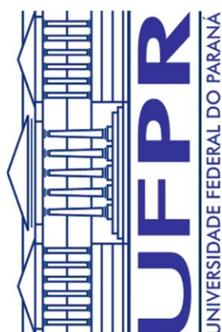
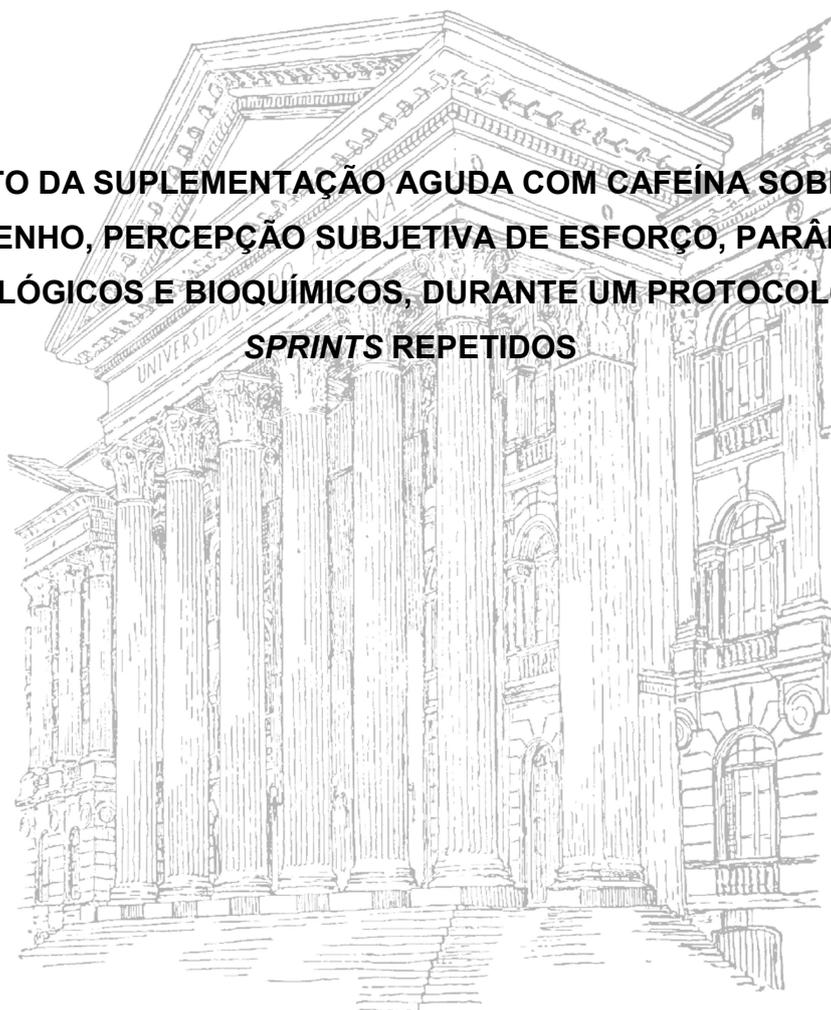


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EDUCAÇÃO FÍSICA

ALEXANDRE RICARDO OKUYAMA

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO AGUDA COM CAFEÍNA SOBRE O
DESEMPENHO, PERCEPÇÃO SUBJETIVA DE ESFORÇO, PARÂMETROS
FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS, DURANTE UM PROTOCOLO DE
SPRINTS REPETIDOS**



CURITIBA

2016

ALEXANDRE RICARDO OKUYAMA

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO AGUDA COM CAFEÍNA SOBRE O
DESEMPENHO, PERCEPÇÃO SUBJETIVA DE ESFORÇO, PARÂMETROS
FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS, DURANTE UM PROTOCOLO DE *SPRINTS*
REPETIDOS**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Educação Física do Programa de Pós-Graduação em Educação Física, do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Dr. Tácito Pessoa de Souza Junior

CURITIBA

2016

Universidade Federal do Paraná
Sistema de Bibliotecas

Okuyama, Alexandre Ricardo

Efeito da suplementação aguda com cafeína sobre o desempenho, percepção subjetiva de esforço, parâmetros fisiológicos e bioquímicos, durante um protocolo de *sprints* repetidos. / Maria Thereza Oliveira Souza. – Curitiba, 2016.
88 f. ; 30cm.

Orientador: Tácito Pessoa de Souza Junior

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

1. Cafeína 2. Exercícios físicos – Aspectos fisiológicos I. Título II. Souza Junior, Tácito Pessoa de III. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Educação Física.

CDD (20. ed.) 613.7



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Educação Física

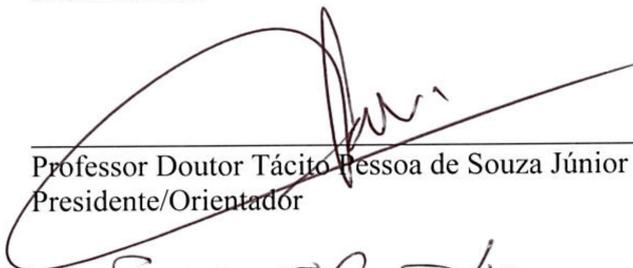


TERMO DE APROVAÇÃO

ALEXANDRE RICARDO OKUYAMA

“Efeito da suplementação aguda com cafeína sobre o desempenho, percepção de esforço, parâmetros fisiológicos e bioquímicos, durante um protocolo de sprints repetidos”

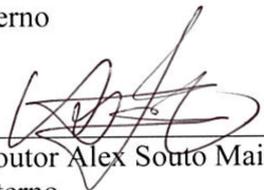
Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Educação Física, Área de Concentração Exercício e Esporte, Linha de Pesquisa de Desempenho Esportivo do Programa de Pós-Graduação em Educação Física do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, pela seguinte Banca Examinadora:



Professor Doutor Tácito Pessoa de Souza Júnior
Presidente/Orientador



Professor Doutor Sergio Gregorio da Silva
Membro Interno



Professor Doutor Alex Souto Maior
Membro Externo

Curitiba, 13 de Dezembro de 2016.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha querida avó Kioco Oshiro (*in memoriam*) por todo amor e carinho, e por sempre nos ensinar o valor da família.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha mãe Marisa Yukie Oshiro Okuyama, minha maior incentivadora, pelo apoio e amor que sempre me deu, e por sempre ser esse grande exemplo de sabedoria, compaixão e honestidade.

Agradeço ao meu orientador Dr. Tácito Pessoa de Souza Junior, por quem tenho imensa admiração e respeito, pelas diversas oportunidades e ensinamentos na sala de aula, nos tatames e na vida. Oss!

Agradeço ao meu pai Mário e às minhas irmãs, Fernanda e Luciana, que sempre estiveram ao meu lado, me apoiaram e torceram por mim.

Agradeço ao Prof. Bernardo Bernardi Bittencourt, meu companheiro nessa árdua jornada, pela parceria e por toda ajuda durante esse processo.

Agradeço à Profa. Keith Sato Urbinati e ao Dr. Marcelo Paes de Barros por abrirem as portas e por toda ajuda durante a pesquisa.

Agradeço também a todos os amigos que em algum momento me ajudaram, me deram apoio ou me incentivaram.

EPÍGRAFE

“Water can flow or it can crash. Be water, my friend.”

Bruce Lee

RESUMO

A cafeína é um alcaloide farmacologicamente ativo e estimulante do sistema nervoso central, amplamente consumido em todo mundo. Estudos demonstraram que o consumo de cafeína pode ter efeitos sobre o desempenho, parâmetros fisiológicos, além disso, tem sido apontado um possível poder antioxidante. A presente pesquisa teve como objetivo verificar os efeitos da suplementação aguda com cafeína sobre o desempenho, percepção subjetiva de esforço (PSE), parâmetros fisiológicos e bioquímicos durante um protocolo de *sprints* repetidos. Participaram do estudo doze voluntários do sexo masculino com $26,3 \pm 3,7$ anos, $177,5 \pm 6$ cm de altura, $80,7 \pm 7,6$ kg de massa corporal e $14,4 \pm 6$ % de gordura corporal. Os participantes tinham ao menos um ano de experiência em treinamentos intermitentes. Foi aplicado um teste em ciclo ergômetro composto por 12 *sprints* de 6 s por 60 s de recuperação. Em dias distintos e de forma aleatória, os participantes consumiram 6 mg.kg^{-1} de cafeína (CAF) ou placebo (PLA), 1 hora antes do exercício. Os dados de potência média relativa (PMr), potência pico relativa (PPr) e PSE foram coletados a cada *sprint*. A frequência cardíaca (FC), pressão arterial (PAS e PAD), glicemia (GL), foram coletadas 1 hora antes (Rep), imediatamente antes (Pré), imediatamente após (Pós) e 1 hora após (Pós60) o protocolo. Amostras de sangue foram coletadas antes (Pré), 5 min após (Pós5) e 60 min após (Pós60) o exercício, para análise de ácido úrico (AU), óxido nítrico (NO), glutathiona reduzida (GSH) e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Todos os dados coletados foram analisados através de uma ANOVA de medidas repetidas. A cafeína contribuiu para o aumento da PPr e PMR no primeiro *sprint*, contudo, sem efeitos significativo nos sprints subsequentes. Os valores de FC, PAS e AU apresentaram mudanças somente entre os momentos, indicando uma resposta ao exercício. Já os valores de PAD, GL, GSH, NO e TBARS não apresentaram nenhuma mudança significativa. Nós concluímos que a cafeína foi capaz de modificar o desempenho apenas no primeiro *sprint*, sem provocar mudanças significativas na PSE, parâmetros fisiológicos e bioquímicos.

Palavras chaves: cafeína, exercício intermitente, *sprints* repetidos

ABSTRACT

Caffeine is a pharmacologically active alkaloid and stimulant of the central nervous system, widely consumed worldwide. Studies have shown that caffeine consumption may have effects on performance, physiological parameters, in addition to possible antioxidant effects. The present research aimed to verify the effects of acute caffeine supplementation on performance, ratings of perceived exertion (PSE), and physiological and biochemical parameters during a protocol of repeated sprints. Twelve male volunteers with an age of 26.3 ± 3.7 years, 177.5 ± 6 cm in height, 80.7 ± 7.6 kg of body mass, and $14.4 \pm 6\%$ of body fat participated in the study. The participants have at least one year of intermittent sports training. The exercise protocol was performed on a cycle ergometer, and was composed of 12 sprints of 6 s with 60 s of recovery. On random days, participants consumed $6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ of caffeine (CAF) or placebo (PLA) 1 hour before training. The relative mean power (RPM), relative peak power (PPr) and PSE data were collected at each sprint. Heart rate (HR), blood pressure (SBP and DBP), and blood glucose (GL) data were collected 1 hour before (Rep), immediately before (Pre), immediately after (Post) and 1 hour after (Post60). Blood samples were collected before (Pre), 5 min after (Pot5) and 60 min after (Post60) the exercise for analysis of uric acid (AU), nitric oxide (NO), reduced glutathione (GSH), and reactive substances thiobarbituric acid (TBARS). All the data collected were analyzed through a repeated measures ANOVA. Caffeine improved performance only in the first sprint for both PPr and PMR, with no significant effect on subsequent sprints and on PSE. The values of HR, SBP and AU presented changes only between the moments, indicating a response to the exercise. However, the values of PAD, GL, GSH, NO and TBARS showed no significant change. We conclude that caffeine was able to modify performance only in the first sprint of the protocol, without causing significant changes in PSE, physiological or biochemical parameters.

