



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA**

**CURSO DE GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA**

**ANA CRISTINA DE BEM ALVES**

**PADRONIZAÇÃO DOS EFEITOS ERGOGÊNICOS DA CAFEÍNA NO DESEMPENHO  
FÍSICO DE CAMUNDONGOS C57BL6**

Araranguá

2016

**ANA CRISTINA DE BEM ALVES**

**PADRONIZAÇÃO DOS EFEITOS ERGOGÊNICOS DA CAFEÍNA NO DESEMPENHO  
FÍSICO DE CAMUNDONGOS C57BL6**

Monografia apresentada ao curso de Graduação em  
Fisioterapia, da Universidade Federal de Santa Catarina,  
como requisito da disciplina ARA 7491 - Trabalho de  
Conclusão de Curso II.

Orientador: Prof. Dr. Aderbal Silva Aguiar Júnior.

Araranguá

2016

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus porque sem Ele eu nada seria e nada teria. Ao querido professor Aderbal pela paciência, preocupação e dedicação com que me orientou desde que iniciei como sua aluna de iniciação científica há três anos. E à minha família e amigos, que foram minha base para enfrentar as dificuldades e desafios durante a vida acadêmica.

## RESUMO

Introdução: A cafeína é um fármaco largamente usado em todo o mundo principalmente devido a sua ação no sistema nervoso central e periférico, seus efeitos sobre as catecolaminas e no metabolismo energético. Porém os estudos exibidos na literatura ainda apresentam resultados contraditórios, principalmente devido ao efeito placebo, que está ausente nos animais. Este estudo baseou-se na hipótese de que os efeitos da cafeína nos heterodímeros de receptor  $D_2/A_{2A}$  no córtex pré-frontal poderiam ajudar a esclarecer o papel da cafeína na fadiga central, e na melhora do desempenho físico ou atlético. Métodos: A amostra foi constituída de 40 camundongos C57BL6 machos com 60 dias de idade, divididos randomicamente em 2 grupos (salina e cafeína 6 mg/kg, i.p.). Os testes escolhidos para a coleta de dados foram a tarefa de Campo Aberto e o teste Incremental de Esforço em Esteira Ergométrica, além disso, foram analisadas as concentrações plasmáticas de lactato durante o desempenho físico máximo no teste de esteira. Resultados: O grupo cafeína obteve resultados superiores aos do grupo salina no teste de esforço e na tarefa do campo aberto ( $p < 0.05$ ), e a concentração de lactato sanguíneo também se mostrou significativamente maior no grupo cafeína quando comparada ao grupo salina ( $p < 0.05$ ). Conclusão: Nossos resultados reforçam o potencial efeito ergogênico e psicoestimulante da cafeína.

Palavras-chave: Cafeína. Exercício. Recursos Ergogênicos.

## ABSTRACT

**Introduction:** Caffeine is a widely used pharmacological substance, best known due its actions in the central and peripheral nervous system and its effects on catecholamine and energetic metabolism. However the results found in the literature still suggest conflicting data. This project was based on the idea that the caffeine effects on the  $D_2/A_{2A}$  receptor in the prefrontal cortex could aid to clarify the caffeine role in the central fatigue, and enhances physical or athletic performance. **Methods:** The experimental sample was consisted of 40 male mice (C57BL6), 60 days old, which were randomly divided into 2 groups (saline and caffeine 6mg/kg, i.p.). The chosen tests for the data collection were the Open Field Test and the Incremental Effort Test, moreover, lactate plasma concentration during maximal physical performance was also analyzed. **Results:** Caffeine group showed better results than saline group in the Incremental Effort and Open Field Tests ( $p < 0.05$ ), and lactate plasma concentration was also significant superior in the caffeine group when compared to saline group ( $p < 0.05$ ). **Conclusion:** Our results confirm the ergogenic and psychostimulant caffeine effects.

**Key-words:** Caffeine. Exercise. Ergogenic Aids.

## LISTA DE SIGLAS

AMPC	Adenosina Monofosfato Cíclico
ATP	Trifosfato de Adenosina
CCB	Centro de Ciências Biológicas
DA	Dopamina
EPM	Erro Padrão da Média
GABA	Ácido Gama-Aminobutírico
GMPC	Monofosfato cíclico de guanosina
GTP	Guanosina Trifosfato ou Trifosfato de Guanosina
NO	Óxido Nítrico
PDE	Fosfodiesterase
PRB	Receptor Benzodiazepínico Periférico
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Sistema Nervoso Periférico
TSPO	Proteína Translocadora 18
$\dot{V}O_2$ máx	Volume de Oxigênio Máximo
WADA	Agencia Mundial Antidoping

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
	1.1 Farmacologia da Cafeína.....	2
	1.2 Antagonismo dos Receptores de Adenosina.....	2
	1.3 Mobilização do Cálcio Intracelular.....	3
	1.4 Inibição das Fosfodiesterases.....	4
	1.5 Interação com sítios de ligação de Benzodiazepínicos.....	5
	1.6 Ação da Cafeína sobre Catecolaminas.....	5
	1.7 Ação da Cafeína sobre o fluxo sanguíneo e metabolismo energético cerebral.....	7
	<b>1.8 Ação da Cafeína no comportamento motor e desempenho físico.....</b>	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>9</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>9</b>
	3.1 Objetivo Geral.....	9
	3.2 Objetivos Específicos.....	9
<b>4</b>	<b>METÓDOS.....</b>	<b>10</b>
	4.1 Animais.....	10
	4.2 Tarefa do Campo Aberto.....	10
	4.3 Teste de Carga Incremental.....	10
	4.4 Lactato.....	11
	4.5 Análise Estatística.....	12
<b>5</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>12</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>14</b>
	11.1. Efeitos Psicoestimulantes da Cafeína.....	14
	11.2. Efeitos Ergogênicos da Cafeína.....	15
	11.3. Efeitos Metabólicos da Cafeína.....	15
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>16</b>
<b>8</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>17</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A cafeína é um dos fármacos mais consumidos no mundo e pode ser encontrado em produtos como o café, chá, bebidas energéticas, refrigerantes, chocolates, suplementos energéticos e diversas medicações legais (QUINLAN et al., 2000), como analgésicos ou supressores de apetite (GILES et al., 2012).

Vários estudos destacam que a cafeína está relacionada a um aumento no desempenho físico e esportivo em humanos através de sua ação sobre o sistema nervoso central (SNC), sistema nervoso periférico (SNP) e da sua ação moduladora sobre a função cardiovascular (MORA-RODRIGUEZ et al., 2012; NOTARIUS et al., 2006; SENCHINA et al., 2014). A cafeína atua através de diversos mecanismos como o antagonismo dos receptores  $A_1$  e  $A_{2A}$  de adenosina, maior mobilização de cálcio intracelular, inibição da fosfodiesterase e potenciação da sinalização AMPc (adenosina monofosfato cíclico), aumento da atividade da bomba de sódio potássio ATPase muscular, aumento da glicogênese muscular, estimulação da lipólise e da oxidação de ácidos graxos, aumento na secreção de beta endorfinas e catecolaminas, aumento na velocidade de condução nervosa e no recrutamento de unidades motoras (CHURCH et al., 2015; LORIST, TOPS, 2003; SCHUBERT et al., 2014).

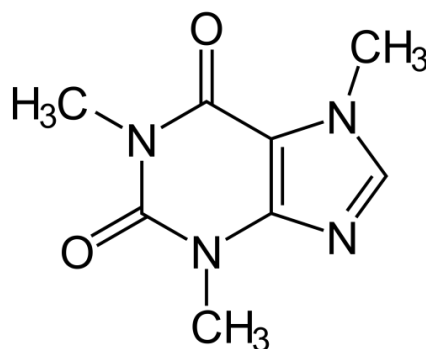
O consumo regular de cafeína também está associado a um aumento no estado de alerta, energia, humor e na diminuição da percepção de esforço e fadiga (ROGERS, DERNONCOURT, 1998; SCHUBERT et al., 2014), provavelmente envolvendo modificação na atividade do córtex pré-frontal que influencia fortemente estas funções neurológicas. Nesse sentido, pesquisas têm demonstrado os efeitos psicotrópicos da cafeína com relação ao sono, vigília, ansiedade e depressão (MOTL, DISHMAN, 2004; REYNER, HORNE, 2013). Além disso, a sua habilidade de prevenir prejuízos na memória tem sido descrita tanto em humanos quanto em modelos animais (CAROLA et al., 2004; CHU et al., 2012; LOVALLO, 2006).

Contudo, embora a cafeína seja popular e extensamente consumida como auxiliar ergogênico a fim de aumentar o desempenho físico e cognitivo, os estudos encontrados ainda são inconsistentes ou contraditórios (AN et al., 2014; LAURENT et al., 2014; SMITH, 2002; SPRIET, 2014; ZEITLIN et al., 2011).



