- <i>Root Mean Square</i>
Rpm	- Rotações por Minuto
s	- Segundos

SaO_2	- Saturação Arterial de Oxigênio
SNC	- Sistema Nervoso Central
t	- Tempo
TE_{PLA}	- Tempo obtido no teste até a exaustão após ingerir placebo
UFPR	- Universidade Federal do Paraná
$\dot{V}CO_2$	- Produção de Dióxido de Carbono
\dot{V}_E	- Ventilação Pulmonar
$\dot{V}O_2$	- Consumo De Oxigênio
$\dot{V}O_{2max}$	- Consumo Máximo de Oxigênio
W	- Watts
$W \cdot \text{min}^{-1}$	- Watts por minuto
W'	- Trabalho Total Realizado Acima da Potência Crítica
WADA	- <i>World Anti-Doping Agency</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
1.1	OBJETIVOS	24
1.1.1	OBJETIVO GERAL	24
1.1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
1.2	HIPÓTESES	24
1.3	JUSTIFICATIVA	25
2	REVISÃO DE LITERATURA	26
2.1	DOMÍNIOS DE INTENSIDADE DO EXERCÍCIO	26
2.1.1	EXERCÍCIO NO DOMÍNIO SEVERO	27
2.2	FADIGA NEUROMUSCULAR	29
2.2.1	FADIGA CENTRAL	31
2.2.2	FADIGA PERIFÉRICA	33
2.3	INGESTÃO DE CAFEÍNA E DESEMPENHO	37
2.3.1	MECANISMOS DE ATUAÇÃO CENTRAL DA CAFEÍNA E DESEMPENHO	38
2.3.2	MECANISMOS DE ATUAÇÃO PERIFÉRICOS DA CAFEÍNA E DESEMPENHO	39
2.3.3	MECANISMOS DE ATUAÇÃO SISTÊMICA DA CAFEÍNA E DESEMPENHO	41
3	MATERIAIS E MÉTODOS	44
3.1	CARACTERÍSTICA DA PESQUISA	44
3.2	LOCAIS DA PESQUISA	44
3.3	AMOSTRA	44
3.4	DESENHO EXPERIMENTAL	45
3.4.1	ESTUDO 1	45
3.4.2	ESTUDO 2	48
3.5	AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA	49
3.6	REGISTRO ALIMENTAR E CONSUMO HABITUAL DE CAFEÍNA	49
3.7	QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA	50
3.8	TESTE INCREMENTAL MÁXIMO	50
3.9	TESTES EXPERIMENTAIS DE CARGA CONSTANTE	51
3.10	AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO NEUROMUSCULAR	52
3.11	BIÓPSIA MUSCULAR	54
3.12	ANÁLISES	55

3.12.1	RESPOSTAS SISTÊMICAS DURANTE O EXERCÍCIO.....	55
3.12.2	DETERMINAÇÃO DO TEMPO PARA ALCANÇAR O $\dot{V}O_{2MAX}$ E TEMPO DE MANUTENÇÃO NO $\dot{V}O_{2MAX}$	56
3.12.3	ATIVIDADE ELETROMIOGRÁFICA.....	57
3.12.4	PERCEPÇÃO SUBJETIVA DE ESFORÇO	57
3.12.5	PARÂMETROS DA FUNÇÃO NEUROMUSCULAR	57
3.12.6	ANÁLISES DO TECIDO MUSCULAR.....	58
3.13	ANÁLISE ESTATÍSTICA	59
4	RESULTADOS.....	61
4.1	ESTUDO 1	61
4.1.1	CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA DO ESTUDO 1	61
4.1.2	TEMPO DE EXAUSTÃO, TEMPO PARA ALCANÇAR O $\dot{V}O_{2MAX}$ E TEMPO DE MANUTENÇÃO NO $\dot{V}O_{2MAX}$ DURANTE OS TESTES ATÉ A EXAUSTÃO	61
4.1.3	RESPOSTAS SISTÊMICAS, PERCEPTIVAS E RECRUTAMENTO MUSCULAR DURANTE O EXERCÍCIO	62
4.1.4	DESENVOLVIMENTO DE FADIGA NEUROMUSCULAR DURANTE O EXERCÍCIO AERÓBIO NO DOMÍNIO SEVERO	67
4.1.5	SUCESO NA NÃO-DETECÇÃO DO SUPLEMENTO PELOS PARTICIPANTES DO EXPERIMENTO 1	72
4.2	ESTUDO 2	72
4.2.1	CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA DO ESTUDO 2.....	72
4.2.2	TEMPO DE EXAUSTÃO NO EXERCÍCIO AERÓBIO NO DOMÍNIO SEVERO NO ESTUDO.....	73
4.2.3	PRODUÇÃO DE METABÓLITOS INTRAMUSCULARES DURANTE O EXERCÍCIO AERÓBIO NO DOMÍNIO SEVERO NO ESTUDO 2	73
4.2.4	SUCESO NA NÃO-DETECÇÃO DO SUPLEMENTO PELOS PARTICIPANTES DO EXPERIMENTO 2	75
5	DISCUSSÃO	76
6	CONCLUSÃO	83
	REFERÊNCIAS	84
	APÊNDICE 1 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) DO ESTUDO 1	95
	APÊNDICE 2 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) DO ESTUDO 2.....	97

ANEXO 1 – LAUDO DA CAFEÍNA	101
ANEXO 2 – REGISTRO ALIMENTAR.....	102
ANEXO 3 – QUESTIONÁRIO DE CONSUMO HABITUAL DE CAFEÍNA	103
ANEXO 4 – QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA (IPAQ) .	104
ANEXO 5 – ESCALA DE PERCEPÇÃO SUBJETIVA DE ESFORÇO	106

1 INTRODUÇÃO

O declínio na capacidade de gerar força máxima induzido pelo exercício é conhecido como fadiga neuromuscular (ENOKA; DUCHATEAU, 2008; ENOKA; STUART, 1992; FITTS, 1994; FROYD; MILLET; NOAKES, 2013; TAYLOR; BUTLER; GANDEVIA, 2000). Esse fenômeno de redução temporária no desempenho pode ser atribuído a fadiga central, que limita o comando neural para a contração muscular, e/ou a fadiga periférica, que ocorre da junção neuromuscular até componentes contráteis, reduzindo a capacidade do músculo de responder a um estímulo neural (AMANN, 2011; GANDEVIA, S. C., 2001). Em especial, durante o exercício no domínio severo [i. e., qualquer exercício realizado acima da potência crítica (POOLE *et al.*, 2016)], a fadiga periférica tem maior prevalência, explicada principalmente pelo aumento progressivo no distúrbio intramuscular (AMANN, 2011; BLACK *et al.*, 2017; BURNLEY; VANHATALO; JONES, 2012; CHIDNOK *et al.*, 2013; JONES *et al.*, 2008), evidenciado pela diminuição nos níveis de fosfocreatina muscular (PCr) e aumento nas concentrações de adenosina difosfato (ADP), fosfato inorgânico (Pi) e íons de hidrogênio (H⁺) no músculo conforme passa o tempo de exercício (VANHATALO *et al.*, 2010). Evidências apontam que todos esses metabólitos são alterados até atingirem níveis críticos no momento da exaustão (i. e., falha da tarefa), o que coincide com o atingimento de níveis críticos de fadiga periférica, uma espécie de limiar individual e dependente da tarefa (AMANN, 2011).

Além disso, um ponto interessante é que o desenvolvimento de fadiga neuromuscular durante exercício aeróbio severo pode ser alterado mediante a utilização de substâncias que melhoram o desempenho. A cafeína (CAF, 1,3,7-trimetilxantina) tem sido frequentemente utilizada como uma estratégia ergogênica (BOWTELL *et al.*, 2018; PETHICK; WINTER; BURNLEY, 2018; SILVEIRA *et al.*, 2018). Embora a CAF tenha múltiplos tecidos alvo no corpo humano, tem sido proposto que os efeitos ergogênicos da CAF estão associados as suas ações no sistema nervoso central (SNC) e nos músculos esqueléticos (FREDHOLM *et al.*, 1999; MOHR, M.; NIELSEN; BANGSBO, 2011). No SNC, a CAF atua como uma antagonista aos receptores de adenosina, aumentando a excitabilidade cortical (FREDHOLM *et al.*, 1999; KALMAR; CAFARELLI, 1999) e espinhal (WALTON; KALMAR; CAFARELLI, 2003), que resulta em um facilitado recrutamento muscular (FELIPPE *et al.*, 2018) e redução na percepção de esforço da tarefa (DOHERTY,

MIKE; SMITH, 2005). No músculo esquelético, a CAF atenua o aumento da concentração de potássio plasmático/intersticial induzido pelo exercício (MOHR, M. *et al.*, 2011; SIMMONDS; MINAHAN; SABAPATHY, 2010) e melhora a contratilidade muscular (TALLIS; DUNCAN; JAMES, 2015). Nesse sentido, essas alterações centrais e periféricas podem explicar o aumento no desempenho da força, potência e resistência muscular, velocidade e resistência aeróbia após a ingestão de CAF (GRGIC *et al.*, 2020).

De particular relevância são os efeitos ergogênicos da CAF e os possíveis mecanismos responsáveis pela melhora do desempenho durante exercícios aeróbios de alta intensidade realizados recrutando grande massa muscular (por exemplo ciclismo e corrida) (BOWTELL *et al.*, 2018; SILVEIRA *et al.*, 2018; SIMMONDS *et al.*, 2010). Tem sido recentemente demonstrado que a ingestão de CAF aumenta o tempo até a exaustão durante o exercício aeróbio de intensidade severa realizado em cicloergômetro, explicado por a CAF aumentar o tempo de manutenção no consumo máximo de oxigênio ($\dot{V}O_{2max}$) (SILVEIRA *et al.*, 2018). Torna-se importante ressaltar que o exercício de alta intensidade envolvendo grande massa muscular como no cicloergômetro causa uma hipoxemia arterial significativa, um fenômeno caracterizado por um decréscimo de 5-10% na saturação de oxigênio arterial (SaO_2) em relação aos valores de repouso (ROMER; DEMPSEY, 2006), o que limita o fornecimento de oxigênio (O_2) e o desempenho de resistência aeróbia (AMANN; CALBET, 2008; DEMPSEY; WAGNER, 1999). A dessaturação arterial de O_2 pode ocorrer devido a um aumento inadequado na ventilação pulmonar (\dot{V}_E) (HARMS; STAGER, 1995). Há evidências científicas que a CAF aumenta a \dot{V}_E durante o exercício severo (CHAPMAN; STAGER, 2008; SILVEIRA *et al.*, 2018). Alguns estudos sugerem que a CAF pode atuar diretamente no centro respiratório, aumentando sua sensibilidade ao dióxido de carbono (RICHMOND, 1949), e diretamente nos brônquios, com uma possível broncodilatação induzida pela CAF (DUFFY; PHILLIPS, 1991; KIVITY *et al.*, 1990). Em conjunto, essas ações poderiam explicar o aumento da \dot{V}_E que poderia auxiliar na manutenção da SaO_2 (CHAPMAN; MICKLEBOROUGH, 2009). Curiosamente, a prevenção da dessaturação arterial de O_2 via aumento da fração inspirada de O_2 prolonga o tempo até a exaustão durante o exercício de alta intensidade, devido a uma redução na taxa de desenvolvimento de fadiga periférica (AMANN; CALBET, 2008; AMANN; ROMER; *et al.*, 2006). Uma mediação da CAF na hipoxemia induzida pelo exercício, influenciando o

desenvolvimento da fadiga periférica, pode ser um mecanismo importante que explica seu efeito ergogênico durante exercícios aeróbios de intensidade severa realizados recrutando grande massa muscular.

Recentemente durante um modelo localizado de exercício, com contrações intermitentes de extensão de joelho unilateral, alguns achados fornecem suporte para a hipótese de que a CAF pode atenuar o desenvolvimento de fadiga periférica (MEYERS; CAFARELLI, 2005). A fadiga dos músculos do quadríceps (avaliada por meio da variação na força de contração evocada do pré para o pós-exercício) foi atenuada com a ingestão de CAF (MEYERS; CAFARELLI, 2005). Infelizmente, a interação entre os sistemas cardiopulmonar e músculo esquelético é consideravelmente de menor importância durante exercício uniarticular localizado (WEAVIL; AMANN, 2019). Como uma consequência, o $\dot{V}O_{2max}$ não é alcançado (BIGLAND-RITCHIE *et al.*, 1995; WEAVIL; AMANN, 2019), não ocorre dessaturação arterial de O_2 (WEAVIL; AMANN, 2019), e a fadiga periférica no final do exercício é maior após exercício uniarticular localizado quando comparado com exercícios realizados recrutando grande massa muscular (ROSSMAN *et al.*, 2014; WEAVIL; AMANN, 2019). Portanto, a atenuação da dessaturação arterial de O_2 induzida pela CAF que pode influenciar a taxa de desenvolvimento de fadiga periférica deve ser investigada durante o exercício aeróbio de intensidade severa. No entanto, ainda não se sabe se a ingestão de CAF pode reverter a redução na SaO_2 induzida pelo exercício, e se tais alterações afetariam o desenvolvimento da fadiga periférica durante um exercício aeróbio de intensidade severa realizado recrutando grande massa muscular.

Sendo assim, na presente tese foi investigado o efeito da ingestão de CAF sobre a resposta sistêmica, taxa de desenvolvimento de fadiga neuromuscular e acúmulo de metabólitos intramuscular durante o exercício aeróbio de intensidade severa. Baseando-se nas evidências apontadas, foi elaborada a hipótese de que a ingestão de CAF poderia auxiliar na manutenção da SaO_2 via aumento da \dot{V}_E e atenuar a taxa de desenvolvimento de fadiga periférica durante o exercício aeróbio de intensidade severa, sem afetar os níveis críticos de produção e degradação de metabólitos intramusculares ao final do exercício.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

O presente estudo investigou o efeito da ingestão de CAF sobre a resposta sistêmica, taxa de desenvolvimento de fadiga neuromuscular e acúmulo de metabólitos intramusculares durante o exercício aeróbio de intensidade severa.

1.1.2 Objetivos Específicos

1.1.2.1 Estudo 1

- Verificar o efeito da CAF nas respostas fisiológicas (consumo de oxigênio, frequência cardíaca e saturação de oxigênio), perceptivas (percepção subjetiva de esforço) e recrutamento muscular do vasto lateral (atividade eletromiográfica) durante teste com carga constante realizado no domínio severo;
- Verificar o efeito da CAF sobre a taxa de acúmulo de fadiga global, central e periférica durante teste com carga constante realizado no domínio severo.

1.1.2.2 Estudo 2

- Verificar o efeito da CAF sobre a produção de metabólitos intramusculares (concentrações de AMP, creatina, creatina fosfato e lactato) durante teste com carga constante realizado no domínio severo.

1.2 HIPÓTESES

Espera-se que a ingestão de CAF auxilie na manutenção da SaO_2 via aumento da \dot{V}_E , com uma conseqüente atenuação na taxa de desenvolvimento de fadiga periférica durante o exercício aeróbio de intensidade severa realizado, sem aumento nos níveis de metabólitos intramusculares ao final do exercício.

1.3 JUSTIFICATIVA

Recentemente se vê um aumento da aderência a prática de exercícios físicos de alta intensidade realizados até a exaustão, por serem considerados uma alternativa eficiente para a promoção de saúde, gastando menos tempo para realização e conseguindo levar os sistemas fisiológicos a níveis máximo, o que causa adaptações ao treinamento. Muitos praticantes de atividade física também utilizam a CAF com o objetivo de melhorar o desempenho e disposição para a prática destes exercícios, por esta substância auxiliar em perda de massa corporal e na melhora do perfil metabólico. Por outro lado, atletas profissionais frequentemente usam a CAF em competições para melhorarem o desempenho em provas de ciclismo de curta duração que possuem intensidade severa de execução.

Entretanto, o uso da CAF tem sido frequente para aumentar o tempo de exaustão em exercício de carga constante. Contudo, não se sabe como a ingestão de CAF pode afetar o desenvolvimento de fadiga central e periférica durante o exercício aeróbio de intensidade severa para que haja essa melhora do desempenho. Dessa forma, torna-se necessário verificar se a CAF aumenta a tolerância ao exercício realizado na potência aeróbia máxima, fazendo com que os participantes tolerem uma maior fadiga muscular ou se possibilita um atraso na acumulação de fadiga muscular.

2 REVISÃO DE LITERATURA

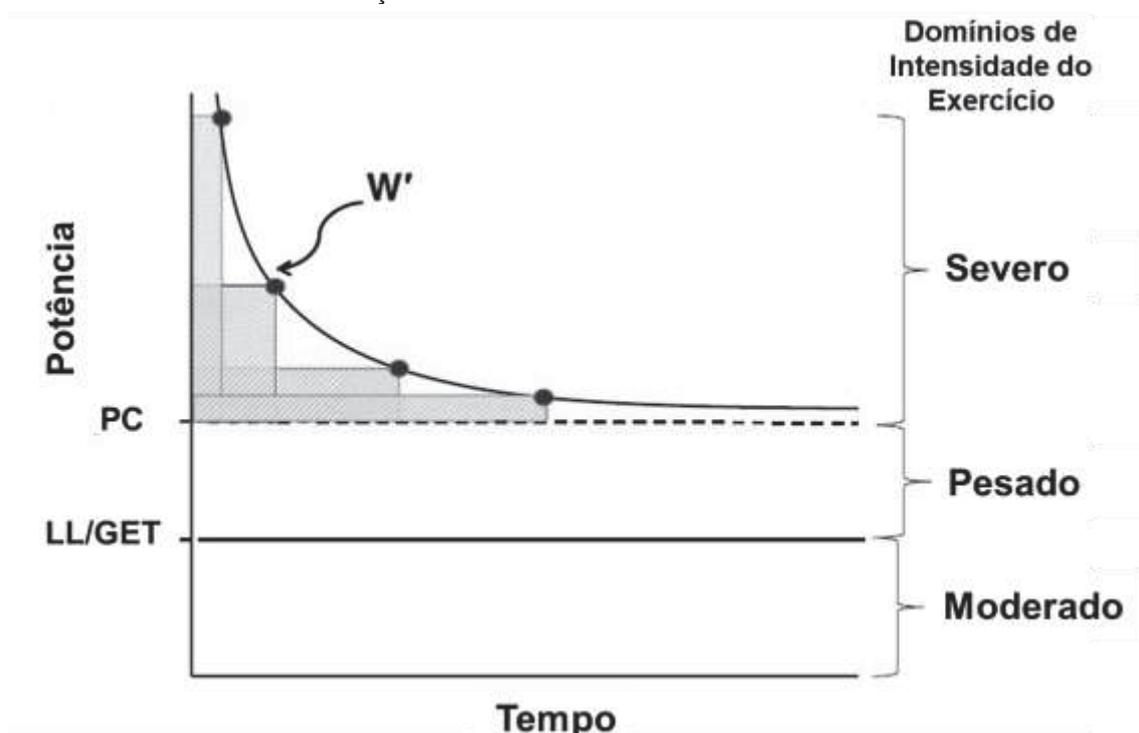
A ingestão de CAF vem sendo frequentemente utilizada como uma estratégia para aumentar o desempenho durante a prática de exercícios físicos. Além disso, a CAF também é utilizada como uma estratégia de estudo para o entendimento dos mecanismos responsáveis pelo desenvolvimento da fadiga, principalmente dentro das áreas de estudos da fisiologia do exercício e fatores associados a fadiga neuromuscular. Nesta revisão de literatura serão abordados estudos sobre os mecanismos que levam ao desenvolvimento da fadiga neuromuscular durante o exercício, em especial dentro do domínio de intensidade severo. Para isto, estudos sobre a determinação de domínios de intensidade do exercício serão apresentados em primeiro plano. Além disso, serão abordados aspectos relacionados a cinética de $\dot{V}O_2$ durante o exercício, bem como, fatores associados a ingestão aguda de CAF como um recurso ergogênico para o desempenho físico.

2.1 DOMÍNIOS DE INTENSIDADE DO EXERCÍCIO

Os domínios fisiológicos de intensidade do exercício estão entre os fatores que determinam parâmetros para a instalação de fadiga durante um exercício de carga constante. Frequentemente a literatura tem apontado a existência de três domínios de intensidade do exercício, que são determinados a partir da identificação de limiares de transição fisiológica, sendo estes domínios nomeados como moderado, pesado e severo (GAESSER; POOLE, 1996; POOLE *et al.*, 2016; POOLE *et al.*, 1988). O domínio de intensidade moderado é considerado qualquer exercício realizado abaixo do limiar de lactato ou limiar de troca gasosa (GET), o domínio de intensidade pesado é considerado qualquer exercício executado entre o limiar de lactato ou GET e a potência crítica (PC), e o domínio de intensidade severo é considerado qualquer exercício que seja realizado acima da PC (POOLE *et al.*, 2016) (Figura 1). O limiar de lactato ou GET é pré-determinado através da execução de um teste incremental máximo, sendo identificado quando o lactato inicia seu aumento de forma sustentada e pela falta de linearidade do relacionamento $\dot{V}O_2/\dot{V}CO_2$, respectivamente (WHIPP *et al.*, 1981). O limite entre os exercícios pesado e severo significa a mais alta taxa de trabalho em que um estado-estável

pode ser alcançado e é denominado como PC, sendo que o trabalho total realizado acima deste limite é fixo (chamado de W') e independente da carga externa. O $\dot{V}O_2$ e o lactato aumentam em função do tempo até que o $\dot{V}O_{2\text{máx}}$ seja atingido e a exaustão ocorra após esse momento no domínio severo (GAESSER; POOLE, 1996; POOLE *et al.*, 2016; POOLE *et al.*, 1988). Para efeito desta revisão, serão aprofundados os conceitos do exercício acima da PC, considerado o domínio de intensidade severo no próximo tópico.

FIGURA 1 - CURVA HIPERBÓLICA DA RELAÇÃO POTÊNCIA E TEMPO QUE DEFINE A TRANSIÇÃO DO DOMÍNIO PESADO PARA O SEVERO.



FONTE: Adaptado de Poole *et al.* (2016).

LEGENDA: A transição do domínio moderado para o pesado também é ilustrada pelo limiar de lactato ou trocas respiratórias. PC: potência crítica, LL: limiar de lactato, GET: limiar de trocas gasosas, W' : curvatura constante.

2.1.1 Exercício no Domínio Severo

Monod e Scherrer (1965) foram os primeiros que observaram um relacionamento hiperbólico entre um nível de potência constante e o tempo até a exaustão correspondente em um grupo muscular isolado. Posteriormente Moritani *et al.* (1981) estenderam esse conceito para o exercício utilizando maior massa muscular realizando em cicloergômetro. A relação entre potência e tempo de

exaustão é caracterizada por uma função hiperbólica (MORTON, 2006) (Figura 1). A PC é considerada uma assíntota da hipérbole de tempo-potência e representa a maior taxa metabólica oxidativa que pode ser mantida no estado-estável fisiológico (MORITANI *et al.*, 1981; POOLE *et al.*, 2016; VANHATALO *et al.*, 2016). A curvatura constante da hipérbole (W') representa uma quantidade finita de energia disponível para realizar o trabalho acima da PC (MORITANI *et al.*, 1981; POOLE *et al.*, 2016). Basicamente, esse conceito descreve a duração tolerável do exercício no domínio severo, com a capacidade de sustentar o exercício sendo diminuída, de forma curvilínea, mais acentuadamente em potências mais altas quando comparadas as potências mais baixas (POOLE *et al.*, 2016) (Figura 1).

Os determinantes fisiológicos da W' ainda não estão bem esclarecidos na literatura, apesar de ser inicialmente pensada como uma quantidade de energia anaeróbica finita, derivada da energia advinda da quebra de fosfocreatina muscular (PCr), energia obtida através da glicólise anaeróbia e pequena quantidade de energia aeróbia ligada a estoques de oxigênio (O_2) (GAESSER; POOLE, 1996; MORITANI *et al.*, 1981). Entretanto, recentes evidências têm sugerido que a W' pode representar mais do que um simples marcador dos estoques de energia anaeróbica, possuindo determinantes associados ao sistema de energia aeróbio e produção de metabólitos que são determinante da incidência de fadiga periférica (por exemplo, PCr, H^+ , Pi e ADP) (CHIDNOK *et al.*, 2013; SILVEIRA *et al.*, 2018; VANHATALO *et al.*, 2010). Portanto, a exaustão durante o exercício aeróbio de carga constante no domínio severo pode estar associada a taxa de desenvolvimento de fadiga periférica, principalmente devido a produção de metabólitos intramuscular (BLACK *et al.*, 2017; JONES *et al.*, 2008).

Além disso, como o exercício no domínio severo é predominantemente aeróbio (apesar do seu alto componente anaeróbio), alguns fatores sistêmicos podem estar atuando de maneira paralela ou conjunta para o desenvolvimento da fadiga periférica. Estudos têm apontado que um exercício de carga constante no domínio severo pode induzir uma diminuição na oferta de oxigênio para os músculos ativos devido a uma dessaturação na quantidade de oxigênio arterial (HARMS *et al.*, 1997; HARMS; STAGER, 1995). Esse comprometimento na SaO_2 tem sido demonstrado estar diretamente associada com a diminuição na tolerância ao exercício, devido a aspectos associados diminuição do desempenho locomotor ao

longo da tarefa (AMANN; ROMER; *et al.*, 2006; CHAPMAN; MICKLEBOROUGH, 2009; ROMER; DEMPSEY, 2006).

Tem sido demonstrado que o exercício em intensidade severa pode levar a uma hipoxemia arterial significativa, um fenômeno caracterizado por um decréscimo de 5-10% na saturação de oxigênio arterial (SaO₂) em relação aos valores de repouso (ROMER; DEMPSEY, 2006). Estudos têm apontado que a hipoxemia arterial induzida pelo exercício limita o fornecimento de O₂ para os músculos ativos, afetando diretamente o exercício aeróbio de alta intensidade (AMANN; CALBET, 2008; DEMPSEY; WAGNER, 1999). A dessaturação arterial de O₂ pode ocorrer devido a um aumento inadequado na \dot{V}_E (HARMS; STAGER, 1995). Estudos recentes têm apontado que as alterações não-lineares na \dot{V}_E , como acima da PC, podem ser determinadas pelo aumento da frequência respiratória ou pelo volume corrente, sendo este último parâmetro, determinado pelas alterações metabólicas periféricas em conexão com os centros de comando central, causando hiperventilação para manutenção da intensidade do exercício (NICOLÒ; MARCORA; SACCHETTI, 2020; NICOLÒ; SACCHETTI, 2019). Sendo assim, uma hiperventilação insuficiente durante o exercício poderia levar a uma diminuição SaO₂, o que poderia estar associado a fatores centrais de regulação e periféricos, como o músculo locomotor. Curiosamente, a prevenção da dessaturação arterial de O₂ via aumento da fração inspirada de O₂ prolonga o tempo até a exaustão durante o exercício de alta intensidade envolvendo grande massa muscular, devido a uma redução na taxa de desenvolvimento de fadiga periférica (AMANN; CALBET, 2008; AMANN; ROMER; *et al.*, 2006).

Em resumo, a hipoxemia causa uma dessaturação no conteúdo arterial de O₂ provocada pelo exercício intenso que pode diminuir a oferta de oxigênio para o músculo, acelerando o desenvolvimento de fadiga periférica. Isto sugere que questões associadas ao desenvolvimento da fadiga periférica e alterações sistêmicas durante o exercício aeróbio no domínio severo necessitam de entendimento dos fatores associados ao exercício de alta intensidade.

2.2 FADIGA NEUROMUSCULAR

O declínio transitório na capacidade de gerar força e na taxa de contração muscular induzida pelo exercício é conhecida como fadiga neuromuscular (ENOKA;

DUCHATEAU, 2008; ENOKA; STUART, 1992; FITTS, 1994; FROYD *et al.*, 2013; TAYLOR *et al.*, 2000). Este é um fenômeno complexo do organismo, uma vez que múltiplos fatores estão envolvidos na geração de força voluntária, que compreende a geração do estímulo no SNC, que irá promover o potencial de ação para a contração muscular efetiva, e posteriormente será gerado um feedback aferente através dos neurônios sensoriais no músculo para regulação dos impulsos gerados no córtex motor (BIGLAND-RITCHIE, 1984; FITTS, 1994; GANDEVIA, S. C., 2001). Dessa forma, entender todos os aspectos envolvidos neste mecanismo é necessário para que fatores associados a fadiga neuromuscular possam ser explicados.

De forma bem resumida, a contração muscular tem origem no comando motor central através da geração de estímulos elétricos dos neurônios motores somático, que serão propagados de forma descendente pela medula espinhal até os neurônios motores primários, onde ocorre a liberação do neurotransmissor acetilcolina na junção neuromuscular, e conseqüente geração de um potencial de ação no sarcolema que iniciará os processos para contração da fibra muscular (SAWCZUK; POWERS; BINDER, 1995). A seqüência de eventos que ocorre entre a geração do potencial de ação e a ativação do aparelho contrátil é denominada como acoplamento excitação-contração (STEPHENSON *et al.*, 1995). Essa seqüência de eventos compreende quatro etapas: 1) a iniciação da propagação do potencial de ação ao longo do sarcolema e posterior transmissão aos túbulos transversos (túbulos T), feitos pela troca dos íons de potássio (K^+), sódio (Na^+) e cloreto (Cl^-) através da membrana ; 2) detecção da despolarização dos túbulos T pelos receptores de diidropiridina (sensores de voltagem) ligados ao retículo sarcoplasmático; 3) liberação de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático para o mioplasma, aumentando a concentração de Ca^{2+} ; e 4) Ca^{2+} se ligando ao sistema regulatório e ativando o aparelho contrátil (STEPHENSON *et al.*, 1995). Este aumento na concentração intracelular de Ca^{2+} permite que a actina se ligue a cabeça da miosina ao liberar os locais ativos da actina por alteração na conformidade da tropomiosina, devido a ligação do Ca^{2+} com a troponina C, possibilitando o encurtamento do sarcômero e a contração muscular (GEEVES; HOLMES, 1999).

Essa contração muscular exige a quebra de adenosina trifosfato (ATP) em adenosina difosfato (ADP) por meio da enzima miosina ATPase, o que gera grande gasto energético, permitindo também a dissociação da ligação entre as proteínas e relaxamento da fibra muscular (GEEVES; HOLMES, 1999). Esse relaxamento ocorre

ao mesmo tempo em que os túbulos T e o sarcolema reestabelecem seus gradientes eletroquímicos por meio da recaptura dos íons de K^+ para o interior da célula e os íons de Na^+ expelidos novamente para o espaço intersticial, através da bomba de Na^+/K^+ e da hidrólise de ATP, enquanto o Ca^{2+} retorna para o retículo sarcoplasmático, através da bomba de Ca^{2+} (CLAUSEN, 2003). A energia necessária para suprir a demanda de ATP durante a contração muscular será proveniente da quebra de PCr, glicólise anaeróbia e glicólise aeróbia de acordo com a intensidade e duração da contração.