Key words: caffeine, intermittent exercise, repeated sprints

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Média da potência pico relativa ao peso corporal em cada <i>sprint</i> para as condições placebo e cafeína. *Diferente de PLA no <i>sprint</i> 1 ($p = 0,016$).....	49
Gráfico 2 – Média da potência média relativa ao peso corporal em cada <i>sprint</i> para as condições placebo e cafeína.*Diferente de PLA no <i>sprint</i> 1 ($p = 0,019$).....	50
Gráfico 3 – Média de percepção subjetiva de esforço (PSE) após cada <i>sprint</i> realizados para ambos os tratamentos	50
Gráfico 4 – Média de frequência cardíaca em repouso (Rep), antes do exercício (Pré), imediatamente após o exercício (Pós) e uma hora após o exercício (Pós60) para as condições placebo e cafeína. *Diferente de Rep, Pré e Pós60 ($p < 0,05$). #Diferente dos momentos Rep, Pré e Pós ($p < 0,05$).....	51
Gráfico 5 – Média de pressão arterial sistólica em repouso (Rep), antes do exercício (Pré), imediatamente após o exercício (Pós) e uma hora após o exercício (Pós60) para as condições placebo e cafeína.....	52
Gráfico 6 – Média de pressão arterial diastólica em repouso (Rep), antes do exercício (Pré), imediatamente após o exercício (Pós) e uma hora após o exercício (Pós60) para as condições placebo e cafeína. *Diferente do momento Pré ($p = 0,03$).....	52
Gráfico 7 – Média de glicose plasmática em repouso (Rep), antes do exercício (Pré), imediatamente após o exercício (Pós) e uma hora após o exercício (Pós60) para as condições placebo e cafeína.....	53
Gráfico 8 – Média de concentração plasmática de ácido úrico (AU) nos momentos pré (Pré), 5 min após (Pós5) e 60 min após (Pós60) o protocolo de <i>sprints</i> repetidos para as condições placebo e cafeína. * Diferente de Pré ($p = 0,013$)	54
Gráfico 9 – Média da concentração plasmática de óxido nítrico (NO) nos momentos pré (Pré), 5 min após (Pós5) e 60 min após (Pós60) o protocolo de <i>sprints</i> repetidos para as condições placebo e cafeína.....	54
Gráfico 10 - Média de concentração plasmática de glutathiona reduzida (GSH) no momento nos momentos pré (Pré), 5 min após (Pós5) e 60 min após (Pós60) o protocolo de <i>sprints</i> repetidos para as condições placebo e cafeína.	55
Gráfico 11 - Média de concentração plasmática de mmolMDA/ml no momento nos momentos pré (Pré), 5 min após (Pós5) e 60 min após (Pós60) o protocolo de <i>sprints</i> repetidos para as condições placebo e cafeína.	56
Gráfico 12– Médias marginais estimadas em cada <i>sprint</i> para ambos os tratamentos cafeína e placebo	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Conteúdo de cafeína em alimentos e bebidas.	22
Tabela 2 – Características dos participantes (n=12)	48
Tabela 3 - Consumo estimado de cafeína.....	48

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Principais compostos formados à partir da metabolização da cafeína (paraxantina, teobromina e teofilina)	24
Figura 2. Estrutura química da (a)adenosina e (b) cafeína.	25
Figura 3. Representação esquemática do metabolismo das purinas em humanos. GMP, guanosina monofosfato; AMP, adenosina monofosfato.	32
Figura 4. Possíveis mecanismos de regulação da formação de ácido úrico.....	33
Figura 5. Desenho esquemático da ordem dos procedimentos realizados no momento T1 (primeira visita ao laboratório).....	40
Figura 6. Desenho esquemático da ordem dos procedimentos nos momentos em T2 e T3 (segunda e terceira visita ao laboratório).	41

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AMP	adenosina monofosfato
AMPc	adenosina monofosfato cíclico
ANOVA	análise de variância
ATP	adenosina trifosfato
AU	ácido úrico
Bpm	batimentos por minuto
C	celcius
CAF	cafeína
cm	centímetro
CrP	creatina fosfato
CYP1A2	citocromo P450 1A2
dia	diastólica
dl	decilitro
DNA	ácido desoxirribonucleico
EDTA	ácido etilenodiamino tetra-acético
eNOS	óxido nítrico sintase endotelial
EROs	espécies reativas de oxigênio
ERNs	espécies reativas de nitrogênio
FC	frequência cardíaca
GL	glicemia
GMP	guanosina monofosfato
GSH	glutathiona reduzida
GSSG	glutathiona oxidada ou glutathiona disulfeto
g/mm	gramas por milímetros
H ₀	hipótese nula
H ₁	hipótese alternativa

HIIE	high intensity intermittent exercise
HIIT	high intensity intermittent training
h	horas
IE	intermittent exercise
IMP	inosina monofosfato
kg	quilograma
L	litros
m	metros
mg	miligramas
mg/dl	miligrama por decilitro
mg/dia	miligrama por dia
mg.kg ⁻¹	miligrama por quilograma
min	minutos
ml	mililitros
mm	milímetros
mmHg	milímetros de mercúrio
M	concentração molar
nm	nanômetro
NO	óxido nítrico
NOS	óxido nítrico sintase
OH	radical hidroxila
PA	pressão arterial
PAS	pressão arterial sistólica
PAD	pressão arterial diastólica
pH	potencial de hidrogenação
PAR-Q	physical activity readiness questionnaire
PLA	placebo
PMr	potência média relativa
PPr	potência pico relativa

PSE	percepção subjetiva de esforço
R24	recordatório 24 horas
rpm	rotações por minuto
RM	repetição máxima
RST	repeated sprint training
s	segundos
SIT	sprint interval training
SNC	sistema nervoso central
TBARS	substâncias reativas ao ácido tiobarbiturico
TCLE	termo de consentimento livre esclarecido
VO ₂ max	Capacidade máxima de consumo de oxigênio
W	watts
WADA	World Anti-Doping Association (Associação Mundial Antidoping)
Wmax	watts máximos
W/kg	watts por quilograma
μm	micromol

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. OBJETIVOS	20
2.1. OBJETIVO GERAL.....	20
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
2.3. HIPÓTESES	20
3. REVISÃO DE LITERATURA	21
3.1. SUPLEMENTAÇÃO COM CAFEÍNA	21
3.1.1. Formas de suplementação, doses e efeitos colaterais.....	22
3.1.2. Metabolismos e mecanismos de ação da cafeína.....	24
3.1.3. Cafeína e exercício intermitente	27
3.1.4. Cafeína e percepção subjetiva de esforço	30
3.1.5. Ácido úrico e Cafeína	31
3.1.6. Óxido nítrico e cafeína.....	33
3.1.7. Cafeína e estresse oxidativo.....	34
3 MATERIAIS E MÉTODOS	38
3.1 TIPO DE PESQUISA	38
3.2 PARTICIPANTES	38
3.2.1 Recrutamento.....	38
3.2.2 Critérios de inclusão e exclusão	39
3.3 PROCEDIMENTOS DE COLETA DE DADOS.....	39
3.4 INSTRUMENTOS E PROCEDIMENTOS	42
3.4.1 Suplementação com cafeína ou placebo	42
3.4.2 Medidas de parâmetros fisiológicos.....	42
3.4.3 Teste de potência anaeróbia máxima	42
3.4.4 Teste de <i>sprints</i> repetidos em ciclo ergômetro.....	43
3.4.5 Percepção subjetiva de esforço.....	43
3.4.6 Controle do consumo alimentar, consumo de cafeína e atividade física	44
3.4.7 Antropometria e composição corporal.....	44
3.4.8 Coleta de material biológico.....	45
3.4.9 Determinação do ácido úrico (AU).....	45
3.4.10 Determinação de óxido nítrico (NO).....	45
3.4.11 Determinação de glutathiona reduzida (GSH).....	46
3.4.12 Determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbiturico (TBARS).....	46

3.5 ANÁLISE DE DADOS.....	47
4 RESULTADOS	48
5 DISCUSSÃO	57
6 CONCLUSÃO	63
REFERÊNCIAS	64
APÊNDICES.....	77
APÊNDICE 1.....	78
APÊNDICE 2.....	80
APÊNDICE 3.....	81
APÊNDICE 4.....	82
APÊNDICE 5.....	83
ANEXOS	84
ANEXO 1	85
ANEXO 2	86
ANEXO 3	88
ANEXO 4	85

1. INTRODUÇÃO

A cafeína é uma trimetilxantina, muito conhecida por seus efeitos psicoativos estimulatórios, e consumida no meio esportivo com intuito de aumentar o desempenho (HECKMAN; WEIL; GONZALEZ DE MEJIA, 2010). Diversos estudos têm reportado que a suplementação aguda com cafeína pode aumentar a capacidade de trabalho, reduzir o tempo em tarefas contra o relógio e prolongar o tempo até a exaustão volitiva (BRUNETTO; RIBEIRO; FAYH, 2010; GRAHAM; SPRIET, 1991; GUERRA; BERNARDO; GUTIÉRREZ, 2000; MOTL et al., 2006). Os mecanismos responsáveis por sua ação ergogênica ainda não estão claros, parecem ocorrer de maneira multifatorial, com uma combinação de respostas centrais e periféricas (CAPUTO et al., 2012; SOUZA-JUNIOR et al., 2012).

Embora bem estabelecidos para os esportes de *endurance*, os benefícios da suplementação com cafeína em outros modelos de atividades, como os exercícios intermitentes em alta intensidade, ainda são controversos (ALTIMARI et al., 2000; DAVIS; GREEN, 2009; GOLDSTEIN et al., 2010). A grande variedade de protocolos, tipos de exercício e de suplementações aplicadas, dificulta o entendimento sobre suas ações no exercício intermitente (ASTORINO; ROBERSON, 2010). Entretanto, nos protocolos empregando esforços com curta duração, de característica anaeróbia (<10s), a suplementação com cafeína tem apresentado alguns resultados positivos (GLAISTER, 2005; LEE; LIN; CHENG, 2011; PATON; HOPKINS; VOLLEBREGT, 2001; WELLINGTON; LEVERITT; KELLY, 2016).

Adicionalmente, a cafeína tem apresentado um possível efeito sobre a percepção subjetiva de esforço (PSE), devido a uma ação no sistema nervoso central (SNC) como antagonista dos receptores de adenosina, o que poderia ser um dos mecanismos pelo qual aumentaria o desempenho (DOHERTY; SMITH, 2005). O efeito no SNC e sua ação sobre as catecolaminas têm sido apontados como os responsáveis por mudanças observadas em algumas variáveis fisiológicas, como frequência cardíaca, pressão arterial e glicemia (GRAHAM, 2001).

Pesquisas recentes têm abordando uma possível função antioxidante da cafeína, tanto em patologias quando em resposta ao exercício, porém podem ser encontrados resultados contraditórios, com evidências apontando um efeito pró-oxidante (OLCINA et al., 2006; PRASANTHI et al., 2010; ZERAATPISHE et al.,

2015). A quebra desse equilíbrio no balanço redox possui papel importante para os ajustes ao exercício, porém se ocorrer de forma exacerbada pode causar danos ao organismo (FISHER-WELLMAN; BLOOMER, 2009).

Apesar de evidências que possa aumentar o desempenho e devido ao fato de ser amplamente consumida no meio esportivo, existe a necessidade de elucidar em qual tipo de atividades intermitentes a suplementação com cafeína seria capaz de produzir efeitos. Assim como é de grande importância entender de que forma o organismo responde a sua suplementação, analisando tanto as respostas fisiológicas quanto as bioquímicas. A presente pesquisa teve como objetivo verificar os efeitos agudos da cafeína no desempenho, percepção subjetiva de esforço, parâmetros fisiológicos e bioquímicos durante um protocolo intermitente de *sprints* repetidos, composto por 12 *sprints* de 6 s por 60 s de recuperação passiva.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Investigar os efeitos da suplementação aguda com cafeína no desempenho físico, percepção subjetiva de esforço, parâmetros fisiológicos e bioquímicos durante um protocolo de *sprints* repetidos.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Investigar o efeito da suplementação aguda com cafeína no desempenho em um protocolo de *sprints* repetidos no ciclo ergômetro, sobre os parâmetros de potência pico relativa (PPr) e potência média relativa (PMr).

Investigar o efeito da suplementação aguda com cafeína na percepção subjetiva de esforço (PSE), através da escala OMNI, durante um protocolo de *sprints* repetidos no ciclo ergômetro.

Investigar o efeito da suplementação aguda com cafeína nos parâmetros fisiológicos de frequência cardíaca (FC), pressão arterial diastólica (PAD) e sistólica (PAS) e glicemia (GL), em diferentes tempos antes e após um protocolo de *sprints* repetidos no ciclo ergômetro

Investigar o efeito da suplementação aguda com cafeína sobre os parâmetros bioquímicos plasmáticos, relacionados ao estresse oxidativo, de ácido úrico (AU), óxido nítrico (NO), glutathiona reduzida (GSH) e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS,) durante e após um protocolo de *sprints* repetidos no ciclo ergômetro

2.3. HIPÓTESES

H0: A suplementação com cafeína não influencia desempenho, percepção subjetiva de esforço, parâmetros fisiológicos e bioquímicos em um protocolo de *sprints* repetidos.