## 1.1 Farmacologia da Cafeína

A cafeína (1,3,7-trimetilxantina) é uma purina alcalóide da classe das xantinas, com propriedades lipofílicas e hidrofílicas. Sua molécula (Figura 1) contém três receptores de prótons, três grupos metil e não possui grupos doadores de prótons. Ela é rapidamente distribuída pelo corpo após absorção, principalmente pelo sistema gastrointestinal, atingindo picos plasmáticos após 15-120 minutos, com meia vida de aproximadamente 5-6 horas. Devido a sua característica lipofílica, a cafeína atravessa a barreira hematoencefálica e também a placentária, e é metabolizada pelo fígado em paraxantina, teofilina e teobromina (TURNBULL et al., 2016; ZERAATPISHE et al., 2015).



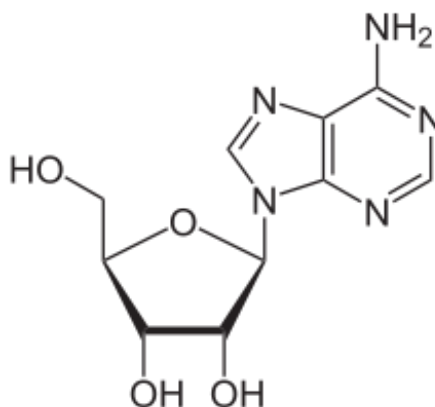
**Figura 1 – Molécula de cafeína. Disponível em <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2011.00116/full>**

## 1.2 Antagonismo dos receptores de Adenosina

Diferentes mecanismos têm sido propostos para explicar o efeito ergogênico da cafeína. A literatura destaca a capacidade da cafeína competir com a adenosina nos receptores adenosinérgicos (NEHLIG et al., 1992). A adenosina é um constituinte celular normal regulada principalmente pelo metabolismo do ATP (adenosina trifosfato) e outros nucleotídeos de adenosina. As concentrações de adenosina aumentam no músculo e plasma durante a contração muscular (durante exercício físico) e também aumentam no cérebro durante a vigília, conseqüentemente diminuindo durante o sono (NEHLIG et al., 1992).

Fisiologicamente, a adenosina desempenha papel importante na regulação do fluxo sanguíneo e como modulador inibitório da excitabilidade neuronal e transmissão sináptica no cérebro via ativação de receptores de adenosina, os quais incluem: receptores tipo A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> e A<sub>3</sub>. Ao contrário da cafeína, a adenosina inibe a liberação da maioria dos neurotransmissores excitatórios cerebrais, especialmente a dopamina (DA), tendo repercussões na redução na excitação, aumento do sono e supressão da atividade comportamental espontânea (NEHLIG et al., 1992; YACOUBI et al., 2000).

A estrutura molecular da cafeína (figura 1) é semelhante à da adenosina (Figura 2), assim, a cafeína pode bloquear os receptores pré e pós sinápticos de adenosina (principalmente receptores de subtipo A<sub>1</sub> e A<sub>2</sub>), e conseqüentemente inibindo a sua ação. Portanto, os efeitos do bloqueio desses receptores incluem o aumento na excitabilidade corticomotora e alteração na liberação de neurotransmissores (NEHLIG et al., 1992).



**Figura 2 – Molécula de adenosina. Disponível em <http://epharmnutrition.com/pumpspray-8oz.html>**

### 1.3 Mobilização do Cálcio intracelular

A Cafeína diminui o limite de excitabilidade e prolonga a duração do período ativo da contração muscular por aumentar a sinalização do cálcio intracelular (NEHLIG et al., 1992).

A transmissão sináptica no SNC e SNP requer a liberação controlada de neurotransmissores, que depende do influxo de cálcio para os terminais nervosos. Neste sentido, estudos têm demonstrado que a cafeína pode aumentar a liberação, permeabilidade e sensibilidade ao cálcio, assim como inibir sua captação (BEHRENS et al., 2015; NEHLIG et al., 1992; SILVA-CAVALCANTE et al., 2013). Através desse mecanismo, a cafeína pode aumentar a força contrátil durante contrações máximas e submáximas. Portanto, os efeitos ergogênicos da

caféina são também devido a sua atuação no sistema neuromuscular e no aumento da força contrátil muscular (PESTA et al., 2013; RUIZ et al., 2014).

#### 1.4 Inibição das Fosfodiesterases

As fosfodiesterases (PDE) são enzimas que hidrolisam a ligação fosfodiéster do segundo mensageiro AMPc, que está envolvido na regulação do metabolismo da glicose e lipídeos (NEHLIG et al, 1992).

A cafeína atua através da inibição não seletiva das enzimas fosfodiesterases, o que diminui a degradação do AMPc (Figura 3) e aumenta a concentração plasmática de catecolaminas, consequentemente prolongando a lipólise e a glicólise e, aumentando assim, a disponibilidade de energia para o músculo ativo durante exercício (DEL COSO et al, 2012; SANTOS et al, 2014).

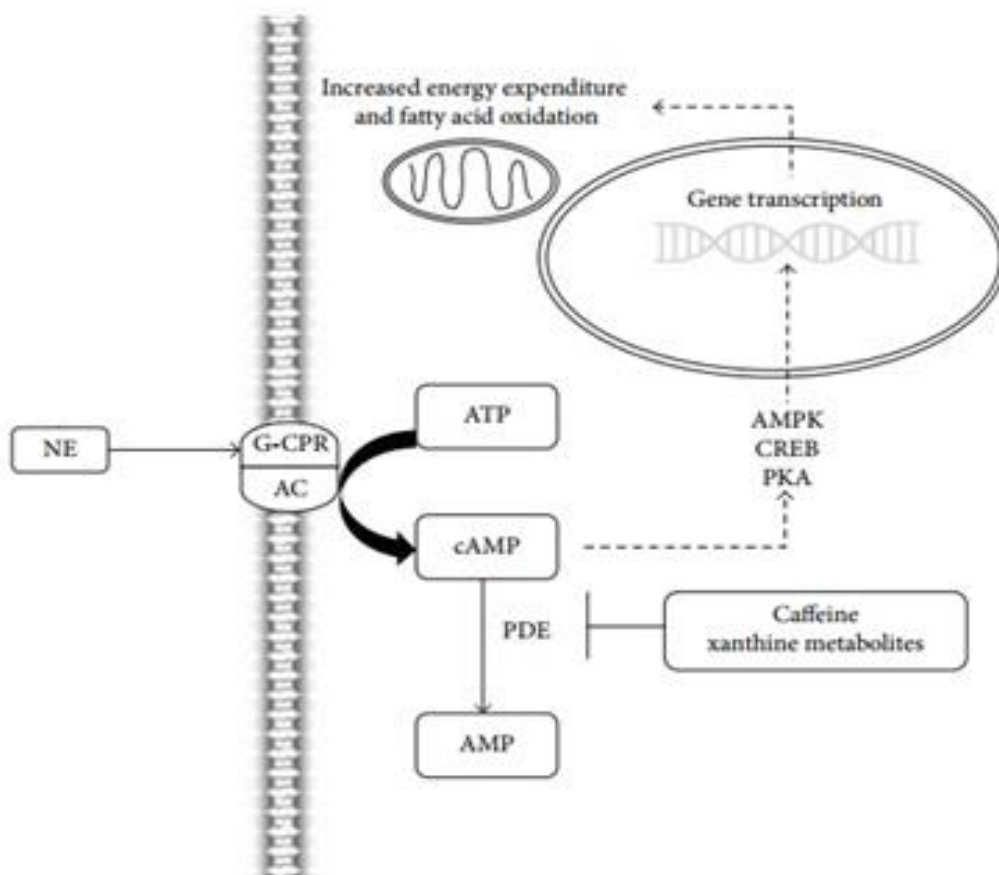


Figura 3 – Inibição da PDE pela cafeína, e diminuição da degradação do AMPc. Disponível em [http://dabiochemistry.blogspot.com.br/2014\\_05\\_01\\_archive.html](http://dabiochemistry.blogspot.com.br/2014_05_01_archive.html)

### 1.5 Interação com Sítios de Ligação de Benzodiazepínicos

A proteína translocadora transmembrana (TSPO) foi identificada primeiramente como uma proteína de ligação do *Diazepam* e vem sendo estudada há muito tempo através de seu nome antigo, receptor benzodiazepínico do tipo periférico (PRB). A caracterização bioquímica da proteína TSPO demonstrou predominância da mesma na mitocôndria, com localização específica na membrana externa. A função precisa da TSPO continua desconhecida, porém estudos experimentais têm demonstrado seu envolvimento na proliferação celular, apoptose, respiração celular, síntese do grupo heme, eritropoiese, fluxo de cálcio, imunidade celular, resposta ao estresse, fotossensibilidade, malignidade, e biossíntese de hormônios esteroides (DRAGICEVIC et al., 2012; MOROHAKU, SELVARAJ, 2013; NEHLIG et al., 1992). Sendo assim, autores têm sugerido a mitocôndria como um potencial alvo terapêutico para diversas doenças (DRAGICEVIC et al., 2012; VLODAVSKY et al., 2014).