Nesse sentido, qualquer alteração no decorrer desse processo complexo, seja falha no processo neural, muscular e metabólico, poderá contribuir para redução na geração de força e potência (FITTS, 1994). Portanto, esse fenômeno de redução temporária no desempenho muscular pode ser atribuído a fadiga central, que irá envolver os processos neurais, e/ou a fadiga periférica, que irá envolver os processos musculares e metabólicos (AMANN, 2011; FITTS, 2008; GANDEVIA, S. C., 2001).

2.2.1 Fadiga Central

A fadiga central é compreendida como uma falha no SNC em enviar informações para os neurônios motores, e então, pode ser caracterizada por uma redução na força de uma contração voluntária máxima, que não é acompanhada pela mesma diminuição na força máxima evocada através de um estímulo elétrico externo que independe do SNC (GANDEVIA, S. C., 2001; VØLLESTAD, 1997). Esse conceito parte do princípio que durante uma contração voluntária isométrica máxima (CVIM), os motoneurônios não são totalmente ativados voluntariamente, sendo possível alcançar um nível de força ótima, mas não totalmente máxima. Entretanto, através da técnica denominada por Merton (1954) de *twitch interpolation technique*, traduzida aqui para técnica de interpolação de estímulos, seria possível atingir a ativação máxima através da força máxima evocada. Basicamente durante uma CVIM, a taxa de disparos para os motoneurônios aumenta progressivamente com o recrutamento das unidades motoras. A técnica de interpolação de estímulos tem como objetivo estimular o nervo ou músculo durante CVIM (estímulo supramáximo sobreposto) para excitar os axônios motores ainda não ativados, gerando um potencial de ação, que irá ativar as fibras ainda não recrutadas,

evocando uma força de contração extra (ALLEN, G.; GANDEVIA; MCKENZIE, 1995; GANDEVIA, S.; ALLEN; MCKENZIE, 1995; GANDEVIA, S.; MCKENZIE, 1988; GANDEVIA, S. C., 2001; MERTON, 1954; STROJNIK; KOMI, 1998). Essa técnica vem sendo frequentemente empregada para determinar o grau de fadiga central.

A incidência de fadiga central ocorre principalmente durante uma alta frequência de disparos pelo córtex motor (contrações intensas), como, por exemplo, em exercício e domínio severo, ou pela sustentação de disparos do córtex motor por um longo período de tempo (contrações repetidas sustentadas), como, por exemplo, exercício aeróbio executado abaixo da PC nos domínios pesado e/ou moderado (POOLE *et al.*, 2016). Apesar da dificuldade em determinar os mecanismos da fadiga central devido à restrição metodológica em acessar as regiões envolvidas, principalmente em exercício, acredita-se que a principal causa seria a redução nos disparos de potenciais de ação gerados no córtex motor através de fatores neurais ou inibição na taxa de disparos por feedback aferente pelos neurônios sensoriais tipo III e IV.

A fadiga central pode ser gerada pela redução nos disparos de potenciais de ação gerados no córtex motor. Estudos têm demonstrado que após o desenvolvimento da fadiga central, ocorre uma diminuição da excitabilidade do córtex motor humano através da dissociação da excitabilidade cortical (GANDEVIA, S. *et al.*, 1996). Além disso, durante o exercício ocorrem alterações metabólicas no meio muscular, como, por exemplo, aumento de H^+ e K^+ , que ativam os neurônios sensoriais do tipo III e IV. Os neurônios sensoriais do tipo III e IV aumentam a sua taxa de disparo, de acordo com o aumento da produção de metabólitos, causando um efeito inibitório no comando motor central, que irá diminuir a taxa de disparos para o motoneurônios, com o objetivo de evitar possíveis danos ao organismo (AMANN, 2011; BLAIN *et al.*, 2016).

Alguns estudos também têm sugerido que as alterações induzidas pelo exercício nos níveis de alguns neurotransmissores [serotonina monoamina (5-hidroxitriptina; 5-HT), dopamina e noradrenalina] responsáveis pela transdução do sinal entre neurônios podem estar associadas ao desenvolvimento de fadiga central (DAVIS; ALDERSON; WELSH, 2000; NEWSHOLME; BLOMSTRAND, 1995; TAYLOR *et al.*, 2016). Foi proposto que em exercício prolongado, a maior conversão de triptofano em 5-HT no cérebro, e portanto maior quantidade de 5-HT, promove efeitos negativos como aumento do sono, redução da excitação e humor, resultando

em aumento na percepção de esforço e fadiga central (DAVIS *et al.*, 2000; NEWSHOLME; BLOMSTRAND, 1995). Porém, achados conflitantes na literatura têm colocado em debate essa hipótese, justificado principalmente pela dificuldade de achar um consenso devido à complexidade do sistema do neurotransmissor 5-HT, que possui diferentes receptores e subtipos de receptores, cada um com diferentes funções e interações, não sendo atualmente considerado um papel chave no desenvolvimento de fadiga central (TAYLOR *et al.*, 2016). Em sua revisão, Taylor *et al.* (2016) ainda demonstraram que vários efeitos também são hipotetizados para alterações induzidas pelo exercício nos níveis de dopamina e noradrenalina, entretanto foi verificado que a manipulação do aumento nos níveis destes neurotransmissores através de drogas inibitórias de reabsorção (metilfenidato e bupropiona) alteram o desempenho apenas em ambientes quentes, mas não em temperatura normal, pois a alteração deste neurotransmissores promove alteração na homeostase e perturbação termorregulatória durante exercícios.

2.2.2 Fadiga Periférica

A fadiga periférica é considerada a redução na capacidade do músculo de responder a um estímulo neural, sendo observados eventos que ocorrem da junção neuromuscular até componentes contráteis, envolvendo processos musculares e perturbações iônicas e metabólicas (AMANN, 2011; BLACK *et al.*, 2017; MCKENNA; BANGSBO; RENAUD, 2008). Estudos têm demonstrado que exercícios com contrações de alta intensidade (sustentadas igual ou acima de 20% CVIM ou contrações intermitentes acima de 50% CVIM), bem como exercícios executados no domínio severo até a exaustão (acima da PC) estão associados predominantemente com o mecanismo de fadiga periférica (BIGLAND-RITCHIE; FURBUSH; WOODS, 1986; BURNLEY *et al.*, 2012; JONES *et al.*, 2008; POOLE *et al.*, 2016). Os principais fatores que podem desencadear os processos para incidência da fadiga periférica são alterações na excitabilidade do sarcolema e na propagação do potencial de ação pelos túbulos T, falha na liberação de Ca^{2+} pelo retículo sarcoplasmático e perturbações iônicas e metabólicas (ALLEN, D. G.; LAMB; WESTERBLAD, 2008; BLACK *et al.*, 2017; FITTS, 2008; MCKENNA *et al.*, 2008).

Alterações nas concentrações iônicas de K^+ e Na^+ durante o exercício estão associadas ao desenvolvimento de fadiga periférica por provocar alteração na

excitabilidade do sarcolema (MCKENNA *et al.*, 2008; STEPHENSON *et al.*, 1995). McKenna *et al.* (2008) descobriram que contrações intensas fatigantes induzem o influxo de Na^+ para o interior da célula, dobrando a sua concentração intracelular comparada aos valores de repouso, além de causar o efluxo de K^+ para o meio extracelular, que também duplica a sua concentração extracelular em relação aos valores de repouso. Ambas as situações promovem efeitos negativos, pois se ocorre uma falha em reestabelecer o gradiente entre K^+ e Na^+ antes de um estímulo subsequente, haverá uma diminuição na excitabilidade do sarcolema e túbulos T, causando falha na propagação do potencial de ação pelo sarcolema e túbulos T e, portanto, redução na produção de força, contribuindo para a fadiga (ALLEN, D. G. *et al.*, 2008; MCKENNA *et al.*, 2008).

A fadiga periférica também pode ocorrer por falha na liberação e/ou resgate de Ca^{2+} pelo retículo sarcoplasmático (ALLEN, D. G. *et al.*, 2008). Alguns fatores durante o exercício podem induzir a falha desse mecanismo. Como falado anteriormente, alterações na excitabilidade da membrana e propagação do potencial de ação podem ocorrer durante contrações intensas (MCKENNA *et al.*, 2008). A diminuição da amplitude do potencial de ação pode levar a uma redução na ativação dos receptores de diidropiridina, e concomitantemente, isso causa diminuição na liberação de Ca^{2+} . Além disso, durante a contração ocorre a depleção de ATP e incremento nas concentrações de magnésio (Mg^{2+}) e H^+ livre, que diminui a sensibilidade dos receptores de diidropiridina e rianodina, reduzindo a frequência e duração dos canais de Ca^{2+} abertos, prejudicando sua liberação. A depleção de ATP durante o exercício também irá promover aumento na concentração de P_i , que pode causar precipitação do Ca^{2+} no retículo sarcoplasmático, diminuindo também sua liberação (ALLEN, D. G. *et al.*, 2008; FITTS, 1994;2008; STEPHENSON *et al.*, 1995).

Por último, algumas perturbações iônicas e/ou metabólicas na célula muscular podem ser participantes no desenvolvimento de fadiga periférica e exaustão (ALLEN, D. G. *et al.*, 2008; BLACK *et al.*, 2017; FITTS, 1994;2008). A quebra de PCr e glicólise para gerar ATP, e consequente hidrólise de ATP, pode aumentar a produção de P_i , Mg^{2+} , adenosina difosfato (ADP), H^+ que estão mais diretamente associados a inibição dos mecanismos contráteis, e também aumentam a produção de ácido láctico, amônia e espécies reativas de oxigênios que também estão associados a fadiga periférica. Uma das principais causas de fadiga periférica

é considerada a diminuição do pH por aumento na quantidade de H^+ livre, causando uma acidose metabólica que pode inibir enzimas chaves do metabolismo de substratos (por exemplo glicogênio fosforilase α , adenilato ciclase e fosfofrutoquinase), além do efeito supracitado na redução da liberação de Ca^{2+} . Estudos também apontam que uma grande quantidade de AMP, ADP e Pi são marcadores de incidência de fadiga periférica como sinalizadores de falta de energia para ser usada pelos aparatos contráteis (ALLEN, D. G. *et al.*, 2008; BLACK *et al.*, 2017; BLAIN *et al.*, 2016; FITTS, 1994;2008; VANHATALO *et al.*, 2016)

Como realizado para determinação da fadiga central, também é possível avaliar a fadiga periférica pela técnica de estimulação elétrica. No entanto, a mensuração da fadiga periférica é realizada quando o músculo está voluntariamente relaxado. Basicamente, quando ocorre uma diminuição na força evocada por estímulos elétricos supramáximos no músculo relaxado, comparando o pós-exercício ao pré-exercício, significa que houve a incidência de fadiga periférica (AMANN; ELDRIDGE; *et al.*, 2006; MERTON, 1954; STROJNIK; KOMI, 1998). Esta metodologia é considerada “padrão ouro” e vem sendo frequentemente utilizada para determinação de fadiga periférica após exercícios aeróbios executados em diferentes tipos de ergômetros (BLACK *et al.*, 2017; BLAIN *et al.*, 2016).

2.2.2.1 Fadiga Periférica durante o Exercício no Domínio Severo

As respostas fisiológicas durante um exercício de carga constante são previsíveis dependendo do domínio de intensidade no qual o participante se exercita. Chidnok *et al.* (2013) verificaram que os níveis de PCr, ATP, ADP, Pi e pH, durante um exercício no domínio severo até a exaustão (~180 segundos) podem ser reestabelecidos ao realizar um exercício no domínio pesado durante a recuperação, mas não são recuperados após executar a recuperação em intensidade menor mas ainda no domínio severo. Isso indica que o decréscimo nos níveis de ATP e PCr e aumento nos níveis de ADP, Pi e H^+ são recuperados de forma diferente de acordo com o domínio de intensidade no qual o exercício é executado, sendo que a acumulação desses metabólitos está associada a capacidade de tolerar o exercício no domínio severo (CHIDNOK *et al.*, 2013). Associado a este conceito, tem sido demonstrado em exercício executado no cicloergômetro, que as alterações

metabólicas em exercícios executados no domínio pesado (abaixo da PC) estão mais associadas a fibras do tipo I, que são altamente oxidativas e, portanto, o distúrbio metabólico é menor, sendo possível encontrar um estado estável metabólico nessa intensidade (VANHATALO *et al.*, 2016). Por outro lado, no exercício aeróbio no domínio severo (acima da PC), o aumento do componente lento do consumo de oxigênio está associado ao aumento na concentração de lactato e diminuição na concentração de PCr e pH, indicando grande perturbação metabólica, e conseqüente exaustão do exercício.

Como relatado anteriormente, alguns estudos têm demonstrado que o desenvolvimento da fadiga periférica é predominante em exercícios no domínio severo e está associada a perturbação de metabólitos no meio muscular (BIGLAND-RITCHIE *et al.*, 1986; BLACK *et al.*, 2017; BURNLEY *et al.*, 2012; JONES *et al.*, 2008; POOLE *et al.*, 2016). Dessa forma, Black *et al.* (2017) verificaram se a exaustão de um exercício de ciclismo realizado em diferentes domínios de intensidade estariam associados ao metabolismo muscular e respostas neuromusculares que determinam a fadiga periférica. De acordo com os autores, apesar de diferentes graus de ativação neuromuscular no domínio severo, a incidência de fadiga periférica diminuiu consideravelmente a produção de força na exaustão do exercício, sendo o exercício no domínio severo encerrado quando é alcançado um limite crítico ou *nadir* consistente tanto para respostas neuromusculares quanto para perturbações metabólicas. Esses resultados são consistentes com os achados de Blain *et al.* (2016) ao utilizar fentanil, um analgésico opióide, para seletivamente bloquear os sinais aferentes advindos dos neurônios sensoriais do tipo III e IV dos membros inferiores para o SNC. A partir deste estudo foi possível identificar que houve maior incidência de fadiga periférica, com concomitante elevação de ADP, Pi, lactato, H⁺ e depleção de PCr mediante o uso de fentanil sem causar melhora na performance geral de uma prova contrarrelógio de 5 km de ciclismo comparado ao grupo controle. Blain e colaboradores (2016) ainda concluíram que há uma associação entre as perturbações metabólicas intramusculares e a incidência de fadiga periférica, alcançando um nível crítico máximo para ambos, que é controlada pelo SNC a partir dos neurônios sensoriais do tipo III e IV, enviando informações que restringem a emissão de impulsos para o músculo. Essas respostas no exercício severo retomam o conceito de que há um limiar crítico de fadiga periférica que pode ser ultrapassado apenas quando os

neurônios sensoriais do tipo III e IV são bloqueados (AMANN, 2011; AMANN; ELDRIDGE; *et al.*, 2006; AMANN *et al.*, 2009; BLAIN *et al.*, 2016; VANHATALO *et al.*, 2016).

Entretanto, vale ressaltar que a incidência de fadiga periférica durante exercício aeróbio no domínio severo pode ser alterada mediante a utilização de recursos que melhoram o desempenho e tem como objetivo aumentar o tempo de exaustão do exercício para uma dada carga de trabalho, o que de forma direta e/ou indireta pode estar atuando sobre os mecanismos responsáveis pelo desenvolvimento da fadiga periférica (SILVEIRA *et al.*, 2018; VANHATALO *et al.*, 2010).

2.3 INGESTÃO DE CAFEÍNA E DESEMPENHO

A CAF (1,3,7-trimetilxantina) é a substância farmacológica psicoativa mais consumida no mundo (GRAHAM, TERRY E, 2001). A CAF está naturalmente presente em folhas, frutas e sementes de vários tipos de plantas e pode ser consumida através de medicamentos (diuréticos, remédios para a dor e resfriado), alimentos (chás, café, chocolate, refrigerantes) e suplementos dietéticos (estimulantes) consumidos e comercializados livremente (ASTORINO; ROBERSON, 2010; FREDHOLM *et al.*, 1999). Devido à grande disponibilidade em bebidas energéticas e suplementos esportivos, a CAF chegou a ser considerada uma substância ilícita para atletas, entretanto, como há uma grande popularidade no consumo da CAF devido à sua presença natural em muitos alimentos e bebidas, a *World Anti-Doping Agency* (WADA) excluiu a CAF da lista de substâncias proibidas em 2004, sendo incluída apenas na lista de monitoramento (BURKE, 2008). Essa nova resolução e a grande disponibilidade possibilitou o aumento do consumo da CAF especificamente para fins ergogênicos no cenário esportivo, além da sua utilização na área da pesquisa devido a seus mecanismos atuantes durante o exercício.

Apesar de ainda não estarem totalmente esclarecidos quais são os exatos mecanismos de ação da CAF, estudos têm demonstrado que a melhora no desempenho pode ocorrer devido a sua atuação central e/ou periférica após ingestão de forma aguda (FREDHOLM *et al.*, 1999; MOHR, M. *et al.*, 2011). No SNC, a CAF pode atuar de forma antagônica à adenosina se ligando aos seus

receptores dos tipos A_1 e A_{2A} , bloqueando seus efeitos inibitórios, o que aumenta a estimulação dos motoneurônios (FREDHOLM *et al.*, 1999; KALMAR; CAFARELLI, 1999) e pode aumentar a concentração de serotonina nos neurônios serotoninérgicos, possibilitando maior excitabilidade espinhal (WALTON *et al.*, 2003). Além disso, a CAF também pode atuar no músculo esquelético, aumentando a liberação de cálcio do retículo sarcoplasmático e/ou reduzindo a concentração de potássio no plasma e interstício durante o exercício (ALLEN, D.; WESTERBLAD, 1995; MOHR, M. *et al.*, 2011; SIMMONDS *et al.*, 2010). Em última instância, a CAF também pode atuar de forma sistêmica, num modelo mais generalizado de integração biológica. Estudos apontam que há uma abundância de receptores de adenosina do tipo A_1 e A_{2A} em outros tecidos que não são do sistema nervoso, como por exemplo, coração, pulmões, vasos sanguíneos e músculo esquelético (LYNGE; HELLSTEN, 2000; SALVATORE *et al.*, 1993), e a característica específica do exercícios aeróbios de alta intensidade realizados recrutando grande massa muscular (por exemplo, ciclismo e corrida), exige uma alta demanda desses sistemas em conjunto, sugerindo que a CAF poderia atuar diretamente na interlocução do sistema cardiorrespiratório com o sistema locomotor.

Em conjunto, estes efeitos centrais, periféricos e sistêmicos da CAF podem incrementar o tempo de exaustão do exercício aeróbio e, portanto, modificar a incidência de fadiga (MEYERS; CAFARELLI, 2005; SILVEIRA *et al.*, 2018; SIMMONDS *et al.*, 2010).

2.3.1 Mecanismos de Atuação Central da Cafeína e Desempenho

Abordando os aspectos centrais, alguns estudos têm apontado que devido a sua natureza lipofílica, a CAF tem a capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica do SNC (DAVIS *et al.*, 2003). A partir disso a CAF pode se ligar aos receptores de adenosina, pois sua estrutura molecular é muito similar a estrutura da adenosina. Dessa forma, a CAF compete com a adenosina para se ligar com seus receptores (principalmente receptores A_1 e A_{2A}) e inibe a atuação da adenosina. Considerando que a adenosina é neuromodulador endógeno que inibe a excitabilidade neural e liberação de neurotransmissores excitatórios, causando diminuição da disposição, aumento da sonolência e percepção de dor, a CAF ao se ligar aos receptores de adenosina bloqueia seus efeitos inibitórios no SNC,

aumentando a estimulação dos motoneurônios (FREDHOLM *et al.*, 1999; KALMAR; CAFARELLI, 1999). Além disso, a CAF também pode aumentar a concentração de serotonina nos neurônios serotoninérgicos, situados dentro do núcleo da Rafe no SNC, que são responsáveis por modular a excitabilidade espinhal. Assim, foi verificado que a CAF melhora o reflexo-H, sendo este um indicador viável para determinação de aumento da excitabilidade espinhal (WALTON *et al.*, 2003).

Ambos os mecanismos de atuação central da CAF estão associados a redução na percepção subjetiva de esforço (PSE) e de dor e aumento na sensação de prazer para uma dada potência (DOHERTY, MIKE; SMITH, 2005; FREDHOLM *et al.*, 1999; MARIDAKIS *et al.*, 2007). De acordo com Doherty e Smith (2005), durante exercícios aeróbios realizados com carga constante, a CAF reduz a PSE ou mantém a mesma PSE com um nível superior de intensidade sendo sustentada durante o exercício, indicando um aumento na tolerância ao exercício em intensidades maiores. Os autores ainda afirmam que essa redução na PSE está em aproximadamente 6% no exercício de carga constante, concomitante com uma melhora no desempenho de aproximadamente 11,2% após a ingestão de CAF (DOHERTY, MIKE; SMITH, 2005). Astorino *et al.* (2012) também observaram que a PSE, percepção de dor e sensação de prazer não foi alterada em participantes treinados após a ingestão de CAF, no entanto, a CAF promoveu um aumento na potência de prova, indicando que a taxa de incremento dos níveis perceptivos indicadores de esforço, prazer e dor foi atingido com maior potência externa ao longo de uma prova contrarrelógio de ciclismo de 10 km. Por outro lado, a CAF também parece aumentar a ativação voluntária do músculo do quadríceps atuando em mecanismos supraespinhais (KALMAR; CAFARELLI, 1999; WALTON *et al.*, 2003). Warren *et al.* (2010) demonstraram que a CAF possui um efeito de moderado a alto sobre a ativação voluntária dos músculos do quadríceps, com melhora de aproximadamente 18% no tempo de exaustão em exercício de extensão de joelho.

Sendo assim, a CAF pode promover um efeito benéfico sobre os indicadores de fadiga central, possibilitando melhora no desempenho.

2.3.2 Mecanismos de Atuação Periféricos da Cafeína e Desempenho

Não obstante, abordando os mecanismos periféricos de atuação da CAF, pode ser destacado o aumento na liberação de cálcio do retículo sarcoplasmático

e/ou redução na concentração de potássio no plasma e interstício durante o exercício (ALLEN, D.; WESTERBLAD, 1995; MOHR, M. *et al.*, 2011; SIMMONDS *et al.*, 2010). Estudos em fibras isoladas de camundongos sugerem que a aplicação de CAF aumenta a concentração de Ca^{2+} , aumentando a sensibilidade dos canais de rianodina ao Ca^{2+} e sua permeabilidade no retículo sarcoplasmático, tanto em repouso quanto durante uma contração tetânica, aumentando a tensão e a taxa de relaxamento (ALLEN, D.; WESTERBLAD, 1995). Porém, este estudo foi realizado *in vitro* com dosagens de CAF supra fisiológicas, ou seja, uma quantidade acima do limite tolerado por humanos, deixando em dúvida se as respostas encontradas no músculo esquelético de ratos seriam identificadas em humanos com dosagem inferior de CAF (FREDHOLM *et al.*, 1999). Nesta premissa, Tallis *et al.* (2012) verificaram se concentrações fisiológicas de CAF toleradas por humanos poderiam atuar diretamente no músculo esquelético de ratos, melhorando o desempenho submáximo e máximo. Os autores observaram que concentrações fisiológicas de CAF atuam diretamente no músculo esquelético, aumentando a produção de força e potência. Mais recentemente, este efeito ergogênico da CAF durante o exercício tem sido atribuído a alterações no mecanismo contrátil do músculo esquelético, de forma mais específica, alterando a disponibilidade e sensibilidade ao Ca^{2+} , modulando o acoplamento excitação-contração (TALLIS *et al.*, 2015). Além disso, a CAF pode aumentar a atividade na bomba $\text{Na}^+\text{-K}^+$, favorecendo a manutenção do gradiente eletroquímico durante o exercício, e por consequência, são encontrados menores aumentos de K^+ no plasma e interstício (LINDINGER, M.; WILLMETS; HAWKE, 1996; LINDINGER, M. I.; GRAHAM; SPRIET, 1993).

Estes dois mecanismos periféricos são conhecidos por causar melhora no desempenho em testes de carga constante e retardo no desenvolvimento de fadiga periférica (MEYERS; CAFARELLI, 2005; MOHR, M. *et al.*, 2011; SIMMONDS *et al.*, 2010). Tarnopolsky e Cupido (2000) observaram que a ingestão de CAF potencializa a força de contração tetânica durante estimulação elétrica de baixa frequência, mas não em alta frequência, indicando que a CAF potencializa a liberação de Ca^{2+} pelo retículo sarcoplasmático, atuando diretamente sobre as propriedades contráteis do músculo. Meyers e Cafarelli (2005) também verificaram que a CAF incrementa o tempo de exaustão (~20%) durante exercício isométrico submáximo de carga constante por atenuar o decréscimo da taxa de queda de geração de força e taxa de relaxamento muscular, indicando que a CAF promove um acoplamento e

desacoplamento das pontes cruzadas de forma mais rápida devido a lenta reabsorção cálcio pelo retículo sarcoplasmático, levando a um retardo no desenvolvimento de fadiga periférica. Por outro lado, Simmonds *et al.* (2010) demonstraram que não houve alteração significativa na cinética de $\dot{V}O_2$, no déficit de oxigênio acumulado ou no pico de concentração de K^+ após a ingestão de CAF em exercício de carga constante supramáximo no cicloergômetro, apesar de maior tempo de exaustão (~14,8%). No entanto, os autores identificaram menor concentração de K^+ durante o aquecimento submáximo prévio ao exercício supramáximo. A menor concentração plasmática de K^+ durante o aquecimento pode prolongar o tempo necessário para alcançar o pico de concentração de K^+ no exercício supramáximo, retardando assim a fadiga e aumentando o tempo de exaustão.

Estudos recentes usando um modelo localizado de exercício, com contrações intermitentes de extensão de joelho unilateral, fornecem suporte para a hipótese de que a CAF pode atenuar o desenvolvimento de fadiga periférica (BOWTELL *et al.*, 2018; MEYERS; CAFARELLI, 2005; PETHICK *et al.*, 2018). Nesses estudos, a fadiga dos músculos do quadríceps (avaliada por meio da variação na força de contração evocada do pré para o pós-exercício) foi atenuada com a ingestão de CAF (BOWTELL *et al.*, 2018; PETHICK *et al.*, 2018).

Em conjunto esses resultados sustentam o conceito de que a CAF pode atuar diretamente no músculo esquelético.

2.3.3 Mecanismos de Atuação Sistêmica da Cafeína e Desempenho

Sabe-se que receptores de adenosina do tipo A_1 e A_{2A} estão em abundância em tecidos como coração, pulmões, vasos sanguíneos e músculo esquelético (LYNGE; HELLSTEN, 2000; SALVATORE *et al.*, 1993). Apesar de ser ainda pouco elucidado, alguns fenômenos associados a ingestão de CAF podem ter maior impacto, principalmente no sistema cardiorrespiratório.

O bloqueio dos receptores de adenosina (que são vasodilatadores) nos vasos sanguíneos dos músculos inativos pode causar uma potencial vasoconstrição selecionada e redirecionar o fluxo sanguíneo para os músculos ativos, que estão sendo recrutadas durante o exercício (DANIELS *et al.*, 1998), além da CAF aumentar a concentração de epinefrina durante o exercício máximo (SUNG *et al.*,

1990). Apesar de não haver uma evidência com associação direta aos exercícios de intensidade severa, esses apontamentos sugerem uma explicação para o aumento da frequência cardíaca e mudança na distribuição do fluxo sanguíneo durante o exercício. De fato, alguns estudos apontam aumento da frequência cardíaca após a ingestão de CAF (BUNSAWAT *et al.*, 2015; OLCINA *et al.*, 2006; SILVEIRA *et al.*, 2018), apesar das evidências serem contraditórias, com outros que apontam nenhuma alteração (CROWE; LEICHT; SPINKS, 2006; RUÍZ-MORENO *et al.*, 2020).

Além disso, evidências apontam que a CAF pode atuar no sistema respiratório durante o exercício aeróbio no domínio severo. Os mecanismos ainda não são muito claros e são necessários muitos estudos com humanos executando exercício aeróbio de alta intensidade avaliando esses fatos, entretanto alguns estudos sugerem um efeito mediado centralmente pela CAF, atuando diretamente no centro respiratório e aumentando sua sensibilidade ao dióxido de carbono (RICHMOND, 1949), e diretamente nos brônquios, com uma possível broncodilatação induzida pela CAF (DUFFY; PHILLIPS, 1991; KIVITY *et al.*, 1990). Em conjunto, essas ações poderiam explicar o aumento da \dot{V}_E .

Tem sido recentemente demonstrado que a ingestão de CAF aumenta o tempo até a exaustão durante o exercício aeróbio de intensidade severa explicado por aumentar o tempo de manutenção no consumo máximo de oxigênio (i. e., tempo de manutenção no consumo máximo de oxigênio, $\dot{V}O_{2max}$), assim como uma maior \dot{V}_E no final do exercício (SILVEIRA *et al.*, 2018). Além de aumentar a efetividade da capacidade máxima aeróbia durante o exercício aeróbio no domínio severo, o aumento da \dot{V}_E com CAF pode desencadear a manutenção da SaO_2 , que poderia afetar a fadiga periférica. Como já relatado anteriormente, uma diminuição na eficiência ventilatória durante o exercício de alta intensidade pode desencadear uma hipoxemia arterial que está associada a incidência de fadiga periférica. De fato, foi demonstrado que a ingestão de CAF reduziu a hipoxemia arterial induzida pelo exercício durante as intensidades mais elevadas (75 a 90% do $\dot{V}O_{2max}$) de um teste incremental máximo, que foi atribuída a um aumento na \dot{V}_E induzida pela CAF (CHAPMAN; STAGER, 2008), entretanto em intensidades máximas foi entendido que apenas aumentos exacerbados na \dot{V}_E poderiam levar a atenuação da hipoxemia induzida pelo exercício (CHAPMAN; MICKLEBOROUGH, 2009). Além disso, um estudo recente apontou que a CAF melhorou também a saturação de O_2 muscular

em intensidades submáximas (RUÍZ-MORENO *et al.*, 2020). Em conjunto, essas informações sugerem que a CAF seria capaz de evitar uma diminuição na SaO₂ que auxiliaria na oferta de O₂ para os músculos ativos e resultaria em uma melhora na saturação de O₂ muscular. Entretanto nenhum estudo apontou qual seria a associação desses mecanismos sistêmicos com o desenvolvimento de fadiga periférica durante o exercício aeróbio de intensidade severa.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 CARACTERÍSTICA DA PESQUISA

A pesquisa apresenta uma característica transversal quase-experimental (CAMPBELL; STANLEY; GAGE, 1963), com delineamento duplo cego, randomizada, contrabalançado e cruzado dos participantes.