H1: A suplementação com cafeína aumenta o desempenho, atenua a percepção subjetiva de esforço, e modifica os parâmetros fisiológicos e bioquímicos durante um protocolo de *sprints* repetidos.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. SUPLEMENTAÇÃO COM CAFEÍNA

A cafeína é um alcalóide do grupo das metilxantinas, designada como 1,3,7-trimetilxantina, sendo uma das substâncias psicoativas mais consumidas no mundo (HECKMAN et al., 2010; SOKMEN et al., 2008). Apesar de não apresentar nenhum valor nutricional é vastamente consumida, além de ser muito utilizada no meio esportivo (CAPPELLETTI et al., 2015 SPRIET, 1995). Está presente em diversos produtos comumente ingeridos, como cafés, chás, refrigerantes, energéticos e achocolatados, e também compõe uma série de medicamentos e suplementos alimentares (CARRILLO; BENITEZ, 2000).

É classificada como um estimulante, caracterizado por ativar o sistema nervoso central e ter ações significativas na função mental e no comportamento (CARRILLO; BENITEZ, 2000; DEVENTER et al., 2011). Estudos apontam resultados positivos do uso de cafeína no auxílio do tratamento de doenças como mal de Parkinson, Alzheimer e dores neuropáticas, porém, com efeitos negativos na insônia, ansiedade e epilepsia (HIGDON; FREI, 2006; SEBASTIAO; RIBEIRO, 2009).

Um dos efeitos mais conhecidos da cafeína é a mudança nos padrões de sono, aumentando o estado de alerta e vigília, em grande parte devido a sua ação antagonista nos receptores de adenosina (LANDOLT et al., 1995; SALIN-PASCUAL et al., 2006; SEBASTIAO; RIBEIRO, 2009). Em pesquisas que analisaram o desempenho, diferentes ações foram relatadas a partir da suplementação com cafeína, como aumento do tempo até a fadiga, melhora na capacidade de trabalho, diminuição da percepção de esforço e dor, entre outros (ALTIMARI et al., 2006; ASTORINO; ROBERSON, 2010; DIAZ-LARA et al., 2016; GOLDSTEIN et al., 2010; SPRIET, 2014). Também parece exercer efeitos sobre a capacidade cognitiva, tempo de reação e memória após seu consumo agudo (MCLELLAN; CALDWELL; LIEBERMAN, 2016).

3.1.1. Formas de suplementação, doses e efeitos colaterais

O consumo estimado de cafeína no mundo é de 70 mg.kg⁻¹/pessoa, apresentando valores bem superiores, de 210 a 400 mg/dia, em diferentes países como Estados Unidos e Finlândia (FREDHOLM et al., 1999). Possui fontes naturais como os grãos de café e cacau, e as folhas de chá, além disso, outros diversos alimentos e bebidas industrializadas também possuem concentrações de cafeína (NAWROT et al., 2003). Alguns desses valores podem ser observados abaixo, na Tabela 1.

Tabela 1 - Conteúdo de cafeína em alimentos e bebidas.

TIPO	PREPARO	CONTEÚDO APROXIMADO DE CAFEÍNA
Café	Descafeinado	<5 mg / 150 ml
	Coado	60–130 mg/150 ml
	Instantâneo	50–70 mg/150 ml
Chá	Gelado	20-32 mg/150 ml
	Infusão	28-44 mg/150 ml
	Instantâneo	24-50 mg/150 ml
Chocolates	Bebida achocolatado	4 mg/180 ml
	Chocolate quente	4 mg/150 ml
	Chocolate ao leite	20 mg/100 g
Outros	Refrigerante Cola	15-24 mg/180 ml
	Refrigerante Cola diet	13-29 mg/180 ml
	Bebidas energéticas	20-30 mg/100 ml

Fonte: Fredholm et al. (1999) e Carrillo and Benitz (2002)

Diferentes meios de suplementação com cafeína têm sido aplicados nas pesquisas, como, na forma de café coado, café expresso, gomas, chás, bebidas energéticas, cápsulas na forma anidra e em diversos suplementos industrializados (CURATOLO; ROBERTSON, 1983; GOLDSTEIN et al., 2010; GRAHAM; HIBBERT; SATHASIVAM, 1998). Em geral, grande parte do consumo de cafeína na população é feita através do café, porém diferentes fatores podem modificar a quantidade de cafeína na sua produção, como por exemplo, o modo de preparo, tipo de grão, tempo de contato com a água e proporção café/água (MCCUSKER; GOLDBERGER; CONE, 2003). Devido à facilidade no controle das doses, ao tamanho reduzido, facilidade de ingestão, o uso da cafeína na forma anidra administrada em cápsulas se apresenta como uma das formas mais promissoras para a suplementação (SOKMEN et al., 2008). Além disso, quando administrada em cápsulas, a cafeína foi mais eficiente em aumentar o desempenho em comparação à suplementação com

café coado (GRAHAM; SPRIET, 1991). Porém em uma pesquisa realizada com exercícios com pesos, tanto a cafeína anidra como o café, se mostraram capazes de aumentar o desempenho (RICHARDSON; CLARKE, 2016).

Quando consumida de forma aguda por não usuários, geralmente induz efeitos colaterais, como aumento da pressão arterial, arritmias, diurese, elevação da acidose gástrica, entre outros sintomas (LEONARD; WATSON; MOHS, 1987). Se ingeridas em grandes doses e em períodos noturnos, sintomas como agitação, nervosismo e insônia podem ser apresentados (SOKMEN et al., 2008). Em indivíduos que consomem cafeína regularmente esses sinais nem sempre são apresentados, mas alguns sintomas podem ser exibidos quando o consumo é cessado, como a dor de cabeça, tontura e fraqueza (CARRILLO; BENITEZ, 2000; CURATOLO; ROBERTSON, 1983; SOKMEN et al., 2008). Fatores como consumo agudo, crônico, quantidades ingeridas e desenvolvimento de tolerância, influenciam os efeitos da suplementação com cafeína (LEONARD et al., 1987).

Nos estudos, uma grande variedade de doses tem sido aplicadas, geralmente variando de 2 a 10 mg.kg⁻¹ corporal. Em ciclistas experientes, o uso de diferentes doses de cafeína com 5, 9 e 13 mg.kg⁻¹, produziram aumento no tempo até exaustão com intensidade fixa de 80 % Wmax, porém o tempo não foi diferente entre as dosagens (JENKINS et al., 2008; PASHMAN et al., 1995). Graham e Spriet (1995) notaram um comportamento diferente no aumento do nível de cafeína plasmático com o consumo de 6 e 9 mg.kg⁻¹, porém sem diferenças nos níveis de paraxantina, o que pode indicar uma saturação do seu metabolismo hepático com doses adicionais. O consumo de 5 mg.kg⁻¹ reduziu os valores da PSE, causaram aumento na concentração de lactato e maiores níveis de potência em esforços de máxima intensidade (DOHERTY et al., 2004). Doses de 3 mg.kg⁻¹ corporal foram capazes de aumentar o desempenho e FC de ciclistas treinados, durante uma tarefa contra o relógio, porém sem alteração na PSE (DOHERTY et al., 2004). Apesar de dosagens de 4-6 mg.kg⁻¹ serem amplamente aplicadas, doses menores de 2 a 3 mg.kg⁻¹ demonstraram efeitos na capacidade de trabalho, porém este resultado foi obtido em exercícios prolongados (JENKINS et al., 2008).

3.1.2. Metabolismos e mecanismos de ação da cafeína

Após o consumo, a absorção da cafeína acontece de forma rápida no trato gastrointestinal em cerca 45 min, o seu pico de concentração plasmático fica evidente entre 30 a 60 min (ALTIMARI et al., 2006; ASTORINO; ROBERSON, 2010; SOKMEN et al., 2008). Possui uma meia vida de 3 a 4 horas, sendo metabolizada no fígado por ações enzimáticas, formando principalmente três compostos, a teofilina, teobromina e paraxantina (Figura 1) (KALOW; TANG, 1993). Aparentemente não há acúmulo de cafeína em nenhum órgão ou tecido específico, e devido sua propriedade hidrofóbica, transita facilmente através de membranas biológicas, distribuindo-se de forma rápida por todo organismo (CARRILLO; BENITEZ, 2000).

A maior parte da cafeína, cerca de 80% a 95%, é metabolizada em paraxantina pela isoforma do citocromo p450, o CYP1A2 (GRAHAM; HIBBERT; SATHASIVAM, 1998). As enzimas xantina oxidase e N-acetiltransferase também participam da regulação da metabolização da cafeína, onde diversos outros metabólitos podem ser formados a partir desses primeiros (FENSTER et al., 1998). Apenas de uma pequena parte (0,5 a 2,5%) da cafeína ingerida é excretada na urina e esses valores apresentam grande variação entre indivíduos, não refletindo de forma precisa a quantidade consumida (GRAHAM et al., 1998).

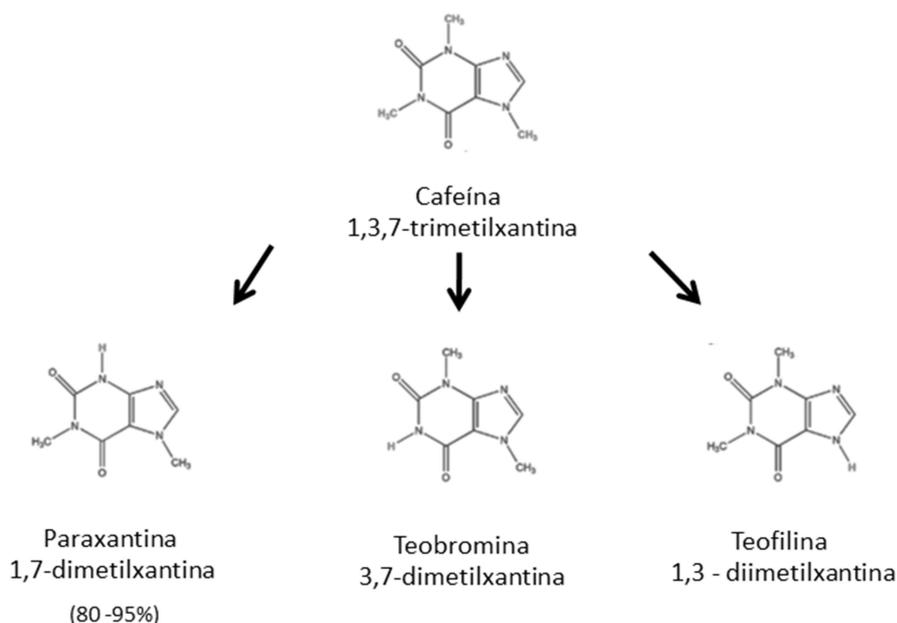


Figura 1. Principais compostos formados à partir da metabolização da cafeína (paraxantina, teobromina e teofilina)

Algumas ações dos metabólitos da cafeína são relatadas, como o aumento da diurese e vasodilatação pela teobromina, relaxamento do músculo liso dos brônquios pela teofilina e estimulação da lipólise pela paraxantina (ASTORINO; ROBERSON, 2010). A Teofilina parece ser algumas vezes mais potente que a cafeína na inibição de receptores de adenosina, enquanto paraxantina parece ter efeito similar (GRAHAM et al., 1998).

Foi proposto que a cafeína exerce efeitos centrais e periféricos de forma concomitante, e parece difícil determinar qual deles apresenta maior contribuição (SOUZA-JUNIOR et al., 2012). Para seus efeitos no desempenho, alguns mecanismos são propostos, como a inibição dos receptores de adenosina, a estimulação do sistema nervoso parassimpático, aumento da produção e ação de catecolaminas, assim como mudanças na percepção de esforço e de dor (ALTIMARI et al., 2006).

Grande parte de seus efeitos no SNC estão ligados ao fato da cafeína possuir estrutura similar à adenosina (Figura 2), ligando-se aos receptores A_1 e A_{2A} (DAVIS; GREEN, 2009). A ativação destes receptores pela adenosina desencadeia predominantemente ações inibitórias, como o aumento da percepção de dor, indução ao sono, redução da excitabilidade, entre outros (CARRILLO; BENITEZ, 2000). Devido a seu efeito antagonista quando ligada a estes receptores, a cafeína, exerce efeitos predominantemente estimulatórios (DAVIS; GREEN, 2009). Esses mecanismos poderiam explicar algumas ações sobre os parâmetros fisiológicos, como aumento da frequência cardíaca, pressão arterial, aumentos do lactato plasmático e maiores níveis de ácidos graxos livres no sangue, porém estes nem sempre são observados (PASMANN et al., 1995; SPRIET, 2014).