Em adição, sabe-se que benzodiazepínicos atuam primariamente no SNC alterando a função dos receptores de GABA (Ácido Gama-Aminobutírico). A cafeína também se liga fracamente ao sítio benzodiazepínico dos receptores GABA. Esta ligação tem sido sugerida como um possível mecanismo de ação das metilxantinas, pois a cafeína antagoniza ou modifica os efeitos de benzodiazepínicos no comportamento motor animal e humano. Entretanto, embora a interação entre a cafeína e esses receptores tenha sido demonstrada, resultados de estudos sobre essa relação são escassos. Aparentemente a cafeína parece alterar a função do canal de cloro associado aos receptores benzodiazepínicos (DRAGICEVIC et al., 2012; VLODAVSKY et al., 2014).

### 1.6 Ação da Cafeína sobre Catecolaminas

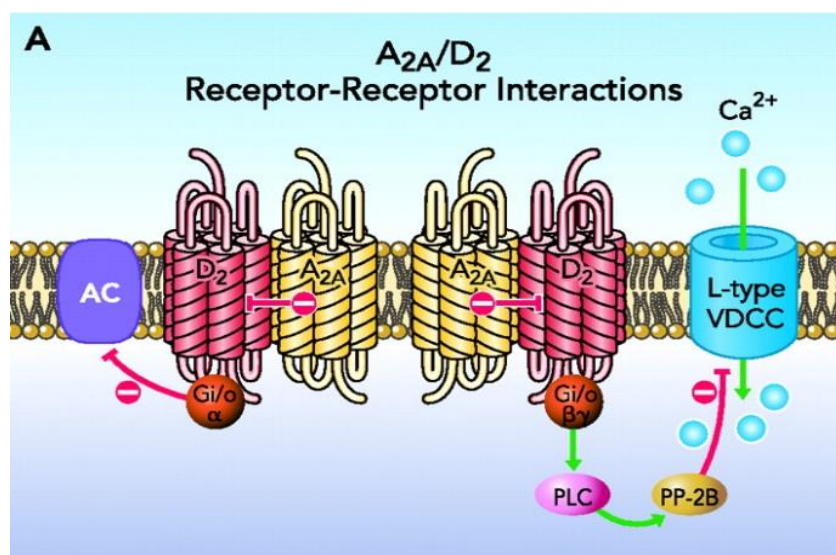
Pouco se sabe até o momento sobre as concentrações de cafeína necessárias para induzir mudanças no metabolismo e função de neurotransmissores. Porém, o papel primário da adenosina no SNC parece ser inibir a liberação de vários neurotransmissores, possivelmente glutamato em particular, através de receptores pré-sinápticos. Portanto antagonistas de adenosina, como a cafeína, poderiam elevar a liberação de neurotransmissores (ZHENG et al., 2014).

Estudos prévios desenvolvidos com roedores demonstram que a cafeína aumenta a concentração e a utilização cerebral de noradrenalina, dopamina e serotonina, especialmente em algumas estruturas pertencentes ao sistema límbico, tendo repercussões nos mecanismos de sono,

função motora, e regulação funcional dos vasos cerebrais (HEREDIA et al., 2014; OHL, 2003; ZHENG, 2014).

A cafeína e seu metabólito teofilina aumentam a síntese e ativação da noradrenalina. Elas aumentam a atividade elétrica espontânea dos neurônios contendo noradrenalina, induzindo ao aumento na síntese e ativação da monoamina (NEHLIG et al., 1992).

Outros estudos têm demonstrado que a cafeína afeta a liberação local de dopamina (DA). A locomoção é primeiramente controlada pelo estriado ventral através da ativação de receptores de dopamina D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub>, sendo que a ativação de receptores D<sub>2</sub> pós-sinápticos está ligada ao aumento da locomoção (MISSALE et al., 1998; NEHLIG et al., 1992). Nesse sentido, através da inibição dos receptores heterodímeros de Adenosina A<sub>2A</sub> pela cafeína, a transmissão via receptores D<sub>2</sub> é aumentada (Figura 4), e consequentes efeitos comportamentais são esperados (BALL, POPLAWSKY, 2011; GULICK, GOULD, 2009).



**Figura 4 – Receptores Heterodímeros A<sub>2A</sub> e D<sub>2</sub>. Disponível em <<http://physiologyonline.physiology.org/content/23/6/322>>**

A fadiga central, comum em diversas doenças como doença de Parkinson, síndrome da fadiga crônica, depressão atípica ou esclerose múltipla, tem sido relacionada ao funcionamento dopaminérgico prejudicado nas fibras estriado-cortico-talâmicas (DAVIS et al., 2002; LORIST, TOPS, 2003). Assim, os efeitos da cafeína podem estar relacionados à sua ação estimulante na

atividade motora. Ambas, dopamina e noradrenalina são necessárias para manifestação da estimulação motora induzida pela cafeína (CECHELLA, 2014; YACOUBI et al., 2000).

### 1.7 Ação da Cafeína sobre o fluxo sanguíneo e metabolismo energético cerebral

Metilxantinas, como a cafeína causam vasoconstricção no SNC através do aumento da resistência dos vasos, e conseqüentemente, contribuem para uma redução no fluxo sanguíneo cerebral. Essas propriedades vasoconstritoras têm sido demonstradas em humanos e modelos animais (HIGGINS et al., 2013; NOTARIUS et al., 2006; REZAIMANESH et al., 2011). A cafeína induz diminuição no fluxo sanguíneo cerebral local, principalmente em agrupamentos de células monoaminérgicas no sistema límbico e no tálamo. Além disso, quando a cafeína é absorvida no corpo, ela estimula o SNC, resultando na elevação das catecolaminas plasmáticas, que permitem ao corpo se adaptar ao estresse criado pelo exercício físico (GLADE, 2010; MEJIA, RAMIREZ-MARES, 2014).

Embora na maioria das situações o fluxo sanguíneo cerebral e a utilização de glicose estejam intimamente interligados em todas as regiões cerebrais, a cafeína desempenha o papel inverso, ela possui a propriedade de diminuir o fluxo sanguíneo cerebral ao mesmo tempo em que aumenta a utilização de glicose (TSUDA et al., 2015). Embora esse mecanismo seja ainda pouco compreendido, a adenosina, a qual as metilxantinas competem, é conhecida como sendo um dos moduladores na regulação da relação entre fluxo sanguíneo e metabolismo energético no SNC (GONZALEZ et al., 2015; YACOUBI et al., 2000), portanto o antagonismo dos receptores de adenosina pela cafeína pode estar envolvido nesse mecanismo inverso. Além disso, Higgins et al. (2013) relataram que a ingestão de cafeína inibe a enzima guanilato ciclase, com subsequente supressão da conversão de trifosfato de guanossina (GTP) em monofosfato cíclico de guanossina (GMPc). O GMPc atua como um segundo mensageiro do sistema L-arginina/óxido nítrico. Conseqüentemente, uma diminuição nas concentrações de GMPc poderia levar a um prejuízo dos efeitos mediados pelo óxido nítrico. O GMPc leva a um relaxamento dos músculos lisos dos vasos sanguíneos, que pode levar a uma vasodilatação e aumento do fluxo sanguíneo. Sendo assim, a cafeína pode prevenir a vasodilatação através do bloqueio da formação do monofosfato cíclico de guanossina (HIGGINS et al., 2013).

## 1.8 Ação da Cafeína no comportamento motor e desempenho físico

Desde sua exclusão da lista de substâncias proibidas pela Agência Mundial Antidoping (WADA) em 2004, a cafeína tem sido consumida regularmente por atletas e praticantes de atividades físicas, e seu efeito sobre o desempenho humano apresenta-se como uma variável bastante estudada (GILES et al., 2012; MOTL et al., 2003; MOHR et al., 2011; PELTIER et al., 2011). Bebidas comuns no esporte incluem carboidratos e eletrólitos como os ingredientes primários. Porém, recentemente, as indústrias têm começado a fornecer uma variedade de suplementos à base de cafeína (DEL COSO et al., 2012; KENDALL et al., 2014; SCHUBERT et al., 2013; SPRADLEY et al., 2012).