3.2 LOCAIS DA PESQUISA

A coleta de dados do primeiro estudo experimental foi realizada na Unidade Metabólica situada na Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba-PR, Brasil, enquanto a coleta de dados do segundo estudo experimental foi conduzida no Laboratório de Determinantes Energéticos de Desempenho Esportivo (Ladesp) situado na Escola de Educação Física e Esportes da Universidade de São Paulo (EEFE-USP), São Paulo – SP, Brasil.

3.3 AMOSTRA

Para determinação do tamanho amostral, foi utilizado o software GPower® e seguiu-se a mensuração do tamanho de efeito calculado a partir da escala de magnitudes para diferenças das médias (teste *t*) (COHEN, 1988) do estudo de Silveira *et al.* (2018) para o efeito da ingestão de CAF na sustentação do $\dot{V}O_{2m\acute{a}x}$ durante ciclismo no domínio severo (Tempo de manutenção no $\dot{V}O_{2m\acute{a}x}$: PLA 110 ± 90 s x CAF 210 ± 100 s), sendo observado tamanho do efeito 1,05. Foi adotado um alfa de 0,05 e um poder estatístico desejável de 0,90. O tamanho efetivo da amostra para alcançar significância estatística foi de 10 participantes. Adicionando a possibilidade de 20% de mortalidade amostral, foram convidados a participar voluntariamente 24 participantes, 12 para cada um dos estudos.

Para participação no estudo, o voluntário deveria: 1) ser do sexo masculino; 2) ser fisicamente ativo; 3) ter idade entre 18-40 anos; 4) ser familiarizado com exercício na bicicleta. Foram excluídos voluntários com: 1) histórico de lesão musculoesquelética recente; 2) que faziam uso de substâncias ergogênicas,

suplementos alimentares ou medicamentos anti-inflamatórios e analgésicos e; 3) fumantes.

Os participantes seguiram as instruções alimentares durante os períodos de testes e foram orientados a não realizarem exercícios físicos nas 24 horas antecedentes a cada avaliação. Cada participante foi informado sobre os procedimentos e riscos relacionados ao estudo e, em seguida, assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndices 1 e 2), de acordo com a resolução nº 466/2012 concordando com a participação voluntária no estudo. Os estudos experimentais foram aprovados pelos comitês de ética em pesquisas com seres humanos da Universidade Federal do Paraná (CAAE: 89312418.4.0000.0102 – Parecer 2.747.996) e da Universidade de São Paulo (CAAE: 02235918.9.0000.5391 – Parecer 3.235.915), ambos credenciados pelo Conselho Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP, de acordo com a Declaração de Helsinque.

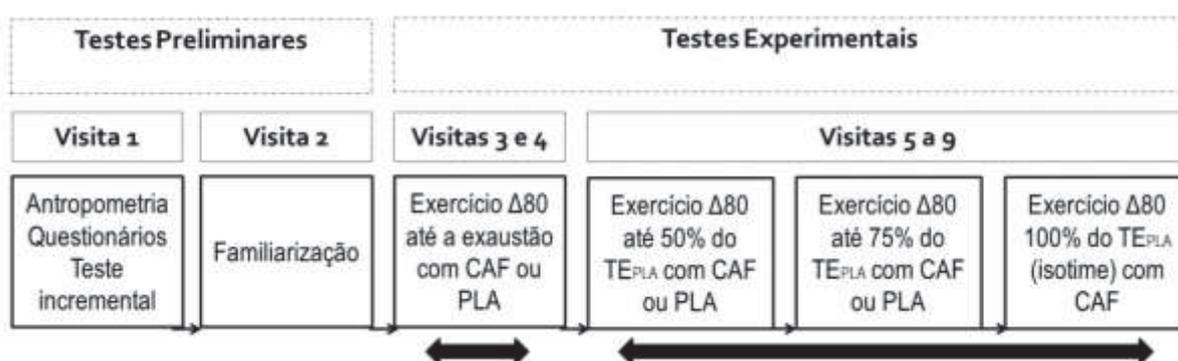
3.4 DESENHO EXPERIMENTAL

3.4.1 Estudo 1

Os participantes visitaram o laboratório em nove ocasiões diferentes, com intervalo mínimo de 72 horas entre cada visita (Figura 2). Na primeira visita, inicialmente, foi realizada uma avaliação antropométrica e aplicação do questionário para quantificação do consumo de CAF e o questionário internacional de atividade física (IPAQ) para medir o nível de atividade física. Posteriormente, os participantes realizaram um teste incremental máximo no ciclo ergômetro eletromagnético (Ergo-Fit 167[®], Pirmasens, Alemanha) para identificar o limiar de troca gasosa (GET), o pico de potência e o $\dot{V}O_{2m\acute{a}x}$ de cada participante. Na segunda visita, os participantes foram familiarizados com os procedimentos para avaliação da função neuromuscular do quadríceps femoral e com o exercício de carga constante no domínio severo até a exaustão. A intensidade do exercício de carga constante foi individualmente determinada pela potência correspondente a 80% da diferença entre GET e $\dot{V}O_{2m\acute{a}x}$, chamado daqui para frente de $\Delta 80$ (SILVEIRA *et al.*, 2018). Na terceira e quarta visita, usando um desenho randomizado, contrabalanceado e duplo-cego, os participantes realizaram o exercício de carga constante no $\Delta 80$ até a exaustão, após ter ingerido uma cápsula contendo CAF ou PLA. Para verificar o desenvolvimento de

fadiga durante este exercício, nas cinco visitas seguintes, usando um desenho *Balanced Latin Square*, os participantes realizaram o mesmo exercício de carga constante no $\Delta 80$ em diferentes condições: a) após a ingestão de CAF ou PLA, com interrupção do exercício ao atingir 50% do tempo obtido no teste até a exaustão do PLA; b) após a ingestão de CAF ou PLA, com interrupção do exercício ao atingir 75% do tempo obtido no teste até a exaustão do PLA; ou c) após a ingestão de CAF, com interrupção do exercício a 100% do tempo atingido no teste até a exaustão do PLA (i.e., isotime).

FIGURA 2 - DESENHO EXPERIMENTAL DO ESTUDO 1.



FONTE: A autora (2020).

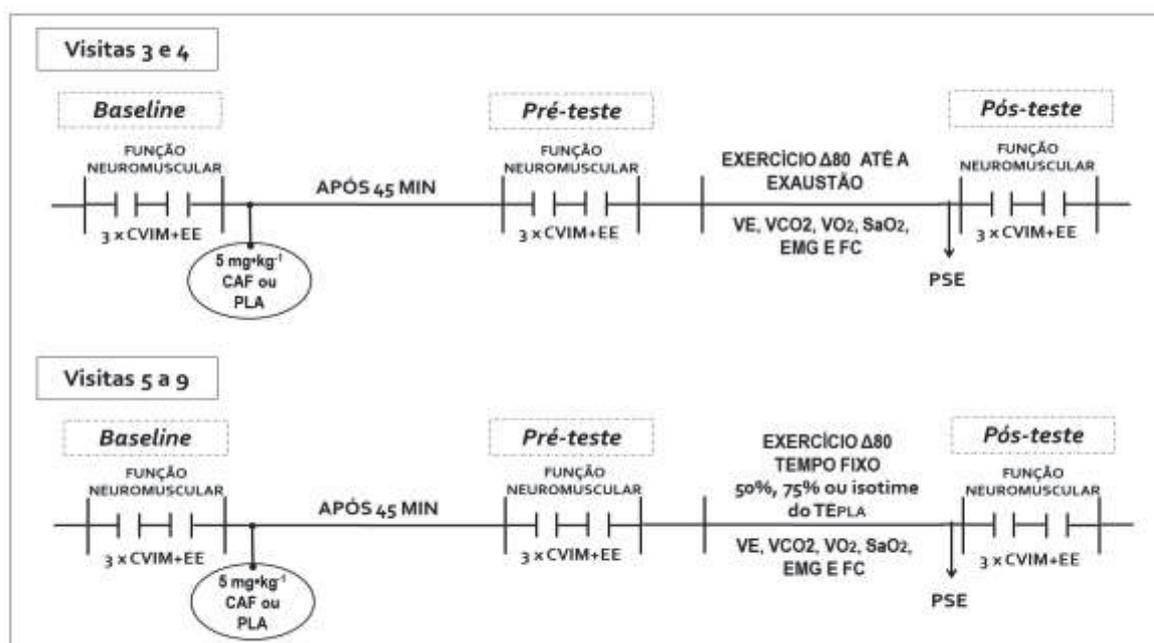
LEGENDA: As setas bidirecionais representam as visitas que foram realizadas em ordem randomizada e contrabalançada. $\Delta 80$: potência correspondente a 80% da diferença entre o limiar de troca gasosa e consumo máximo de oxigênio; CAF: cafeína; PLA: placebo; TE_{PLA} : tempo obtido no teste até a exaustão após ingerir placebo.

Os testes experimentais foram realizados uma hora após a ingestão de uma capsula contendo PLA (celulose) ou CAF (5 mg.kg^{-1} de peso corporal) com 150 ml de água, sendo as cápsulas de idêntica cor, textura, odor e sabor (a pureza da CAF foi testada e declarada no laudo apresentado no Anexo 1). A ingestão das capsulas seguiu um modelo duplo-cego. A ventilação (\dot{V}_E), consumo de oxigênio ($\dot{V}O_2$), produção de dióxido de carbono ($\dot{V}CO_2$), saturação arterial de oxigênio (SaO_2), a frequência cardíaca (FC) e a atividade eletromiográfica (EMG) do músculo vasto lateral foram monitorados continuamente durante cada teste. As percepções subjetivas de esforço local (PSE_L) e geral (PSE_G) foram registradas ao final de cada teste. A função neuromuscular dos músculos do quadríceps foi mensurada antes (baseline), 45 minutos após a suplementação (pré-teste) e um minuto após cada teste (pós-teste). Os participantes foram informados que poderiam estar ingerindo PLA ou CAF, sendo que nos 45 minutos após a ingestão do suplemento e após a

realização de cada teste, os participantes responderam qual substância acreditavam ter ingerido através da seguinte pergunta: “Você acha que ingeriu PLA ou CAF?”.

Os participantes foram instruídos a não realizar nenhum exercício físico, consumo de álcool ou alimentos e bebidas que contivessem CAF durante as 24h que antecediam os testes experimentais. Eles também registraram todos os alimentos e bebidas que foram ingeridas nas 24h anteriores a primeira visita experimental e foram orientados a replicar esse padrão alimentar nas visitas subsequentes. Os participantes foram orientados a realizar sua última alimentação aproximadamente duas horas antes do teste experimental. Todas as visitas foram realizadas no mesmo horário do dia para evitar possíveis variações advindas do ciclo circadiano.

FIGURA 3 - LINHA DO TEMPO DOS PROCEDIMENTOS NOS TESTES EXPERIMENTAIS DO ESTUDO 1



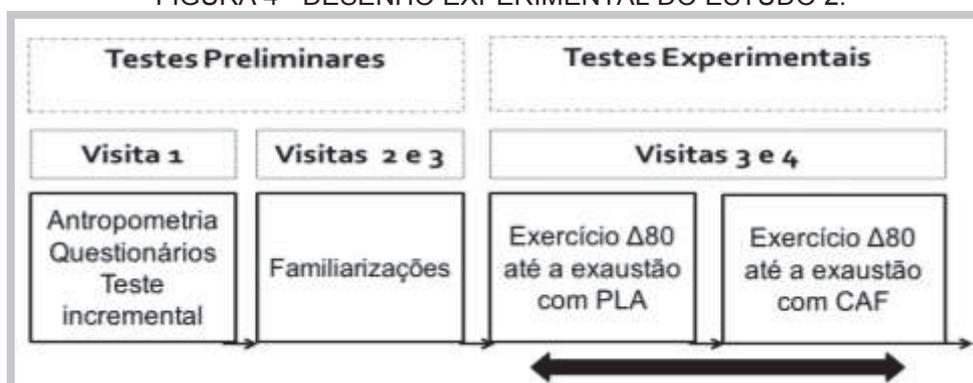
FONTE: A autora (2020).

LEGENDA: CVIM+EE: contração voluntária isométrica máxima e estimulação elétrica para mensurar a função neuromuscular e consequentemente o grau de fadiga central e periférica; CAF: cafeína; PLA: placebo; Δ80: potência correspondente a 80% da diferença entre o limiar de troca gasosa e consumo máximo de oxigênio; VE: ventilação; VCO₂: produção de dióxido de carbono; VO₂: consumo de oxigênio; SaO₂: saturação arterial de oxigênio; EMG: atividade eletromiográfica; FC: frequência cardíaca; PSE: percepção subjetiva de esforço; TE_{PLA}: tempo obtido no teste até a exaustão após ingerir placebo.

3.4.2 Estudo 2

Cada participante realizou cinco visitas ao laboratório, com intervalo mínimo de 72 horas entre elas (Figura 4). Na primeira visita, inicialmente, foi realizada uma avaliação e caracterização antropométrica e os participantes responderam um questionário para quantificação do consumo de CAF e o IPAQ para medir o nível de atividade física. Posteriormente, foi realizado um teste incremental máximo no cicloergômetro mecânico (CEFISE Biotec 2100, São Paulo, Brasil) para identificar o GET, o pico de potência e o $\dot{V}O_{2\text{máx}}$ de cada participante. Na segunda e terceira visitas, foram realizadas familiarizações com o exercício até a exaustão na intensidade do $\Delta 80$. Na quarta e quinta visita, em ordem randomizada e contrabalançada, os participantes realizaram o exercício de carga constante na intensidade do $\Delta 80$ até a exaustão após terem ingerido CAF ou PLA, sendo realizadas biópsias musculares antes e após o exercício para determinar se houve diferença na perturbação intramuscular com e sem CAF após o exercício aeróbio no domínio severo.

FIGURA 4 - DESENHO EXPERIMENTAL DO ESTUDO 2.



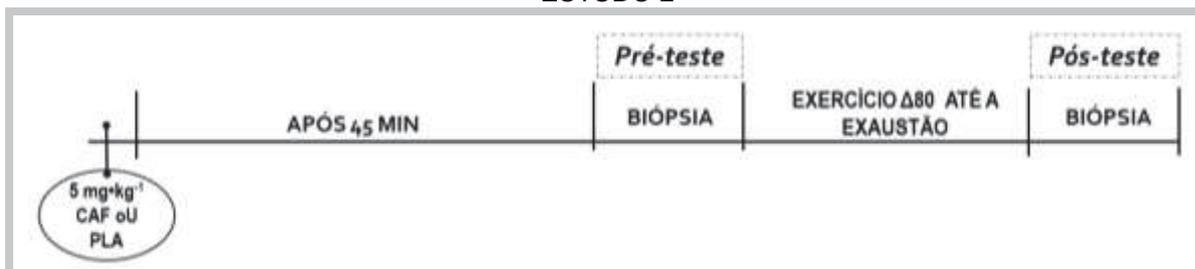
FONTE: A autora (2020).

LEGENDA: As setas bidirecionais representam as visitas que foram realizadas em ordem randomizada e contrabalançada. $\Delta 80$: potência correspondente a 80% da diferença entre o limiar de troca gasosa e consumo máximo de oxigênio; CAF: cafeína; PLA: placebo.

Os exercícios de carga constante até a exaustão foram realizados uma hora após a ingestão de PLA (celulose) ou CAF (5 mg.kg^{-1} de peso corporal) com 150 ml de água, da mesma forma que no estudo 1. As biópsias musculares foram realizadas após a anestesia local, antes do exercício (aproximadamente 45 minutos após a suplementação) e imediatamente após o fim do exercício (aproximadamente 25 s), como descrito na figura 5. No momento pós-exercício, assim que o

participante entrou em exaustão, para evitar a possível dissipação do acúmulo de metabólitos intramusculares através do fluxo sanguíneo aumentado, foi realizada a oclusão vascular da coxa direita, utilizando um manguito para obesos com a pressão de 250mmHg (BLACK *et al.*, 2017). Os mesmos procedimentos de checagem de blindagem e cuidados pré-testes descritos no estudo 1 foram replicados no estudo 2.

FIGURA 5 - LINHA DO TEMPO DOS PROCEDIMENTOS NOS TESTES EXPERIMENTAIS DO ESTUDO 2



FONTE: A autora (2020).

LEGENDA: CAF: cafeína; PLA: placebo; $\Delta 80$: potência correspondente a 80% da diferença entre o limiar de troca gasosa e consumo máximo de oxigênio;

3.5 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

Nos dois estudos, a estatura, a massa corporal e as dobras cutâneas de três pontos anatômicos (peitoral, abdominal e coxa) foram mensuradas, utilizando estadiômetro de fita, uma balança eletrônica (Filizola[®], São Paulo, Brasil) e um adipômetro científico tradicional (CESCORF[®], Porto Alegre, Brasil), respectivamente. As medidas das dobras cutâneas foram realizadas em triplicata, do lado direito do corpo, sendo utilizados os valores da mediana dessas medidas para estimar a composição corporal. Para determinação da densidade corporal e do percentual de gordura corporal foram utilizados os cálculos propostos por Jackson e Pollock (1978) e Siri (1961). Todas as medidas antropométricas foram conduzidas por um único avaliador, experiente com os procedimentos empregados.

3.6 REGISTRO ALIMENTAR E CONSUMO HABITUAL DE CAFEÍNA

Nos dois estudos, os participantes foram orientados a registrarem todos os alimentos (tipo, quantidade e horário) consumidos em cada uma de suas refeições durante as 24 horas precedentes aos testes (Anexo 2). O registro realizado antes da primeira visita experimental foi utilizado para replicar o mais próximo possível a dieta

nas 24 horas antecedentes aos testes subseqüente, que também foram registrados para confirmar a adesão as orientações. Os participantes também responderam um questionário para quantificação do consumo de CAF (Anexo 3). O consumo habitual de CAF foi avaliado através dos valores de referência disponíveis pelo *United States Department of Agriculture no USDA Food Composition Databases*.

3.7 QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA

Nos dois estudos, os participantes foram orientados a responder a versão curta do questionário internacional de atividade física (IPAQ) (CRAIG *et al.*, 2003) (Anexo 4). Os participantes foram orientados a descrever quais tipos de atividades físicas faziam parte do seu dia a dia e as respostas foram utilizadas para determinar o quão ativo o participante estava no momento da coleta de dados, baseado no seu histórico de prática de atividade física e exercícios físicos.

Para classificar o nível de atividade física dos participantes foram considerados todos os parâmetros descritos no protocolo de escores do IPAQ proposto pelo IPAQ Research Committe (2005). Cada participante poderia ser classificado como sedentário, irregularmente ativos, ativo ou muito ativo, de acordo com a frequência semanal, duração e intensidade do exercício.

3.8 TESTE INCREMENTAL MÁXIMO

Nos dois estudos, inicialmente os participantes realizaram um aquecimento a 50 W por cinco minutos e, em seqüência, a potência foi incrementada 25 W.min⁻¹ até a exaustão. Os participantes foram instruídos a manter uma cadência do pedal entre 70 e 80 rotações por minuto (rpm) durante o teste e foram continuamente encorajados verbalmente. A exaustão foi assumida quando a cadência do pedal ficou abaixo de 70 rpm por mais do que 5 segundos consecutivos; quando a cadência foi reduzida para menos de 70 rpm por mais de três vezes consecutivas; ou por exaustão voluntária. (SILVEIRA *et al.*, 2018).

A \dot{V}_E , $\dot{V}O_2$ e $\dot{V}CO_2$ foram mensuradas respiração-a-respiração durante todo o teste usando uma unidade metabólica automática (Estudo 1: Vmax Encore, Carefusion, California, EUA; Estudo 2: Cortex, Metalyzer® 3B, Leipzig, Alemanha). Antes de cada teste, cada unidade metabólica foi calibrada usando os respectivos

parâmetros de suas instruções. No estudo 1, para o aparelho Vmax Encore foi utilizada a calibração do volume através de uma seringa de 3-litros e da estimativa de ar ambiente e duas amostras de gás conhecido (16% O₂ e 4% CO₂; 26% O₂ e 0% CO₂). No estudo 2, para o aparelho Cortex foi utilizada a calibração do volume através de uma seringa de 3-litros e da estimativa de ar ambiente e uma amostra de gás conhecido (12 % O₂ e 5 % CO₂).

O pico de potência foi determinado como a potência mantida durante o último estágio completo. Quando o último estágio não foi completado, o pico de potência foi calculado usando o tempo parcial suportado no último estágio incompleto multiplicado pela taxa de incremento do teste e somada a potência do último estágio completo (KUIPERS *et al.*, 1985). O $\dot{V}O_{2max}$ e a frequência cardíaca máxima (FC_{máx}) foram determinados como a média do $\dot{V}O_2$ e FC durante os últimos 20 e cinco segundos, respectivamente. O GET foi identificado visualmente por dois avaliadores seguindo um conjunto de parâmetros: 1) o primeiro aumento desproporcional na $\dot{V}CO_2$ através de inspeção visual de um gráfico da $\dot{V}CO_2$ vs. $\dot{V}O_2$; 2) um aumento na $\dot{V}E/\dot{V}O_2$ sem aumento no $\dot{V}E/\dot{V}CO_2$; e 3) aumento na pressão expirada de O₂ sem queda na pressão expirada de CO₂ (HOWLEY; BASSETT; WELCH, 1995; WHIPP *et al.*, 1981). Caso haja discordância entre os dois avaliadores, um terceiro avaliador foi demandado para identificação.

3.9 TESTES EXPERIMENTAIS DE CARGA CONSTANTE

No estudo 1 os participantes, que se aqueceram antes do protocolo que avaliou a função neuromuscular (veja no tópico a seguir), foram direcionados ao cicloergômetro, na qual permaneceram sentados por cinco minutos para mensuração da troca gasosa de repouso. Imediatamente após o término do quinto minuto, os participantes se exercitaram no cicloergômetro no domínio severo, com a intensidade correspondente a 80% da diferença entre GET e $\dot{V}O_{2máx}$ ($\Delta 80$), mantendo uma cadência entre 70 e 80 rpm, até a exaustão ou até atingir o tempo pré-determinado.

No estudo 2 os participantes foram direcionados para o cicloergômetro no qual realizaram inicialmente um aquecimento composto de cinco minutos pedalando a 90% do GET, seguidos de cinco minutos de repouso. Apesar de no estudo 2 não terem sido mensurados os componentes de trocas gasosas, os cinco minutos de

repouso foram mantidos para que o protocolo permanecesse similar ao do estudo 1. Novamente, após o quinto minuto do repouso, os participantes se exercitaram no cicloergômetro no domínio severo, com a intensidade do $\Delta 80$, mantendo uma cadência entre 68 e 72 rpm (para minimizar a variação da potência ao utilizar um cicloergômetro mecânico), até a exaustão.

Para os testes até a exaustão, o critério para assumir a exaustão foi o mesmo reportado no teste incremental máximo. Estímulos verbais foram usados para incentivar a manutenção do exercício pelo maior tempo possível. Os participantes não receberam nenhum feedback relacionado a duração do exercício ou nenhum dado relativo aos testes até que tenham concluído todos os testes experimentais.

3.10 AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO NEUROMUSCULAR

Para avaliação da função neuromuscular no estudo 1, uma cadeira extensora adaptada (JKSLEMOS, Curitiba, Brasil) com uma célula de carga (EMG System, São José dos Campos, Brasil) acoplada no apoio da alavanca fixa foi utilizada para a mensuração da força. O encosto traseiro do tronco e a altura da alavanca foram individualmente ajustados de modo que os ângulos internos do quadril e do joelho dos participantes fiquem em 120° e 90° , respectivamente. Fitas Velcro[®] foram utilizadas para limitar movimentos do quadril e tronco. Todas as avaliações foram realizadas no membro inferior direito dos participantes.

Os estímulos elétricos no nervo femoral foram aplicados de forma transcutânea usando um estimulador de corrente constante (Neuro-TES, Neurosoft, Ivanovo, Rússia). O nervo femoral foi inicialmente localizado por palpação na região do triângulo femoral na primeira sessão de familiarização. Com os participantes sentados em uma cadeira, uma caneta estimuladora (SBE-2, Neurosoft, Ivanovo, Rússia) foi utilizada para identificar o local com a maior amplitude de Onda-M evocada por um estímulo elétrico de 15 mA. Neste local foi fixado um eletrodo estimulatório, denominado eletrodo cátodo, monopolar, de 0.5 cm de diâmetro para estimulação do nervo femoral (Ambu Neuroline715, Ballerup, Dinamarca). O eletrodo ânodo foi colocado na prega glútea, oposto ao eletrodo catódico. Um eletrodo bipolar de superfície com adesivo hidrogel sólido (Ambu Neuroline715, Ballerup, Dinamarca) foi posicionado sobre a região correspondente a 2/3 do músculo vasto lateral da

perna direita, seguindo o direcionamento das fibras musculares, enquanto o eletrodo terra foi posicionado na tíbia, de acordo com o *Surface Electromyography for the Non-Invasive Assessment of Muscles Standards* (HERMENS *et al.*, 2000). Esses eletrodos serviram para o monitoramento da EMG do músculo vasto lateral durante a CVIM e o exercício de carga constante.

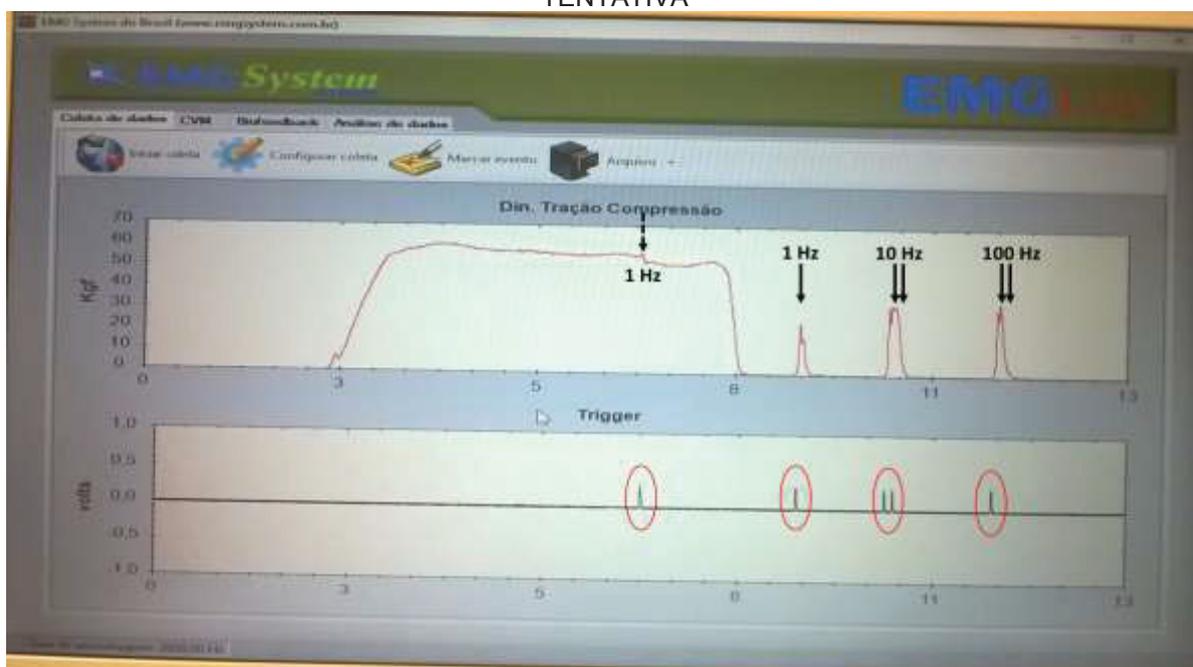
Para colocação dos eletrodos, a pele foi raspada e limpa com álcool 70% em todas as visitas para reduzir a impedância entre a pele e o eletrodo. Fitas adesivas hipoalergênicas (Micropore™ 3 M, São Paulo, Brasil) foram utilizadas para fixar os cabos dos eletrodos, minimizando artefatos gerados por movimentos. Para garantir a mesma colocação dos eletrodos entre os diferentes dias de testes, a localização dos eletrodos foi marcada na pele com caneta de tinta semipermanente e uma transparência foi utilizada para registro da posição dos eletrodos, baseada em marcas e cicatrizes existentes de cada participante.

Após a fixação dos eletrodos, os estímulos elétricos (frequência de 1Hz e duração de 1ms) foram iniciados com intensidade de 15 mA e incrementos de 5 mA a cada 30 segundos, até alcançar um platô na força de contração do quadríceps gerada pelo estímulo de 1 Hz (Q_{tw}) e na amplitude do componente de potencial de ação muscular (Onda-M). Essa intensidade foi aumentada em 20% nos testes experimentais para garantir estímulos supramáximos (NEYROUD *et al.*, 2014). A amplitude da Onda-M foi checada antes do início de cada experimento, para garantir a colocação do eletrodo no local onde a máxima amplitude de Onda-M fosse identificada, sendo realizados possíveis ajustes quando necessário.

Nas visitas experimentais, os participantes realizaram inicialmente um aquecimento composto de cinco minutos pedalando a 90% do GET, seguidos de quatro contrações voluntárias isométricas de cinco segundos, executando extensões de joelho a 60%, 70%, 80% e 100% da força isométrica máxima subjetiva, respectivamente, com 30 segundos de intervalo entre as repetições (ALBERTUS-KAJEE *et al.*, 2010). Após término do aquecimento, três CVIM foram realizadas, com intervalo de um minuto entre elas. Os participantes foram orientados a atingir a força máxima o mais rápido possível em cada contração e então mantê-la por cinco segundos. Os participantes receberam *feedback* visual do nível de força e foram estimulados verbalmente durante todas as CVIM. O primeiro estímulo único (frequência de 1Hz e duração de 1ms) foi aplicado assim que o platô de força foi detectado durante a CVIM (estímulo sobreposto), mediante a visualização da

estabilização na produção de força voluntária (BEHM; ST-PIERRE; PEREZ, 1996). Estímulos potencializados foram evocados no quadríceps após a CVIM, através estímulos únicos (Q_{twpot}) e estímulos duplos de 10 Hz (Q_{tw10}) e 100Hz (Q_{tw100}), aplicados imediatamente após, 2º e 4º segundos após a CVIM, respectivamente (Figura 6). Este procedimento foi repetido três vezes, com intervalo de 60 segundos entre as contrações.

FIGURA 6 - FIGURA ILUSTRATIVA DE UMA CVIM E DA SEQUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE ESTÍMULOS ELÉTRICOS PARA DETERMINAÇÃO DA FUNÇÃO NEUROMUSCULAR EM UMA TENTATIVA



FONTE: A autora (2020).

LEGENDA: A seta pontilhada durante o platô de força da contração voluntária isométrica máxima (CVIM) representa o estímulo sobreposto de 1Hz; A seta contínua imediatamente após a CVIM representa o estímulo único potencializado de 1Hz; As setas duplas após a CVIM, em ~10s e 12s, representam os estímulos duplos potencializados de 10Hz e 100Hz, respectivamente.