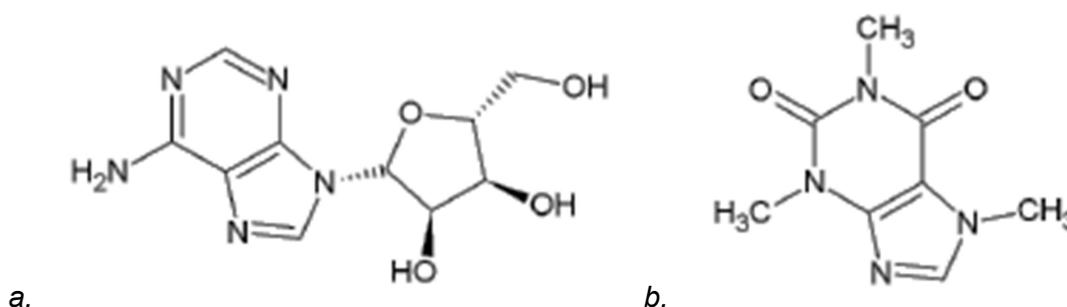


Figura 2. Estrutura química da (a)adenosina e (b) cafeína.

Outro mecanismo proposto é uma possível ação da cafeína sobre as fosfodiesterases, isso possibilitaria um aumento da concentração de adenosina monofosfato cíclico (AMPc), conseqüente ativação das fosforilases e aumento da mobilização de cálcio, o que estimularia a função muscular (GRAHAM; SPRIET, 1991; SPRIET, 2014). Porém altas doses seriam necessárias para que isso ocorra, em quantidades tóxicas para o organismo, devido a seu pequeno poder sobre as fosfodiesterases (DAVIS; GREEN, 2009). Uma das hipóteses para os seus efeitos, seria que a cafeína aumentaria a oxidação de lipídios, atenuando o consumo dos carboidratos, pelo favorecimento da mobilização de ácidos graxos livres (GRAHAM; SPRIET, 1991; SOUZA-JUNIOR et al., 2012). Também foi proposto que o um aumento da secreção de adrenalina após consumo de cafeína poderia aumentar o fluxo glicolítico (DAVIS; GREEN, 2009). Porém, no estudo realizado por Graham et al. (2000) não foram encontradas diferenças no metabolismo de lipídios e carboidratos, apesar das mudanças no desempenho.

Essas respostas a suplementação com cafeína parecem ser afetadas por diferentes fatores, sendo que pode ser observada uma grande variação nos resultados. O nível de treinamento parece influenciar a ação da cafeína, e foi hipotetizado que atletas treinados possuem maior sensibilidade a estes efeitos (DOHERTY; SMITH, 2005). Como no estudo de Collomp et al. (1992), que encontrou aumentos no desempenho após a suplementação aguda com cafeína em nadadores treinados, porém não obteve os mesmos resultados com nadadores destreinados.

Pode ser notado que existe uma grande diferença na resposta individual aos efeitos da cafeína, onde possivelmente as diferenças genéticas e habituação devido ao consumo regular podem ter influência (ATTWOOD; HIGGS; TERRY, 2007; JENKINS et al., 2008; JOSSE et al., 2012). Apesar disso, em consumidores regulares de cafeína com ingestão de cerca de 160 mg/dia, a suplementação com 4 mg.kg⁻¹ foi capaz de modificar os parâmetros da PSE e diminuir o tempo em provas contra o relógio (GRAHAM-PAULSON; PERRET; GOOSEY-TOLFREY, 2016). Irwin et al. (2011) observaram um efeito positivo da cafeína em consumidores regulares de café, com ou sem a remoção do seu uso em um período de 4 dias antecedentes ao teste.

3.1.3. Cafeína e exercício intermitente

A cafeína já esteve presente na lista de substâncias proibidas da Organização Mundial *Antidoping*, a qual permitia um nível abaixo de 15 µg/ml na urina (SPRIET, 2014). Porém em 2004 foi removida da lista de drogas proibidas e incluída a uma lista de substância sob monitoramento (WADA, 2010).

Apesar de bem aceita sua relação com os esportes de *endurance*, os resultados sobre as atividades intermitentes, de força e potência nem sempre são evidentes (ASTORINO; ROBERSON, 2010; GOLDSTEIN et al., 2010; SPRIET, 2014). No exercício intermitente de alta intensidade, além do número limitado de estudos, os resultados são controversos, enquanto algumas pesquisas mostram um aumento no desempenho, outras não foram capazes de demonstrar tais efeitos (LEE et al., 2011; SCHNEIKER et al., 2006; STUART et al., 2005; WELLINGTON et al., 2016).

Na literatura, múltiplas nomenclaturas são utilizadas para identificar os protocolos intermitentes, como *intermittent exercise (IE)*, *high intense interval training (HIIT)*, *high intense intermittent exercise (HIIE)*, *repeated sprint training (RST)* e *sprint interval training (SIT)* (TSCHAKERT; HOFMANN, 2013). Em estudos envolvendo esforços intermitentes máximos com curtos períodos de duração em ciclo ergômetro é comum a utilização dos termos *repeated sprints*, ou seja, *sprints* repetidos (GLAISTER, 2005; GLAISTER et al., 2005; HARBILI, 2015; LEE et al., 2011).

Os protocolos intermitentes são caracterizados por momentos relativamente breves de atividade, geralmente realizados em intensidade máxima ou próxima à máxima, intercaladas por momentos de recuperação, o que permite a manutenção dessa intensidade (GIBALA; GILLEN; PERCIVAL, 2014). Essa característica intermitente pode ser encontrada em uma diversidade de esportes como futebol, rúgbi, basquete, vôlei, esportes de combate, entre outros, porém com diferentes relações esforço/pausa (GLAISTER, 2005; PETERSEN et al., 2014; WELLINGTON et al., 2016).

No exercício intermitente o metabolismo energético é diretamente afetado pelo tempo de estímulo, determinando quais vias energéticas seriam mais ativadas, e o tempo de intervalo proposto, que pode permitir uma recuperação parcial ou total

dessas vias (GLAISTER et al., 2005). Nos esforços extremamente curtos há uma maior contribuição da CrP para ressíntese de ATP, mas com o aumento da duração do estímulo, a contribuição do sistema anaeróbio láctico aumenta, e a manutenção da intensidade depende da capacidade de tamponamento e do tempo de recuperação (TSCHAKERT; HOFMANN, 2013). Os períodos de recuperação influenciam diretamente a taxa de ressíntese das reservas de CrP, além disso, períodos maiores de recuperação permitem uma maior diminuição da concentração de lactato e íons de hidrogênio (TSCHAKERT; HOFMANN, 2013). A aplicação de intervalos extremamente curtos, que não permitam uma recuperação suficiente, aumentaria a contribuição do sistema oxidativo para ressíntese de ATP e diminuiriam o desempenho (GLAISTER et al., 2005).

Durante os intervalos, o sistema oxidativo pode ser ativado, a fim de recompor os estoques de oxigênio tecidual, ressintetizar os estoques de CrP, metabolizar o lactato e remover o acúmulo de fosfato inorgânico (GLAISTER, 2005). Por isso, o tempo de intervalo parece ter grande influência sobre a produção e manutenção de potência durante protocolos de exercício intermitente (GLAISTER et al., 2005). A recuperação ativa parece facilitar a oxidação do lactato, porém quando comparado a recuperação passiva, foi reportado um menor desempenho em *sprints* repetidos, ressíntese de CrP e oxigenação muscular (BUCHHEIT; LAURSEN, 2013). Apesar de períodos curtos de esforços até 10 s solicitarem predominantemente o sistema anaeróbio, quando repetido diversas vezes com intervalos que permitam somente uma recuperação parcial, há um aumento significativo da contribuição do sistema aeróbio e do consumo de oxigênio (BALSOM et al., 1992).

A suplementação com 5 mg.kg^{-1} foi capaz de melhorar o desempenho durante *sprints* únicos e múltiplos, em homens ativos, com aumento da frequência cardíaca e de lactato plasmático no pré e pós-teste (GLAISTER et al., 2008). O consumo de 250 mg de cafeína foi capaz de melhorar o tempo de nadadores treinados durante *sprints* de 100 m, porém sem efeito em indivíduos destreinados (COLLOMP et al., 1992). Em uma corrida de 1500 metros, a ingestão de 3 g de café com cafeína, diminuiu o tempo de prova em 4,2 s, quando em comparação a mesma quantidade de café descafeinado (WILES et al., 1992).

O uso de cafeína pode ocasionar em uma maior produção de lactato e aumento do pH intracelular, porém esses efeitos nem sempre são aparentes (ANSELME et al., 1992; COLLOMP et al., 1991; SANTOS RDE et al., 2013). Tanto

a suplementação aguda (1 dia) quanto a prolongada (5 dias) não foram eficazes na melhora do desempenho em um teste máximo em ciclo ergômetro, mas foram capazes de modificar as respostas das catecolaminas, assim como os níveis de lactato (COLLOMP et al., 1990b).

Em protocolos de alta intensidade em ciclo ergômetro, com duração de 15 a 30 s e grande exigência do sistema glicolítico, a cafeína parece não apresentar melhoras no desempenho em indivíduos destreinados (COLLOMP et al., 1991; GREER; MCLEAN; GRAHAM, 1998; GREER; MORALES; COLES, 2006). Porém, em exercícios intermitentes com maior dependência do sistema fosfagênico a cafeína tem demonstrado melhoras no desempenho (SOKMEN et al., 2008). Como relatado no estudo de Glaister et al. (2008), onde a ingestão de 5 mg.kg^{-1} de cafeína aumentou o desempenho nos 3 primeiros *sprints* em um protocolo de 12 *sprints* de 30 m com intervalos de 35 s. Parece que o período entre os esforços intermitentes também têm grande influência sobre o efeito da cafeína, pois quando comparados intervalos de 20 s e 90 s em um protocolo de 12 *sprints* de 4 s, a cafeína aumentou o desempenho somente no protocolo com intervalos maiores (LEE et al., 2011).

Nos exercícios de força os efeitos da cafeína aparentam estar ligados a sua influência periférica, no músculo esquelético, sendo capaz de aumentar o torque e o tempo da concentração isométrica em cargas submáximas (BELL; JACOBS; ELLERINGTON, 2001; KALMAR; CAFARELLI, 1999). Em atletas de Jiu-jitsu a suplementação com 3 mg.kg^{-1} de cafeína na forma anidra foi capaz de aumentar a força dinâmica, força isométrica e resistência de força (DIAZ-LARA et al., 2016). No estudo de Green et al. (2007) foi verificado um aumento na resistência muscular em exercício com membros inferiores, e apesar do aumento no número de repetições realizadas, não houve aumento da PSE (GREEN, J. et al., 2007). Já em testes de carga máxima e séries únicas até a falha com 60% de 1RM, a suplementação não se mostrou efetiva (ASTORINO; ROHMANN; FIRTH, 2008).

Apesar de alguns estudos promissores, a literatura apresenta resultados controversos, possivelmente devido a diferentes protocolos de exercício e suplementações aplicadas, além da influência do nível de treinamento e responsividade à cafeína dos avaliados. Sendo assim um maior número de pesquisas devem ser realizadas a fim de elucidar tais efeitos nos exercícios intermitentes.

3.1.4. Cafeína e percepção subjetiva de esforço

O entendimento da interação da cafeína e a PSE parece um pouco complexa, devido ao fato que os mecanismos que modulam a sensação de esforço percebido durante o exercício é multifatorial (ST CLAIR GIBSON et al., 2003). Mas tem sido postulado que os efeitos ocorrem através da ação no SNC como antagonista dos receptores de adenosina

A ingestão de cafeína parece atenuar as repostas de percepção subjetiva de esforço (PSE) e de dor, porém os resultados parecem depender do tipo e duração do esforço realizado (ASTORINO et al., 2011; BARATLOO et al., 2016; CALDWELL et al., 2016; MARIDAKIS et al., 2007; MYERS; SHAIKH; ZULLO, 1997). Além disso, outros fatores poderiam influenciar essa resposta, como o tempo de coleta da PSE, quantidade e tipo de suplementação e o consumo habitual de café ou suplementos que contenham cafeína (DOHERTY; SMITH, 2005). Porém mesmo em consumidores regulares de café, com ingestão de cerca de 160 mg/dia de cafeína, a suplementação com 4 mg.kg⁻¹ foi capaz de modificar os parâmetros da PSE durante o exercício contínuo (GRAHAM-PAULSON et al., 2016).