Embora a cafeína afete simultaneamente diversos sistemas, evidências sugerem que o efeito da cafeína durante exercícios de resistência é devido às suas ações no SNC, diminuindo o esforço percebido, a dor muscular, sintomas de fadiga e aumentando o vigor (ASTORINO et al., 2012; GANIO et al., 2011; RICHARDSON et al., 1995). A melhora no desempenho durante o exercício físico aeróbico tem sido atribuída a estimulação de lipólise pela cafeína. A hidrólise de triglicerídeos no tecido adiposo aumenta a concentração sanguínea de ácidos graxos, que por sua vez são altamente utilizados pelo músculo durante o esforço, economizando assim o glicogênio. Este mecanismo é importante porque a depleção do glicogênio muscular pode ser o responsável pela fadiga observada durante e após o exercício físico (NEHLIG et al., 1992). A resposta de lactato sanguíneo durante o exercício é reconhecida como um preditor melhor do desempenho de resistência do que o  $\dot{V}O_2$  máx. (OLCINA et al., 2008). Além disso, a resposta de lactato é uma ferramenta largamente usada para estimar as respostas metabólicas à intensidades do exercício submáximo (BORTOLOTTI et al., 2014; SILVA-CAVALCANTE et al., 2013)

Entre as respostas fisiológicas ao exercício induzidas pela cafeína ressalta-se o aumento no débito cardíaco, a duplicação nos níveis de catecolaminas, aumento na concentração sanguínea de lactato e aumento de ácidos graxos livres sanguíneos (CRUZ et al., 2015; WILES et al., 1992). Estudos realizados em camundongos têm evidenciado uma diminuição significativa em todas as formas de produção de óxido nítrico (NO) no músculo esquelético após a administração da cafeína, os quais demonstram que a cafeína pode modular a síntese de NO nas células (ABREU et al., 2011; BARCELOS et al., 2014). O metabolismo oxidativo é importante para a provisão de energia em músculos ativos. Já que a combustão de carboidratos tem sido sugerida como decisiva na tolerância ao exercício, um gasto nas reservas endógenas de carboidratos por

uma aumentada oxidação de ácidos graxos pode ajudar a explicar os efeitos ergogênicos da cafeína na tolerância ao exercício (RATAMESS et al., 2015; ZERAATPISHE et al., 2015).

## **2 JUSTIFICATIVA**

Este projeto de pesquisa referente ao Trabalho de Conclusão do Curso II de Fisioterapia da Universidade Federal de Santa Catarina foi elaborado com o propósito de elucidar os mecanismos e alterações comportamentais causados pela cafeína no desempenho físico de camundongos.

Apesar de existirem diversos estudos abordando os efeitos da cafeína sobre o comportamento motor e sobre o exercício físico, os resultados descritos na literatura ainda apresentam contradições quanto aos mecanismos ergogênicos da cafeína no exercício físico. Nesse sentido, pensamos que os efeitos da cafeína nos receptores heterodímeros  $D_2/A_{2A}$  do córtex pré-frontal pode ajudar a esclarecer o papel da cafeína na fadiga central e na melhora do desempenho físico ou atlético. Sendo assim, espera-se que este estudo possa auxiliar na elucidação das alterações induzidas pela cafeína no desempenho físico de camundongos após a administração da mesma. Um aspecto importante deste desenho experimental é a ausência de efeito placebo nos animais, responsável por aproximadamente 30% do efeito da maioria dos recursos ergogênicos atuais.

## **3 OBJETIVOS**

### **3.1 Objetivo Geral**

Estudar os efeitos da cafeína no comportamento motor e desempenho físico em camundongos C57BL6.

### **3.2 Objetivos Específicos**

Estudar os efeitos da cafeína:

- No comportamento motor de camundongos através da tarefa do campo aberto.
- No desempenho físico de camundongos através do teste incremental de esforço em esteira ergométrica.
- Na concentração plasmática de lactato durante o desempenho físico máximo no teste de esteira.



## 4 MÉTODOS

### 4.1 Animais

Todos os procedimentos envolvendo os animais foram conduzidos conforme o Comitê de Ética em Pesquisa com uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Santa Catarina, sob o protocolo nº 1958010616. A amostra foi constituída de 40 camundongos C57BL6 machos com 60 dias de idade, com massa corporal de  $26,9 \pm 0,2$  gramas, provenientes da colônia de animais do Biotério de Neuroquímica/CCB/UFSC. Durante todo o processo da pesquisa os animais foram alimentados com ração comercial para roedores e com água *ad libitum*, em sala com ciclo claro/escuro das 07h às 19h, com temperatura controlada de  $21 \pm 1^\circ\text{C}$ . A solução salina (NaCl 0,9%) foi utilizada como veículo da cafeína, e como tratamento do grupo controle. Todas as injeções foram realizadas em dose única no volume de 10 mL/kg de massa corporal, 30 minutos antes dos testes de Campo Aberto e Incremental de Força. Os animais foram divididos randomicamente em 2 grupos (n=10/grupo). Sendo estes:

Grupo 1 (controle) – salina 10 mL/kg (intraperitoneal).

Grupo 2 (experimental) – cafeína 6 mg/kg, i.p. (Intraperitoneal).

### 4.2 Tarefa do Campo Aberto

O campo aberto foi empregado para avaliar a exploração e a atividade locomotora dos animais. Este é um teste baseado na espontaneidade, que permite ao animal exibir uma ampla variedade de comportamentos. A tendência do camundongo de evitar a área central é um indicador dos níveis de ansiedade, sob a afirmação de que a área central é mais ameaçadora para roedores quando comparada à área periférica.

Os animais foram colocados, um de cada vez, no centro de uma arena circular, em uma sala de iluminação escura. A duração do teste foi de 10 minutos para cada animal e os deslocamentos central e periférico dos camundongos foram gravados em vídeo. Foram analisados através da plataforma ANY-maze: a distância percorrida (m), número de levantamentos, velocidade máxima e média (m/min) e tigmotaxia.

### 4.3 Teste de Carga Incremental

Os animais foram adaptados em uma esteira ergométrica durante 5 dias, 10 min por dia a 3m/min. O teste incremental de carga foi realizado com uma intensidade inicial de 6 m/min, 6%

de inclinação e com incrementos crescentes de 3m/min a cada 3 min até a exaustão voluntária do animal.

**Quadro 1 – Tabela de dados do Teste de Carga Incremental**

Estágio	Tempo (min)	Velocidade		Inclinação (%)
		Km/h	M/min	
1	0	1,0	16	2
2	3	1,2	20	2
3	6	1,4	23	2
4	9	1,6	26,6	2
5	12	1,8	30	2
6	15	2,0	33	2
7	18	2,2	36,6	2
8	21	2,4	40	2
9	24	2,6	43	2
10	27	2,8	46	2
11	30	3,0	50	2
12	33	3,2	53	2

O trabalho vertical foi estimado através equação matemática considerando a massa corporal dos animais (kg), a aceleração da gravidade ( $9,81 \text{ m/s}^2$ ), a velocidade da esteira (m/s), o tempo em cada estágio (min) e a inclinação (%) da esteira (GREEN, 1995; NEDER; NERY, 2003): O resultado foi expresso em N.m ou Joules.

$$W = (P \times 9,81) \times V \times T \times I.$$

#### 4.3 Lactato

Após atingir a exaustão, o animal foi retirado do teste e 25  $\mu\text{L}$  de sangue foram coletados para análise das concentrações de lactato através de um pequeno corte na porção distal da cauda do animal, empregando para isso um capilar heparinizado. Esta alíquota de sangue foi armazenada em tubos plásticos contendo 50  $\mu\text{L}$  de fluoreto de sódio 1%, e o lactato foi mensurado em analisador específico YSI 2700 (YSI 2700, Yellow Springs, CA, USA).

#### 4.4 Análise Estatística

Os resultados foram expressos em média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Para observar diferenças entre grupos no teste ergométrico foi utilizado o teste de Log-rank (Mantel-Cox). Os resultados do campo aberto e lactato foram comparados através do teste-t de *Student*. As análises estatísticas e gráficos foram realizadas através do programa GraphPad Prisma 5®. As diferenças entre grupos foram consideradas significativas quando  $P \leq 0,05$  (IC=95%).

## 5 RESULTADOS

O presente estudo foi realizado com amostra de 40 camundongos C57BL6, machos, de 60 dias de idade, com massa corporal de  $26,9 \pm 0,2$  gramas. Os animais foram divididos randomicamente em dois grupos distintos (controle e experimental) e submetidos à tarefa do Campo Aberto, ao teste Incremental de Esforço em esteira ergométrica e a concentração plasmática de lactato durante o teste Incremental foi analisada para correlação de dados metabólicos.

Na tarefa do campo aberto houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo cafeína e o grupo salina (teste t student:  $8.5\% = 0.02$ ,  $p < 0.05$ ). Sendo que o grupo cafeína percorreu cerca de 70 metros, enquanto que o grupo salina percorreu aproximadamente 58 metros (Fig.5).

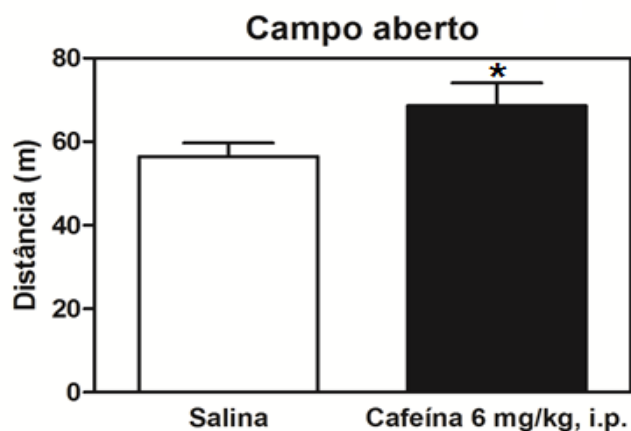


Figura 5. Tarefa do campo aberto

O teste de carga incremental também mostrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos (Log-rank/Mantel-Cox test:  $P = 0,0045$ ,  $p < 0.05$ ). O grupo cafeína alcançou 100%

de sucesso na velocidade até 50 m/min. Enquanto que o grupo salina obteve sua melhor porcentagem (98%) apenas em uma velocidade de 32 m/min, observando-se decréscimo em seu sucesso após aumento da velocidade (Fig.6).