3.11 BIÓPSIA MUSCULAR

No estudo 2, incisões no músculo vasto lateral foram realizadas com bisturi após anestesia local (2% Xylestesin®). Amostras de tecido muscular (80-120 mg) foram coletadas usando a agulha de Bergström (BERGSTROM, 1962) adaptada para sucção manual (EVANS; PHINNEY; YOUNG, 1982), conforme ilustrado na Figura 7. As quatro amostras foram coletadas sempre na coxa direita, à aproximadamente 1 cm de distância do local da biópsia anterior. As amostras foram

imediatamente congeladas e armazenadas em nitrogênio líquido para posterior análise.

FIGURA 7 - SEQUÊNCIA PARA OBTENÇÃO DO TECIDO MUSCULAR: 1) ANESTESIA; 2) INCISÃO COM BISTURI; 3) ENTRADA COM AGULHA DE BERGSTRÖM E; 4) POSTERIOR ARMAZENAMENTO.



FONTE: A autora (2020).

3.12 ANÁLISES

3.12.1 Respostas sistêmicas durante o exercício

No estudo 1, os dados de \dot{V}_E , $\dot{V}CO_2$, $\dot{V}O_2$, FC e saturação de oxigênio da hemoglobina durante os testes de tempo fixo e até exaustão foram monitoradas continuamente. Para mensuração da FC e saturação de oxigênio foram utilizados um monitor cardíaco (Polar FT1 Coded, Kempele, Finlândia) e um oxímetro de dedo (Dellamed, Rio Grande do Sul, Brasil) posicionado sempre no dedo indicador da mão direita, respectivamente.

Para análise dos valores da \dot{V}_E , $\dot{V}CO_2$, $\dot{V}O_2$, SaO_2 e FC foram realizadas as médias dos últimos 20 segundos de cada teste para cada variável, determinando os valores obtidos ao final de cada teste com tempo fixo e de cada teste até a exaustão.

3.12.2 Determinação do tempo para alcançar o $\dot{V}O_{2\text{máx}}$ e tempo de manutenção no $\dot{V}O_{2\text{máx}}$

No estudo 1, os dados obtidos do $\dot{V}O_2$ respiração-a-respiração durante os dois testes até a exaustão no domínio severo foram interpolados para obter os dados de $\dot{V}O_2$ segundo-a-segundo (*OriginPro* 8.5, Northampton, USA). Como o principal objetivo da análise é caracterizar a resposta geral do $\dot{V}O_2$ durante o exercício e calcular o tempo correspondente para alcançar o $\dot{V}O_{2\text{máx}}$, o gráfico do $\dot{V}O_2$ em relação ao tempo foi ajustado usando um modelo único exponencial sem atraso, com a janela de ajuste começando em $t = 0$ s [equivalente ao tempo médio de resposta (MRT)] (BAILEY *et al.*, 2011; NEMEZIO *et al.*, 2015; WHIPP; OZYENER, 1998):

$$\dot{V}O_2(t) = \dot{V}O_{2\text{baseline}} + A [1 - e^{-(t/\text{MRT})}]$$

Onde $\dot{V}O_2(t)$ é o consumo de oxigênio a um dado tempo do exercício, $\dot{V}O_{2\text{baseline}}$ é a média de $\dot{V}O_2$ durante os últimos 90 segundos do período de repouso, A é a amplitude assintótica determinada pela diferença entre o $\dot{V}O_2$ final e o $\dot{V}O_{2\text{baseline}}$ e MRT é o tempo médio de resposta definido como o tempo necessário para atingir 63% de A .

Conforme descrito anteriormente, os parâmetros $\dot{V}O_{2\text{baseline}}$ e A foram imputados como parâmetros fixos no modelo exponencial, com MRT sendo determinado usando o método não-linear de quadrados mínimos para ajuste de curva (GraphPad Software, San Diego, USA) (CAPUTO; DENADAI, 2006; SILVEIRA *et al.*, 2018). Foi assumido que o $\dot{V}O_2$ tinha alcançado o $\dot{V}O_{2\text{máx}}$ quando o valor de “ $1 - e^{-(t/\text{MRT})}$ ” da equação acima fosse 0.95, que é o valor equivalente a 3 MRT (SILVEIRA *et al.*, 2018; WHIPP; ROSSITER, 2005). Assim, o tempo para alcançar o $\dot{V}O_{2\text{máx}}$ foi definido como três vezes o tempo médio de resposta (3MRT) (WHIPP; ROSSITER, 2005) e o tempo de manutenção no $\dot{V}O_{2\text{máx}}$ foi determinado pela diferença entre o tempo de exaustão e o tempo para alcançar o $\dot{V}O_{2\text{máx}}$ (CAPUTO; DENADAI, 2006; SILVEIRA *et al.*, 2018).

3.12.3 Atividade eletromiográfica

No estudo 1, a EMG do músculo vasto lateral da perna direita foi continuamente registrada durante o teste de carga constante até a exaustão e tempo fixo, assim como nas CVIM, com uma taxa de amostragem de 20.000 Hz (Neuro-MEP-Micro, Neurosoft, Ivanovo, Rússia).

O sinal EMG bruto foi filtrado através de filtro *butterworth* de 4ª ordem *band-pass* com frequência de corte de 20 e 500 Hz e retificado *full wave*. O root mean square (RMS) de cada *burst* foi calculado, com o início de cada *burst* determinado como um aumento de 3 desvios padrões (DP) acima dos valores do baseline e o final de cada *burst* definido como uma redução inferior a 3 DP do baseline. A média dos valores RMS durante os últimos 20 s de cada teste foi normalizado pelo RMS calculado pelos valores da CVIM (%RMS_{CVIM}).

3.12.4 Percepção Subjetiva de Esforço

No estudo 1, a PSE_G e PSE_L foram mensuradas através da Escala de Percepção Subjetiva de Esforço de 15 pontos de Borg (1982) (Anexo 5). Todos os participantes foram familiarizados com a escala nas sessões de familiarização e orientados antes de cada teste. A escala de PSE foi respondida ao final de cada teste de carga constante até a exaustão ou tempo fixo, respondendo um número na escala para cada questionamento. O participante foi orientado a fazer uma análise do estado de cansaço dos membros inferiores (local) e uma análise geral de seu estado de cansaço (cardiorrespiratória), quantificando sua PSE_G e PSE_L, respectivamente.

3.12.5 Parâmetros da Função Neuromuscular

No estudo 1, a CVIM foi determinada como a média de força voluntária executada durante os 250 ms anteriores ao estímulo sobreposto (THOMAS *et al.*, 2015). O pico de força alcançado durante cada estímulo potencializado (Q_{twpot} , Q_{tw10} e Q_{tw100}) foi determinado (MILLET *et al.*, 2012) e a amplitude pico-a-pico da Onda-M para o estímulo potencializado de 1Hz (Q_{twpot}) foi calculado (RODRIGUEZ-FALCES;

PLACE, 2016). A ativação voluntária máxima (AV) foi calculada pela técnica de *twitch interpolation*, usando a seguinte equação (MERTON, 1954):

$$VA (\%) = [1 - (\text{força sobreposta} / Q_{\text{twpot}})] \times 100$$

Em que a força sobreposta é o incremento de força evocado eletricamente durante a CVIM (pico de força evocada pelo estímulo sobreposto – força no momento do estímulo) e Q_{twpot} é a força evocada pelo estímulo potencializado de 1Hz.

A média dos três valores de cada parâmetro neuromuscular foi determinado nos momentos baseline, pré-teste e pós-teste e usado nas análises futuras. As análises preliminares demonstraram que somente a CAF isolada não afeta nenhum parâmetro neuromuscular (comparação do baseline vs. pré-teste, veja a Tabela 2), assim como já tem sido demonstrado por outros estudos (FELIPPE *et al.*, 2018; SANTOS *et al.*, 2020). Nesse sentido, as fadigas global e central foram mensuradas através do percentual de variação do baseline para pós-teste na CVIM e AV, respectivamente (FELIPPE *et al.*, 2018; GANDEVIA, S. C., 2001; VØLLESTAD, 1997), enquanto a fadiga periférica foi mensurada através do percentual de variação do baseline para o pós-teste no Q_{tw} , Q_{tw10} , and Q_{tw100} (ENOKA; DUCHATEAU, 2008; FELIPPE *et al.*, 2018; VØLLESTAD, 1997). As variações do baseline para o pós-teste na amplitude da Onda-M foram usados como marcados de possíveis alterações na excitabilidade da membrana (FELIPPE *et al.*, 2018; RODRIGUEZ-FALCES; PLACE, 2016).

3.12.6 Análises do Tecido Muscular

No estudo 2, as amostras de tecido muscular foram processadas conforme previamente descrito (CASTRO *et al.*, 2019; LE BELLE *et al.*, 2002), através do método de análise alvo (*target analysis*) para quantificação das concentrações dos metabólitos AMP, creatina, creatina fosfato e lactato.

Resumidamente, os fragmentos de tecido muscular (~40 mg) foram pesados e adicionados a uma solução fria de metanol/clorofórmio (2:1 v/v, total de 2,5 ml). Então os tecidos foram homogeneizados no gelo (3 ciclos de 30 segundos, intercalados com 10 s de pausa) e sonicados por 3 minutos com 10 segundos de pausa entre cada minuto. Após isto, uma solução fria de clorofórmio/água Milli-Q

(1:1 v/v, total de 2,5 ml) foi adicionada às amostras. As amostras foram brevemente agitadas (para formar uma emulsão) e centrifugadas (2000 gramas, 30 minutos, a 4°C). A fase superior da mistura (metanol, água e metabólitos polares) foi coletada e totalmente seca em um concentrador de vácuo (miVac Duo Concentrator, Genevac, UK). A fase sólida restante foi reidratada em 0,6 ml de óxido de deutério contendo tampão fosfato (0,1 M, pH 7.4) e 0,5 mM de TMSP-d4. As amostras foram adicionadas a um tubo de ressonância magnética nuclear (RMN) de 5 mm (Wilmad Standard Series 5 mm, Sigma-Aldrich®) para leitura e obtenção dos espectros no espectrômetro.

Para obtenção e quantificação dos metabólitos por metabolômica, a partir das amostras de tecido muscular foram adquiridos espectros utilizando o software VnmrJ (Varian NMR Systems) e um espectrômetro de RMN Inova Agilent (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, EUA), operando a uma frequência de ressonância de ^1H 600 MHz e temperatura constante de 298 K (25 °C), no Laboratório Nacional de Biociências (LNBio - <http://lnbio.cnpem.br/>, Campinas, SP, Brasil). Um total de 256 decaimentos de indução livre (FID) foi utilizado, com tempo de aquisição de 4 s e intervalo entre scans (*relaxation delay*) de 1,5 s sobre uma amplitude espectral de 8000 Hz. A fase espectral e as correções de base, assim como, a identificação e quantificação dos metabólitos presentes nas amostras, foram realizadas utilizando o software Suite 7.6 Chenomx RMN (Chenomx Inc., Edmonton, AB, Canada), utilizando o sinal do TMSP (concentração conhecida) como referência interna para a quantificação das concentrações dos metabólitos AMP, creatina, creatina fosfato e lactato. Todos os espectros de RMN foram processados com *line broadening* (lb) de 0,3 Hz para suavizar os ruídos nos sinais espectrais.

3.13 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Em ambos os estudos, foi realizada uma análise estatística descritiva de todas as variáveis com determinação da média e desvio padrão, como medidas de tendência central e de dispersão. A normalidade da amostra foi confirmada através do teste de Shapiro-Wilk.

Uma análise de variância (ANOVA) *one-way* para medidas repetidas foi utilizada para determinar se $\dot{V}\text{O}_2$ ao final dos testes até a exaustão com PLA e CAF foi diferente do $\dot{V}\text{O}_{2\text{max}}$ mensurado no teste incremental máximo. Um teste *t* pareado

foi utilizado para comparar o tempo até a exaustão, tempo médio de resposta, tempo para alcançar o $\dot{V}O_{2max}$, e tempo de manutenção no $\dot{V}O_{2max}$ entre os testes até a exaustão de CAF e PLA. O tamanho de efeito também foi calculado usando D de Cohen (ES), através das médias e desvios padrões agrupados, assumindo os valores como trivial ($ES < 0,2$), pequeno ($0,2 \leq ES < 0,6$), moderado ($0,6 \leq ES < 1,2$), grande ($1,2 \leq ES < 2,0$) e muito grande ($ES \geq 2,0$) (HOPKINS, 2004). Uma ANOVA *two-way* para medidas repetidas foi utilizado para determinar os efeitos do suplemento e tempo de exercício sobre a \dot{V}_E , $\dot{V}CO_2$, $\dot{V}O_2$, SaO₂, FC, RMS, PSE_G e PSE_L; sobre as variações dos parâmetros da função neuromuscular para determinar os níveis de fadiga; sobre as variações dos metabólitos intramusculares (AMP, PCr, creatina e lactato). Caso a esfericidade dos dados fosse violada de acordo com o teste de Mauchly, o fator de Greenhouse-Geisser foi aplicado para corrigir os graus de liberdade. O teste post hoc de Tukey foi aplicado para identificar onde a diferença significativa estava localizada. O *Partial eta squared* (η_p^2) também foi calculado para efeitos principais do suplemento ou tempo e interações entre tempo e suplemento da ANOVA (LEVINE; HULLETT, 2002). O η_p^2 foi considerado como pequeno ($\eta_p^2 < 0,06$), moderado ($0,06 \leq \eta_p^2 < 0,15$) ou grande ($\eta_p^2 \geq 0,15$) (COHEN, 1988). Os dados foram descritos como média e desvio padrão (DP), a não ser nos locais reportados. A análise estatística foi realizada utilizando um Software Estatístico para Windows (version 10; StatSoft, Tulsa, OK) e o nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 ESTUDO 1

4.1.1 Caracterização da Amostra do Estudo 1

Dos 12 participantes que iniciaram os testes experimentais do primeiro estudo, 10 participantes completaram o protocolo experimental do estudo, enquanto dois participantes foram excluídos da amostra por não atenderem aos critérios estabelecidos para permanência no estudo. Desse modo, os resultados apresentados na presente tese são referentes a 10 participantes homens (idade: 25 ± 7 anos, massa corporal: 82 ± 12 kg, altura: 176 ± 11 cm, percentual de gordura: 11 ± 4 %), com baixa a moderada ingestão habitual de CAF (98 ± 43 mg.dia⁻¹) (GONÇALVES *et al.*, 2017). Os participantes eram saudáveis e foram caracterizados como fisicamente ativos, de acordo com o IPAQ. No teste incremental o pico de potência foi identificado em $288,3 \pm 27$ W e o $\dot{V}O_{2max}$ foi de $3,40 \pm 0,42$ L·min⁻¹ ($42,2 \pm 8,2$ mL·kg⁻¹·min⁻¹). O GET foi identificado em $122,5 \pm 24,9$ W. Sendo assim, a potência no $\Delta 80$ foi determinada em $256,4 \pm 24,0$ W, correspondente a $89\% \pm 2\%$ do pico de potência no teste incremental máximo.

4.1.2 Tempo de Exaustão, Tempo para Alcançar o $\dot{V}O_{2max}$ e Tempo de Manutenção no $\dot{V}O_{2max}$ durante os Testes até a Exaustão

O tempo até a exaustão foi mais longo ($14,4 \pm 1,6\%$) com CAF quando comparado ao PLA ($t_{(9)} = 2,93$, $p = 0,017$, $ES = 0,75$, Tabela 1). O tempo médio de resposta e tempos para alcançar o $\dot{V}O_{2max}$ foram similares entre CAF e PLA (ambos $t_{(9)} = 0,72$, $p = 0,489$, $ES = 0,02$), entretanto CAF aumentou o tempo de manutenção no $\dot{V}O_{2max}$ ($t_{(9)} = 3,58$, $p = 0,006$, $ES = 0,60$). O $\dot{V}O_2$ final não foi diferente entre CAF e PLA; além disso, o $\dot{V}O_2$ final das duas condições não foi diferente dos valores de $\dot{V}O_2$ alcançados durante o teste incremental máximo ($F_{(2)} = 1,85$, $p = 0,185$, $\eta_p^2 = 0,171$).

TABELA 1 - TEMPO ATÉ A EXAUSTÃO E PARÂMETROS DA CINÉTICA DE CONSUMO DE OXIGÊNIO ($\dot{V}O_2$) DURANTE UM EXERCÍCIO REALIZADO NO DOMÍNIO SEVERO ATÉ A EXAUSTÃO APÓS A INGESTÃO DE CAFEÍNA (CAF) E PLACEBO (PLA).

	PLA	CAF	95% IC	p
Tempo até a exaustão (s)	314,4 ± 47,9	354,9 ± 40,8	-71,7 a -9,2	0,017†
Tempo médio de resposta (s)	80,7 ± 20,1	82,6 ± 17,8	-4,0 a 7,8	0,489
Tempo para alcançar o $\dot{V}O_{2max}$ (s)	247,8 ± 53,5	242,2 ± 60,4	-12,0 a 23,3	0,489
Tempo de manutenção no $\dot{V}O_{2max}$ (s)	66,6 ± 54,2	112,7 ± 66,2	-75,6 a -16,7	0,006†
$\dot{V}O_2$ final (L.min ⁻¹)	3,5 ± 0,3	3,5 ± 0,3	-0,1 a 0,1	0,185

FONTE: A autora (2020).

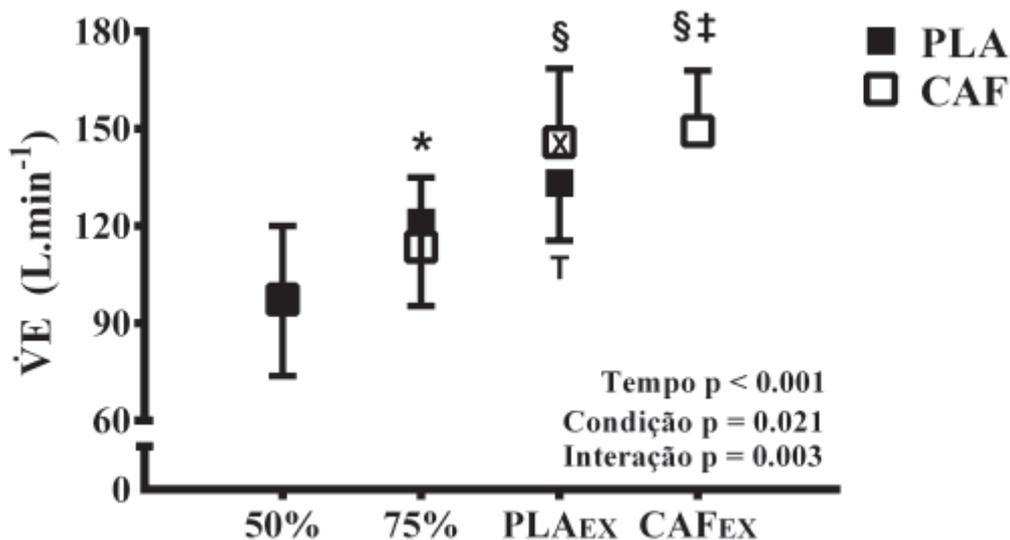
LEGENDA: † Significativamente maior na condição CAF do que na condição PLA (P < 0,05). 95% IC: 95% do intervalo de confiança da diferença entre CAF-PLA.

4.1.3 Respostas Sistêmicas, Perceptivas e Recrutamento Muscular durante o Exercício

A \dot{V}_E e $\dot{V}CO_2$ aumentaram durante o exercício (efeito do tempo, $F_{(3,27)} = 62,24$; $p < 0,001$; $\eta_p^2 = 0,87$ e $F_{(3,27)} = 10,62$; $p < 0,001$; $\eta_p^2 = 0,54$, respectivamente), com valores sendo maiores a 75% do que em 50% do tempo até a exaustão para ambas condições ($p < 0,001$ e $p = 0,006$, respectivamente). Entretanto, houve um efeito do suplemento ($F_{(1,9)} = 7,74$; $p = 0,021$; $\eta_p^2 = 0,46$ e $F_{(1,9)} = 6,20$; $p = 0,034$; $\eta_p^2 = 0,41$, respectivamente) e uma interação entre tempo suplemento para \dot{V}_E e $\dot{V}CO_2$ ($F_{(3,27)} = 6,09$; $p = 0,003$; $\eta_p^2 = 0,40$, Figura 8, e $F_{(3,27)} = 4,54$; $p = 0,011$; $\eta_p^2 = 0,33$, Figura 9, respectivamente). A \dot{V}_E e $\dot{V}CO_2$ no isotime com CAF foi maior do que a 75% da exaustão ($p < 0,001$ e $p = 0,034$, respectivamente) e posteriormente aumentaram na exaustão da CAF (ambos $p = 0,04$). Por outro lado, \dot{V}_E e $\dot{V}CO_2$ na exaustão do PLA não foram significativamente diferentes dos valores a 75% da exaustão ($p = 0,999$ e $p = 0,149$, respectivamente). Em adição, \dot{V}_E e $\dot{V}CO_2$ na exaustão da CAF foram maiores do que na exaustão do PLA ($p = 0,021$ e $p = 0,046$, respectivamente).

O $\dot{V}O_2$ aumentou com o exercício (efeito do tempo, $F_{(3,27)} = 43,61$; $p < 0,001$; $\eta_p^2 = 0,83$, Figura 10), sem nenhum efeito do suplemento ($F_{(1,9)} = 0,01$; $p = 0,925$; $\eta_p^2 = 0,01$) ou efeito de interação entre tempo x suplemento ($F_{(3,27)} = 0,07$; $p = 0,976$; $\eta_p^2 = 0,01$).

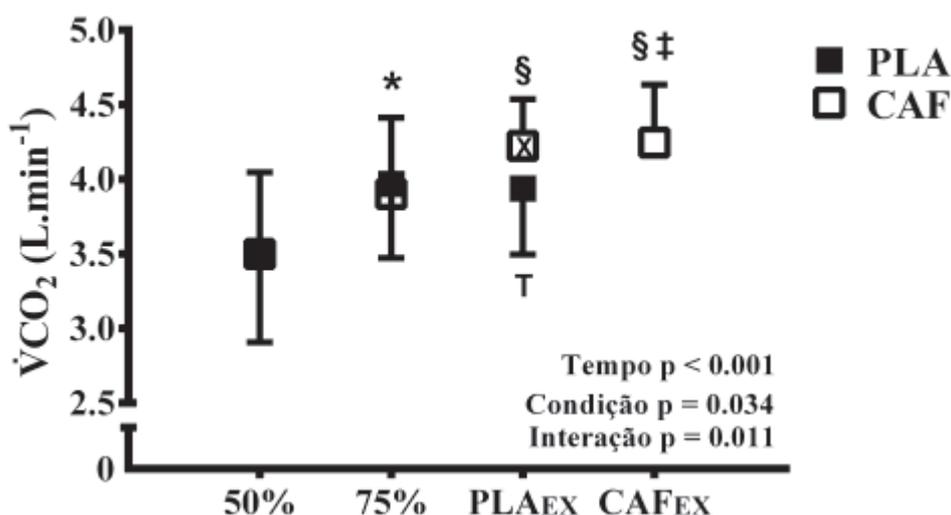
FIGURA 8 - VENTILAÇÃO PULMONAR (\dot{V}_E) EM 50%, 75% E NA EXAUSTÃO (EX) DE UM EXERCÍCIO AERÓBIO DE INTENSIDADE SEVERA APÓS A INGESTÃO DE PLACEBO (PLA, QUADRADO PRETO) E CAFEÍNA (CAF, QUADRADO VAZIO).



FONTE: A autora (2020).

LEGENDA: Os dados do isotime, em que o teste com CAF correspondeu ao tempo do teste até a exaustão do PLA (quadrado vazio com um "x" dentro), também estão reportados. * Significativamente maior do que todos os momentos anteriores nas duas condições ($P < 0,05$). T Significativamente maior do que 50% da exaustão do PLA ($P < 0,05$). § Significativamente maior do que todos os momentos anteriores apenas na condição CAF ($P < 0,05$). ‡ A exaustão da CAF foi significativamente maior do que a exaustão do PLA ($P < 0,05$).

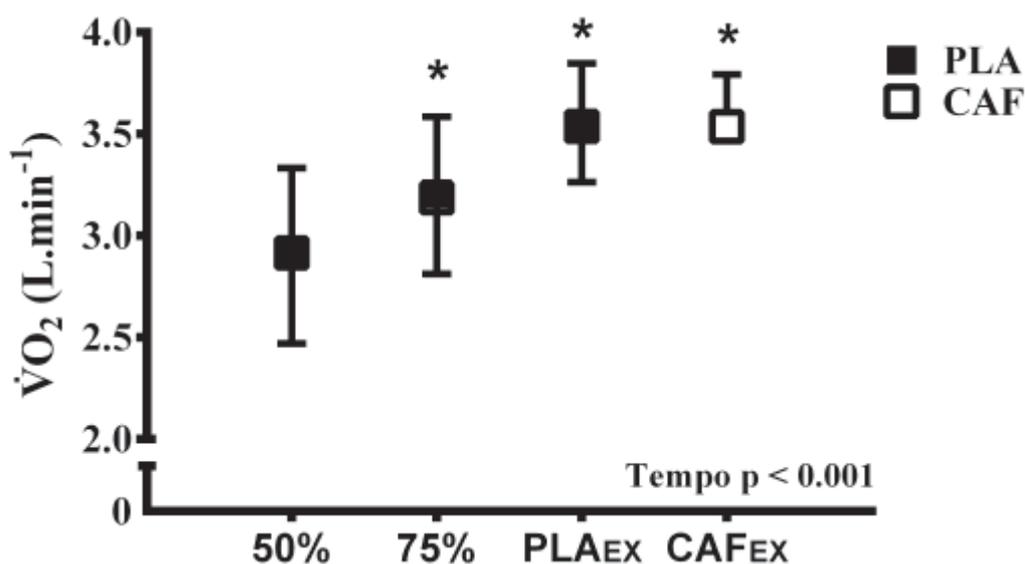
FIGURA 9 - PRODUÇÃO DE DIÓXIDO DE CARBONO ($\dot{V}CO_2$) EM 50%, 75% E NA EXAUSTÃO (EX) DE UM EXERCÍCIO AERÓBIO DE INTENSIDADE SEVERA APÓS A INGESTÃO DE PLACEBO (PLA, QUADRADO PRETO) E CAFEÍNA (CAF, QUADRADO VAZIO).



FONTE: A autora (2020).

LEGENDA: Os dados do isotime, em que o teste com CAF correspondeu tempo do teste até a exaustão do PLA (quadrado vazio com um "x" dentro) também estão reportados. * Significativamente maior do que todos os momentos anteriores nas duas condições ($P < 0,05$). T Significativamente maior do que 50% da exaustão do PLA ($P < 0,05$). § Significativamente maior do que todos os momentos anteriores apenas na condição CAF ($P < 0,05$). ‡ A exaustão da CAF foi significativamente maior do que a exaustão do PLA ($P < 0,05$).

FIGURA 10 - CONSUMO DE OXIGÊNIO ($\dot{V}O_2$) EM 50%, 75% E NA EXAUSTÃO (EX) DE UM EXERCÍCIO AERÓBIO DE INTENSIDADE SEVERA APÓS A INGESTÃO DE PLACEBO (PLA, QUADRADO PRETO) E CAFÉINA (CAF, QUADRADO VAZIO).



FONTE: A autora (2020).

LEGENDA: Os dados do isotime, em que o teste com CAF correspondeu tempo do teste até a exaustão do PLA (quadrado vazio com um "x" dentro) também estão reportados.

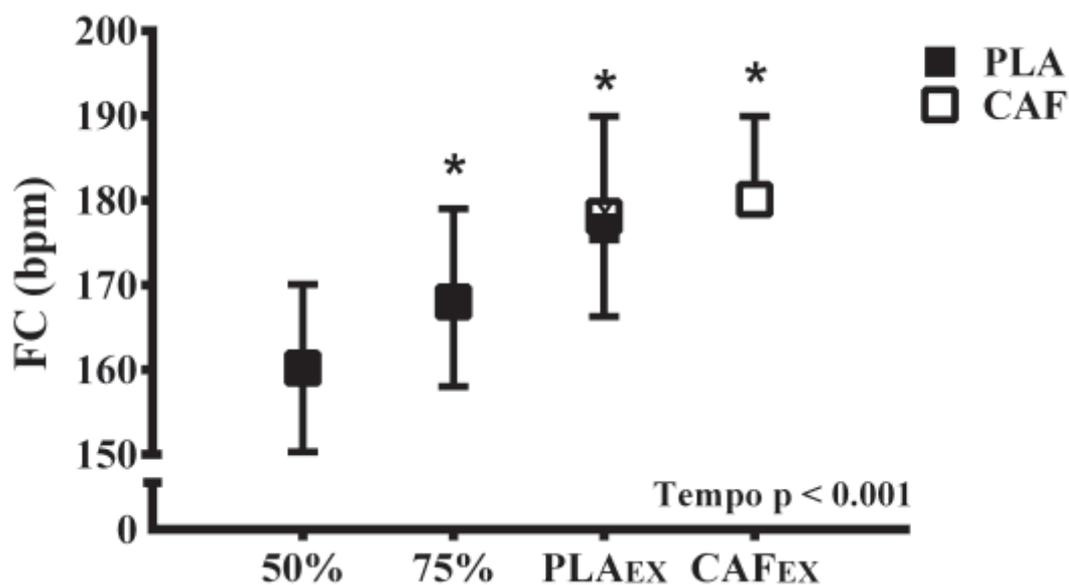
* Significativamente maior do que todos os momentos anteriores nas duas condições ($P < 0,05$).

Seguindo o mesmo comportamento, a FC aumentou com o exercício (efeito do tempo, $F_{(3,27)} = 47,61$; $p < 0,001$; $\eta_p^2 = 0,84$, Figura 11), sem nenhum efeito do suplemento ($F_{(1,9)} = 3,63$; $p = 0,089$; $\eta_p^2 = 0,29$) ou efeito de interação entre tempo x suplemento ($F_{(3,27)} = 1,50$; $p = 0,236$; $\eta_p^2 = 0,14$).

A SaO_2 foi mantida constante durante todo o exercício (efeito do tempo, $F_{(3,27)} = 2,36$; $p = 0,142$, $\eta_p^2 = 0,21$, Figura 12), entretanto os valores permaneceram sempre maiores na condição CAF do que em PLA (efeito do suplemento, $F_{(1,9)} = 9,26$; $p = 0,014$; $\eta_p^2 = 0,51$), sem apresentar alterações significativas na interação tempo x suplemento ($F_{(3,27)} = 1,85$; $p = 0,139$; $\eta_p^2 = 0,17$).