No estudo realizado por Green et al. (2016) o exercício era realizado a uma intensidade referente a um ponto fixo relativo a PSE, e maiores velocidades foram encontradas quando o grupo era suplementado com cafeína, demonstrando que esta pode modificar a sensação de esforço. Quando aplicado protocolos de exercício com intensidade fixa até a fadiga, a PSE tende a diminuir durante o exercício, porém sem diferenças ao final no grupo suplementado (DOHERTY et al., 2002). Nas atividades contra o relógio o efeito parece ser o mesmo, com diminuição da PSE durante os protocolos, porém sem diferenças ao final (ASTORINO et al., 2012; GRAHAM-PAULSON et al., 2016). As mudanças na PSE durante o exercício podem explicar parcialmente o aumento do desempenho em provas até exaustão, apesar das repostas serem iguais entre tratamentos ao final do protocolo (DOHERTY; SMITH, 2005).

Em exercícios intensos de curta duração, exercício com pesos e protocolos intermitentes, a cafeína parece não causar mudanças na PSE apesar de aumentar o desempenho (ASTORINO et al., 2011; DAVIS; GREEN, 2009; SCHNEIKER et al., 2006; WOOLF; BIDWELL; CARLSON, 2008). Uma maior intensidade aplicada poderia gerar uma maior resposta da PSE, o que parece não ocorrer em estímulos

intensos, possivelmente devido à atenuação da percepção em resposta à cafeína (DOHERTY; SMITH, 2005). Alguns autores acreditam que parte de seus efeitos ergogênicos poderiam ser explicados por suas ações na redução da PSE, o que permitiria com que os atletas imprimissem maiores intensidades e as sustentassem por maior tempo (DAVIS; GREEN, 2009).

3.1.5. Ácido úrico e Cafeína

O ácido úrico (AU) é o produto final da via de degradação das purinas de fontes exógenas e endógenas em humanos. Devido a seu pH, grande parte do ácido úrico no organismo é encontrado na forma de sal, urato (KHOSLA et al., 2005). A dieta determina a variação exógena de purinas, enquanto a variação endógena depende de fatores relacionados a metabolismo em tecidos como fígado, intestinos, rins e músculos (MAIUOLO et al., 2016). O aumento excessivo de AU é caracterizado como hiperuricemia, e está relacionada a vários fatores de riscos a saúde, como doenças cardiovasculares, renais e metabólicas (ROB et al., 2016). Esse desequilíbrio pode estar ligado a fatores metabólicos, como ao volume de ingestão que exceda sua excreção (BAE et al., 2015).

Seu metabolismo acontece principalmente pela ação da enzima xantina oxidase, na degradação da hipoxantina em xantina, e de xantina a ácido úrico (Figura 3) (MAIUOLO et al., 2016). O exercício pode modificar o metabolismo das purinas, aumentando a produção de ácido úrico, porém este fator pode ser influenciado pelo tipo de exercício (GREEN, H. J.; FRASER, 1988). O exercício pode aumentar o acúmulo de adenosina monofosfato (AMP) em momentos intensos. O AMP acumulado é convertido a inosina monofostato (IMP) e posteriormente desfosforilado a inosina, por fim, esta é degradada a hipoxantina e xantina pela xantina oxidase (MAIUOLO et al., 2016). No estudo de Green e Fraser (1988) a intensidade afeta o recrutamento de fibras predominantemente glicolíticas, aumenta a produção de lactato e formação de IMP, o que acarreta em maior produção de AU. Hellsten-Westring et al. (1991) também verificaram mudanças no comportamento da concentração de AU e hipoxantina em relação a duração do exercício, porém a mudança ocorreu tanto no exercício de curta quanto de longa duração.

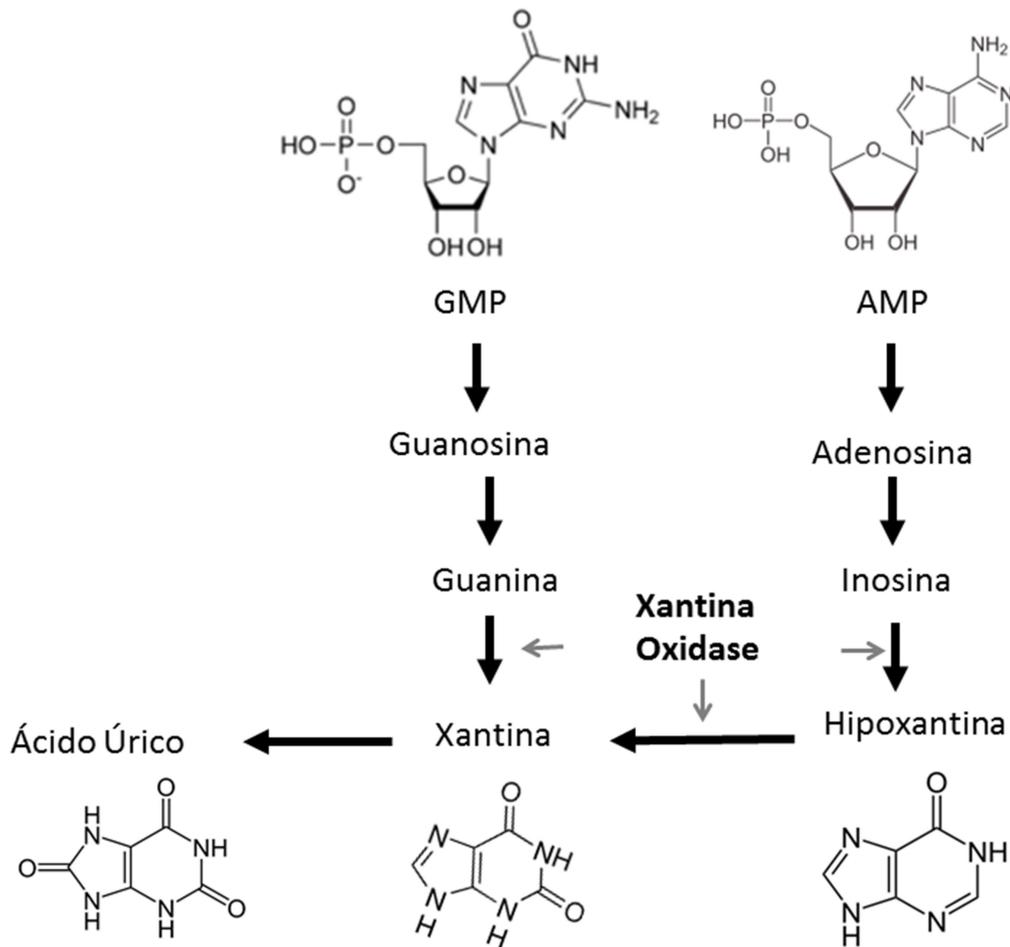


Figura 3. Representação esquemática do metabolismo das purinas em humanos. GMP, guanosina monofosfato; AMP, adenosina monofosfato.

Apesar do aumento crônico de AU ter efeitos deletérios a saúde e estar correlacionado a diversas doenças, este possui um papel importante no balanço redox, sendo um dos antioxidantes mais abundantes no plasma e na urina (AMES et al., 1981; PELUSO; RAGUZZINI, 2016). Esse mecanismo ocorre devido a sua poderosa ação como coletor de radicais livres em condições hidrofílicas, evitando assim a peroxidação lipídica de membranas (GLANTZOUNIS et al., 2005). Pessoa-Junior et al. (2014) relataram um aumento nas concentração de AU após o exercício intenso, porém de forma tempo dependente, e sugeriu esta ser uma segunda linha de defesa antioxidante limitando o ferro livre no plasma e sustentando uma maior capacidade antioxidante.

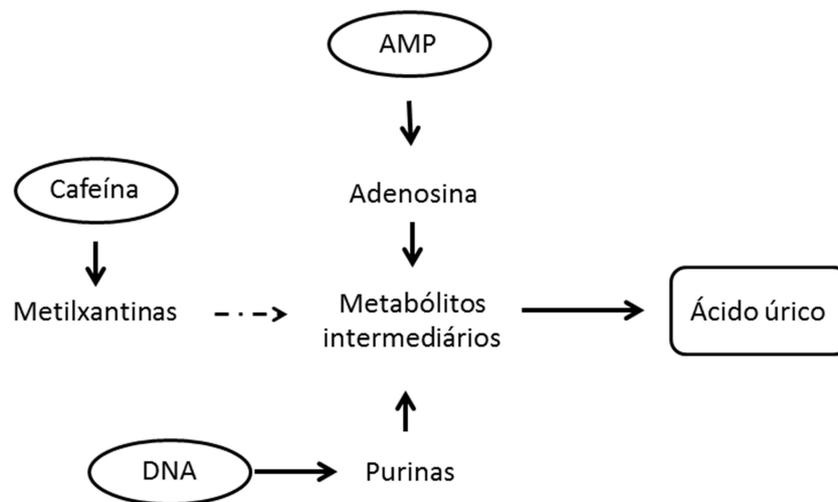


Figura 4. Possíveis mecanismos de regulação da formação de ácido úrico.

O consumo de café tem sido estudado devido a sua ação nos níveis de AU, com resultados inconclusivos, mostrando ser capaz tanto de aumentar e de reduzir suas concentrações (KIYOHARA et al., 1999; TENG, G. G. et al., 2013). A metabolização da cafeína pode formar, de forma secundária e terciária, diversos metabólitos do grupo das xantinas, podendo assim, afetar as ações da enzima xantina oxidase e formação de AU. Alguns estudos têm utilizado métodos de detecção da atividade de algumas enzimas, inclusive a xantina oxidase, a partir do consumo de cafeína, analisando a formação de seus metabólitos (BEGAS et al., 2007; LU et al., 1997).

3.1.6. Óxido nítrico e cafeína

O óxido nítrico (NO) é um gás sintetizado no organismo à partir da L-arginina, pela enzima óxido nítrico sintetase (NOs)(BODE-BOGER et al., 1994). Suas funções são muitas vezes contraditórias, tendo papéis importantes para regulação do metabolismo, porém em alguns casos e dependendo das suas concentrações, pode ter um papel nocivo ao organismo (PORRO et al., 2014). Por ser um radical livre, reage facilmente com outras moléculas, podendo formar espécies reativas de nitrogênio (ERNs) e causar possíveis danos (MAIORANA et al., 2003). Mas também oferece uma função protetora, nos macrófagos, com uma ação

tóxica a microrganismos invasores (LOWENSTEIN et al., 1996). Além disso, parece ter um papel central no desenvolvimento e progressão de doenças cardiovasculares (BODE-BOGER et al., 1994).

O exercício pode aumentar a produção de NO através no aumento do fluxo sanguíneo e tensão por cisalhamento, o que estimula a função da NOS endotelial (eNOS) (DI FRANCESCO MARINO et al., 2009). Esse aumento das concentrações de NO endotelial durante o exercício intenso oferece uma resposta hipotensiva, devido sua ação no relaxamento da musculatura lisa vascular (BODE-BOGER et al., 1994). Têm sido demonstrado que devido a essa resposta hipotensiva, o exercício de forma crônica, pode estimular a melhora da estrutura e função vascular (GREEN, D. J. et al., 2004; NIEBAUER; COOKE, 1996).

Devido a seu papel antagonista a adenosina, que possui função vasodilatadora, a cafeína é um potente vasoconstritor (ECHEVERRI et al., 2010). Foi demonstrado que uma inibição dos receptores de adenosina, pela teofilina, impediu o aumento de NO pelas células endoteliais arteriais (LI et al., 1995). Por ter ação sobre esses receptores, a cafeína poderia através de um mecanismo similar, impedir um aumento das concentrações de NO no plasma. Foi relatada uma correlação entre o consumo de bebidas compostas de cafeína, como bebidas energéticas, café e chás, e um aumento da pressão arterial (KURTZ et al., 2013; SHAH et al., 2016). Porém quando aplicada uma única dose com baixas concentrações, cerca de 80 mg, não foram observadas mudanças na pressão arterial, o que pode indicar um efeito dependente da dose utilizada (TENG, C. L. et al., 2016). Em alguns momentos a cafeína parece ter efeitos contraditórios, dependendo da estrutura onde age e do tempo de exposição, porém aparenta ter efeito predominantemente vasoconstritor (ECHEVERRI et al., 2010; UMEMURA et al., 2006).