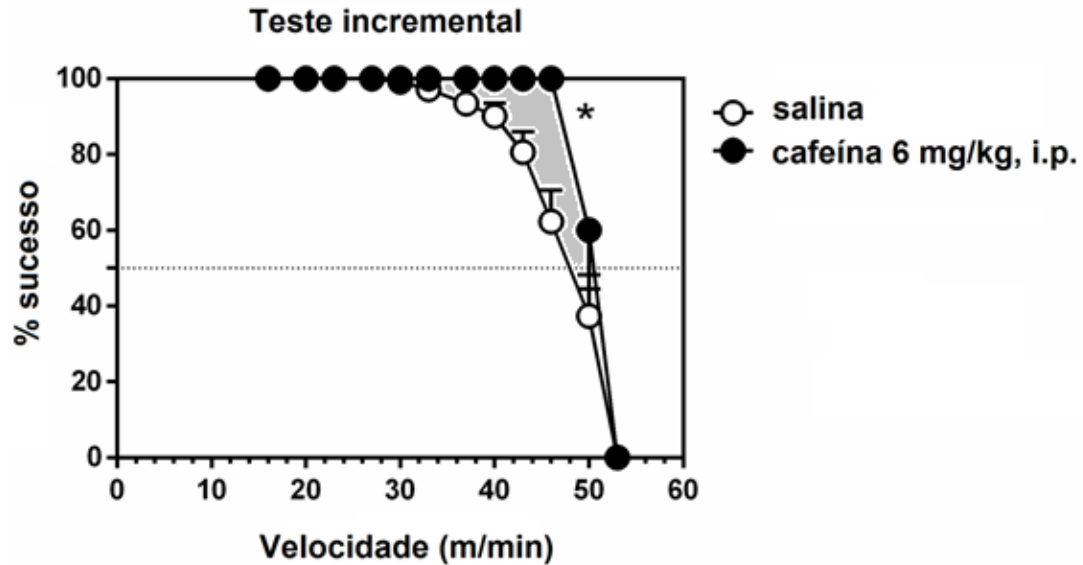
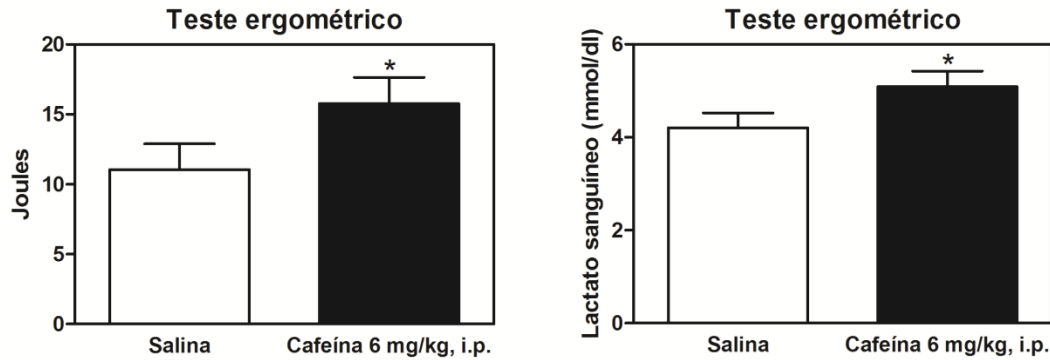


Figura 6. Teste de carga incremental

Houve diferença estatisticamente significativamente também quanto à potência durante o teste ergométrico. O grupo cafeína atingiu cerca de 16 Joules, enquanto que o grupo salina atingiu cerca de 11 Joules (teste t de student:  $8,5\% = 0,04$ ,  $p < 0,05$ ). Com relação à concentração de lactato após exaustão, o grupo cafeína obteve uma média de 5 mmol/dl, enquanto que o grupo salina obteve uma média de 4 mmol/dl (teste t de student:  $8,5\% = 0,03$ ,  $p < 0,05$ ), apresentando deste modo, diferença estatisticamente significativa (Fig.7 e Fig.8). Esses resultados refletem o melhor desempenho físico dos animais tratados com cafeína, que apresentaram maior potência de corrida no teste de esteira, acompanhada das maiores concentrações plasmáticas de lactato, um indicador da intensidade do exercício.



Figuras 7 e 8. Teste ergométrico comparando energia de trabalho e concentração de lactato sanguíneo

## 6 DISCUSSÃO

Nosso estudo foi desenhado com o objetivo de elucidar os mecanismos ergogênicos e psicoestimulantes da cafeína no exercício físico. Mecanismos estes, ainda contraditórios na literatura atual, já que os efeitos psicoativos desse estimulante variam de acordo com as doses administradas, das medidas de regularidade e do tempo de consumo (BACKHOUSE et al., 2011; FUKUDA et al., 2010; SCHRADER et al., 2013; PITCHFORD et al., 2014).

### 11.1. Efeitos psicoestimulantes da cafeína

Em nosso estudo, o grupo experimental recebeu administração via intraperitoneal de 6 mg de cafeína por kg. Sendo que o grupo cafeína percorreu cerca de 12 metros a mais que o grupo salina durante a tarefa do campo aberto (Fig.5) demonstrando assim o efeito psicoestimulante da cafeína (Fig. 5). Segundo Takeda et al. (2002), a cafeína possui uma atividade ansiolítica que pode ser observada através da diminuição do tempo de imobilização e “freezing” do animal na tarefa do campo aberto. Resultados semelhantes foram observados por Sweeney et al. (2016), que relatou a diminuição nos níveis de ansiedade durante as explorações de campo aberto, após administração de cafeína em doses de 6 mg/kg, 12 mg/kg, e 24 mg/kg em camundongos transgênicos.

Por outro lado, estudos realizados por El Yacoubi et al. (2000) e Noschang et al. (2009) demonstraram através do teste do labirinto elevado, da caixa escura e clara e da tarefa do campo aberto, que a administração aguda e crônica de cafeína induziu ansiedade em camundongos adultos. Devidos aos dados conflitantes existentes na literatura, alguns autores têm sugerido que

os efeitos contraditórios da cafeína sobre o SNC estejam relacionados ao fato de que esta pode atuar através de receptores distintos (CUNHA et al., 2008).

### **11.2. Efeitos ergogênicos da cafeína**

Hughes & Hancock (2016) realizaram um estudo sobre o comportamento ansioso de ratos da espécie Wistar, Long-Evans e Piebald Virol Glaxo com doses agudas de cafeína (2 ml/kg). Estes autores relataram que em todas as espécies, o grupo cafeína percorreu distâncias maiores que a do grupo salina no teste de esteira. Em nosso estudo, obtivemos resultado semelhante, uma vez que o grupo cafeína também obteve resultados superiores aos do grupo salina no teste de carga incremental ( $p < 0.05$ ). Evidenciando-se, assim, o efeito ergogênico da cafeína (Fig. 6 e 7).

No contexto de desempenho atlético em humanos, Hadjicharalambous et al. (2006), relataram que indivíduos que consumiram cafeína percebiam o exercício como menos extenuante do que os indivíduos que não consumiram cafeína. Soto et al. (2015), também mostrou em seu estudo que a utilização da cafeína como auxiliar ergogênico, em doses de 3mg/kg, aumentou significativamente o tempo limite para velocidade aeróbica máxima até a fadiga. E que este efeito estava relacionado à melhora no rendimento dos atletas.

### **11.3. Efeitos metabólicos da cafeína**

Um efeito bastante contraditório na literatura sobre a suplementação com cafeína diz respeito ao aumento nas concentrações de lactato sanguíneo durante o exercício (GRAHAM, 2001). O efeito é confuso porque embora o aumento no lactato possa ser explicado pela melhora no desempenho induzida pela cafeína (BLACK et al., 2015; BRIDGE, JONES, 2006; BRUCE et al., 2000; GLAISTER et al., 2015; JENKINS et al., 2008; KOVACS et al., 1998, STADHEIM et al., 2013; STADHEIM et al., 2014), isto nem sempre é o que acontece (SKINNER et al., 2010). Além disso, enquanto alguns estudos relatam que não houve efeito da cafeína sobre as concentrações de lactato sanguíneo durante o exercício submáximo (ACKER-HEWITT et al., 2012; ANDERSON et al., 2000; JACOBSON et al., 2001; SIMMONDS et al., 2010; STADHEIM et al., 2013; STADHEIM et al., 2014; TARNOPOLSKY et al., 1989; WILES et al., 1992), outros observaram um aumento significante (BLACK et al., 2015; GRAHAM, 2001; HODGSON et al., 2013; JENKINS et al., 2008).