A PSE_G e PSE_L aumentaram com o exercício em ambas condições (efeito do tempo, $F_{(3,27)} = 58,77$; $p < 0,001$; $\eta_p^2 = 0,87$ e $F_{(3,27)} = 196,89$; $p < 0,001$; $\eta_p^2 = 0,96$, respectivamente), entretanto os valores foram sempre menores com CAF do que com PLA para ambas PSE_G e PSE_L (efeito do suplemento, $F_{(1,9)} = 6,63$; $p = 0,030$; $\eta_p^2 = 0,42$, Figura 13A e $F_{(1,9)} = 5,49$; $p = 0,044$; $\eta_p^2 = 0,38$, Figura 13B, respectivamente), sem interação entre tempo x suplemento para ambas PSE_G e PSE_L ($F_{(3,27)} = 1,40$; $p = 0,263$; $\eta_p^2 = 0,14$ e $F_{(3,27)} = 2,44$; $p = 0,065$; $\eta_p^2 = 0,21$, respectivamente).

FIGURA 11 - FREQUÊNCIA CARDÍACA (FC) EM 50%, 75% E NA EXAUSTÃO (EX) DE UM EXERCÍCIO AERÓBIO DE INTENSIDADE SEVERA APÓS A INGESTÃO DE PLACEBO (PLA, QUADRADO PRETO) E CAFEÍNA (CAF, QUADRADO VAZIO).

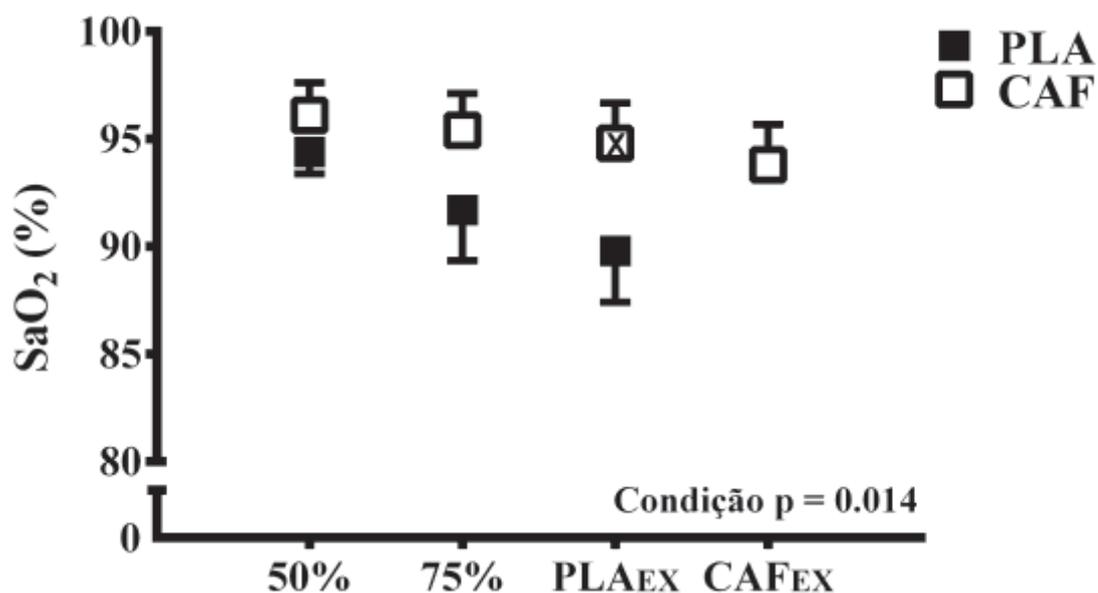


FONTE: A autora (2020).

LEGENDA: Os dados do isotime, em que o teste com CAF correspondeu tempo do teste até a exaustão do PLA (quadrado vazio com um "x" dentro) também estão reportados.

* Significativamente maior do que todos os momentos anteriores nas duas condições ($P < 0,05$).

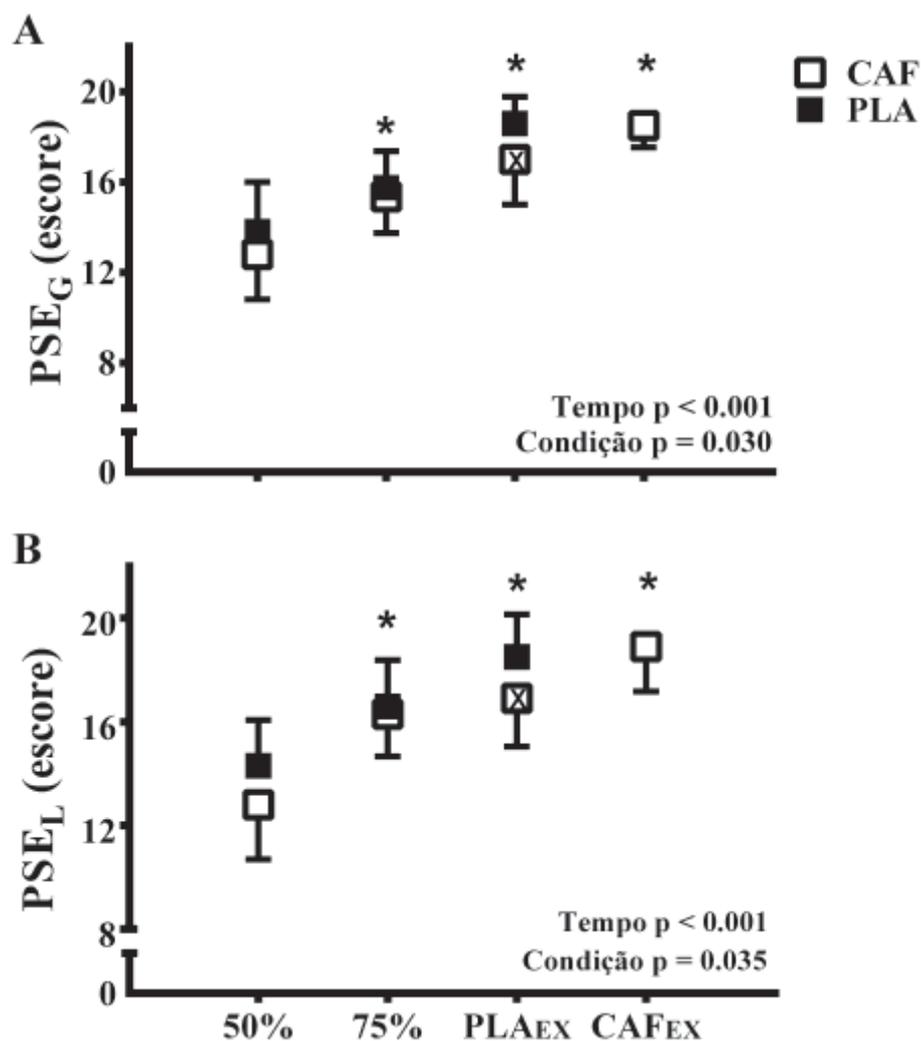
FIGURA 12 - SATURAÇÃO ARTERIAL DE OXIGÊNIO (SaO₂) EM 50%, 75% E NA EXAUSTÃO (EX) DE UM EXERCÍCIO AERÓBIO DE INTENSIDADE SEVERA APÓS A INGESTÃO DE PLACEBO (PLA, QUADRADO PRETO) E CAFEÍNA (CAF, QUADRADO VAZIO).



FONTE: A autora (2020).

LEGENDA: Os dados do isotime, em que o teste com CAF correspondeu tempo do teste até a exaustão do PLA (quadrado vazio com um "x" dentro) também estão reportados.

FIGURA 13 - PERCEÇÃO SUBJETIVA DE ESFORÇO GERAL (PSE_G , A) E LOCAL (PSE_L , B) EM 50%, 75% E NA EXAUSTÃO (EX) DE UM EXERCÍCIO AERÓBIO DE INTENSIDADE SEVERA APÓS A INGESTÃO DE PLACEBO (PLA, QUADRADO PRETO) E CAFEÍNA (CAF, QUADRADO VAZIO).



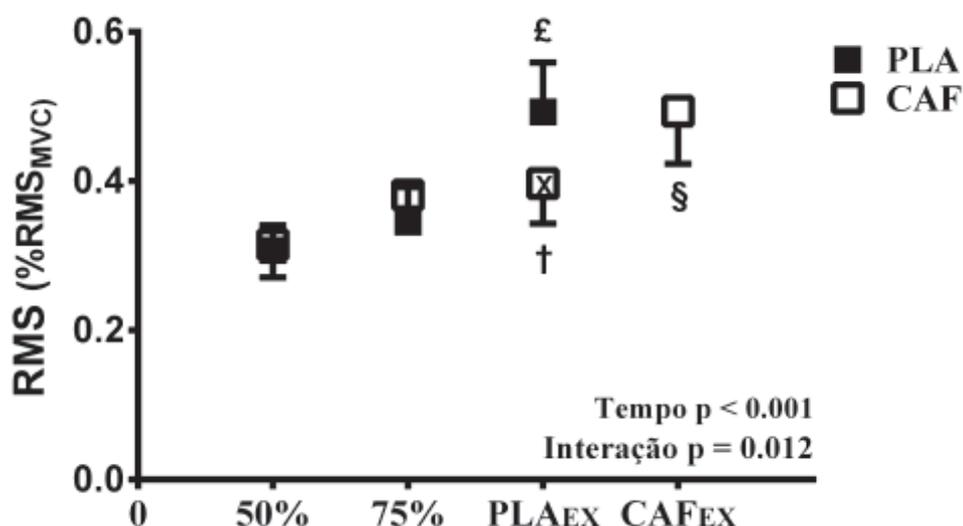
FONTE: A autora (2020).

LEGENDA: Os dados do isotime, em que o teste com CAF correspondeu ao tempo do teste até a exaustão do PLA (quadrado vazio com um "x" dentro) também estão reportados.

* Significativamente maior do que todos os momentos anteriores nas duas condições ($P < 0,05$).

O RMS aumentou durante o exercício (efeito do tempo, $F_{(3,27)} = 20,91$; $p < 0,001$; $\eta_p^2 = 0,70$), sem nenhum efeito do suplemento ($F_{(1,9)} = 1,95$; $p = 0,196$; $\eta_p^2 = 0,18$). Entretanto, houve uma interação significativa entre tempo x suplemento para o $\%RMS_{MVC}$ ($F_{(3,27)} = 4,45$; $p = 0,012$; $\eta_p^2 = 0,33$, Figura 14). O $\%RMS_{MVC}$ aumentou para CAF e PLA durante o exercício ($p < 0,001$) e não houve nenhuma diferença entre CAF e PLA no momento da exaustão ($p = 0,999$); entretanto, os valores no isotime com CAF foram menores do que na exaustão do PLA ($p = 0,011$).

FIGURA 14 - ATIVIDADE ELETROMIOGRÁFICA (RMS) EM 50%, 75% E NA EXAUSTÃO (EX) DE UM EXERCÍCIO AERÓBIO DE INTENSIDADE SEVERA APÓS A INGESTÃO DE PLACEBO (PLA, QUADRADO PRETO) E CAFEÍNA (CAF, QUADRADO VAZIO).



FONTE: A autora (2020).

LEGENDA: Os dados do isotime, em que o teste com CAF correspondeu ao tempo do teste até a exaustão do PLA (quadrado vazio com um "x" dentro) também estão reportados.

£ Significativamente maior do que 50% e 75% da exaustão do PLA apenas na condição PLA ($P < 0,05$). † Significativamente maior do que 50% da exaustão do PLA apenas na condição CAF ($P < 0,05$). § Significativamente maior do que todos os momentos anteriores apenas na condição CAF ($P < 0,05$).

4.1.4 Desenvolvimento de Fadiga Neuromuscular durante o Exercício Aeróbio no Domínio Severo

A Tabela 2 apresenta os valores absolutos da função neuromuscular no baseline, pré-teste e pós-teste durante o exercício aeróbio de intensidade severa.

Quando avaliadas as alterações na CVIM que representam o desenvolvimento de fadiga global, não foram encontrados efeitos significativos do suplemento ($F_{(1,9)} = 2,51$; $p = 0,147$; $\eta_p^2 = 0,22$) ou interação entre tempo e suplemento ($F_{(3,27)} = 1,61$; $p = 0,209$; $\eta_p^2 = 0,15$). Houve apenas um efeito significativo do tempo de exercício ($F_{(3,27)} = 10,68$; $p = 0,002$; $\eta_p^2 = 0,54$), com as alterações na CVIM na exaustão sendo maiores do que a 50% e 75% da exaustão para ambas condições (Figura 15).

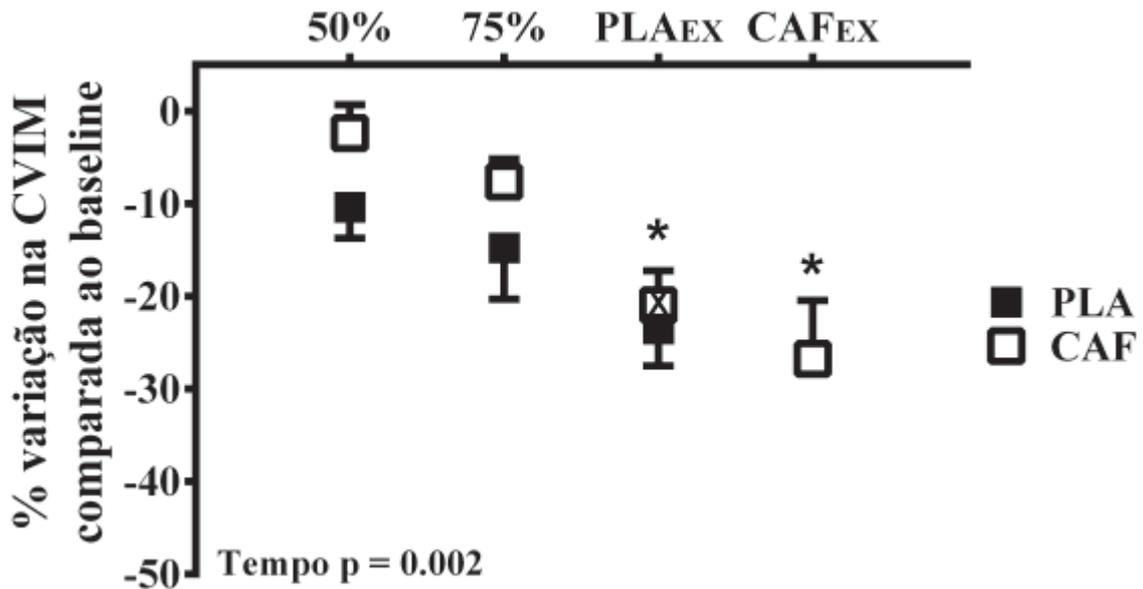
TABELA 2 - VALORES ABSOLUTOS DA FUNÇÃO NEUROMUSCULAR NO BASELINE, PRÉ-TESTE E PÓS-TESTE DURANTE O EXERCÍCIO AERÓBIO DE INTENSIDADE SEVERA ATÉ A EXAUSTÃO E QUANDO INTERROMPIDO A 50% E 75% DA EXAUSTÃO DO PLACEBO APÓS A INGESTÃO DE PLACEBO E CAFEÍNA, ASSIM COMO, O ISOTIME, EM QUE O TESTE COM CAFEÍNA CORRESPONDEU AO TEMPO DO TESTE ATÉ A EXAUSTÃO DO PLACEBO.

	Baseline			Pré-teste			Pós-teste		
	Placebo	Cafeína	Placebo	Placebo	Cafeína	Placebo	Placebo	Cafeína	
CVIM (N)	50%	719,9 ± 111,3	738,3 ± 176,1	670,2 ± 120,3	738,5 ± 162,5	640,4 ± 95,9	715,6 ± 160,1		
	75%	767,1 ± 167,4	729,7 ± 169,3	745,2 ± 106,4	715,7 ± 101,4	649,0 ± 181,6	669,4 ± 136,7		
	Isotime	--	738,9 ± 178,1	--	731,1 ± 176,6	--	586,6 ± 182,4		
AV (%)	Exaustão	715,7 ± 206,6	715,6 ± 161,7	698,1 ± 170,1	719,6 ± 152,6	549,6 ± 199,6	517,5 ± 178,3		
	50%	94,3 ± 5,0	93,2 ± 4,2	92,7 ± 3,9	94,1 ± 3,6	92,6 ± 4,9	94,5 ± 3,7		
	75%	93,6 ± 4,8	93,7 ± 3,3	94,2 ± 4,1	93,8 ± 4,6	88,9 ± 13,7	91,9 ± 7,3		
Q _{twpot} (N)	Isotime	--	93,1 ± 3,7	--	94,4 ± 4,4	--	92,3 ± 4,7		
	Exaustão	92,1 ± 6,3	93,2 ± 4,6	90,8 ± 5,0	93,8 ± 4,3	85,3 ± 10,5	92,1 ± 4,7		
	50%	263,2 ± 45,5	242,5 ± 50,4	242,7 ± 48,5	230,7 ± 47,4	179,9 ± 40,2	176,4 ± 56,8		
Q _{tw10} (N)	75%	239,1 ± 52,3	231,5 ± 70,1	249,0 ± 50,2	239,6 ± 51,9	150,3 ± 72,0	156,9 ± 72,9		
	Isotime	--	234,9 ± 46,7	--	238,8 ± 53,0	--	133,4 ± 73,3		
	Exaustão	227,2 ± 52,4	231,4 ± 50,9	220,9 ± 54,5	231,7 ± 43,9	105,4 ± 69,5	98,1 ± 63,3		
Q _{tw100} (N)	50%	361,9 ± 68,9	366,3 ± 85,2	340,8 ± 74,1	348,9 ± 88,7	308,3 ± 79,4	313,4 ± 84,1		
	75%	367,3 ± 89,9	362,4 ± 100,6	357,0 ± 71,3	358,6 ± 85,0	274,4 ± 88,9	287,9 ± 90,0		
	Isotime	--	356,3 ± 84,1	--	360,9 ± 97,8	--	260,3 ± 93,6		
Onda-M (mV)	Exaustão	373,7 ± 76,6	392,2 ± 68,3	357,8 ± 90,4	365,7 ± 90,1	240,8 ± 93,8	221,0 ± 95,0		
	50%	382,8 ± 43,8	393,2 ± 78,0	358,9 ± 64,4	372,9 ± 77,9	316,1 ± 52,4	327,1 ± 76,8		
	75%	391,6 ± 63,6	378,7 ± 78,4	385,8 ± 63,3	373,2 ± 70,4	288,4 ± 78,7	296,5 ± 70,5		
Onda-M (mV)	Isotime	--	389,7 ± 73,9	--	374,8 ± 97,85	--	267,2 ± 86,6		
	Exaustão	399,8 ± 69,3	397,0 ± 68,1	382,0 ± 82,6	390,9 ± 79,7	252,4 ± 88,0	231,5 ± 104,3		
	50%	20,5 ± 2,4	19,5 ± 2,2	20,3 ± 2,3	19,8 ± 2,9	20,9 ± 2,3	20,0 ± 2,5		
Onda-M (mV)	75%	20,3 ± 2,8	19,8 ± 3,2	20,2 ± 2,4	19,8 ± 3,0	20,6 ± 2,9	20,8 ± 3,3		
	Isotime	--	19,8 ± 2,3	--	20,1 ± 2,4	--	21,3 ± 3,3		
	Exaustão	19,3 ± 2,4	19,7 ± 2,4	19,6 ± 2,1	19,4 ± 2,1	20,4 ± 2,7	20,6 ± 3,3		

FONTE: A autora (2020).

LEGENDA: Os dados foram reportados como média ± DP; n = 10 participante. CVIM: contração voluntária isométrica máxima; AV: ativação voluntária; Q_{twpot}: força evocada pelo estímulo potencializado de 1Hz; Q_{tw10}: estímulo pareado de 10 Hz; Q_{tw100}: estímulo pareado de 100 Hz; e Onda-M: excitabilidade da membrana muscular.

FIGURA 15 - FADIGA GLOBAL REPRESENTADA PELA CONTRAÇÃO VOLUNTÁRIA ISOMÉTRICA MÁXIMA (CVIM) APÓS 50%, 75% E EXAUSTÃO (EX) DE UM EXERCÍCIO AERÓBIO DE INTENSIDADE SEVERA APÓS A INGESTÃO DE PLACEBO (PLA, QUADRADO PRETO) E CAFEÍNA (CAF, QUADRADO VAZIO).



FONTE: A autora (2020).

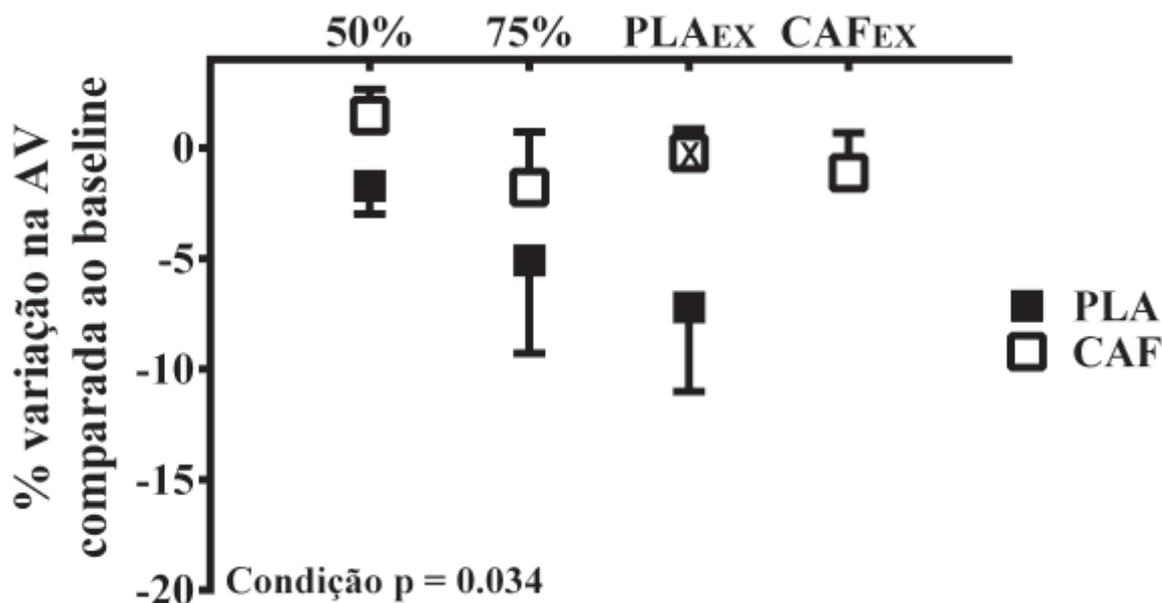
LEGENDA: Os dados do isotime, em que o teste com CAF correspondeu ao tempo do teste até a exaustão do PLA (quadrado vazio com um "x" dentro) também estão reportados. Os dados estão representados como média ± SE. * Maior redução do que a 50% e 75% para as duas condições ($p < 0,05$).

As mudanças da AV, que representam o desenvolvimento de fadiga central, não foram afetadas através do progresso do exercício (efeito do tempo, $F_{(3,27)} = 1,29$; $p = 0,297$; $\eta_p^2 = 0,13$), entretanto a diferença do baseline para pós-teste foi sempre menor após a ingestão de CAF do que após a ingestão de PLA (efeito do suplemento, $F_{(1,9)} = 6,23$; $p = 0,034$; $\eta_p^2 = 0,41$, Figura 16), sem nenhum efeito de interação entre tempo x suplemento ($F_{(3,27)} = 0,663$; $p = 0,582$; $\eta_p^2 = 0,07$).

A Q_{twpot} , Q_{tw10} e Q_{tw100} representam o desenvolvimento de fadiga periférica. As mudanças na Q_{twpot} e Q_{tw10} aumentaram com o decorrer do exercício (efeito do tempo, $F_{(3,27)} = 22,04$; $p < 0,001$; $\eta_p^2 = 0,71$ e $F_{(3,27)} = 17,79$; $p < 0,001$; $\eta_p^2 = 0,66$, respectivamente), entretanto CAF atenuou o declínio do baseline para o pós-teste tanto no Q_{twpot} quanto no Q_{tw10} (efeito de interação do tempo x suplemento, $F_{(3,27)} = 3,28$; $p = 0,036$; $\eta_p^2 = 0,27$, Figura 17A e $F_{(3,27)} = 3,297$; $p = 0,035$; $\eta_p^2 = 0,27$, Figura 17B, respectivamente). As análises do post-hoc demonstraram que no isotime, a redução no pós-teste do Q_{twpot} e Q_{tw10} foram significativamente menores com CAF do que com PLA ($p = 0,014$ e $p = 0,025$, respectivamente). A redução no Q_{twpot} e Q_{tw10}

induzida pelo exercício aumentou do momento isotime até a exaustão após a ingestão de CAF (ambos $p = 0,004$), entretanto não foram encontradas diferenças significativas entre CAF e PLA na exaustão do exercício ($p = 0,999$ e $p = 0,627$, respectivamente). Ao mesmo tempo, as mudanças no Q_{tw100} aumentaram durante o exercício (efeito do tempo, $F_{(3,27)} = 16,68$; $p < 0,001$; $\eta_p^2 = 0,65$, Figure 17C), com as mudanças sendo maiores na exaustão quando comparadas a 50% e 75% da exaustão, mas não foram encontrados efeitos significativos do suplemento ($F_{(1,9)} = 0,99$; $p = 0,346$; $\eta_p^2 = 0,09$) ou efeito de interação entre tempo x suplemento ($F_{(3,27)} = 1,72$; $p = 0,186$; $\eta_p^2 = 0,16$).

FIGURA 16 - FADIGA CENTRAL REPRESENTADA PELA ATIVAÇÃO VOLUNTÁRIA (AV) APÓS 50%, 75% E EXAUSTÃO (EX) DE UM EXERCÍCIO AERÓBIO DE INTENSIDADE SEVERA APÓS A INGESTÃO DE PLACEBO (PLA, QUADRADO PRETO) E CAFEÍNA (CAF, QUADRADO VAZIO).

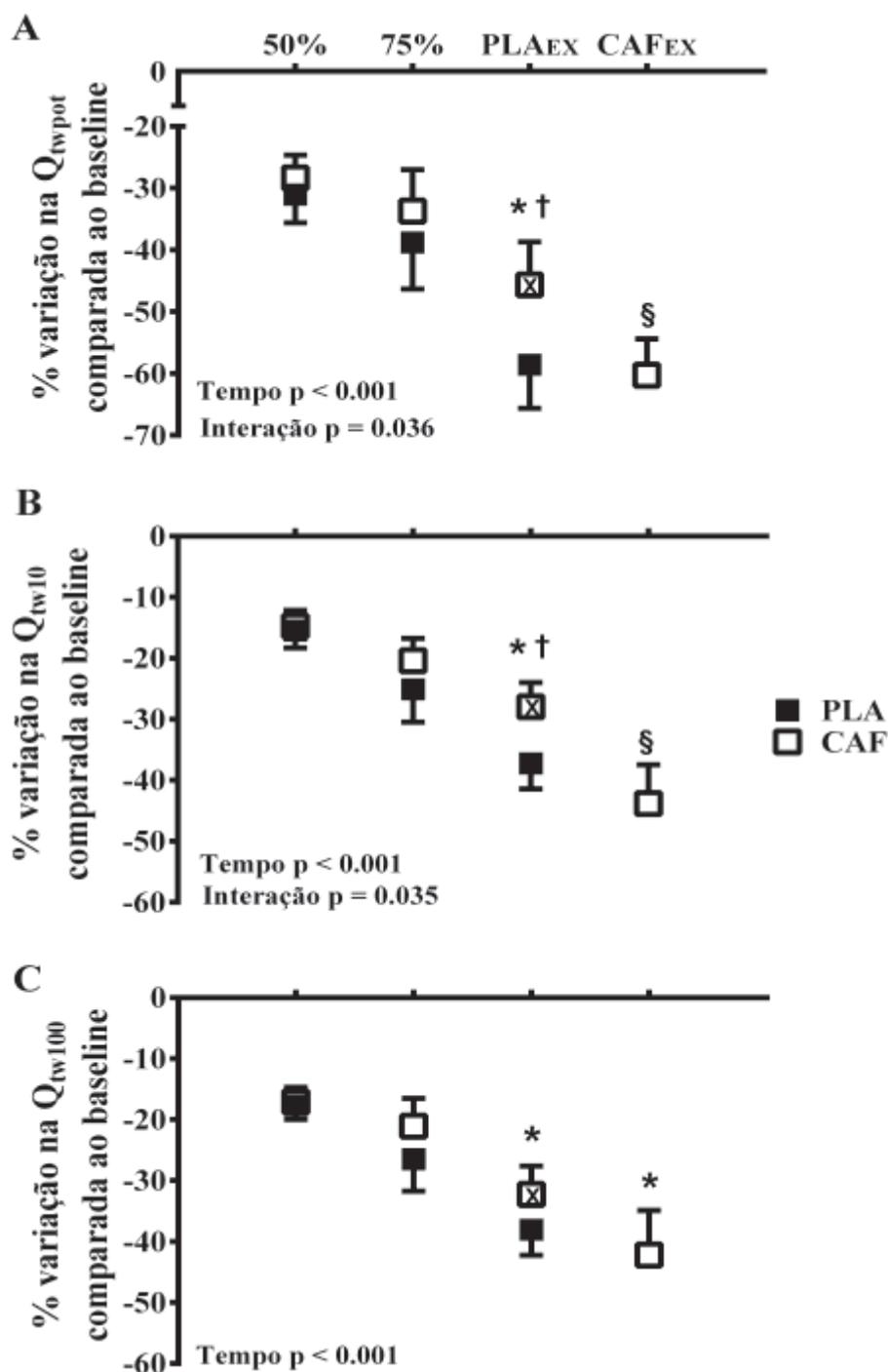


FONTE: A autora (2020).

LEGENDA: Os dados do isotime, em que o teste com CAF correspondeu ao tempo do teste até a exaustão do PLA (quadrado vazio com um "x" dentro) também estão reportados. Os dados estão representados como média \pm SE.

As mudanças na Onda-M representam possíveis alterações na excitabilidade da membrana. Entretanto, não foram encontrados efeito significativos do suplemento ($F_{(1,9)} = 0,49$; $p = 0,503$; $\eta_p^2 = 0,05$), tempo ($F_{(3,27)} = 1,49$; $p = 0,239$; $\eta_p^2 = 0,14$) ou interação tempo x suplemento ($F_{(3,27)} = 0,68$; $p = 0,572$; $\eta_p^2 = 0,07$) para a Onda-M (Tabela 2).