3.1.7. Cafeína e estresse oxidativo

Uma única sessão de exercício intenso é capaz de induzir a superprodução de espécies reativas de oxigênio (EROs) e espécies reativas de nitrogênio (ERNs), e pode causar a depleção de antioxidantes endógenos, afetando assim o balanço redox (SOUZA-JUNIOR et al., 2014; ZERAATPISHE et al., 2015). Esse desequilíbrio caracterizado pelo aumento da produção de EROs e ERNs em quantidades que excedam as defesas antioxidantes é denominado estresse

oxidativo (JACKSON, M. J.; VASILAKI; MCARDLE, 2016; POWERS; RADAK; JI, 2016). Quando em doses moderadas, o estresse oxidativo gerado pelo exercício parece oferecer estímulos para a melhoria dos sistemas de defesa antioxidantes endógenas, ativando genes que codificam enzimas defensivas, fatores de transcrição e proteínas estruturais (BIRBEN et al., 2012; BLOOMER, 2008).

Porém em doses elevadas a produção de EROs e ERNs, e consequente estresse oxidativo, tem sido associado a mudanças nas estruturas do DNA, danos aos tecidos, estado de fadiga, aumento da apoptose, imunossupressão celular e queda no desempenho (BIRBEN et al., 2012; FISHER-WELLMAN; BLOOMER, 2009; PINHO et al., 2010; SOUZA JUNIOR; PEREIRA, 2008). Nos últimos anos os estudos sobre o estresse oxidativo induzido pelo exercício tem ganhado considerável atenção, por seus possíveis efeitos deletérios (FISHER-WELLMAN; BLOOMER, 2009).

Como as EROs e ERNs são altamente reativas, podem interagir e oxidar rapidamente outras biomoléculas como proteínas, lipídios e ácidos nucleicos, causando danos ou gerar outras espécies reativas (GEBICKI, 2016). Por apresentarem uma característica altamente instável, existe a dificuldade de mensurações diretas da produção das EROs e ERNs, por isso marcadores indiretos são utilizados, como a quantidade de glutatona reduzida e oxidada, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, a capacidade redutora de íons férricos, entre outros (GARLIPP-PICCHI et al., 2013; PINHO et al., 2010; SOUZA JR.; OLIVEIRA; PEREIRA, 2005).

A interação das EROs e ERNs com lipídeos de membrana ocorre de forma rápida, através da peroxidação lipídica, o que pode levar a alterações da fluidez e permeabilidade da membrana, perda de proteínas citosólicas e alterações da atividade enzimática (BLOOMER, 2008). O método TBARS tem sido amplamente utilizado para mensurar a formação de malondialdeído, um importante marcador de peroxidação lipídica (SELAMOGLU et al., 2000).

Foi demonstrando que a cafeína possui um poder antioxidante, funcionando como um coletor de EROs e ERNs, como o radical hidroxila (OH), inibindo o possível dano oxidativo (DEVASAGAYAM et al., 1996; SHI; DALAL; JAIN, 1991). Em modelos animais, mesmo em pequenas doses, a cafeína apresentou efeito protetor contra o estresse oxidativo, induzido por algumas patologias ou lesões hepáticas (LV et al., 2010; PAŞAOĞLU et al., 2011; PRASANTHI et al., 2010). No

estudo de Barcelos et al. (2014) a cafeína teve papel atenuador nos marcadores de estresse oxidativo no fígado de ratos treinados, sem apresentar modificações no desempenho.

Resultados contrários foram encontrados por Olcina et al. (2008), onde verificaram que suplementação com 5 mg.kg^{-1} de cafeína no exercício contínuo a 75% do VO_2max produziu aumento nos parâmetros de peroxidação lipídica sem aumento no desempenho. Onwuka e Erharbor (2012) relataram resultado similar, mostrando uma capacidade pró-oxidante da cafeína consumida na forma de chá ou café, pelo aumento da peroxidação lipídica no fígado e rins de ratos.

Porém em um protocolo de exercício incremental até exaustão, a ingestão de 5 mg.kg^{-1} de cafeína, não produziu efeito sobre a peroxidação lipídica e nas concentrações de vitaminas antioxidantes em homens jovens destreinados (OLCINA et al., 2006). Quando aplicada a um grupo de jogadoras de basquete durante um teste de *Wingate*, a cafeína não modificou os valores de peroxidação lipídica, capacidade antioxidante e marcadores de dano muscular (MAHDAVI et al., 2012).

A glutathiona reduzida (GSH) está presente em diversos tecidos e no plasma, possui funções biológicas variadas, entre elas, como um importante antioxidante (ELOKDA; NIELSEN, 2007). Reage com EROs e ERNs como o peróxido de hidrogênio, em reação catalisada pela enzima glutathiona peroxidase (GPX) formando glutathiona oxidada (GSSG) e água (GAMBELUNGHE et al., 2001). Diversos estudos têm utilizado como marcadores de estresse oxidativo a quantidade de GSH, GSSG e a razão entre GSH:GSSG (SEN, 1999). Após um exercício contínuo até exaustão tem sido observada uma diminuição GSH e aumento GSSG imediatamente após, sugerindo um aumento no estresse oxidativo, mas retornam a níveis normais após 1 hora de repouso (KERKSICK; WILLOUGHBY, 2005). Essa resposta dos níveis de glutathiona parece estar ligada diretamente a intensidade do exercício realizado, onde no exercício contínuo, maiores intensidades geraram maior queda nos valores de GSH (GAMBELUNGHE et al., 2001). Em ratos a suplementação com cafeína impediu o decréscimo de GSH no cristalino dos olhos, provavelmente por sua ação antioxidante, preservando suas concentrações (VARMA; HEGDE; KOVTUN, 2010).

As medidas de peroxidação lipídica parecem importantes para a mensuração de um possível dano, já as respostas antioxidantes poderiam dar uma visão sobre os sistemas de defesa antioxidantes do organismo. Além disso, parâmetros citados nos itens anteriores, óxido nítrico e ácido úrico, possuem papéis

na regulação do balanço redox e têm sido utilizados nos estudos que analisam o estresse oxidativo. Maiores estudos são necessários para o entendimento dos possíveis efeitos da cafeína sobre estes parâmetros de estresse oxidativo, tanto pelo consumo diário por fontes alimentares, como na suplementação aplicada ao exercício (CHEN; KOTANI, 2015; OLCINA et al., 2006)

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 TIPO DE PESQUISA

Este é um estudo de caráter quase experimental duplo-cego do tipo *crossover* (THOMAS; NELSON; SILVERMAN, 2007). Previamente ao seu início, o presente estudo obteve a aprovação do comitê de ética em Pesquisa da Universidade Federal do Paraná, nº 1.726.299. Todos os participantes aceitaram fazer parte do estudo de forma voluntária e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (Apêndice 1). As coletas foram realizadas no laboratório de fisiológica da Pontifícia Universidade Católica do Paraná.

3.2 PARTICIPANTES

Foram recrutados quinze homens saudáveis com mais de um ano de experiência em atividades intermitentes de alta intensidade. Destes quinze participantes, doze completaram todos os procedimentos do estudo e três decidiram abandonar a pesquisa alegando motivos pessoais. Os participantes que completaram todos os procedimentos tinham as seguintes características: $26,3 \pm 3,7$ anos, $177,5 \pm 6,0$ cm de altura, $80,7 \pm 7,6$ kg de massa corporal, $14,4 \pm 5,9$ % de gordura corporal e potência máxima relativa no teste de *Wingate* de $11,3 \pm 0,9$ W/kg. Os valores potência máxima relativa são comparáveis aos encontrados em triatletas ($11,3 \pm 1,3$), ciclistas de *endurance* ($12,4 \pm 2,3$) e atletas de luta ($11,4 \pm 0,5$) (ARSLAN; ARAS, 2016; DEMIRKAN et al., 2014; HUBNER-WOZNIAK et al., 2004). O que em comparação com os dados dos encontrados, pode configurar o estado de treinamento dos praticantes recrutados como treinados.

3.2.1 Recrutamento

O recrutamento ocorreu por conveniência, em academias que empregam a metodologia CrossFit® na cidade de Curitiba e região metropolitana, no estado do Paraná. Após consentimento dos responsáveis pelos estabelecimentos, foram apresentados aos participantes todos os procedimentos que seriam realizados,

assim como possíveis riscos e benefícios do estudo. Aqueles que decidiram participar de forma voluntária receberam e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice 1).

3.2.2 Critérios de inclusão e exclusão

Foram selecionados homens adultos saudáveis com ao menos um ano de treinamento em academias que empregassem a metodologia CrossFit®, com uma frequência mínima de 3 sessões de treinos por semana. Foram excluídos do estudo os fumantes e todos aqueles que fizeram uso de medicamentos, anabólicos androgênicos ou drogas ilícitas, durante o período da pesquisa ou 6 meses antecedentes a ela. Também foram excluídos todos participantes com alguma lesão ou limitação médica que pudesse comprometer sua saúde durante os testes.

Os participantes foram selecionados em academias que empregassem a metodologia CrossFit®, pois esta utiliza protocolos de caráter intermitente em alta intensidade em seus treinamentos.

Foram excluídos do estudo os participantes com histórico de suplementos voltados ao aumento de desempenho como creatina, beta-alanina, cafeína e pré-treinos, ou medicamentos como antibióticos, anti-inflamatórios ou qualquer medicamento de uso crônico, no mês antecedente da pesquisa. Os participantes foram orientados a não consumir tais substâncias durante o período de testes.

3.3 PROCEDIMENTOS DE COLETA DE DADOS

No primeiro dia, antes da realização de qualquer teste, os participantes responderam o questionário *Physical Activity Readiness Questionnaire* (PAR-Q) (Anexo 1), assim como o termo de consentimento livre esclarecido (TCLE) (Apêndice1).

As coletas ocorreram no mesmo dia da semana e em mesmo horário, no período da tarde, agendadas previamente com cada participante, onde cada um destes, realizaram 3 visitas ao laboratório (T1, T2 e T3), representadas nas figuras 5 e 6. Os participantes foram orientados a se alimentar 2 horas antes da visita. As visitas foram separadas por 7 dias, esse período foi empregado para o tempo de *wash-out*. Em uma primeira visita (T1), figura 5, os seguintes dados para

caracterização dos participantes foram coletados: altura, massa corporal e percentual de gordura. Foram aplicados questionários para obter as informações sobre a prática de exercícios, consumo de suplementos e medicamentos (Apêndice 2), consumo de bebidas e alimentos que contenham cafeína (Apêndice 3).

Após os procedimentos descritos acima, foi aplicado o teste de *Wingate* (BAR-OR, 1987) para mensurar a potência anaeróbia de cada participante. A seguir os participantes permaneceram sentados em repouso durante 20 min, e logo após, realizaram o Teste de *sprints* repetidos para familiarização do protocolo. Os testes estão especificados de forma detalhada no próximo tópico.

Informações sobre os hábitos alimentares foram coletadas através de um recordatório alimentar de 24 horas (Anexo 2). Cada participante recebeu uma cópia do documento, e foram instruídos a reproduzir os hábitos nas visitas seguintes (T2 e T3). Todos os participantes receberam uma lista de alimentos, bebidas e suplementos que deveriam ser evitados 24 h antes das visitas (Apêndice 4) e foram orientados a não praticar atividades intensas nas 48 h antecedentes aos dias T2 e T3.

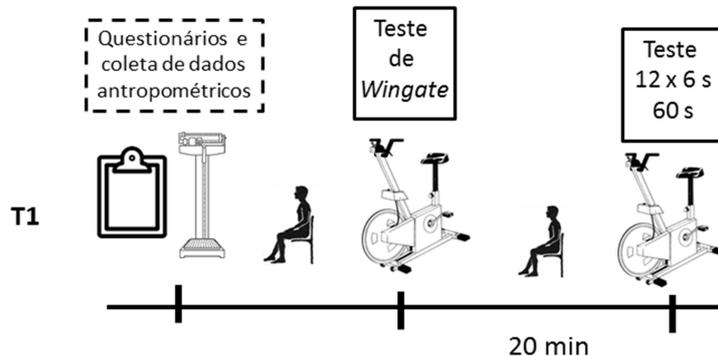


Figura 5. Desenho esquemático da ordem dos procedimentos realizados no momento T1 (primeira visita ao laboratório).