Assim como em nosso estudo (Fig.8), resultados mostrados por outros autores também indicam que a cafeína é capaz de aumentar significativamente os níveis de lactato no sangue (ANSELME et al., 1992; DOHERTY et al., 2004). Dias et al. (2015) e Lopes et al. (2014) relataram que o rendimento atlético de seus voluntários aumentou após a ingestão moderada de cafeína, e que esta melhora estava relacionada à elevação na concentração de lactato sanguíneo. Tauler et al. (2013), acredita que o aumento na concentração plasmática de lactato está relacionada ao aumento da adrenalina induzida pela cafeína. Semelhantemente, Lopes et al. (2014) defendem que o aumento na concentração de lactato sanguíneo induzida pela cafeína é devido à uma diminuição na remoção do mesmo pela gliconeogênese durante o exercício. Um mecanismo oposto ao da adenosina, que estimula a gliconeogênese em modelos animais (MARRIOTT, KRUSTRUP, MOHR, 2015; TAULER et al., 2013).

Além disso, Higgins et al. (2013) relataram que a ingestão de cafeína inibe a enzima guanilato ciclase, com subsequente supressão da conversão de GTP em GMPc, que atua como um segundo mensageiro do sistema L-arginina/óxido nítrico. Consequentemente, uma diminuição nas concentrações de GMPc poderia levar a uma inibição dos efeitos mediados pelo óxido nítrico. O GMPc leva a um relaxamento dos músculos lisos dos vasos sanguíneos, que pode levar a uma vasodilatação e aumento do fluxo sanguíneo. Sendo assim, a cafeína pode prevenir a vasodilatação através do bloqueio da formação do monofosfato cíclico de guanosina (HIGGINS et al., 2013). Nossos resultados sugerem que a cafeína pode causar um desvio para o metabolismo glicolítico, evidenciado pelas maiores concentrações plasmáticas de lactato, talvez um mecanismo responsável pelo exercício mais forte e potente, característica de sua ação ergogênica.

## **7 CONCLUSÃO**

Foram observadas no nosso estudo diferenças significativas entre o grupo salina e o grupo cafeína (6 mg/kg, i.p.) na tarefa do campo aberto, no teste de carga incremental e na concentração de lactato sanguíneo. Em todos estes, o grupo cafeína obteve resultados superiores aos do grupo salina, evidenciando os efeitos ergogênicos e psicoestimulantes da substância. O aumento na concentração sanguínea de lactato também foi maior no grupo cafeína quando comparado ao grupo controle. Portanto nossos resultados reforçam o potencial efeito ergogênico e psicoestimulante da cafeína.

### 13 REFERÊNCIAS

ABREU, R.V. et al. Chronic Coffee and Caffeine Ingestion Effects on the Cognitive Function and Antioxidant System of Rat Brains. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, Minas Gerais, v.99, p.659-664. 2011.

ACKER-HEWITT, T.L. et al. Independent and Combined Effects of Carbohydrate and Caffeine Ingestion on Aerobic Cycling Performance in the Fed State. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, Virginia, v.37, n.2, p.276-83. 2012.

AN, S. M.; PARK, J. S.; KIM, S. H. Effect of Energy Drink Dose on Exercise Capacity, Heart Rate Recovery and Heart Rate Variability After High-Intensity Exercise. **Journal of Exercise, Nutrition and Biochemistry**, Sejong (Coréia), v.1, n.1, p.31-39. 2014.

ANDERSON, M.E. et al. Improved 2000-meter Rowing Performance in Competitive Oarswomen after Caffeine Ingestion. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, Australia, v.10, n.4, p.464-75. 2000.

ANSELME, F. et al. Caffeine Increases Maximal Anaerobic Power and Blood Lactate Concentration. **European Journal of Applied Physiology**, França, v.65, n.2, p.188-91. 1992.

ASTORINO, T. A. et al. Increases in Cycling Performance in Response to Caffeine Ingestion are Repeatable. **Nutrition Research**, Califórnia, v.32, p.78-84. 2012.

BACKHOUSE, S. H. et al. Caffeine Ingestion, Affect and Perceived Exertion During Prolonged Cycling. **Appetite**, Reino Unido, v.57, p.247-252. 2011.

BALL, K. T.; POPLAWSKY, A. Low-Dose Oral Caffeine Induces a Specific Form of Behavioral Sensitization in Rats. **Pharmacological Reports**, Pensilvânia, v.63, p.1560-1563. 2011.

BARCELOS, R.P. et al. Caffeine Intake May Modulate Inflammation Markers in Trained Rats. **Nutrients**, Santa Maria, v.6, p.1678-1690. 2014.

BARCELOS, R. P. et al. Caffeine Supplementation Modulates Oxidative Stress Markers in the Liver of Trained Rats. **Life Sciences**, Santa Maria, v.96, p.40-45. 2014.

BEHRENS, M. et al. Caffeine-Induced Increase in Voluntary Activation and Strength of the Quadriceps Muscle During Isometric, Concentric and Eccentric Contractions. **Scientific Reports**, Alemanha, v.5, p.1-10. 2015.

BLACK, C. D.; WADDELL, D.E.; GONGLACH, A.R. Caffeine's Ergogenic Effects on Cycling: Neuromuscular and Perceptual Factors. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Mississippi, v.47, n.6, p.1145-58. 2015.

BORTOLOTTI, H. et al. Performance During a 20-km Cycling Time-Trial After Caffeine Ingestion. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, Paraná, v.11, n.45, p.1-7. 2014.



BRIDGE, C.A.; JONES, M.A. The Effect of Caffeine Ingestion on 8 km Run Performance in a Field Setting. **Journal of Sports Science**, Reino Unido, v. 24, n.4, p.433-9. 2006.

BRUCE, C.R. et al. Enhancement of 2000-m Rowing Performance After Caffeine Ingestion. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Australia, v.32, n.11, p.1958-63. 2000.

CAROLA, V. et al. Anxiety-Related Behavior in C57BL/6 – BALB/c Chimeric Mice. **Behavioral Brain Research**, Itália, v.150, p.25-32. 2004.

CECHELLA, J. L. et al. Caffeine Suppresses Exercise-Enhanced Long Term and Location Memory in Middle-Aged Rats: Involvement of Hippocampal Akt and CREB Signaling. **Chemico-Biological Interactions**, Santa Maria, v.223, p.95-101. 2014.

CHU, Y. et al. Crude Caffeine Reduces Memory Impairment and Amyloid B<sub>1-42</sub> levels in an Alzheimer's Mouse Model. **Food Chemistry**, Illinois, v.135, p.2095-2102. 2012.

CHURCH, D. D. et al. The Effect of an Acute Ingestion of Turkish Coffee on Reaction Time and Time Trial Performance. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, Flórida, v.12, n.37, p.1-11. 2015.

CRUZ, R. S. O. et al. Caffeine Affects Time to Exhaustion and Substrate Oxidation During Cycling at Maximal Lactate Steady State. **Nutrients**, Florianópolis, v.7, p.5254-5264. 2015.

CUNHA, R. A., FERRÉ, S., VAUGEOIS, J., CHEN, J. Potential Therapeutic Interest of Adenosine A<sub>2A</sub> Receptors in Psychiatric Disorders. **Current Pharmaceutical Design**, Portugal, v. 14, n.15, p. 1512-1524. 2008.

DAVIS, J. M. et al. Central Nervous System Effects of Caffeine and Adenosine on Fatigue. **American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, Carolina do Sul, v.284, p.399-404. 2002.

DEL COSO, J. et al. Dose Response Effects of a Caffeine-Containing Energy Drink on Muscle Performance: A Repeated Measures Design. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, Espanha, v.9, n.21, p.1-10. 2012.

DEL COSO, J. et al. Effects of a Caffeine-Containing Energy Drink on Stimulated Soccer Performance. **PLoS ONE**, Espanha, v.7, n.2, p.1-8. 2012.

DERIABINA, A.S. et al. Study of Mechanisms of Some Caffeine Biological Effects Via Computer Simulation of Its Interaction with DNA Fragments. **Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**, v.769, p.97-101. 2006.

DIAS, T.R. et al. Dose Dependent Effects of Caffeine in Human Sertoli Cells Metabolism and Oxidative Profile: Relevance for Male Fertility. **Toxicology**, Portugal, v.328, p.12-20. 2015.

DOHERTY, M.; HUGHES, M.G.; DAVISON, R. Caffeine Lowers Perceptual Response and Increases Power Output During High-Intensity Cycling. **Journal of Sports Science**, Reino Unido, v.22, n.7, p.637-43. 2004.

DRAGICEVIC, N. et al. Caffeine Increases Mitochondrial Function and Blocks Melatonin Signaling to Mitochondria in Alzheimer's Mice and Cells. **Neuropharmacology**, Flórida, v.63, p. 1368-1379. 2012.

EL YACOUBI, M. et al. The Anxiogenic-like Effect of Caffeine in Two Experimental Procedures Measuring Anxiety in the Mouse Is Not Shared by Selective A (2A) Adenosine Receptor Antagonists. **Psychopharmacology**, Berlim, v.148, p. 153–163. 2000.