FIGURA 17 - FADIGA PERIFÉRICA REPRESENTADA PELA FORÇA EVOCADA PELO ESTÍMULO POTENCIALIZADO DE 1HZ (Q_{TW100} ; A), ESTÍMULO DUPLO DE 10 HZ (Q_{TW10} ; B), ESTÍMULO DUPLO DE 100 HZ (Q_{TW100} ; C) APÓS 50%, 75% E EXAUSTÃO (EX) DE UM EXERCÍCIO AERÓBIO DE INTENSIDADE SEVERA APÓS A INGESTÃO DE PLACEBO (PLA, QUADRADO PRETO) E CAFEÍNA (CAF, QUADRADO VAZIO).



FONTE: A autora (2020).

LEGENDA: Os dados do isotime, em que o teste com CAF correspondeu ao tempo do teste até a exaustão do PLA (quadrado vazio com um "x" dentro) também estão reportados. Os dados estão representados como média \pm SE. * Maior redução do que a 50% e 75% para as duas condições ($p < 0,05$). † Menor redução no isotime com CAF comparada à exaustão do PLA ($p < 0,05$). § Maior redução na exaustão da CAF comparada ao isotime com CAF ($p < 0,05$).

4.1.5 Sucesso na Não-Detecção do Suplemento pelos Participantes do Experimento 1

Quando perguntados antes do exercício, em 14 (47%) dos 30 testes com ingestão de CAF (excluindo os testes isotime) os participantes acreditaram ter ingerido PLA. Quando perguntados novamente após o exercício, 12 participantes continuaram acreditando que eles tinham ingerido PLA.

Quando perguntados antes do exercício, em 13 (43%) dos 30 testes com ingestão de PLA os participantes acreditaram ter ingerido CAF e 12 continuaram acreditando ter ingerido CAF quando perguntados novamente após o exercício.

Em 10 testes isotime com CAF, cinco participantes (50%) acreditaram ter ingerido PLA quando perguntados antes do exercício e quatro continuaram acreditando ter ingerido PLA quando perguntados após o exercício.

4.2 ESTUDO 2

4.2.1 Caracterização da Amostra do Estudo 2

Dos 12 participantes que iniciaram os testes experimentais do segundo estudo, 10 participantes completaram o protocolo experimental do estudo, enquanto dois participantes foram excluídos da amostra, um por não cumprir as exigências necessárias para permanecer no estudo e o outro por desistência voluntária, antes mesmo da primeira biópsia. Desse modo, os resultados apresentados na presente tese são referentes a 10 participantes homens (idade: 29 ± 7 anos, massa corporal: 72 ± 11 kg, altura: 174 ± 6 cm, percentual de gordura: 10 ± 7 %), também com baixa a moderada ingestão habitual de CAF (75 ± 58 mg.dia⁻¹) (GONÇALVES *et al.*, 2017). Os participantes eram saudáveis e foram caracterizados como fisicamente ativos, de acordo com o IPAQ. No teste incremental o pico de potência foi identificado em $268,4 \pm 32,9$ W e o $\dot{V}O_{2max}$ foi de $3,58 \pm 0,36$ L·min⁻¹ ($50,8 \pm 9,9$ mL·kg⁻¹·min⁻¹). O GET foi identificado em $112 \pm 15,6$ W. Sendo assim, a potência no $\Delta 80$ foi determinada em $237,1 \pm 26,9$ W, correspondente a $88\% \pm 1\%$ do pico de potência no teste incremental máximo.

4.2.2 Tempo de Exaustão no Exercício Aeróbico no Domínio Severo no Estudo

O tempo até a exaustão, assim como no estudo 1, foi mais longo ($16,8 \pm 8,1\%$) com CAF quando comparado ao PLA ($t_{(9)} = 6,87$, $p < 0,001$, $ES = 2,18$, Tabela 3).

TABELA 3 - TEMPO ATÉ A EXAUSTÃO DURANTE UM EXERCÍCIO AERÓBIO NO DOMÍNIO SEVERO REALIZADO ATÉ A EXAUSTÃO APÓS A INGESTÃO DE CAFEÍNA (CAF) E PLACEBO (PLA).

	PLA	CAF	95% IC	p
Tempo até a exaustão (s)	255.7 ± 50.0	297.7 ± 56.8	28.2 a 55.8	<0.001†

FONTE: A autora (2020).

LEGENDA: † Significativamente maior na condição CAF do que na condição PLA ($P < 0,05$). 95% IC: 95% do intervalo de confiança da diferença entre CAF-PLA.

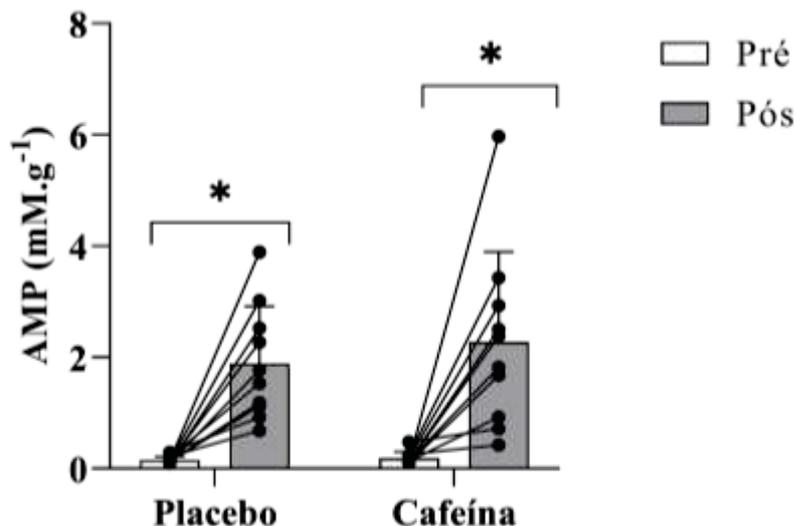
4.2.3 Produção de Metabólitos Intramusculares durante o Exercício Aeróbico no Domínio Severo no Estudo 2

A concentração intramuscular de AMP aumentou durante o exercício aeróbico no domínio severo, apresentando maiores concentrações após o exercício (efeito do tempo, $F_{(1,9)} = 26,29$; $p = 0,001$, $\eta_p^2 = 0,75$; Figura 18) para ambas condições, não sendo encontrados efeitos significativos do suplemento ($F_{(1,9)} = 0,80$; $p = 0,392$, $\eta_p^2 = 0,82$) ou efeito de interação entre tempo x suplemento ($F_{(1,9)} = 0,55$; $p = 0,479$, $\eta_p^2 = 0,06$).

A concentração intramuscular de PCr diminuiu durante o exercício (efeito do tempo, $F_{(1,9)} = 102,61$; $p < 0,001$, $\eta_p^2 = 0,92$; Figure 19A), enquanto a concentração intramuscular de creatina aumentou durante o exercício (efeito do tempo, $F_{(1,9)} = 12,79$; $p = 0,006$, $\eta_p^2 = 0,59$ Figure 19B). Entretanto, a PCr e creatina não foram afetadas pelo suplemento ($F_{(1,9)} = 2,73$; $p = 0,133$, $\eta_p^2 = 0,23$ e $F_{(1,9)} = 1,30$; $p = 0,283$, $\eta_p^2 = 0,13$ respectivamente) ou apresentaram efeito de interação entre tempo x suplemento ($F_{(1,9)} = 2,56$; $p = 0,144$, $\eta_p^2 = 0,22$ e $F_{(1,9)} = 0,21$; $p = 0,889$, $\eta_p^2 = 0,002$, respectivamente).

A concentração intramuscular de lactato aumentou durante o exercício (efeito do tempo, $F_{(1,9)} = 43,97$; $p < 0,001$, $\eta_p^2 = 0,83$; Figure 20), entretanto não foram encontrados efeitos significativos do suplemento ($F_{(1,9)} = 0,99$; $p = 0,344$, $\eta_p^2 = 0,10$) ou efeito de interação entre tempo x suplemento ($F_{(1,9)} = 0,37$; $p = 0,557$, $\eta_p^2 = 0,04$).

FIGURA 18 - CONCENTRAÇÃO INTRAMUSCULAR DE ADENOSINA MONO-FOSFATO (AMP) ANTES E APÓS UM EXERCÍCIO AERÓBIO DE INTENSIDADE APÓS A INGESTÃO DE PLACEBO (PLA) E CAFEÍNA (CAF).

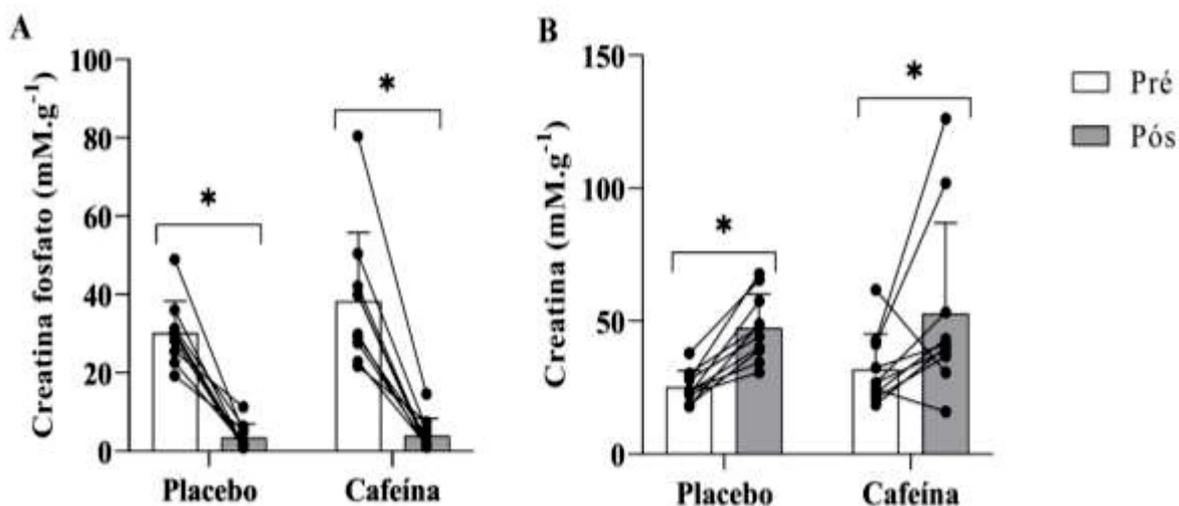


FONTE: A autora (2020).

LEGENDA: os dados estão representados como média \pm SE. Os dados individuais de cada participante (linhas pretas direcionadas do pré- para o pós-exercício) também estão reportados.

*Aumento significativo no momento pós-teste em relação ao momento pré-teste para as duas condições ($p < 0,05$).

FIGURA 19 - CONCENTRAÇÃO INTRAMUSCULAR DE CREATINA FOSFATO (A) E CREATINA (B) ANTES E APÓS UM EXERCÍCIO AERÓBIO DE INTENSIDADE SEVERA APÓS A INGESTÃO DE PLACEBO (PLA) E CAFEÍNA (CAF).

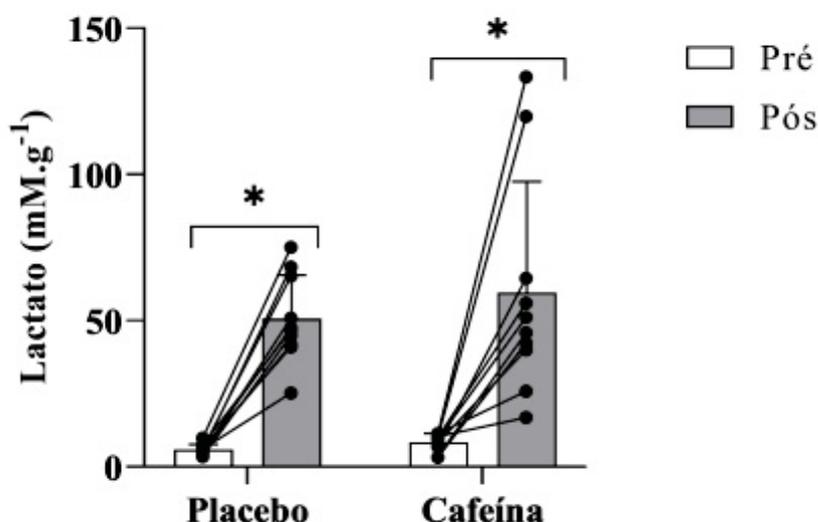


FONTE: A autora (2020).

LEGENDA: os dados estão representados como média \pm SE. Os dados individuais de cada participante (linhas pretas direcionadas do pré- para o pós-exercício) também estão reportados.

*Significativamente diferente no momento pós- teste em relação ao momento pré-teste para as duas condições ($p < 0,05$).

FIGURA 20 - CONCENTRAÇÃO DE LACTATO INTRAMUSCULAR ANTES E APÓS UM EXERCÍCIO AERÓBIO DE INTENSIDADE SEVERA APÓS A INGESTÃO DE PLACEBO (PLA) E CAFEÍNA (CAF).



FONTE: A autora (2020).

LEGENDA: Os dados estão representados como média \pm SE. Os dados individuais de cada participante (linhas pretas direcionadas do pré- para o pós-exercício) também estão reportados.

*Aumento significativo no momento pós-teste em relação ao momento pré-teste para as duas condições ($p < 0,05$).

4.2.4 Sucesso na Não-Detecção do Suplemento pelos Participantes do Experimento 2

Em sete (70%) dos 10 testes com a ingestão de CAF, os participantes reportaram não saberem o que tinha sido ingerido quando perguntados antes do exercício. Quando perguntados novamente após o exercício, cinco participantes (50%) continuaram reportando não saber o que havia sido ingerido, um participante (10%) afirmou ter ingerido PLA e um participante (10%) mudou sua resposta para CAF.

Em cinco (50%) dos 10 testes com ingestão de PLA, os participantes reportaram não saberem o que tinha sido ingerido quando perguntados antes do exercício. Cinco participantes continuaram não sabendo afirmar o que tinha ingerido (50%) quando perguntados novamente após o exercício, e dois participantes (20%) que acreditaram ter ingerido PLA antes do teste mudaram para CAF.

5 DISCUSSÃO

O principal resultado do presente estudo foi que a melhora na capacidade de se manter no consumo máximo de oxigênio durante o exercício aeróbio no domínio severo com CAF foi acompanhado por uma maior resposta ventilatória e manutenção da SaO₂ próximo aos valores de repouso (~98%) durante todo o exercício. A ingestão de CAF também promoveu uma redução na taxa de desenvolvimento de fadiga periférica, melhorou o recrutamento motor e promoveu uma maior tolerância a fadiga central. Além disso, quando o exercício aeróbio foi executado no domínio severo até a exaustão, o exercício foi mantido por mais tempo após a ingestão de CAF sem alteração nos níveis críticos de produção e degradação dos metabólitos intramusculares. Em conjunto, essas alterações podem explicar o aumento no tempo de exaustão do exercício com a ingestão de CAF.

Frequentemente, tem sido demonstrado que CAF melhora a tolerância durante o exercício de alta intensidade (DOHERTY, MICHAEL, 1998; SILVEIRA *et al.*, 2018; SIMMONDS *et al.*, 2010). No presente estudo, CAF possibilitou um maior tempo até a exaustão (~14% e 17% nos estudos um e dois, respectivamente), que corrobora com estudos anteriores demonstrando aumento de ~15% no tempo até a exaustão durante exercícios aeróbios executados em alta intensidade após a ingestão de CAF (DOHERTY, MICHAEL, 1998; SIMMONDS *et al.*, 2010). A maior tolerância ao exercício com a ingestão de CAF foi acompanhada por um aumento no tempo de manutenção no $\dot{V}O_{2max}$ (~ 70% aumento), confirmando achados recentes demonstrando que a CAF prolongou o tempo de manutenção no consumo máximo de oxigênio, sem afetar a velocidade de resposta do $\dot{V}O_2$ (SILVEIRA *et al.*, 2018). Os resultados do presente estudo também demonstraram que o maior tempo mantido no $\dot{V}O_{2max}$ após a ingestão de CAF foi acompanhado por uma manutenção da SaO₂ próximo dos valores de repouso (~ 98%) durante todo o exercício (Figura 12). Um exercício de carga constante executado no domínio severo pode induzir uma hipoxemia arterial significativa, que compromete a oferta de O₂ para os músculos ativos (HARMS *et al.*, 1997; HARMS; STAGER, 1995) e a tolerância ao exercício (CHAPMAN; MICKLEBOROUGH, 2009; ROMER; DEMPSEY, 2006). No presente estudo, enquanto o exercício aeróbio no domínio severo executado após a ingestão de PLA causou severa hipoxemia em cinco participantes (~13% da redução na SaO₂ em relação ao repouso) e moderada diminuição na SaO₂ no restante dos

participantes (~3% menor que o repouso), a ingestão de CAF preservou a SaO₂ próximo dos valores de repouso até a exaustão em todos os indivíduos. Esses resultados sugerem que o efeito ergogênico da ingestão de CAF pode estar associado a prevenção da dessaturação arterial de O₂ ocasionada durante um exercício aeróbio na intensidade severa.

Um estudo anterior demonstrou que a ingestão de CAF reduziu a hipoxemia arterial induzida pelo exercício durante as intensidades mais elevadas (75 a 90% do $\dot{V}O_{2max}$) de um teste incremental máximo (CHAPMAN; STAGER, 2008), que foi atribuída a um aumento na \dot{V}_E induzida pela CAF. Entretanto, neste mesmo estudo, o ganho na \dot{V}_E com a ingestão de CAF (~ +4,2%) não foi suficiente para evitar a redução da SaO₂ em 100% do $\dot{V}O_{2max}$ (CHAPMAN; STAGER, 2008). Estimou-se que a maioria da \dot{V}_E excedente após a ingestão de CAF na intensidade do $\dot{V}O_{2max}$ (~ 60%) alcançou o espaço morto alveolar em vez da ventilação alveolar, sugerindo que um aumento mais substancial na \dot{V}_E poderia ser necessário para atenuar a hipoxemia induzida pelo exercício nesta intensidade mais elevada (CHAPMAN; MICKLEBOROUGH, 2009). No presente estudo, o aumento na \dot{V}_E induzida pela CAF foi mais substancial (~ 9% no isotime e ~ 12% no momento da exaustão), o que pode explicar a preservação na SaO₂ durante todo o exercício, inclusive após o $\dot{V}O_{2max}$ ter sido atingido. A preservação da SaO₂ com a ingestão de CAF pode auxiliar na oferta de O₂ para os músculos ativos e resultar em uma melhora na saturação de O₂ muscular (RUÍZ-MORENO *et al.*, 2020). Nossos resultados sugerem que a CAF induz considerável aumento na \dot{V}_E durante o exercício aeróbio de intensidade severa, que pode auxiliar na preservação da SaO₂ durante o exercício.

Vários estudos tem demonstrado que a preservação na dessaturação arterial de O₂ atenua a fadiga periférica durante o exercício aeróbio de intensidade severa (AMANN; CALBET, 2008; AMANN; ROMER; *et al.*, 2006; ROMER; DEMPSEY, 2006; WEAVIL; AMANN, 2019). Os exercícios de alta intensidade aumentam o distúrbio intramuscular causando uma diminuição progressiva nos níveis de fosfocreatina muscular (PCr) e um concomitante incremento nas concentrações de adenosina difosfato (ADP), fosfato inorgânico (Pi) e íons de hidrogênio (H⁺) no músculo (VANHATALO *et al.*, 2010). Curiosamente, todos esses metabólitos aumentam até atingirem níveis críticos no momento da exaustão, o que coincide com a obtenção de um limiar crítico de fadiga periférica individual e dependente da

tarifa (AMANN, 2011). Assim, ao se exercitar por mais tempo durante o exercício aeróbio de intensidade severa executado após a ingestão de CAF existem três possibilidades (a) a CAF atenua a taxa de desenvolvimento de fadiga periférica sem exacerbar os níveis críticos de metabólitos intramusculares, (b) a CAF permite ultrapassar o limiar crítico de fadiga periférica, conseqüentemente, ultrapassando o limite crítico de degradação ou produção de metabólitos intramusculares ou c) a CAF permite sustentar o exercício com os níveis críticos de metabólitos intramusculares por mais tempo. O presente achado de menor redução no Q_{tw} no isotime após a ingestão de CAF (Figura 17A) indica que a ingestão de CAF atenua a taxa de desenvolvimento de fadiga periférica durante o exercício aeróbio de intensidade severa. Porém, não foram encontradas diferenças na redução do Q_{tw} entre CAF e PLA no momento da exaustão (Figura 17A), sugerindo que a ingestão de CAF não permitiu ultrapassar o limiar crítico de fadiga periférica.

Suportando essa proposição de um atraso na fadiga periférica sem ultrapassar seu limiar crítico, o segundo estudo demonstrou que houve degradação substancial nos níveis intramusculares de PCr (Figura 19A) e aumento nos níveis de creatina (Figura 19B), AMP (Figura 18) e lactato (Figura 20) no momento da exaustão do exercício aeróbio no domínio severo (~25 segundos após), mas, de fato, esses níveis críticos não foram diferentes entre CAF e PLA. Embora não possa ser assumida uma relação direta entre a melhora na SaO_2 com a ingestão de CAF e uma redução na taxa de desenvolvimento de fadiga periférica, uma preservação na SaO_2 tem sido associada a uma redução na produção de fadiga periférica (AMANN; CALBET, 2008; DOMINELLI *et al.*, 2017; WEAVIL; AMANN, 2019), o que pode sugerir uma provável associação entre os efeitos da CAF na \dot{V}_E e SaO_2 com a diminuição na taxa de desenvolvimento de fadiga periférica e atraso no atingimento de níveis críticos de metabólitos intramusculares. Portanto, esses resultados sugerem que a ingestão de CAF promove uma redução na taxa de desenvolvimento de fadiga periférica, sem aumentar o acúmulo de metabólitos intramuscular, assim como, melhora nos níveis da SaO_2 durante o exercício aeróbio de intensidade severa.

Um efeito direto da CAF no músculo esquelético melhorando o meio metabólico intramuscular não pode ser desconsiderado. Estudos anteriores têm demonstrado um aumento na força estimulada eletricamente em um músculo isolado de ratos na presença de CAF (ALLEN, G. *et al.*, 1995), mas usando concentrações

milimolares de CAF (> 1 mM) que poderia ser tóxico para humanos (FREDHOLM *et al.*, 1999). Entretanto, estudos recentes usando doses micromolares (~ 70 μ M), que podem ser alcançadas após a ingestão de doses de CAF que são toleráveis em humanos (~ 9 mg.kg⁻¹) (GRAHAM, T. E.; SPRIET, 1995), demonstraram uma maior produção de potência dos músculos isolados de ratos (sóleo e extensor longo dos dedos) durante estimulações elétricas máxima e submáxima (TALLIS *et al.*, 2015; TALLIS *et al.*, 2018; TALLIS *et al.*, 2012). Curiosamente, a CAF aumentou a produção de potência mesmo quando o músculo sóleo dos ratos estava fadigado (TALLIS *et al.*, 2013), sugerindo que a CAF aumentou a capacidade do músculo de sustentar uma dada potência mesmo com um certo grau de fadiga periférica. Isto está de acordo com alguns resultados em humanos, nos quais a contratilidade muscular induzida via estimulação elétrica aumentou após a ingestão de CAF, principalmente sob condições de fadiga pré-existente (LOPES *et al.*, 1983; MOHR, T. *et al.*, 1998; TARNOPOLSKY; CUPIDO, 2000). Portanto, não podemos desconsiderar totalmente que o menor grau de desenvolvimento de fadiga periférica encontrado no presente estudo pode ter sido devido a um efeito direto da CAF no músculo esquelético.

O mecanismo pelo qual CAF pode melhorar a contratilidade muscular não é totalmente conhecido. Tem sido hipotetizado que a CAF pode agir como um antagonista dos receptores A₁ de adenosina presentes no sarcolema e/ou diretamente nos receptores rianodínicos do retículo sarcoplasmático (TALLIS *et al.*, 2015). No presente estudo, CAF atenuou o declínio na força de contração do quadríceps quando estimulada em baixa (10 Hz), mas não em alta (100 Hz) frequência (Figuras 17B e 17C, respectivamente). Uma redução na força de contração estimulada por baixas frequências (< 50 Hz) tem sido associada com um prejuízo no processo de acoplamento na excitação-contração (EDWARDS *et al.*, 1977; WESTERBLAD *et al.*, 2000). Em fibras únicas de músculos isolados de ratos, uma falha na liberação de cálcio do retículo sarcoplasmático é responsável por fadiga de baixa frequência mas não de alta frequência (WESTERBLAD *et al.*, 2000). Em humanos, há uma correlação significativa entre a magnitude de redução no torque de contração do quadríceps estimulado em 10 Hz e a falha na liberação de cálcio pelas fibras do músculo vasto lateral após um exercício intenso (GREEN *et al.*, 2011). Como a CAF influencia o nível de fadiga muscular em baixas frequências, mas não em altas frequências, tanto em ratos (TALLIS *et al.*, 2013) quanto em

humanos (LOPES *et al.*, 1983; TARNOPOLSKY; CUPIDO, 2000), uma atenuação no desenvolvimento de fadiga periférica de baixa frequência, mas não de alta frequência, sugere que a ingestão de CAF pode atenuar a diminuição na liberação-reabsorção de cálcio no músculo esquelético durante um exercício aeróbio de intensidade severa.

Uma consequência importante de uma função muscular esquelética melhorada é que a taxa de disparo dos nervos aferentes mecanossensíveis do grupo III/IV reduzirá os sinais aferentes para o SNC (AMANN, 2011; AMANN *et al.*, 2009; BLAIN *et al.*, 2016; HUREAU; ROMER; AMANN, 2018). Assim, um menor distúrbio intramuscular após a ingestão de CAF deve reduzir os sinais sensoriais musculares negativos para o cérebro. Uma redução na sinalização aferente pode explicar a menor taxa de incremento no recrutamento muscular após a ingestão de CAF (Figura 14). Uma menor taxa de incremento no recrutamento muscular durante um exercício aeróbio de carga constante no domínio severo após a ingestão de CAF indica um atraso no recrutamento de unidades motoras adicionais e/ou um atraso no recrutamento de fibras do tipo II que são menos eficientes (OSBORNE; SCHNEIDER, 2006). Uma melhora no padrão de recrutamento muscular com a ingestão de CAF pode ser causado pelo aumento na excitabilidade cortical e/ou espinhal induzido pela CAF (FREDHOLM, 1995; FREDHOLM *et al.*, 1999; KALMAR; CAFARELLI, 1999; WALTON *et al.*, 2003). A excitabilidade córtico-espinhal aumentada preserva a capacidade do SNC de ativar maximamente os músculos exigidos na tarefa que está sendo executada (BOWTELL *et al.*, 2018; KALMAR; CAFARELLI, 2004). De fato, no presente estudo, a ingestão de CAF atenuou a redução na AV induzida pelo exercício, indicando uma facilitação na via motora descendente e uma preservação na capacidade de ativar maximamente os músculos exigidos durante o exercício (Figura 16). Estudos usando um modelo localizado de exercício, com contrações intermitentes de extensão de joelho unilateral, tem demonstrado resultados similares (BOWTELL *et al.*, 2018; PETHICK *et al.*, 2018). Uma facilitação na via motora descendente com a ingestão de CAF está também em acordo com uma menor percepção de esforço (Figura 13), um efeito da CAF bem conhecido pela literatura (DOHERTY, MIKE; SMITH, 2005; PETHICK *et al.*, 2018). Em conjunto, esses achados sugerem que os efeitos periféricos da CAF podem ser integrados centralmente, melhorando o recrutamento

muscular e reduzindo a percepção de esforço durante o exercício aeróbio de intensidade severa.

Algumas limitações do presente estudo precisam ser reconhecidas. Primeiro, embora a avaliação da função neuromuscular tenha se iniciado um minuto após o exercício, houve um atraso natural ao mover o participante do cicloergômetro para a cadeira extensora de joelhos. Como fadiga central (GRUET *et al.*, 2014) e periférica (FROYD *et al.*, 2013) podem ter algum grau de recuperação dentro de um minuto, a fadiga pós-teste pode ter sido subestimada. Porém, vale ressaltar, que o tempo de transição foi mantido constante entre as visitas (um minuto); portanto, qualquer possível resposta subestimada para fadiga central e periférica foi similar entre os testes. Além disso, não foi possível medir a saturação muscular de O₂ para fazer uma associação mais direta entre a manutenção na SaO₂ e a atenuação no desenvolvimento de fadiga periférica após a ingestão de CAF. Entretanto, evidências apontam que a prevenção na dessaturação arterial de O₂ é suficiente para diminuir a incidência de fadiga periférica (AMANN; CALBET, 2008; AMANN; ROMER; *et al.*, 2006). Assim, vale ressaltar que esse foi o primeiro estudo demonstrando que a ingestão de CAF possibilita essa manutenção na SaO₂ com concomitante atenuação no desenvolvimento de fadiga periférica. Ainda assim, estudos futuros poderiam averiguar se a saturação muscular de O₂ também pode ser afetada pela ingestão de CAF e como esse fenômeno estaria associada com a diminuição na taxa de desenvolvimento de fadiga periférica e respostas intramusculares. Em adição, uma atenuação na fadiga periférica com a ingestão de CAF pode ser um resultado da melhora na liberação-reabsorção de cálcio no músculo (TALLIS *et al.*, 2015). Ainda não há evidências se esses efeitos da CAF ocorrem durante um exercício realizado em humanos e não foi possível analisar esse aspecto no presente estudo. Portanto, estudos futuros usando amostras de músculos através de biópsias com análises do músculo fresco poderiam fornecer um entendimento adicional dos mecanismos intramusculares pelos quais a CAF induziu a uma redução na fadiga periférica durante o exercício aeróbio de intensidade severa.

Por fim, vale ressaltar que o presente estudo traz uma aplicação prática relevante. Os resultados acima sugerem que a CAF promove aumento na tolerância ao exercício aeróbio realizado na potência máxima, melhorando a resposta ventilatória do praticante, sem exacerbar a produção de fadiga neuromuscular, em especial a fadiga periférica e metabólitos intramusculares. Nesse sentido, a CAF,

utilizada de forma aguda na dosagem de 5 mg.kg^{-1} de peso corporal, torna-se uma substância ergogênica interessante para esse tipo de exercício, pois seus mecanismos ação melhoram o desempenho sem afetar negativamente no organismo humano. Isso é ainda mais interessante quando se considera que a CAF vem sendo frequentemente utilizada para melhorar o desempenho em exercícios de alta intensidade, seja por indivíduos saudáveis e fisicamente ativos que procuram melhorar o desempenho para promover um maior gasto energético, levando seus sistemas fisiológicos ao máximo durante um menor espaço de tempo se exercitando, ou para atletas, profissionais e amadores, que buscam melhorar o desempenho nas provas que remetem ao exercício aeróbio de alta intensidade. Assim, o presente estudo traz uma evidência importante de que a CAF pode ser utilizada de forma segura em indivíduos fisicamente ativos, melhorando o desempenho, sem exacerbar os níveis de fadiga neuromuscular.