As duas visitas seguintes (T2 e T3) seguiram uma ordem de procedimentos iguais, com diferença somente da suplementação administrada, representados na figura 6. Todos participantes receberam em uma das visitas a suplementação com cafeína (CAF) e em outra a suplementação com placebo (PLA), e essa distribuição foi realizada de forma aleatória entre os dias. A distribuição foi realizada por um terceiro pesquisador, o qual não participou das coletas de dados, de forma que tanto os participantes, quanto os pesquisadores que aplicaram os testes, não tinham conhecimento dessa variável. Na chegada ao laboratório, os participantes

permaneceram 5 min sentados em repouso, em seguida foram coletados dados de pressão arterial (PA), frequência cardíaca (FC) e glicemia (GL). Após esta primeira coleta, os participantes ingeriram um comprimido gelatinoso contendo 6 mg.kg^{-1} corporal de cafeína anidra ou placebo, juntamente com 250 ml de água e permaneceram 50 min sentados em repouso, até o início do aquecimento.

As medidas de PA, FC e GL, foram repetidas antes do início do aquecimento, ao final do teste e 60 min após o teste. O aquecimento foi composto de 3 mins a 50 rpm, seguido por 2 *sprints* de 6 s separados por 60 s de intervalo, ambos sem adição de carga. Após o tempo em repouso e o aquecimento, cerca de 60 min após a ingestão do suplemento, o protocolo de *sprints* repetidos foi aplicado. Durante o protocolo foi coletada a percepção subjetiva de esforço (PSE) ao final de cada *sprint*.

Foram realizadas coletadas de sangue em 3 tempos distintos, antes do aquecimento e protocolo exercício (Pré), 5 min após (Pós5) e 60 min após seu término (Pós60). Ao final do teste os participantes receberam um questionário (Apêndice 5) para identificação do suplemento utilizado, onde poderiam optar por três respostas: cafeína, placebo e “não sei”.

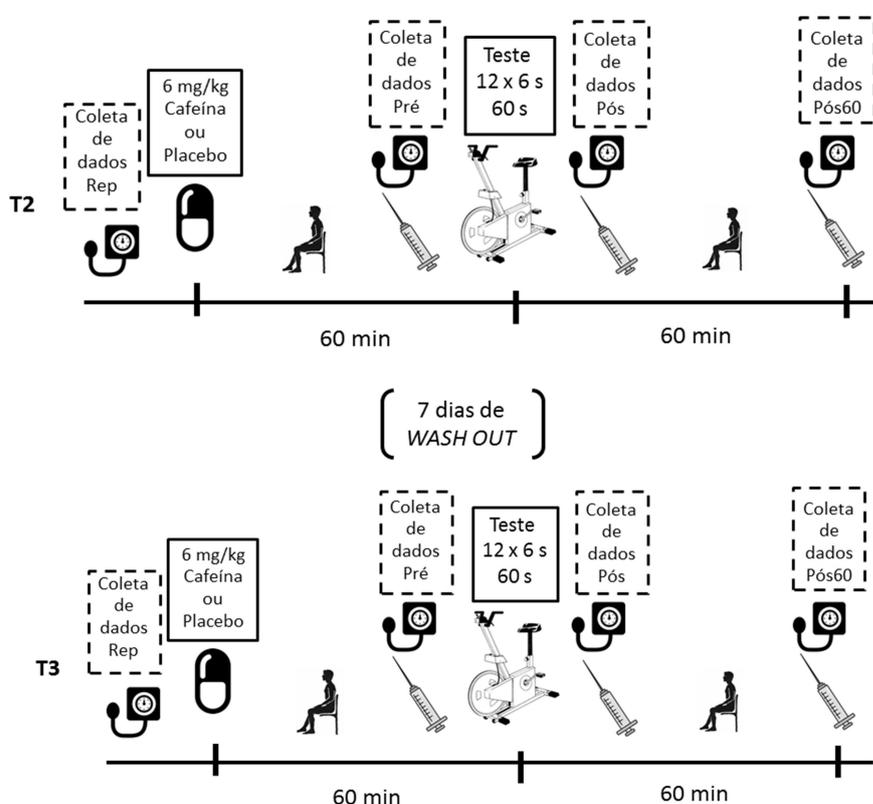


Figura 6. Desenho esquemático da ordem dos procedimentos nos momentos em T2 e T3 (segunda e terceira visita ao laboratório).

3.4 INSTRUMENTOS E PROCEDIMENTOS

3.4.1 Suplementação com cafeína ou placebo

A produção das cápsulas gelatinosas foi realizada na farmácia de manipulação Formédica® (Curitiba, Brasil). As cápsulas gelatinosas apresentavam mesmo peso e aparência, com diferença somente no conteúdo. A quantidade foi ajustada de acordo com o peso de cada participante, sendo 6 mg.kg^{-1} . O comprimido era composto por cafeína em sua forma anidra, com 99% de pureza (APENDICE 4) ou por um substancia placebo (excipiente). Foi adotada a forma anidra por sua fácil ingestão e controle de dose (SOKMEN et al., 2008). O placebo continha substâncias excipientes, sendo composto de celulose microcristalina, aerosil e estearato de magnésio. Um terceiro pesquisador foi encarregado de distribuir a suplementação de forma aleatória nos dias de teste dos participantes, onde cada um deles, em dias distintos, realizou o teste após o consumo tanto de cafeína ou placebo.

3.4.2 Medidas de parâmetros fisiológicos

A frequência cardíaca (FC) e pressão arterial (PA) foram mensuradas através do monitor de pressão arterial automático de pulso Omron HEM 6111 (Omron®, Brasil), com os participantes na posição sentados. As medidas de glicemia foram realizadas com o glicosímetro G-TECH Free (Accumed®, Brasil), após a assepsia do local com álcool e algodão, era utilizada uma lanceta descartável e o sangue coletado da ponta do dedo indicador.

3.4.3 Teste de potência anaeróbia máxima

No teste de *Wingate* (BAR-OR, 1987) foi utilizado o ciclo ergômetro Biotec 2100 (Cefise, biotecnologia esportiva), conectado a um computador com o software (Ergometric 6.0) para medida dos parâmetros de desempenho. Foram realizados ajustes no ciclo ergômetro de acordo com altura de cada participante. O protocolo iniciou com 3 min de aquecimento a 50 rpm sem adição de carga, seguido por 1 minuto de recuperação. Ao final do tempo de recuperação os atletas realizaram um esforço máximo por 30 s. Durante o esforço máximo foi utilizada uma carga

correspondente a 7,5 % da massa corporal total de cada participante. Estes foram verbalmente motivados pelos avaliadores durante todo o teste, para que se esforçassem o máximo possível até seu término.

3.4.4 Teste de *sprints* repetidos em ciclo ergômetro

Para este teste também foi utilizado o ciclo ergômetro Biotec 2100 (Cefise, biotecnologia esportiva) e software (Ergometric 6.0). A carga utilizada foi a mesma do teste de *Wingate*, sendo correspondente a 7,5 % da massa corporal total de cada participante (BAR-OR, 1987).

Antes da aplicação do teste foi realizado um aquecimento de 3 min a 50 rpm, seguido por dois *sprints* em máxima velocidade, separados por 1 min de recuperação passiva. Ambos os exercícios foram realizados sem adição de carga. Os *sprints* sem carga foram realizados para uma pré-ativação e para que estes se preparassem para o teste de *sprints* repetidos em ciclo ergômetro como empregado por Lee et al.(2011).

O teste consistiu em 12 *sprints* máximos com 6 s de duração separados por 60 s de recuperação passiva (razão esforço/pausa 1:10). Esse período de esforço foi utilizado por solicitar a via da creatina fosfato e glicólise anaeróbia (GLAISTER et al., 2005).

Em cada sprint foram coletados dados de PPr e PMr analisados através do software Ergometric 6.0. Os participantes foram orientados a permanecer sentados, a fim de evitar contribuição de outros grupos musculares durante os *sprints*. Durante todo o teste os participantes foram verbalmente motivados para que realizassem esforço máximo durante cada um dos *sprints*.

3.4.5 Percepção subjetiva de esforço

Foi utilizada a versão em português da escala OMNI-Ciclismo (Anexo 3), que consiste em uma escala numérica de 1 a 10 (SILVA et al., 2011). A escala foi previamente ancorada em todos os participantes nas visitas preliminares e foi aplicada sempre pelo mesmo pesquisador. Após cada *sprint* realizado no teste intermitente a escala era apresentada para sua visualização e o valor indicado pelo participante era anotado.

3.4.6 Controle do consumo alimentar, consumo de cafeína e atividade física

Com o intuito de controlar a influência da alimentação nos testes de desempenho, os atletas foram instruídos a manter sua alimentação habitual durante a semana, e que reproduzirem a mesma alimentação nos momentos que precediam os testes. A verificação do consumo alimentar foi realizada com o método do recordatório de 24 horas (R24h) (Anexo 2). Uma cópia dos R24h foi entregue aos participantes, para que reproduzissem os hábitos nos períodos anteriores aos experimentos, também foi fornecida uma lista de bebidas e alimentos que contêm cafeína (Apêndice 4), e estes deveriam ser evitados nas 24h que antecedessem os testes. Os participantes também preencheram um questionário sobre a prática de atividade física e uso de suplementos alimentares (Apêndice 2), e sobre os hábitos de consumo de alimentos que sejam compostos por cafeína (Apêndice 3).

3.4.7 Antropometria e composição corporal

As coletas foram realizadas no laboratório de Fisiologia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná. A massa corporal foi aferida com a balança Filizola com precisão de 0,1 kg e a estatura com o estadiômetro portátil Sanny com precisão de 0,1 cm. As dobras cutâneas foram sempre aferidas pelo mesmo avaliador, utilizando o adipômetro Cerscorf®, com pressão de 10 g/mm e precisão de 0,1 mm. A densidade corporal (DC) foi calculada por meio da equação de sete dobras (dobra peitoral + dobra axilar média + dobra tricipital + dobra subescapular + dobra abdominal + dobra supra ilíaca + dobra da coxa) de Jackson e Pollock (1978), expressa na Equação 1. O percentual de gordura foi calculado utilizando-se a equação de Siri (1961), expressa na Equação 2.

$$\text{Equação 1. } DC = 1,112 - 0,00043499 \times (\sum \text{ sete dobras}) + 0,00000055 \times (\sum \text{ sete dobras})^2 - 0,00028826 \times \text{idade.}$$

$$\text{Equação 2. Percentual de gordura} = 495/DC - 450$$

3.4.8 Coleta de material biológico

As amostras de sangue foram captadas da veia localizada na região do antebraço, através de kits de Vacutainer preparados com o anticoagulante EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético), para evitar contaminação adicional de espécies ferrosas. Imediatamente após a coleta, o material sanguíneo foi centrifugado (4000 rpm, RT, 10min) para isolamento do plasma e este foi armazenado a -80°C até o momento de suas análises.

As amostras foram transportadas da UFPR para a UNICSUL, de acordo com os procedimentos adotados pela Portaria nº 1.353 de 13 de junho de 2011, do Ministério da Saúde, Capítulo II, Seção V, Anexo IX.

Todas as análises foram realizadas por métodos espectrofotométricos em poços de 250 µL através de leitor de microplacas (SpectraMax M5; Molecular Devices, Sunnyvale, CA USA) no Instituto de Ciências da Atividade Física e do Esporte (ICAFE), Universidade Cruzeiro do Sul/São Paulo. Essa técnica permite a diminuição dos gastos com reagentes, acelerar a obtenção de dados e melhorar o aproveitamento das amostras (uma mesma amostra para várias análises).

3.4.9 Determinação do ácido úrico (AU)

A quantidade de AU no soro foi determinada utilizando kit específico (Biotécnica, Brasil) modificado. Neste método, o ácido úrico da amostra sofre a ação da uricase, na presença de oxigênio, produzindo alantoina e peróxido de hidrogênio. Este, em presença de um reagente fenólico e de 4-aminoantipirina, sofre a ação da peroxidase produzindo um composto rosa (quinonimina) com máximo de absorção em 505 nm (ELIN; JOHNSON; CHESLER, 1982). A intensidade da cor é proporcional à concentração de ácido úrico na amostra.