EL YACOUBI, M. E. et al. The Stimulant Effects of Caffeine on Locomotor Behaviour in Mice are Mediated Through Its Blockade of Adenosine A2A Receptors. **British Journal of Pharmacology**, França, v.129, p. 1465-1473. 2000.

FUKUDA, D. H. et al. The Possible Combinatory Effects of Acute Consumption of Caffeine, Creatine, and Amino Acids on the Improvement of Anaerobic Running Performance in Humans. **Nutrition Research**, Oklahoma, v.30, p.607-614. 2010.

GANIO, M. S. et al. Caffeine Lowers Muscle Pain During Exercise in Hot but not Cool Environments. **Physiology and Behavior**, Connecticut, v.102, p.429-435. 2011.

GILES, G. E. et al. Differential Cognitive Effects of Energy Drink Ingredients: Caffeine, Taurine, and Glucose. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, Massachusetts, v.102, p. 569-577. 2012.

GLADE, M. J. Caffeine-Not Just a Stimulant. **Nutrition**, Illinois, v.26, p.932-938. 2010.

GLAISTER, M. et al. Effects of Dietary Nitrate, Caffeine, and their Combination on 20 km Cycling Time-trial Performance. **Journal of Strength and Conditioning Research**, Reino Unido, v.29, n.1, p.165-74. 2015.

GONZALEZ, A. M. et al. Effects of Time-Release Caffeine Containing Supplement on Metabolic Rate, Glycerol Concentration and Performance. **Journal of Sports Science and Medicine**, Flórida, v.14, p. 322-332. 2015.

GRAHAM, T.E. Caffeine and Exercise. **Sports Medicine**, v.31, n.11, p.785–807. 2001.

GREEN, S. Measurement of anaerobic work capacities in humans. **Sports Medicine**, Australia, v. 19, n. 1, p. 32-42, Jan 1995.

GULICK, D.; GOULD, T. J. Effects of Ethanol and Caffeine on Behavior in C57BL/6 Mice in the Plus-Maze Discriminative Avoidance Task. **Behavioral Neuroscience**, Pensilvânia, v.123, n.6, p.1271-1278. 2009.

HADJICHARALAMBOUS, M. et al. Influence of Caffeine on Perception of Effort, Metabolism and Exercise Performance Following a High-Fat Meal. **Journal of Sports Science**, Reino Unido, v. 24, p. 875- 887. 2006.

HEREDIA, L. et al. Assessing Anxiety in C57BL/6j Mice: A Pharmacological Characterization of the Open-Field and Light/Dark Tests. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, Espanha, v.69, p.108-114. 2014.

HIGGINS, J. P.; MPHIL, M.; BABU, K. Caffeine Reduces Myocardial Blood Flow During Exercise. **The American Journal of Medicine**, Texas, v.126, n.8, p.730-737. 2013.

HODGSON, A.B.; RANDELL, R.K.; JEUKENDRUP, A.E. The Metabolic and Performance Effects of Caffeine Compared to Coffee During Endurance Exercise. **PLoS One**, Reino Unido, v.8, n.4, p.1-10. 2013.

HUGHES, R. N.; HANCOCK, N.J. Strain-Dependent Effects of Acute Caffeine on Anxiety-Related Behavior in PVG/c, Long-Evans and Wistar Rats. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, Nova Zelândia, v.140, p.51-61. 2016.

JACOBSON, T.L. et al. Effect of Caffeine Co-ingested with Carbohydrate or Fat on Metabolism and Performance in Endurance-trained Men. **Experimental Physiology**, Australia, v.86, n.1, p.137-44. 2001.

JENKINS, N.T. et al. Ergogenic Effects of Low Doses of Caffeine on Cycling Performance. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, Georgia, v.18, n.3, p.328-42. 2008.

KENDALL, K. L. et al. Ingesting a Preworkout Supplement Containing Caffeine, Creatine, B-Alanine, Amino Acids, and B-vitamins for 28 Days is Both Safe and Efficacious in Recreationally Active Men. **Nutrition Research**, Georgia, v.34, p.442-449. 2014.

KOVACS, E.M.; STEGEN, J.H.; BROUNS, F. Effect of Caffeinated Drinks on Substrate Metabolism, Caffeine Excretion, and Performance. **Journal of Applied Physiology**, Holanda, v.85, n.2, p. 709–15. 1998.

LAURENT, C. et al. Beneficial Effects of Caffeine in a Transgenic Model of Alzheimer's Disease-like Tau Pathology. **Neurobiology of Aging**, França, v.35, p. 2079-2090. 2014.

LOPES-SILVA, J.P. et al. Caffeine Ingestion After Rapid Weight Loss in Judo Athletes Reduces Perceived Effort and Increases Plasma Lactate Concentration Without Improving Performance. **Nutrients**, Pernambuco, v.6, n.7, p.2931-45. 2014.

LORIST, M. M. and TOPS, M. Caffeine, Fatigue and Cognition. **Brain and Cognition**, Holanda, v.53, p.82-94. 2003.

LOVALLO, W. R. et al. Cortisol Responses to Mental Stress, Exercise, and Meals Following Caffeine Intake in Men and Women. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, Oklahoma, v.83, p.441-447. 2006.

MARRIOTT, M. et al. Ergogenic Effects of Caffeine and Sodium Bicarbonate Supplementation on Intermittent Exercise Performance Preceded by Intense Arm Cranking Exercise. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**. v.12. n.13, p. 3-8. 2015.

MEJIA, E. G. and RAMIREZ-MARES, M. V. Impact of Caffeine and Coffee on Our Health. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, Illinois, v.25, n.10, p.489-492. 2014.

MISSALE, C. et al. Dopamine Receptors: From Structure to Function. **Physiological Reviews**, Carolina do Norte, v.78, n.1, p.189-213. 1998.

MOHR, M.; NIELSEN, J. J.; BANGSBO, J. Caffeine Intake Improves Intense Intermittent Exercise Performance and Reduces Muscle Interstitial Potassium Accumulation. **Journal of Applied Physiology**, Dinamarca, v.111, p.1372-1379. 2011.

MORA-RODRIGUEZ, R. et al. Caffeine Ingestion Reverses the Circadian Rhythm Effects on Neuromuscular Performance in Highly Resistance-Trained Men. **PLoS ONE**, Espanha, v.7, n.4, p.1-9. 2012.

MOROHAKU K.; PHUONG, N.S.; SELVARAJ, V. Developmental Expression of Translocator Protein/Peripheral Benzodiazepine Receptor in Reproductive Tissues. **PLoSOne**, New York, v. 8, n.9, p. 1-14. 2013.

MOTL, R. W.; DISHMAN, R. K. Effects of Acute Exercise on the Soleus H-Reflex and Self-Reported Anxiety After Caffeine Ingestion. **Psychology and Behavior**, Georgia, v.80, p.577-585. 2004.

MOTL, R.W.; O'CONNOR, P. J.; DISHMAN, R. K. Effect of Caffeine on Perceptions of Leg Muscle Pain During Moderate Intensity Cycling Exercise. **The Journal of Pain**, Georgia, v.4, n.6, p.316-321. 2003.

NEDER, J. A.; NERY, L. E. Fisiologia Clínica do Exercício. **Artes Médicas**. São Paulo: 2003.

NEHLIG, A.; DAVAL, J.; DEBRY G. Caffeine and the Central Nervous System: Mechanisms of Action. Biochemical, Metabolic and Psychostimulant Effects. **Brain Research Reviews**, França, v.17, p.139-170. 1992.

NOSCHANG, C. G. et al. Sex-Specific Differences on Caffeine Consumption and Chronic Stress-Induced Anxiety-like Behavior and DNA Breaks in the Hippocampus. **Pharmacological. Biochemistry Behavior**, Porto Alegre, v. 94, p. 63–69. 2009.

NOTARIUS, C. F.; MORRIS, B. L.; FLORAS, J. S. Caffeine Attenuates Early Post-Exercise Hypotension in Middle-Aged Subjects. **American Journal of Hematology**, Toronto, v.19, p.184-188. 2006.

NOTARIUS, C. F.; MORRIS, B. L.; FLORAS, J. S. Caffeine Prolongs Exercise Duration in Heart Failure. **Journal of Cardiac Failure**, v.12, n.3. 2006.

OHL, F. Testing for Anxiety. **Clinical Neuroscience Research**, Holanda, v.3, p.233-238. 2003.

OLCINA, G.J.et al. Caffeine Ingestion Effects on Oxidative Stress in a Study-State Test at 75% VO<sub>2</sub>max. **Science and Sports**, v.23, p.87-90. 2008.

PELTIER, S. L. et al. Effects of Carbohydrates-BCAAs-Caffeine Ingestion on Performance and Neuromuscular Function During a 2-h Treadmill Run: A Randomized, Double-

Blind, Cross-Over Placebo-Controlled Study. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, França, v.8, n.22, p.1-10. 2011.