6 CONCLUSÃO

Os resultados da presente tese indicam que o aumento na capacidade de manter no consumo máximo de oxigênio durante o exercício aeróbio no domínio severo com a ingestão de CAF está associado a uma melhora na resposta sistêmica, associada a uma maior resposta ventilatória, permitindo uma prevenção na redução da oxigenação arterial induzida pelo exercício. Concomitante a preservação da SaO₂, a CAF afetou o desenvolvimento de fadiga neuromuscular por atenuar o desenvolvimento da fadiga periférica, sem alterar o nível crítico de metabólitos intramusculares atingidos ao final do exercício. A ingestão de CAF também melhora o recrutamento muscular e aumenta a tolerância a fadiga central. Em conjunto, esses resultados sugerem que a CAF pode influenciar múltiplos sistemas fisiológicos, os quais podem contribuir na melhora do desempenho durante um exercício aeróbio de intensidade severa.

REFERÊNCIAS

- ALBERTUS-KAJEE, Y.; TUCKER, R.; DERMAN, W.; LAMBERT, M. Alternative methods of normalising EMG during cycling. **Journal of Electromyography and Kinesiology**, v. 20, n. 6, p. 1036-1043, 2010.
- ALLEN, D.; WESTERBLAD, H. The effects of caffeine on intracellular calcium, force and the rate of relaxation of mouse skeletal muscle. **J Physiol**, v. 487, n. 2, p. 331-342, 1995.
- ALLEN, D. G.; LAMB, G. D.; WESTERBLAD, H. Skeletal muscle fatigue: cellular mechanisms. **Physiological reviews**, v. 88, n. 1, p. 287-332, 2008.
- ALLEN, G.; GANDEVIA, S.; MCKENZIE, D. Reliability of measurements of muscle strength and voluntary activation using twitch interpolation. **Muscle Nerve**, v. 18, n. 6, p. 593-600, 1995.
- AMANN, M. Central and peripheral fatigue: interaction during cycling exercise in humans. **Med Sci Sports Exerc**, v. 43, n. 11, p. 2039-2045, 2011.
- AMANN, M.; CALBET, J. A. Convective oxygen transport and fatigue. **J Appl Physiol**, v. 104, n. 3, p. 861-870, 2008.
- AMANN, M.; ELDRIDGE, M. W.; LOVERING, A. T.; STICKLAND, M. K.; PEGELOW, D. F.; DEMPSEY, J. A. Arterial oxygenation influences central motor output and exercise performance via effects on peripheral locomotor muscle fatigue in humans. **The Journal of physiology**, v. 575, n. 3, p. 937-952, 2006.
- AMANN, M.; PROCTOR, L. T.; SEBRANEK, J. J.; PEGELOW, D. F.; DEMPSEY, J. A. Opioid-mediated muscle afferents inhibit central motor drive and limit peripheral muscle fatigue development in humans. **The Journal of physiology**, v. 587, n. 1, p. 271-283, 2009.
- AMANN, M.; ROMER, L. M.; PEGELOW, D. F.; JACQUES, A. J.; HESS, C. J.; DEMPSEY, J. A. Effects of arterial oxygen content on peripheral locomotor muscle fatigue. **J Appl Physiol**, v. 101, n. 1, p. 119-127, 2006.
- ASTORINO, T. A.; COTTRELL, T.; LOZANO, A. T.; ABURTO-PRATT, K.; DUHON, J. Effect of caffeine on RPE and perceptions of pain, arousal, and pleasure/displeasure during a cycling time trial in endurance trained and active men. **Physiol Behav**, v. 106, n. 2, p. 211-217, 2012.
- ASTORINO, T. A.; ROBERSON, D. W. Efficacy of acute caffeine ingestion for short-term high-intensity exercise performance: a systematic review. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 24, n. 1, p. 257-265, 2010.
- BAILEY, S. J.; VANHATALO, A.; DIMENNA, F. J.; WILKERSON, D. P.; JONES, A. M. Fast-start strategy improves VO₂ kinetics and high-intensity exercise performance. **Med Sci Sports Exerc**, v. 43, n. 3, p. 457-467, 2011.

BEHM, D. G.; ST-PIERRE, D. M.; PEREZ, D. Muscle inactivation: assessment of interpolated twitch technique. **J Appl Physiol**, v. 81, n. 5, p. 2267-73, Nov 1996.

BERGSTROM, J. Muscle electrolytes in man determined by neutron activation analysis on needle biopsy specimens. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**, v. 14, n. Suppl 68, 1962.

BIGLAND-RITCHIE, B. Muscle fatigue and the influence of changing neural drive. **Clinics in chest medicine**, v. 5, n. 1, p. 21-34, 1984.

BIGLAND-RITCHIE, B.; FURBUSH, F.; WOODS, J. Fatigue of intermittent submaximal voluntary contractions: central and peripheral factors. **Journal of Applied Physiology**, v. 61, n. 2, p. 421-429, 1986.

BIGLAND-RITCHIE, B.; RICE, C.; GARLAND, S.; WALSH, M. Task-dependent factors in fatigue of human voluntary contractions. In: ENOKA, R. M.;GANDEVIA, S. C., *et al*, Fatigue: Neural and Muscular Mechanisms, 1995. New York, USA. Springer. p.361-380.

BLACK, M. I.; JONES, A. M.; BLACKWELL, J. R.; BAILEY, S. J.; WYLIE, L. J.; MCDONAGH, S. T.; THOMPSON, C.; KELLY, J.; SUMNERS, P.; MILEVA, K. N. Muscle metabolic and neuromuscular determinants of fatigue during cycling in different exercise intensity domains. **Journal of Applied Physiology**, v. 122, n. 3, p. 446-459, 2017.

BLAIN, G. M.; MANGUM, T. S.; SIDHU, S. K.; WEAVIL, J. C.; HUREAU, T. J.; JESSOP, J. E.; BLEDSOE, A. D.; RICHARDSON, R. S.; AMANN, M. Group III/IV muscle afferents limit the intramuscular metabolic perturbation during whole body exercise in humans. **The Journal of physiology**, v. 594, n. 18, p. 5303-5315, 2016.

BORG, G. A. Psychophysical bases of perceived exertion. **Med Sci Sports Exerc**, v. 14, n. 5, p. 377-381, 1982.

BOWTELL, J. L.; MOHR, M.; FULFORD, J.; JACKMAN, S. R.; ERMIDIS, G.; KRUSTRUP, P.; MILEVA, K. N. Improved exercise tolerance with caffeine is associated with modulation of both peripheral and central neural processes in human participants. **Front Nutr**, v. 5, p. 6, 2018.

BUNSAWAT, K.; WHITE, D. W.; KAPPUS, R. M.; BAYNARD, T. Caffeine delays autonomic recovery following acute exercise. **Eur J Prev Cardiol**, v. 22, n. 11, p. 1473-1479, 2015.

BURKE, L. M. Caffeine and sports performance. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 33, n. 6, p. 1319-1334, 2008.

BURNLEY, M.; VANHATALO, A.; JONES, A. M. Distinct profiles of neuromuscular fatigue during muscle contractions below and above the critical torque in humans. **Journal of applied physiology**, v. 113, n. 2, p. 215-223, 2012.

CAMPBELL, D. T.; STANLEY, J. C.; GAGE, N. L. **Experimental and quasi-experimental designs for research**. Houghton Mifflin Boston. 1963

CAPUTO, F.; DENADAI, B. Exercise Mode Affects the Time to Achieve $\dot{V}O_2\text{max}$ Without Influencing Maximal Exercise Time at the Intensity Associated With $\dot{V}O_2\text{max}$ in Triathletes. **Int J Sports Med**, v. 27, n. 10, p. 798-803, 2006.

CASTRO, A.; DUFT, R. G.; FERREIRA, M. L. V.; ANDRADE, A. L. L.; GÁSPARI, A. F.; SILVA, L. M.; OLIVEIRA-NUNES, S. G.; CAVAGLIERI, C. R.; GHOSH, S.; BOUCHARD, C.; CHACON-MIKAHIL, M. P. T. Association of skeletal muscle and serum metabolites with maximum power output gains in response to continuous endurance or high-intensity interval training programs: The TIMES study - A randomized controlled trial. **PLoS One**, v. 14, n. 2, p. e0212115, 2019.

CHAPMAN, R. F.; MICKLEBOROUGH, T. D. The effects of caffeine on ventilation and pulmonary function during exercise: an often-overlooked response. **Phys Sportsmed** v. 37, n. 4, p. 97-103, Dec 2009.

CHAPMAN, R. F.; STAGER, J. M. Caffeine stimulates ventilation in athletes with exercise-induced hypoxemia. **Med Sci Sports Exerc**, v. 40, n. 6, p. 1080-6, Jun 2008.

CHIDNOK, W.; FULFORD, J.; BAILEY, S. J.; DIMENNA, F. J.; SKIBA, P. F.; VANHATALO, A.; JONES, A. M. Muscle metabolic determinants of exercise tolerance following exhaustion: relationship to the "critical power". **Journal of Applied Physiology**, v. 115, n. 2, p. 243-250, 2013.

CLAUSEN, T. $\text{Na}^+\text{-K}^+$ pump regulation and skeletal muscle contractility. **Physiological reviews**, v. 83, n. 4, p. 1269-1324, 2003.

COHEN, J. **Statistical power analysis for the behavioral sciences**. : Hillsdale, NJ: Erlbaum. 2nd 1988.

CRAIG, C. L.; MARSHALL, A. L.; SJÖSTRÖM, M.; BAUMAN, A. E.; BOOTH, M. L.; AINSWORTH, B. E.; PRATT, M.; EKELUND, U.; YNGVE, A.; SALLIS, J. F.; OJA, P. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. **Med Sci Sports Exerc**, v. 35, n. 8, p. 1381-95, 2003.

CROWE, M. J.; LEICHT, A. S.; SPINKS, W. L. Physiological and cognitive responses to caffeine during repeated, high-intensity exercise. **Int J Sport Nutr Exerc Metab**, v. 16, n. 5, p. 528-44, Oct 2006.

DANIELS, J. W.; MOLÉ, P. A.; SHAFFRATH, J. D.; STEBBINS, C. L. Effects of caffeine on blood pressure, heart rate, and forearm blood flow during dynamic leg exercise. **J Appl Physiol** v. 85, n. 1, p. 154-9, Jul 1998.

DAVIS, J. M.; ALDERSON, N. L.; WELSH, R. S. Serotonin and central nervous system fatigue: nutritional considerations. **The American journal of clinical nutrition**, v. 72, n. 2, p. 573S-578S, 2000.

DAVIS, J. M.; ZHAO, Z.; STOCK, H. S.; MEHL, K. A.; BUGGY, J.; HAND, G. A. Central nervous system effects of caffeine and adenosine on fatigue. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 284, n. 2, p. R399-R404, 2003.

DEMPSEY, J. A.; WAGNER, P. D. Exercise-induced arterial hypoxemia. **J Appl Physiol**, v. 87, n. 6, p. 1997-2006, 1999.

DOHERTY, M. The effects of caffeine on the maximal accumulated oxygen deficit and short-term running performance. **Int J Sport Nutr Exerc Metab**, v. 8, n. 2, p. 95-104, 1998.

DOHERTY, M.; SMITH, P. M. Effects of caffeine ingestion on rating of perceived exertion during and after exercise: a meta-analysis. **Scand J Med Sci Sports**, v. 15, p. 69-78, 2005.

DOMINELLI, P. B.; MOLGAT-SEON, Y.; GRIESDALE, D. E. G.; PETERS, C. M.; BLOUIN, J.-S.; SEKHON, M.; DOMINELLI, G. S.; HENDERSON, W. R.; FOSTER, G. E.; ROMER, L. M.; KOEHLE, M. S.; SHEEL, A. W. Exercise-induced quadriceps muscle fatigue in men and women: effects of arterial oxygen content and respiratory muscle work. **The Journal of Physiology**, v. 595, n. 15, p. 5227-5244, 2017.

DUFFY, P.; PHILLIPS, Y. Y. Caffeine consumption decreases the response to bronchoprovocation challenge with dry gas hyperventilation. **Chest**, v. 99, n. 6, p. 1374-7, Jun 1991.

EDWARDS, R. H.; HILL, D. K.; JONES, D. A.; MERTON, P. A. Fatigue of long duration in human skeletal muscle after exercise. **J Physiol**, v. 272, n. 3, p. 769-78, Nov 1977.

ENOKA, R. M.; DUCHATEAU, J. Muscle fatigue: what, why and how it influences muscle function. **J Physiol**, v. 586, n. 1, p. 11-23, 2008.

ENOKA, R. M.; STUART, D. G. Neurobiology of muscle fatigue. **Journal of applied physiology**, v. 72, n. 5, p. 1631-1648, 1992.

EVANS, W.; PHINNEY, S.; YOUNG, V. Suction applied to a muscle biopsy maximizes sample size. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 14, n. 1, p. 101-102, 1982.

FELIPPE, L. C.; FERREIRA, G. A.; LEARSI, S. K.; BOARI, D.; BERTUZZI, R.; LIMA-SILVA, A. E. Caffeine increases both total work performed above critical power and peripheral fatigue during a 4-km cycling time trial. **J Appl Physiol**, v. 124, n. 6, p. 1491-1501, 2018.

FITTS, R. H. Cellular mechanisms of muscle fatigue. **Physiological reviews**, v. 74, n. 1, p. 49-94, 1994.

_____. The cross-bridge cycle and skeletal muscle fatigue. **Journal of applied physiology**, v. 104, n. 2, p. 551-558, 2008.

FREDHOLM, B. B. Adenosine, adenosine receptors and the actions of caffeine. **Pharmacol Toxicol**, v. 76, n. 2, p. 93-101, 1995.

FREDHOLM, B. B.; BÄTTIG, K.; HOLMÉN, J.; NEHLIG, A.; ZVARTAU, E. E. Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute to its widespread use. **Pharmacol Rev**, v. 51, n. 1, p. 83-133, 1999.

FROYD, C.; MILLET, G. Y.; NOAKES, T. D. The development of peripheral fatigue and short-term recovery during self-paced high-intensity exercise. **J Physiol**, v. 591, n. 5, p. 1339-1346, 2013.

GAESSER, G. A.; POOLE, D. C. The slow component of oxygen uptake kinetics in humans. **Exercise and sport sciences reviews**, v. 24, n. 1, p. 35-70, 1996.

GANDEVIA, S.; ALLEN, G.; MCKENZIE, D. Central fatigue: Critical Issues, Quantification and Practical Implications. *Fatigue: Neural and Muscular Mechanisms*, 1995. Springer. p.281-294.

GANDEVIA, S.; ALLEN, G. M.; BUTLER, J. E.; TAYLOR, J. L. Supraspinal factors in human muscle fatigue: evidence for suboptimal output from the motor cortex. **The Journal of physiology**, v. 490, n. 2, p. 529-536, 1996.

GANDEVIA, S.; MCKENZIE, D. Activation of human muscles at short muscle lengths during maximal static efforts. **The Journal of physiology**, v. 407, n. 1, p. 599-613, 1988.

GANDEVIA, S. C. Spinal and supraspinal factors in human muscle fatigue. **Physiol Rev**, v. 81, n. 4, p. 1725-1789, 2001.

GEEVES, M. A.; HOLMES, K. C. Structural mechanism of muscle contraction. **Annual review of biochemistry**, v. 68, n. 1, p. 687-728, 1999.

GONÇALVES, L. D. S.; PAINELLI, V. D. S.; YAMAGUCHI, G.; OLIVEIRA, L. F. D.; SAUNDERS, B.; DA SILVA, R. P.; MACIEL, E.; ARTIOLI, G. G.; ROSCHEL, H.; GUALANO, B. Dispelling the myth that habitual caffeine consumption influences the performance response to acute caffeine supplementation. **J Appl Physiol**, v. 123, n. 1, p. 213-220, 2017.

GRAHAM, T. E. Caffeine and exercise. **Sports medicine**, v. 31, n. 11, p. 785-807, 2001.

GRAHAM, T. E.; SPRIET, L. L. Metabolic, catecholamine, and exercise performance responses to various doses of caffeine. **J Appl Physiol**, v. 78, n. 3, p. 867-74, Mar 1995.

GREEN, H. J.; DUHAMEL, T. A.; SMITH, I. C.; RICH, S. M.; THOMAS, M. M.; OUYANG, J.; YAU, J. E. Muscle fatigue and excitation–contraction coupling responses following a session of prolonged cycling. **Acta Physiol**, v. 203, n. 4, p. 441-455, 2011.

GRGIC, J.; GRGIC, I.; PICKERING, C.; SCHOENFELD, B. J.; BISHOP, D. J.; PEDISIC, Z. Wake up and smell the coffee: Caffeine supplementation and exercise performance - An umbrella review of 21 published meta-analyses. **Br J Sports Med** v. 54, n. 11, p. 681-688, 2020.

GRUET, M.; TEMESI, J.; RUPP, T.; LEVY, P.; VERGES, S.; MILLET, G. Y. Dynamics of corticospinal changes during and after high-intensity quadriceps exercise. **Exp Physiol**, v. 99, n. 8, p. 1053-1064, 2014.

HARMS, C. A.; BABCOCK, M. A.; MCCLARAN, S. R.; PEGELOW, D. F.; NICKELE, G. A.; NELSON, W. B.; DEMPSEY, J. A. Respiratory muscle work compromises leg blood flow during maximal exercise. **J Appl Physiol**, v. 82, n. 5, p. 1573-83, May 1997.

HARMS, C. A.; STAGER, J. M. Low chemoresponsiveness and inadequate hyperventilation contribute to exercise-induced hypoxemia. **J Appl Physiol**, v. 79, n. 2, p. 575-580, 1995.

HERMENS, H. J.; FRERIKS, B.; DISSELHORST-KLUG, C.; RAU, G. Development of recommendations for SEMG sensors and sensor placement procedures. **J Electromyogr Kinesiol**, v. 10, n. 5, p. 361-374, 2000.

HOPKINS, W. G. How to interpret changes in an athletic performance test. **Sportsci**, v. 8, n. 1, p. 1-7, 2004.

HOWLEY, E. T.; BASSETT, D. R.; WELCH, H. G. Criteria for maximal oxygen uptake: review and commentary. **Med Sci Sports Exerc**, v. 27, p. 1292-1292, 1995.

HUREAU, T. J.; ROMER, L. M.; AMANN, M. The 'sensory tolerance limit': A hypothetical construct determining exercise performance? **Eur J Sport Sci**, v. 18, n. 1, p. 13-24, Feb 2018.

IPAQ RESEARCH COMMITTEE. Guidelines for data processing and analysis of the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) - short and long forms. <http://www.ipaq.ki.se/scoring.pdf>, 2005.

JACKSON, A. S.; POLLOCK, M. L. Generalized equations for predicting body density of men. **British journal of nutrition**, v. 40, n. 03, p. 497-504, 1978.

JONES, A. M.; WILKERSON, D. P.; DIMENNA, F.; FULFORD, J.; POOLE, D. C. Muscle metabolic responses to exercise above and below the "critical power" assessed using ³¹P-MRS. **American journal of physiology-regulatory, integrative and comparative physiology**, v. 294, n. 2, p. R585-R593, 2008.

KALMAR, J. M.; CAFARELLI, E. Effects of caffeine on neuromuscular function. **J Appl Physiol**, v. 87, n. 2, p. 801-808, 1999.

_____. Central fatigue and transcranial magnetic stimulation: effect of caffeine and the confound of peripheral transmission failure. **J Neurosci Methods**, v. 138, n. 1-2, p. 15-26, Sep 30 2004.

KIVITY, S.; AHARON, Y. B.; MAN, A.; TOPILSKY, M. The Effect of Caffeine on Exercise-Induced Bronchoconstriction. **Chest**, v. 97, n. 5, p. 1083-1085, 1990.

KUIPERS, H.; VERSTAPPEN, F.; KEIZER, H.; GEURTEN, P.; VAN KRANENBURG, G. Variability of aerobic performance in the laboratory and its physiologic correlates. **International journal of sports medicine**, v. 6, n. 04, p. 197-201, 1985.

LE BELLE, J. E.; HARRIS, N. G.; WILLIAMS, S. R.; BHAKOO, K. K. A comparison of cell and tissue extraction techniques using high-resolution ¹H-NMR spectroscopy. **NMR Biomed**, v. 15, n. 1, p. 37-44, Feb 2002.

LEVINE, T. R.; HULLETT, C. R. Eta squared, partial eta squared, and misreporting of effect size in communication research. **Hum Commun Res**, v. 28, n. 4, p. 612-625, 2002.

LINDINGER, M.; WILLMETS, R.; HAWKE, T. Stimulation of Na⁺, K⁺-pump activity in skeletal muscle by methylxanthines: evidence and proposed mechanisms. **Acta Physiologica**, v. 156, n. 3, p. 347-353, 1996.

LINDINGER, M. I.; GRAHAM, T. E.; SPRIET, L. L. Caffeine attenuates the exercise-induced increase in plasma [K⁺] in humans. **Journal of Applied Physiology**, v. 74, n. 3, p. 1149-1155, 1993.

LOPES, J. M.; AUBIER, M.; JARDIM, J.; ARANDA, J. V.; MACKLEM, P. T. Effect of caffeine on skeletal muscle function before and after fatigue. **J Appl Physiol**, v. 54, n. 5, p. 1303-1305, 1983.

LYNGE, J.; HELLSTEN, Y. Distribution of adenosine A1, A2A and A2B receptors in human skeletal muscle. **Acta Physiol Scand**, v. 169, n. 4, p. 283-90, Aug 2000.

MARIDAKIS, V.; O'CONNOR, P. J.; DUDLEY, G. A.; MCCULLY, K. K. Caffeine attenuates delayed-onset muscle pain and force loss following eccentric exercise. **The Journal of Pain**, v. 8, n. 3, p. 237-243, 2007.

MCKENNA, M. J.; BANGSBO, J.; RENAUD, J.-M. Muscle K⁺, Na⁺, and Cl⁻ disturbances and Na⁺-K⁺ pump inactivation: implications for fatigue. **Journal of Applied Physiology**, v. 104, n. 1, p. 288-295, 2008.

MERTON, P. Voluntary strength and fatigue. **J Physiol**, v. 123, n. 3, p. 553-564, 1954.

MEYERS, B.; CAFARELLI, E. Caffeine increases time to fatigue by maintaining force and not by altering firing rates during submaximal isometric contractions. **Journal of Applied Physiology**, v. 99, n. 3, p. 1056-1063, 2005.

MILLET, G.; BACHASSON, D.; TEMESI, J.; WUYAM, B.; FÉASSON, L.; VERGÈS, S.; LÉVY, P. Potential interests and limits of magnetic and electrical stimulation techniques to assess neuromuscular fatigue. **Neuromuscul Disord**, v. 22, p. S181-S186, 2012.

MOHR, M.; NIELSEN, J. J.; BANGSBO, J. Caffeine intake improves intense intermittent exercise performance and reduces muscle interstitial potassium accumulation. **J Appl Physiol**, v. 111, n. 5, p. 1372-1379, 2011.

MOHR, T.; VAN SOEREN, M.; GRAHAM, T. E.; KJAER, M. Caffeine ingestion and metabolic responses of tetraplegic humans during electrical cycling. **J Appl Physiol** v. 85, n. 3, p. 979-85, Sep 1998.

MONOD, H.; SCHERRER, J. The work capacity of a synergic muscular group. **Ergonomics**, v. 8, n. 3, p. 329-338, 1965.

MORITANI, T.; NAGATA, A.; DEVRIES, H. A.; MURO, M. Critical power as a measure of physical work capacity and anaerobic threshold. **Ergonomics**, v. 24, n. 5, p. 339-350, 1981.

MORTON, R. H. The critical power and related whole-body bioenergetic models. **European journal of applied physiology**, v. 96, n. 4, p. 339-354, 2006.

NEMEZIO, K. M. D. A.; BERTUZZI, R.; CORREIA-OLIVEIRA, C. R.; GUALANO, B.; BISHOP, D. J.; LIMA-SILVA, A. E. Effect of creatine loading on oxygen uptake during a 1-km cycling time trial. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 47, n. 12, p. 2660-2668, 2015.

NEWSHOLME, E.; BLOMSTRAND, D. E. Tryptophan, 5-hydroxytryptamine and a possible explanation for central fatigue. *Fatigue: Neural and Muscular Mechanisms*, 1995. Springer. p.315-320.

NEYROUD, D.; VALLOTTON, A.; MILLET, G. Y.; KAYSER, B.; PLACE, N. The effect of muscle fatigue on stimulus intensity requirements for central and peripheral fatigue quantification. **Eur J Appl Physiol**, v. 114, n. 1, p. 205-215, 2014.

NICOLÒ, A.; MARCORA, S. M.; SACCHETTI, M. Time to reconsider how ventilation is regulated above the respiratory compensation point during incremental exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 128, n. 5, p. 1447-1449, 2020.

NICOLÒ, A.; SACCHETTI, M. A new model of ventilatory control during exercise. **Experimental Physiology**, v. 104, n. 9, p. 1331-1332, 2019.

OLCINA, G. J.; MUÑOZ, D.; TIMÓN, R.; CABALLERO, M. J.; MAYNAR, J. I.; CORDOVA, A.; MAYNAR, M. Effect of caffeine on oxidative stress during maximum incremental exercise. **J Sports Sci Med**, v. 5, n. 4, p. 621-8, 2006.

OSBORNE, M. A.; SCHNEIDER, D. A. Muscle glycogen reduction in man: relationship between surface EMG activity and oxygen uptake kinetics during heavy exercise. **Exp Physiol**, v. 91, n. 1, p. 179-89, Jan 2006.

PETHICK, J.; WINTER, S. L.; BURNLEY, M. Caffeine ingestion attenuates fatigue-induced loss of muscle torque complexity. **Med Sci Sports Exerc**, v. 50, n. 2, p. 236-245, 2018.

POOLE, D. C.; BURNLEY, M.; VANHATALO, A.; ROSSITER, H. B.; JONES, A. M. Critical Power: An Important Fatigue Threshold in Exercise Physiology. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 48, n. 11, p. 2320-2334, 2016.

POOLE, D. C.; WARD, S. A.; GARDNER, G. W.; WHIPP, B. J. Metabolic and respiratory profile of the upper limit for prolonged exercise in man. **Ergonomics**, v. 31, n. 9, p. 1265-1279, 1988.

RICHMOND, G. H. Action of Caffeine and Aminophylline as Respiratory Stimulants in Man. **J Appl Physiol**, v. 2, n. 1, p. 16-23, 1949.

RODRIGUEZ-FALCES, J.; PLACE, N. Differences in the recruitment curves obtained with monopolar and bipolar electrode configurations in the quadriceps femoris. **Muscle Nerve**, v. 54, n. 1, p. 118-131, 2016.

ROMER, L. M.; DEMPSEY, J. A. Effects of exercise-induced arterial hypoxemia on limb muscle fatigue and performance. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 33, n. 4, p. 391-394, 2006.

ROSSMAN, M. J.; GARTEN, R. S.; VENTURELLI, M.; AMANN, M.; RICHARDSON, R. S. The role of active muscle mass in determining the magnitude of peripheral fatigue during dynamic exercise. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 306, n. 12, p. R934-R940, 2014.

RUÍZ-MORENO, C.; LARA, B.; BRITO DE SOUZA, D.; GUTIÉRREZ-HELLÍN, J.; ROMERO-MORALEDA, B.; CUÉLLAR-RAYO, Á.; DEL COSO, J. Acute caffeine intake increases muscle oxygen saturation during a maximal incremental exercise test. **Br J Clin Pharmacol**, v. 86, n. 5, p. 861-867, May 2020.

SALVATORE, C. A.; JACOBSON, M. A.; TAYLOR, H. E.; LINDEN, J.; JOHNSON, R. G. Molecular cloning and characterization of the human A3 adenosine receptor. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 90, n. 21, p. 10365-9, Nov 1 1993.

SANTOS, P. S.; FELIPPE, L. C.; FERREIRA, G. A.; LEARSI, S. K.; COUTO, P. G.; BERTUZZI, R.; PEREIRA, G.; LIMA-SILVA, A. E. Caffeine Increases Peripheral Fatigue in Low- but not in High-Performing Cyclists. **Appl Physiol Nutr Metab**, v. Volume Publish Ahead of Print, 2020.

SAWCZUK, A.; POWERS, R.; BINDER, M. Intrinsic properties of motoneurons. *Fatigue: Neural and Muscular Mechanisms*, 1995. Springer. p.123-134.

SILVEIRA, R.; ANDRADE-SOUZA, V. A.; ARCOVERDE, L.; TOMAZINI, F.; SANSONIO, A.; BISHOP, D. J.; BERTUZZI, R.; LIMA-SILVA, A. E. Caffeine Increases Work Done above Critical Power, but Not Anaerobic Work. **Med Sci Sports Exerc**, v. 50, n. 1, p. 131-140, 2018.

SIMMONDS, M. J.; MINAHAN, C. L.; SABAPATHY, S. Caffeine improves supramaximal cycling but not the rate of anaerobic energy release. **Eur J Appl Physiol**, v. 109, n. 2, p. 287-295, 2010.

SIRI, W. E. Body composition from fluid spaces and density: analysis of methods. **Techniques for measuring body composition**, v. 61, p. 223-44, 1961.

STEPHENSON, D.; LAMB, G.; STEPHENSON, G.; FRYER, M. Mechanisms of excitation-contraction coupling relevant to skeletal muscle fatigue. *Fatigue: Neural and Muscular Mechanisms*, 1995. Springer. p.45-56.

STROJNIK, V.; KOMI, P. V. Neuromuscular fatigue after maximal stretch-shortening cycle exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 84, n. 1, p. 344-350, 1998.

SUNG, B. H.; LOVALLO, W. R.; PINCOMB, G. A.; WILSON, M. F. Effects of caffeine on blood pressure response during exercise in normotensive healthy young men. **Am J Cardiol**, v. 65, n. 13, p. 909-913, 1990.

TALLIS, J.; DUNCAN, M. J.; JAMES, R. S. What can isolated skeletal muscle experiments tell us about the effects of caffeine on exercise performance? **Br J Pharmacol**, v. 172, n. 15, p. 3703-13, Aug 2015.

TALLIS, J.; HIGGINS, M. F.; COX, V. M.; DUNCAN, M. J.; JAMES, R. S. An exercise-induced improvement in isolated skeletal muscle contractility does not affect the performance-enhancing benefit of 70 $\mu\text{mol l}^{-1}$ caffeine treatment. **J Exp Biol**, v. 221, n. Pt 21, Nov 5 2018.

TALLIS, J.; JAMES, R. S.; COX, V. M.; DUNCAN, M. J. The effect of physiological concentrations of caffeine on the power output of maximally and submaximally stimulated mouse EDL (fast) and soleus (slow) muscle. **J Appl Physiol**, v. 112, n. 1, p. 64-71, 2012.

_____. The effect of a physiological concentration of caffeine on the endurance of maximally and submaximally stimulated mouse soleus muscle. **J Physiol Sci**, v. 63, n. 2, p. 125-132, 2013.

TARNOPOLSKY, M.; CUPIDO, C. Caffeine potentiates low frequency skeletal muscle force in habitual and nonhabitual caffeine consumers. **J Appl Physiol**, v. 89, n. 5, p. 1719-1724, 2000.

TAYLOR, J. L.; AMANN, M.; DUCHATEAU, J.; MEEUSEN, R.; RICE, C. L. Neural contributions to muscle fatigue: from the brain to the muscle and back again. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 48, n. 11, p. 2294, 2016.

TAYLOR, J. L.; BUTLER, J. E.; GANDEVIA, S. Changes in muscle afferents, motoneurons and motor drive during muscle fatigue. **European journal of applied physiology**, v. 83, n. 2-3, p. 106-115, 2000.

THOMAS, K.; GOODALL, S.; STONE, M.; HOWATSON, G.; GIBSON, A. S. C.; ANSLEY, L. Central and peripheral fatigue in male cyclists after 4-, 20-, and 40-km time trials. **Med Sci Sports Exerc**, v. 47, n. 3, p. 537-546, 2015.

VANHATALO, A.; BLACK, M. I.; DIMENNA, F. J.; BLACKWELL, J. R.; SCHMIDT, J. F.; THOMPSON, C.; WYLIE, L. J.; MOHR, M.; BANGSBO, J.; KRUSTRUP, P. The mechanistic bases of the power–time relationship: muscle metabolic responses and relationships to muscle fibre type. **The Journal of physiology**, v. 594, n. 15, p. 4407-4423, 2016.

VANHATALO, A.; FULFORD, J.; DIMENNA, F. J.; JONES, A. M. Influence of hyperoxia on muscle metabolic responses and the power–duration relationship during severe-intensity exercise in humans: a ³¹P magnetic resonance spectroscopy study. **Exp Physiol**, v. 95, n. 4, p. 528-540, 2010.

VØLLESTAD, N. K. Measurement of human muscle fatigue. **J Neurosci Methods**, v. 74, n. 2, p. 219-227, 1997.

WALTON, C.; KALMAR, J.; CAFARELLI, E. Caffeine increases spinal excitability in humans. **Muscle Nerve**, v. 28, n. 3, p. 359-364, 2003.

WARREN, G. L.; PARK, N. D.; MARESCA, R. D.; MCKIBANS, K. I.; MILLARD-STAFFORD, M. L. Effect of caffeine ingestion on muscular strength and endurance: a meta-analysis. **Med Sci Sports Exerc**, v. 42, n. 7, p. 1375-1387, 2010.

WEAVIL, J. C.; AMANN, M. Neuromuscular fatigue during whole body exercise. **Curr Opin Physiol**, v. 10, p. 128-136, 2019.

WESTERBLAD, H.; BRUTON, J. D.; ALLEN, D. G.; LÄNNERGREN, J. Functional significance of Ca²⁺ in long-lasting fatigue of skeletal muscle. **Eur J Appl Physiol**, v. 83, n. 2-3, p. 166-74, Oct 2000.

WHIPP, B.; DAVIS, J. A.; TORRES, F.; WASSERMAN, K. A test to determine parameters of aerobic function during exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 50, n. 1, p. 217-221, 1981.

WHIPP, B.; OZYENER, F. The kinetics of exertional oxygen uptake: assumptions and inferences. **Med Sport**, v. 51, n. 2, p. 139-149, 1998.

WHIPP, B.; ROSSITER, H. The kinetics of oxygen uptake: physiological inferences from the parameters. In: POOLE DC e JONES AM (Ed.). **Oxygen uptake kinetics in sport, exercise and medicine: Routledge**. London: Routledge, 2005. p.62-94.

APÊNDICE 1 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) DO ESTUDO 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nós, Prof. Dr. Adriano Eduardo Lima da Silva e Gislaine Cristina de Souza, aluna de pós-graduação - da Universidade Federal do Paraná, estamos convidando o Senhor a participar de um estudo intitulado "EFEITO DA CAFEÍNA SOBRE O DESENVOLVIMENTO DA FADIGA CENTRAL E PERIFÉRICA DURANTE EXERCÍCIO AERÓBIO NO DOMÍNIO SEVERO". Esta pesquisa é importante porque a estratégia de ingestão aguda de cafeína pode atenuar ou aumentar a tolerância a fadiga durante exercício em alta intensidade.

a) O objetivo desta pesquisa é investigar se a esperada maior tolerância para manter o exercício por mais tempo na máxima intensidade aeróbia ao ingerir cafeína está associada a uma maior tolerância à fadiga periférica ou a uma diminuição na taxa de acumulação de fadiga periférica.

b) Caso você participe da pesquisa, as avaliações serão realizadas 11 visitas com intervalos mínimos de 72 horas, nas quais serão realizadas, 1ª) avaliação antropométrica e teste incremental máximo na bicicleta; 2ª) uma familiarização com o teste com carga constante até a exaustão e com os procedimentos para determinar a fadiga; 3-4ª) o exercício de carga constante até a exaustão na bicicleta após a ingestão de cafeína ou placebo com avaliação do consumo de oxigênio, frequência cardíaca, saturação de oxigênio e percepção de esforço durante o teste e procedimentos para determinar a fadiga antes e depois do teste; 5-10ª) exercício de carga constante com tempo fixo na bicicleta após a ingestão de cafeína ou placebo com avaliação do consumo de oxigênio, frequência cardíaca, saturação de oxigênio e percepção de esforço durante o teste e procedimentos para determinar a fadiga antes e depois do teste; 11ª) será realizado um novo teste incremental máximo. Durante cada teste de carga constante você utilizará uma máscara em seu rosto que será capaz de captar sua respiração e enviar uma amostra dela para um aparelho capaz de medir seu consumo de oxigênio.

c) Para tanto você deverá comparecer na Unidade Metabólica da UFPR para realização do teste incremental e antropometria e do teste de carga constante para avaliação do consumo de oxigênio, frequência cardíaca, saturação de oxigênio, percepção de esforço e procedimentos para determinar a fadiga, o que levará aproximadamente 1 hora e 30 minutos de duração para cada visita.

d) É possível que você experimente algum desconforto tolerável, principalmente associado ao estímulo elétrico para determinar o nível de fadiga, mas sem possíveis danos exacerbados.

e) Alguns riscos relacionados ao estudo podem ser microlesões musculares e sensação momentânea de fadiga e dormência advindos dos exercícios e testes propostos, no entanto são consideradas mínimas e comuns da sua rotina de treinamento, provenientes em qualquer participante que seja fisicamente ativo e pratique alguma atividade.

f) Os benefícios esperados com essa pesquisa são a identificação do desenvolvimento de fadiga durante exercício aeróbio de alta intensidade para determinar se o uso da cafeína leva a uma maior fadiga muscular provocando comprometimento da recuperação ou se a cafeína apenas atrasa o acúmulo de fadiga muscular auxiliando na prática de exercício ao retardar a fadiga.

Rubricas
Participante da Pesquisa _____
Pesquisador Responsável ou quem aplicou o TCLE _____
Orientador _____



Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa
em Seres Humanos do Setor de Ciências da
Saúde/UFPR.
Parecer CEP/SD-PB.nº 2347996
na data de 02/07/2018. gth

Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Setor de Ciências da Saúde da UFPR |
CEP/SD Rua Padre Camargo, 285 | térreo | Alto da Glória | Curitiba/PR | CEP 80060-240 |
cometica.saude@ufpr.br – telefone (041) 3360-7259

g) Os pesquisadores Adriano Eduardo Lima da Silva e Gislane Cristina de Souza responsáveis por este estudo poderão ser localizados no Departamento de Educação Física, na Universidade Federal do Paraná - UFPR situado na Rua: Coração de Maria nº 92 - Campus Jardim Botânico - CEP: 80.210-132 - Curitiba/PR, 1º andar/sala CECOM e pelos telefones: (41) 3360-4322 e (41) 991454389, ou e-mails: limasilvae@hotmail.com e gicsouzafla@gmail.com, no horário 08:00-12:00 para esclarecer eventuais dúvidas que você possa ter e fornecer-lhe as informações que queira, antes, durante ou depois de encerrado o estudo.

h) A sua participação neste estudo é voluntária e se você não quiser mais fazer parte da pesquisa poderá desistir a qualquer momento e solicitar que lhe devolvam este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado.

i) As informações relacionadas ao estudo poderão ser conhecidas por pessoas autorizadas (Orientador responsável, doutoranda responsável e técnicos de laboratório). No entanto, se qualquer informação for divulgada em relatório ou publicação, isto será feito sob forma codificada, para que a sua identidade seja preservada e mantida sua confidencialidade

j) O material obtido - dados, imagens e vídeos - será utilizado unicamente para essa pesquisa e será destruído/descartado em ambiente propício informado pelo Departamento de Educação Física ao término do estudo, dentro de 4 anos.

k) As despesas necessárias para a realização da pesquisa não são de sua responsabilidade e você não receberá qualquer valor em dinheiro pela sua participação

l) Quando os resultados forem publicados, não aparecerá seu nome, e sim um código.

m) Se você tiver dúvidas sobre seus direitos como participante de pesquisa, você pode contatar também o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP/SD) do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, pelo telefone 3360-7259.

Eu, _____ li esse Termo de Consentimento e compreendi a natureza e objetivo do estudo do qual concordei em participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento sem justificar minha decisão e sem qualquer prejuízo para mim.

Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo.

Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Setor de Ciências da Saúde/UFPR.
Parecer CEP/SD-PB nº 2747996
na data de 02/07/2018. *GH*

Curitiba, ___ de _____ de ____.

[Assinatura do Participante de Pesquisa]

Dr^{da}. Gislane Cristina de Souza

Prof. Dr. Adriano Eduardo Lima da Silva

APÊNDICE 2 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) DO ESTUDO 2

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA E ESPORTE
Comitê de Ética em Pesquisa

Formulário E

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. DADOS DO INDIVÍDUO

Nome completo _____

Sexo Masculino
 Feminino

RG _____

Data de nascimento _____

Endereço completo _____

CEP _____

Fone _____

e-mail _____

2. RESPONSÁVEL LEGAL

Nome completo _____

Natureza (grau de parentesco, tutor, curador, etc.) _____

Sexo Masculino
 Feminino

RG _____

Data de nascimento _____

Endereço completo _____

CEP _____

Fone _____

e-mail _____

II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. Título do Projeto de Pesquisa

Efeito da Cafeína sobre a Perturbação Metabólica Intramuscular durante Exercício Aeróbio no Domínio Severo

2. Pesquisador Responsável

Rômulo Cássio de Moraes Bertuzzi

3. Cargo/Função

Docente EEFE - USP

4. Avaliação do risco da pesquisa:

RISCO MÍNIMO RISCO BAIXO RISCO MÉDIO RISCO MAIOR
(probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)

5. Duração da Pesquisa

24 meses

III - EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO INDIVÍDUO OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA, DE FORMA CLARA E SIMPLES, CONSIGNANDO:

1. justificativa e os objetivos da pesquisa;

Durante esforços intensos, entramos em fadiga por causa de um acúmulo de ácidos e subprodutos que ocorre dentro dos nossos músculos. Recentemente há um aumento da aderência a prática de exercícios físicos de alta intensidade realizados até a exaustão, por serem considerados uma alternativa eficiente

para a promoção de saúde, gastando menos tempo para realização e conseguindo levar os sistemas fisiológicos a níveis máximos o que causa adaptações ao treinamento. Muitos praticantes de atividade física também utilizam da cafeína com o objetivo de melhorar o desempenho e disposição para a prática destes exercícios, por esta substância auxiliar em perda de peso e na melhora da resistência a fadiga. Em outra mão, atletas profissionais frequentemente usam a cafeína em competições para melhorarem o desempenho em provas de ciclismo de curta duração que possuem intensidade severa de execução.

Entretanto, o uso da cafeína tem sido frequente, apesar de não saber qual o mecanismo por trás desse suplemento que pode estar atuando sobre a fadiga para que haja essa melhora do desempenho, aumentando o tempo de exaustão em exercício de carga constante, fazendo com que a pessoa se exercite por mais tempo na máxima capacidade aeróbia. Dessa forma, torna-se necessário verificar se a cafeína aumenta a tolerância ao exercício realizado na potência aeróbia máxima, fazendo com que os participantes tolerem um maior acúmulo de ácidos e subprodutos no músculo ou se possibilita um atraso na acumulação desses ácidos e subprodutos musculares indesejados durante o exercício.

Assim, o objetivo deste estudo é investigar se a esperada maior tolerância ao exercício no domínio severo (alta intensidade) após ingerir cafeína está associada ao grau de perturbação metabólica intramuscular. Isso é importante porque se a cafeína atrasa o acúmulo destes ácidos e subprodutos musculares indesejados que causam fadiga muscular, então isso se torna uma abordagem interessante e segura.

2. procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais;

A sua participação no estudo vai durar aproximadamente quatro semanas (1 mês), considerando que são seis visitas com intervalos mínimos de 72 horas. O placebo usado será a celulose (um tipo de açúcar, em quantidade muito baixa). O suplemento que você receberá (cafeína ou placebo) será decidido por sorteio. Nem você e nem os pesquisadores saberão qual suplemento você receberá. Em cada dia do estudo será ingerido um suplemento, de acordo com o sorteio. Um pesquisador não envolvido diretamente com o estudo fará o sorteio, e apenas ele saberá qual suplemento você vai receber. Ao final da sua participação, você saberá em quais dias ingeriu cafeína e quais dias ingeriu placebo.

Você deve comparecer ao laboratório em seis ocasiões diferentes, sendo duas visitas antes de tomar o suplemento e quatro visitas ingerindo suplemento antes de cada teste. Em cada visita, serão realizados os seguintes procedimentos, que serão acompanhados por um médico devidamente treinado:

1ª visita – Será medido o seu peso corporal e, em seguida, você fará um teste incremental máximo na bicicleta para identificar o consumo máximo de oxigênio (seu fôlego, ou capacidade respiratória) e sua potência máxima (carga máxima que você consegue pedalar). O teste inicia com um aquecimento a 50 watts durante cinco minutos e, em sequência, a potência será incrementada 25 watts a cada minuto, pedalando numa cadência entre 70 e 80 rotações por minuto. O teste é encerrado quando você não conseguir mais manter uma cadência acima de 70 rotações por minuto (RPM) ou sinalizar que está muito cansado e não consegue mais manter o esforço. Durante esse teste, você usará uma máscara que serve para medir o seu consumo de oxigênio. Essa máscara não atrapalha a sua respiração e você conseguirá realizar o teste como se não a estivesse usando.

2ª visita – Nessa visita você irá realizar os testes com o objetivo de se familiarizar com os testes que serão executados nas outras visitas. Primeiramente será realizado o procedimento para determinar sua força máxima e qual a ativação muscular durante as contrações isométricas. O teste será realizado em uma cadeira adaptada, similar a cadeira extensora de academia de musculação. Você irá realizar uma extensão de joelho durante as tentativas. Será realizado um aquecimento com três contração submáximas seguido de três contrações voluntárias isométricas máximas, todas com duração de cinco segundos e intervalos de um minuto. Após, você realizará um aquecimento com uma carga leve durante cinco minutos, seguidos por cinco minutos de repouso, quando serão orientados quanto ao teste e a escala de percepção subjetiva de esforço. Então, você o teste de carga constante até a exaustão numa intensidade alta determinada pelo seu teste incremental máximo. O exercício de carga constante será iniciado na potência de alta intensidade e você deverá manter pedalando em uma cadência entre 70 e 80 rpm pelo maior tempo que conseguir. O teste será encerrado quando a cadência cair mais que 10% abaixo de 70 rpm por mais que cinco segundos, ou até você sinalizar que está muito cansada e não consegue manter esse esforço por mais tempo. Durante esse teste, você usará a mesma máscara usada no teste anterior que serve para medir o seu consumo de oxigênio. Você também usará uma fita de superfície no tórax para medir sua frequência cardíaca e um oxímetro no dedo para medir o nível de oxigênio saturado.

3ª e 4ª visita – Será repetido o procedimento de contrações isométricas e, em seguida, você irá ingerir placebo ou cafeína (em cada visita será ingerida uma cápsula idêntica, de forma aleatória) e deverá esperar por 45 minutos para o suplemento agir. Após esse intervalo será realizada a técnica de biópsia muscular da coxa. Nesse procedimento, um pedaço muito pequeno (menor do que um grão de arroz cru) do músculo da parte de frente da sua coxa será retirado para ser estudado. O procedimento está descrito em detalhes na próxima página deste termo. Em sequência, você realizará novamente o exercício de

carga constante até a exaustão como na segunda visita. Imediatamente após, será perguntada sua percepção subjetiva de esforço e o procedimento de biópsia muscular da coxa será repetido.

5ª e 6ª visita – Os mesmos procedimentos executados na 3ª e 4ª visitas serão repetidos, ou seja: contrações isométricas, ingestão do suplemento, intervalo de 45 minutos, biópsia do músculo da parte da frente da coxa, exercício de carga constante, percepção subjetiva de esforço e novamente biópsia muscular da coxa. Porém, nessas visitas o exercício de carga constante será realizado com um tempo fixo inferior, determinado pelo tempo dos seus testes nas visitas anteriores. Você será avisado no momento que o teste deve ser finalizado.

Da 3ª a 6ª visita você irá ingerir em duas visitas cafeína e nas outras duas o placebo, de forma aleatória. Os suplementos serão fornecidos no formato de cápsulas gelatinosas, idênticas em formato, cor, sabor e odor. A dosagem ingerida de cafeína e celulose será de 5 mg por quilograma do seu peso corporal, sendo considerada uma dosagem segura para consumo humano, que não causa efeitos colaterais prejudiciais para o seu organismo.

Os procedimentos de retiradas das amostras de músculo da coxa estão descritos abaixo:

Biópsia para retirada de amostras do músculo da parte da frente da coxa (músculo vasto lateral):

Após a limpeza da pele, o médico aplica uma anestesia local (com xilocaína) e, após cerca de três minutos, o médico faz uma pequena abertura na pele (cerca de meio centímetro) com um bisturi. Em seguida, o médico introduz a agulha de biópsia e retira uma pequena amostra do músculo. Este procedimento é realizado uma única vez e dura aproximadamente cinco segundos. A quantidade de músculo retirada é bem pequena, próxima a um grão de arroz cru. Após este procedimento, o médico coloca um curativo especial e o cobre com uma atadura para evitar o desprendimento. Essa atadura deve ser mantida por algumas horas (mais ou menos quatro a cinco horas).

3. desconfortos e riscos esperados;

Este estudo tem um risco médio de participação, principalmente devido à realização do procedimento invasivo que é a biópsia muscular. Porém, a biópsia muscular não causará nenhum dano permanente a você, exceto pela dor da picada no momento da anestesia e pelo incômodo da inserção da agulha em seu músculo. A nossa equipe é bem experiente e bem treinada neste procedimento, e não existem relatos de problemas graves associados à biópsia em nosso laboratório. A biópsia é um procedimento completamente limpo e asséptico realizado por um médico especialista. Além disso, os testes físicos causam alta sensação de fadiga, que pode ser acompanhada por desconfortos como náuseas, dores de cabeça e queda de pressão arterial, mas como você é fisicamente ativo, provavelmente deve ter experienciado essa sensação de fadiga do exercício intenso. No caso de alguma intercorrência grave, os pesquisadores estão treinados a prestar primeiros socorros e os laboratórios estão equipados com os principais instrumentos em caso de emergência. O médico da unidade poderá atendê-lo, se necessário. Havendo necessidade, você poderá ser encaminhado para o HU-USP (Hospital Universitário da USP) ou HC-FMUSP (Hospital das Clínicas).

4. benefícios que poderão ser obtidos

Participando do estudo você receberá um relatório contendo os resultados referentes ao seu desempenho nos testes, que você poderá utilizar para realização da sua prescrição de treinamento e alcançar o seu objetivo de forma mais eficiente. Você também identificará qual o seu nível de responsividade a cafeína e se ela pode ser uma alternativa para melhorar o seu desempenho. Toda a suplementação será fornecida gratuitamente e você também terá direito a uma consulta com profissional especialista em desempenho esportivo para melhor entender seu relatório.

5. procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo.

Caso tenha interesse, você também poderá receber aconselhamentos de profissionais de educação física e tirar suas dúvidas referentes a treinamento e condicionamento físico.

IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA:

1. Você pode, a qualquer tempo, ter acesso às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para dirimir eventuais dúvidas;
2. Você terá liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência;

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA E ESPORTE
Comitê de Ética em Pesquisa

Formulário E

3. Todas as informações obtidas desse estudo serão tratadas como confidenciais. Somente os pesquisadores diretamente envolvidos poderão ter acesso aos seus dados. Mesmo que seus resultados sejam usados em publicações científicas, suas informações pessoais nunca serão reveladas.
4. Você terá disponibilidade de assistência no HU ou HCFMUSP, por eventuais danos à saúde, decorrentes da pesquisa.

V - INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

Rômulo Cássio de Moraes Bertuzzi – (11) 3091-8782

Gislaine Cristina de Souza – (41) 99145-4389

Endereço:

Av. Prof. Mello Moraes, 65 – Cidade Universitária
CEP: 05508-030 – São Paulo - SP

VI - OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES

VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Projeto de Pesquisa.

São Paulo, ____ / ____ / ____

assinatura do sujeito da pesquisa
ou responsável legal

assinatura do pesquisador
(carimbo ou nome legível)

ANEXO 1 – LAUDO DA CAFÉINA

 VALDEQUÍMICA Produtos Químicos Ltda. Desde 1972		
CERTIFICADO DE ANÁLISES		PAG.: 1 22/03/2017
PRODUTO: CAFEINA ANIDRA (PORT.PF 1274/2003) FABRICACAO.: 10/05/2016 LOTE FABRICANTE: CA201605024 VALIDADE...: 01/04/2020 LOTE INTERNO...: 031459 PROCEDENCIA: CHINA ORIGEM...: CHINA QTD: 2.000 NOTA FISCAL...: 163478 PESO MOLECULAR: 194.20 FORMULA MOLECULAR: C8H10N4O2 D.C.B...: 01642. - C.A.S.: 58-08-2 CATEGORIA TERAPEUTICA: ESTIMULANTE DO SNC / INT DATA DE ANALISE: 03/02/2017 CLIENTE: DAGFARMA FARMACIA MANIP E HO		
TESTE ✓ CARACTERISTICAS** APARENCIA DA SOLUCAO SUBST FACIL CARBOZINAV OUTROS ALCALOIDES TRICLOROMETANO METAIS PESADOS** SULFATOS IMPUREZAS ORGANICAS** IMPUREZA INDIVIDUAL TOTAL DE IMPUREZAS** PERDA POR DESSECACAO** PONTO DE FUSAO** TEOR BASE SECA** IDENTIFICACAO** RESIDUO DE IGNICAO** SOLUBILIDADE** ACIDEZ** REFERENCIA: BP2015/USP38/**USP39. OF: 20711 DE: 06/02/17 - OF: 20775 DE: 23/02/17 - ARMAZENAGEM...: TEMPERATURA: ARMAZ.: MAX. 30 C ** RESULTADO OBTIDO QUANDO REALIZADO NO LABORATORIO DE CONTROLE DE QUALIDADE VALDEQUIMICA, CONFORME ESPECIFICACAO CONTIDA NO LAUDO, E REFERENCIA FORNECIDA PELO FABRICANTE. AS DEMAIS FORAM TRANSCRITAS CONFORME LAUDO ORIGINAL.	ANALISE PO BRANCO SEDOSO, AGULHAS CIN- TILANTES, INODORO, SABOR AMARGO SCS NEUTRAS AO TORNASSOL LIMPIDA E INCOLOR MAX. FLUID D SEM PPT FORMADO MAX. 60 ppm MAX. 10 ppm MAX. 500 ppm MAX. 0,1% MAX. 0,1% MAX. 0,1% MAX. 0,5% 235 - 239°C 98,5 - 101,0% IR, HPLC MAX. 0.1% FACILMENTE SOLUVEL EM CLORO- FORMIO, LIGEIRAMENTE SOLUVEL EM AGUA E ALCOOL, POUCO SOLU- VEL EM ETER MAX. 0.2 mL NaOH 0.01M	RESULTADO CONFORME CONFORME CONFORME CONFORME NAO DETECTADO <10 ppm <500 ppm <0,1% <0,1% <0,1% 0,01% 237,2°C 100,8% CONFORME 0.07% CONFORME CONFORME
 Juliano Nabas Joaquim Farmacêutico Responsável CRF 26.301		
A assinatura somente será válida quando a mesma estiver acompanhada da nota fiscal. Condições de armazenagem constam no rótulo do insumo. É importante manter este certificado em seus arquivos para eventuais consultas. Dúvidas e informações complementares, contate nosso Departamento Técnico pelo telefone: (11) 3721-6407 www.valdequimica.com.br		

ANEXO 2 – REGISTRO ALIMENTAR

REGISTRO ALIMENTAR					
Nome: _____ Data: ___ / ___ / _____					
Refeição	Horário	Alimentos	Quantidade	Líquidos	Quantidade
Exemplo	07h00	Pão francês Margarina Queijo mussarela	2 unidades pequenas 1 ponta de faca (cheia) 2 fatias médias	Leite desnatado	1 copo de 200 ml
Café da manhã					
Lanche da manhã					
Almoço					
Lanche da tarde					
Jantar					
Lanche da noite					

ANEXO 3 – QUESTIONÁRIO DE CONSUMO HABITUAL DE CAFEÍNA

Por favor, preencha o questionário abaixo a respeito de seu uso frequente de cafeína. Indique o número de vezes que você consome os seguintes produtos **durante uma semana**. Forneça um valor aproximado de acordo com as porções estipuladas para cada grupo de alimentos\produtos.

	MANHÃ	TARDE	NOITE	NOITE
	6h-12h	12h-18h	18h-22h	0h-6h
CAFÉ (Porções de 200 ml = 1 xícara)				
· Em pó				
· Orgânico				
· Espresso				
· Instantâneo				
· Descafeinado				
· Extra-Forte				
· Capuccino (copo pequeno)				
CHÁ (Porções 200 ml = 1 xícara)				
· Chá verde				
· Chá preto				
· Chá Mate				
CHOCOLATE (Barra / semana)				
· Industrializado (branco)				
· Industrializado (ao leite)				
· Cacau 50%				
· Cacau 70%				
· Cacau 80% (caixa de bombom)				
ACHOCOLATADO (Porções de 240 ml = 01 copo americano)				
· Chocolate Amargo				
· Chocolate ao Leite				
· Chocolate branco				

ANEXO 4 – QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA (IPAQ)

QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA -
VERSÃO CURTA -

Nome: _____

Data: ____/____/____ Idade : ____ Sexo: F () M ()

Nós estamos interessados em saber que tipos de atividade física fazem parte do seu dia a dia. Suas respostas nos ajudarão a entender quão ativo você está no momento. As perguntas estão relacionadas ao tempo que você gastou fazendo atividade física na **ÚLTIMA** semana. As perguntas incluem as atividades que você faz no trabalho, para ir de um lugar a outro, por lazer, por esporte, por exercício ou como parte das suas atividades em casa ou no jardim. Suas respostas são **MUITO** importantes. Por favor responda cada questão mesmo que considere que não seja ativo. Obrigado pela sua participação!

Para responder as questões lembre que:

- atividades físicas **VIGOROSAS** são aquelas que precisam de um grande esforço físico e que fazem respirar **MUITO** mais forte que o normal
- atividades físicas **MODERADAS** são aquelas que precisam de algum esforço físico e que fazem respirar **UM POUCO** mais forte que o normal

Para responder as perguntas pense somente nas atividades que você realiza **por pelo menos 10 minutos contínuos** de cada vez.

1a Em quantos dias da última semana você **CAMINHOU** por **pelo menos 10 minutos contínuos** em casa ou no trabalho, como forma de transporte para ir de um lugar para outro, por lazer, por prazer ou como forma de exercício?

dias ____ por **SEMANA** () Nenhum

1b Nos dias em que você caminhou por **pelo menos 10 minutos contínuos** quanto tempo no total você gastou caminhando **por dia**?

horas: ____ Minutos: ____

2a. Em quantos dias da última semana, você realizou atividades **MODERADAS** por **pelo menos 10 minutos contínuos**, como por exemplo pedalar leve na bicicleta, nadar, dançar, fazer ginástica aeróbica leve, jogar vôlei recreativo, carregar pesos leves, fazer serviços domésticos na casa, no quintal ou no jardim como varrer, aspirar, cuidar do jardim, ou qualquer atividade que fez aumentar moderadamente sua respiração ou batimentos do coração (**POR FAVOR NÃO INCLUA CAMINHADA**)

dias ____ por **SEMANA** () Nenhum

2b. Nos dias em que você fez essas atividades moderadas por pelo menos 10 minutos contínuos, quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades por dia?

horas: _____ Minutos: _____

3a Em quantos dias da última semana, você realizou atividades **VIGOROSAS** por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo correr, fazer ginástica aeróbica, jogar futebol, pedalar rápido na bicicleta, jogar basquete, fazer serviços domésticos pesados em casa, no quintal ou cavoucar no jardim, carregar pesos elevados ou qualquer atividade que fez aumentar **MUITO** sua respiração ou batimentos do coração.

dias _____ por **SEMANA** () Nenhum

3b Nos dias em que você fez essas atividades vigorosas por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades por dia?

horas: _____ Minutos: _____

Estas últimas questões são sobre o tempo que você permanece sentado todo dia, no trabalho, na escola ou faculdade, em casa e durante seu tempo livre. Isto inclui o tempo sentado estudando, sentado enquanto descansa, fazendo lição de casa visitando um amigo, lendo, sentado ou deitado assistindo TV. Não inclua o tempo gasto sentado durante o transporte em ônibus, trem, metrô ou carro.

4a. Quanto tempo no total você gasta sentado durante um dia de semana?

_____ horas ____ minutos

4b. Quanto tempo no total você gasta sentado durante em um dia de final de semana?

_____ horas ____ minutos

ANEXO 5 – ESCALA DE PERCEPÇÃO SUBJETIVA DE ESFORÇO

Escala de Borg – Percepção Subjetiva de Esforço (PSE)

- 6**
- 7 muito, muito fraco**
- 8**
- 9 muito fraco**
- 10**
- 11 moderadamente fraco**
- 12**
- 13 um pouco forte**
- 14**
- 15 forte**
- 16**
- 17 muito forte**
- 18**
- 19 muito, muito forte**
- 20**