PESTA, D. H. et al. The Effects of Caffeine, Nicotine, Ethanol, and Tetrahydrocannabinol on Exercise Performance. **Nutrition and Metabolism**, California, v.10, n.71, p.1-15. 2013.

PITCHFORD, N. W. et al. Effect of Caffeine on Cycling Time-Trial Performance in the Heat. **Journal of Science and Medicine in Sport**, Australia, v.17, p. 445-449. 2014.

QUINLAN, P. T. et al. The Acute Physiological and Mood Effects of Tea and Coffee: The Role of Caffeine Level. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, Reino Unido, v.66, n.1, p.19-28. 2000.

RATAMESS, N. A. et al. The Effects of Supplementation With P-Synephrine Alone and in Combination With Caffeine on Resistance Exercise Performance. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, New Jersey, v.12, n.35, p.1-11. 2015.

REYNER L.A.; HORNE, J.A. Sleep Restriction and Serving Accuracy in Performance Tennis Players, and Effects of Caffeine. **Physiology and Behavior**, Reino Unido, v.120, p.93-96. 2013.

REZAIMANESH, D.; AMIRI-FARSANI, P.; ALIJANI, E. The Effect of Caffeine on Some Cardiovascular Factors in Male Students Athletes. **Procedia Social and Behavioral Sciences**, Irã, v.15, p.2092-2095. 2011.

RICHARDSON, N. J. et al. Mood and Performance Effects of Caffeine in Relation to Acute and Chronic Caffeine Deprivation. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v.52, n.2, p.313-320. 1995.

ROGERS, P. J. and DERNONCOURT, C. Regular Caffeine Consumption: A Balance of Adverse and Beneficial Effects for Mood and Psychomotor Performance. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, Reino Unido, v.59, p.1039-1045. 1998.

RUIZ, R. et al. Caffeine and Physical Training: Effects on Cardiac Morphology and Cardiovascular Response. **Revista da Associação Médica Brasileira**, Londrina, v.60, n.1, p.23-28. 2014.

SANTOS, V. G. F. et al. Caffeine Reduces Reaction Time and Improves Performance in Stimulated-Contest of Taekwondo. **Nutrients**, Pernambuco, v.6, p.637-649. 2014.

SCHRADER, P.; PANEK, L. M.; TEMPLE, J. L. Acute and Chronic Caffeine Administration Increases Physical Activity in Sedentary Adults. **Nutrition Research**, New York, v.33, p. 457-463. 2013.

SCHUBERT, M. et al. Caffeine Consumption Around an Exercise Bout: Effects on Energy Expenditure, Energy Intake, and Exercise Enjoyment. **Journal of Applied Physiology**, Australia, v.117, p. 745-754. 2014.

SCHUBERT, M. M. et al. Coffee for Morning Hunger Pangs. An Examination of Coffee and Caffeine on Appetite, Gastric Emptying and Energy Intake. **Appetite**, Australia, v.83, p.317-326. 2014.

SCHUBERT, M. M.; ASTORINO, T. A.; AZEVEDO Jr, J. L. The Effects of Caffeinated “Energy Shots” on Time Trial Performance. **Nutrients**, California., v.5, p. 2062-2075. 2013.

SENCINA, D. S. et al. Alkaloids and Athlete Immune Function: Caffeine, Theophylline, Gingerol, Ephedrine, and Their Congeners. **Executive Intelligence Review**, Iowa, v.20, p.68-93. 2014.

SILVA-CAVALCANTE, M. D. et al. Caffeine Increases Anaerobic Work and Restores Cycling Performance Following a Protocol Designed to Lower Endogenous Carbohydrate Availability. **PLoS ONE**, v.8, n.8, p.1-10. 2013.

SIMMONDS, M.J.; MINAHAN, C.L.; SABAPATHY, S. Caffeine Improves Supramaximal Cycling but not the Rate of Anaerobic Energy Release. **European Journal of Applied Physiology**, Australia, v.109, n.2, p. 287–95. 2010.

SKINNER, T.L. et al. Dose Response of Caffeine on 2000-m Rowing Performance. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Australia, v.42, n.3, p.571-6. 2010.

SMITH A. Effects of Caffeine on Human Behavior. **Food and Chemical Toxicology**, Reino Unido, v.40, p.1243-1245. 2002.

SOTO, G.R. et al. Ingesta de Cafeína y Su Efecto Sobre la Velocidad Aeróbica Máxima en Atletas Corredores de 800 Metros Lisos. **Nutrición Hospitalaria**, Chile, v. 32, n.4, p.1703-1707. 2015.

SPRADLEY, B. D. et al. Ingesting a Pre-Workout Supplement Containing Caffeine, B-Vitamins, Amino Acids, Creatine, and Beta-Alanine Before Exercise Delays Fatigue While Improving Reaction Time and Muscular Tolerance. **Nutrition and Metabolism**, Alabama, v. 9, n.28, p. 1-9. 2012.

SPRIET, L. L. Exercise and Sport Performance With Low Doses of Caffeine. **Sports Medicine**, Canada, v.44, n.2, p. 175-184. 2014.

STADHEIM, H.K. et al. Caffeine and Performance over Consecutive Days of Simulated Competition. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Noruega, v.46, n.9, p.1787-96. 2014.

STADHEIM, H.K. et al. Caffeine Increases Performance in Cross-country Double-poling Time Trial Exercise. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Noruega, v.45, n.11, p.2175-83. 2013.

SWEENEY, P. et al. Caffeine Increases Food Intake While Reducing Anxiety-Related Behaviors. **Appetite**, v. 101, p. 171-177. 2016.

TAKEDA, H.; TSUJI, M.; MIYAMOTO, J.; MATSUMIYA, T. Rosmarinic Acid And Caffeic Acid Reduce the Defensive Freezing Behavior of Mice Exposed to Conditioned Fear Stress. **Psychopharmacology**, Japão, v.164, n.2, p. 233–235. 2002.

TARNOPOLSKY, M.A. et al. Physiological Responses to Caffeine During Endurance Running in Habitual Caffeine Users. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Canada, v.21, n.4, p.418–24. 1989.

TAULER, P. et al. Effects of Caffeine on the Inflammatory Response Induced by a 15-km Run Competition. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Espanha, v.45, n.7, p.1269-76. 2013.

TSUDA, S. et al. Caffeine and Contraction Synergistically Stimulate 5'-AMP-Activated Protein Kinase and Insulin-Independent Glucose Transport in Rat Skeletal Muscle. **Physiological Reports**, Japão, v.3, n.10, p.1-12. 2015.

TURNBULL, D.; RODRICKS, J. V.; MARIANO, G. F. Neurobehavioral Hazard Identification and Characterization for Caffeine. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, Virginia, v.74, p.81-92. 2016.

VLODAVSKY E.; PALZUR E.; SOUSTIEL J. F. Involvement of the Mitochondrial Benzodiazepine Receptor in Traumatic Brain Injury: Therapeutic Implications. **CNS Neurological Disorders Drug Targets**, Israel, v. 13, n.4, p.620-629. 2014.

WENTZ, C. T.; MAGAVI, S. S. P. Caffeine Alters Proliferation of Neuronal Precursors in the Adult Hippocampus. **Neuropharmacology**, Massachusetts, v.56, p.994-1000. 2009.

WILES, J. D. et al. Effect of Caffeinated Coffee on Running Speed, Respiratory Factors, Blood Lactate and Perceived Exertion During 1500-m Treadmill Running. **British Journal of Sports Medicine**, Massachusetts, v.26, n.2, p.116-120. 1992.

ZEITLIN, R. et al. Caffeine induces beneficial changes in PKA signaling and JNK and ERK activities in the striatum and cortex of Alzheimer's transgenic mice. **Brain Research**, Florida, v.1417, p.127-136. 2011.

ZERAATPISHE, A. et al. The Effects of Caffeine Supplements on Exercise-Induced Oxidative Damages. **Asian Journal of Sports Medicine**, Irã, v.6, n.4, p. 1-6. 2015.

ZHENG, X. Dopamine D1 Receptor Mediates Caffeine-Influenced Exercised Performance, Thermoregulation and Brain Neurotransmission. **Journal of Science and Medicine in Sport**, v.185, p.23-71. 2014.

ZHENG, X. et al. Acute Intraperitoneal Injection of Caffeine Improves Endurance Exercise Performance in Association With Increasing Brain Dopamine Release During Exercise. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, Japão, v.122, p.136-143. 2014.

Figura 1 disponível em <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2011.00116/full> acessado em Maio de 2016.

Figura 2 disponível em <http://epharmnutrition.com/pumpspray-8oz.html> acessado em Maio de 2016.

Figura 3 disponível em [http://dabiochemistry.blogspot.com.br/2014\\_05\\_01\\_archive.html](http://dabiochemistry.blogspot.com.br/2014_05_01_archive.html) acessado em Maio de 2016.

Figura 4 disponível em <http://physiologyonline.physiology.org/content/23/6/322> acessado em Maio de 2016.