3.4.10 Determinação de óxido nítrico (NO)

A dosagem de nitritos decompostos do NO foi realizada pelo método de Griess. A solução (V/V) tem 0,1% de N-(1-naftil)etileno diamino dihidroclorido em água destilada e 1% de sulfonamida em ácido fosfórico 5%. A leitura é realizada 1:1

plasma/reagente de Griess e a curva padrão foi realizada com 0,2M de nitrito de sódio (GREEN, L. C. et al., 1982).

3.4.11 Determinação de glutathiona reduzida (GSH)

As concentrações plasmáticas de GSH foram determinadas de acordo com Rahman et al. (2007). Neste método, os grupos tiólicos livres reagem com o ácido 5,5'-dinitrobenzóico, para liberar um cromóforo de cor amarelada que é detectado fotometricamente a 412 nm. A dosagem de GSH total é realizada pela prévia redução completa do conteúdo de GSSG com 2-vinilpiridina, seguida de neutralização com trietanolamina.

3.4.12 Determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbiturico (TBARS)

Foi realizado o clássico teste TBARS, por análise espectrofotométrica, para avaliar índice de peroxidação lipídica no plasma (FRAGA; LEIBOVITZ; TAPPEL, 1988). Aos volumes de amostra foram adicionados 20 µL de solução 0,4% de butil-hidroxitolueno em etanol – para bloqueio da progressão das reações oxidativas – e foram imediatamente armazenados em microtubos eppendorf e no freezer a -80°C para posteriores análises de TBARS utilizando uma curva-padrão com 1,1',2,2'-tetróxipropano como referência. A quantificação de TBARS foi realizada com 200 µL de amostra, os quais foram misturados com 500 µL de solução 0,375% de ácido tiobarbitúrico em 0,25 M ácido clorídrico e 2% Triton X-100. A mistura foi incubada a 100° C por 15 min e, após atingir a temperatura ambiente, a absorbância da solução foi medida a 535 nm.

3.5 ANÁLISE DE DADOS

Todos os valores estão expressos em média e desvio padrão (DP). Foi realizado o teste de normalidade de *Shapiro-Wilk* cuja hipótese nula foi retida. Todos os dados foram analisados através de uma ANOVA de medidas repetidas e foi empregado o *post hoc* de *Bonferroni*. Foi utilizando o software SPSS® (versão 22.0) e os gráficos foram plotados através do software Graphpad Prisma® (versão 7.02). Para determinar a magnitude dos achados, o efeito tamanho (Diferença entre os testes do grupo CAF e grupo PLA divididas pelo DV do grupo PLA) foi calculado para os PMr e PPr dos sprints, e a escala proposta por Rhea (2004) foi utilizado para determinar a magnitude. A significância foi estabelecida em $P < 0,05$.

4 RESULTADOS

São apresentados na Tabela 1 os dados correspondentes à média \pm desvio padrão (DP) da idade, massa corporal, percentual de gordura e potência máxima por kg corporal no teste de *Wingate*.

Tabela 2 – Características dos participantes (n=12)

VARIÁVEIS	MÉDIA \pm DP
Idade (anos)	26,3 \pm 3,7
Massa corporal (kg)	80,7 \pm 7,6
Altura (cm)	177,5 \pm 6,0
Percentual de gordura (%)	14,4 \pm 5,9
Potência máxima por kg corporal no teste de <i>Wingate</i> (W/kg)	11,3 \pm 0,9

*Os resultados são apresentados em média e desvio padrão (DP)

Na Tabela 2 estão descritos os valores médios \pm DP do consumo estimado de cafeína dos participantes.

Tabela 3 - Consumo estimado de cafeína

VARIÁVEIS	MÉDIA \pm DP
Consumo estimado de cafeína (mg)	195 \pm 45,2
Consumo estimado de cafeína por kg corporal (mg.kg ⁻¹)	2,4 \pm 0,5

*Os resultados são apresentados em média e desvio padrão (DP)

Dos 12 participantes, 4 foram capazes de identificar corretamente o momento que utilizaram a cafeína, sendo que 5 não conseguiram identificar e 3 optaram de forma errada. No momento placebo, 6 indicaram de forma correta, 4 não conseguiram identificar e 3 optaram de forma errada. Três participantes identificaram o suplemento em ambos os dias de teste.

Foram utilizados os valores de potência pico relativa (PPr) e potência média relativa (PMr) de cada um dos 12 *sprints*. Os valores estão apresentados em média de cada *sprint* para ambos os tratamentos, cafeína e placebo, nos gráficos a seguir. Os valores PPr, estão apresentados no gráfico 1, a média do desempenho nos *sprints* não apresentou diferenças significativas entre tratamentos ($F = 0,96$, $p = 0,34$,

$\eta^2 = 0,08$). Porém apresentou diferença entre os *sprints* ($F = 17,193$; $p < 0,001$; $\eta^2 = 0,61$) e houve uma interação significativa entre tratamento e *sprints* ($F = 2,52$; $p = 0,02$; $\eta^2 = 0,26$), onde o *sprint* 1 foi significativamente mais rápido para o grupo CAF ($p = 0,016$). Para os valores calculados de efeito tamanho, os primeiros quatro *sprints* obtiveram um efeito considerado pequeno, os demais obtiveram um valor categorizado como trivial segundo a escala proposta por Rhea (RHEA, 2004), para indivíduos recreacionalmente treinados (1 a 5 anos de treinamento).

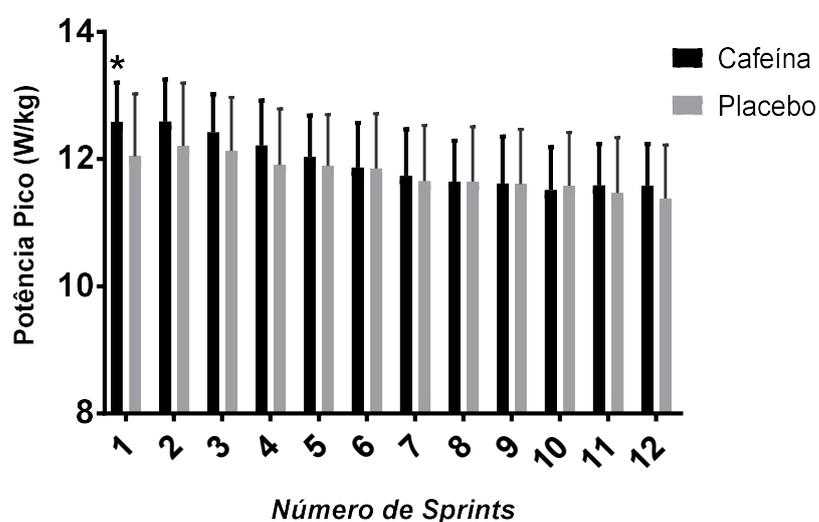


Gráfico 1 – Média da potência pico relativa ao peso corporal em cada *sprint* para as condições placebo e cafeína. *Diferente de PLA no *sprint* 1 ($p = 0,016$).

Para PMr, gráfico 2, não foram encontradas diferenças entre os tratamentos ($F = 1,57$, $p = 0,23$; $\eta^2 = 0,125$), porém para os *sprints* foi encontrada uma diferença estatística ($F = 11,93$, $p < 0,001$ $\eta^2 = 0,52$). Também foi encontrada uma interação significativa entre tratamento e *sprints* ($F = 2,50$, $p = 0,007$; $\eta^2 = 0,185$), onde CAF foi significativamente maior que PLA no *sprint* 1 ($p = 0,019$). Para os valores calculados de efeito tamanho, o primeiro *sprint* obteve um efeito considerado médio, os sprints 2, 3, 5 e 6 obtiveram um efeito considerado pequeno, enquanto os demais apresentaram um efeito trivial, segundo a escala proposta por Rhea (RHEA, 2004), para indivíduos recreacionalmente treinados (1 a 5 anos de treinamento).

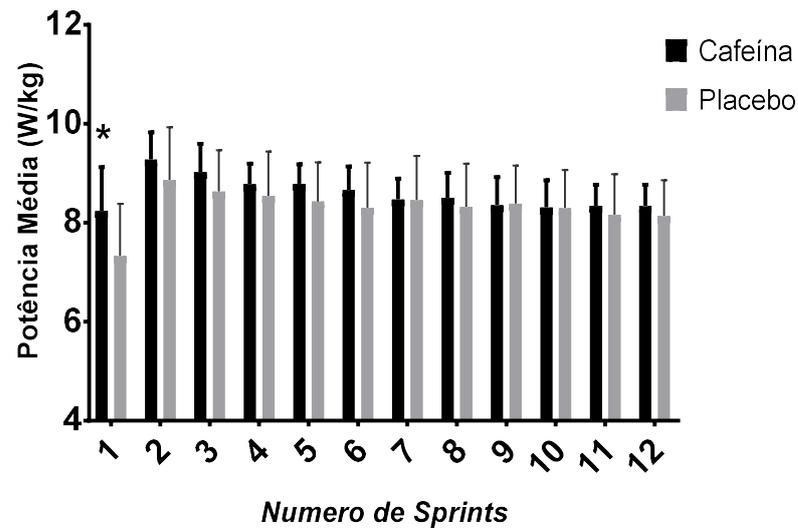


Gráfico 2 – Média da potência média relativa ao peso corporal em cada *sprint* para as condições placebo e cafeína.*Diferente de PLA no *sprint* 1 ($p = 0,019$).

Para os valores médios de percepção subjetiva de esforço (PSE), gráfico 3, não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos ($F = 1,03$; $p = 0,33$; $\eta^2 = 0,086$), mas foram encontradas diferenças entre os *sprints* ($F = 170,07$; $p < 0,001$; $\eta^2 = 0,93$). Não foi encontrada uma interação significativa ($F = 0,54$; $p = 0,64$; $\eta^2 = 0,047$).

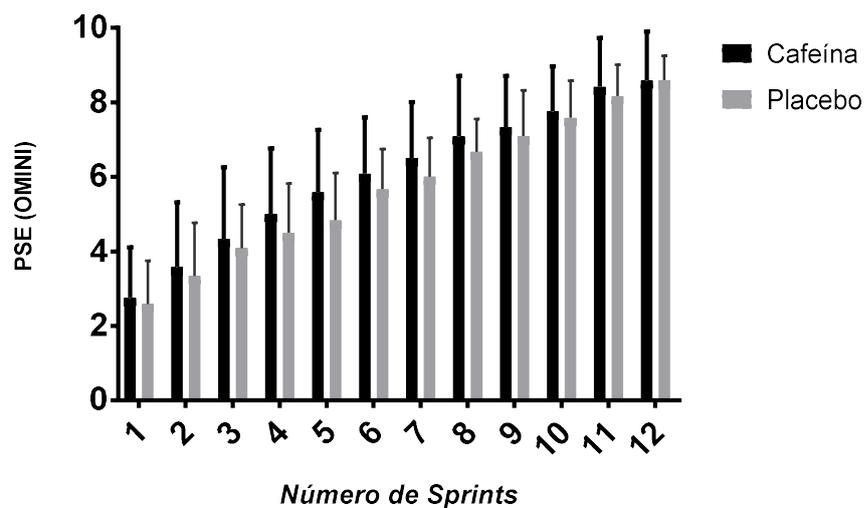


Gráfico 3 – Média de percepção subjetiva de esforço (PSE) após cada *sprint* realizados para ambos os tratamentos

Os parâmetros fisiológicos de frequência cardíaca (FC), pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD) e glicemia (GL) são apresentados nos gráficos a seguir. Foram medidas em quatro momentos: em repouso (Rep), antes do exercício (Pré), imediatamente após o exercício (Pós) e uma hora após o exercício (Pós60). O gráfico 4 apresenta os dados FC, onde não foram encontradas diferenças entre tratamentos ($F = 0,69$; $p = 0,42$; $\eta^2 = 0,06$), com diferenças entre os momentos de coletas ($F = 54,19$; $p < 0,001$; $\eta^2 = 0,83$). Não houve interação significativa entre os tratamentos e os momentos ($F = 3,14$; $p = 0,08$; $\eta^2 = 0,22$). Foram encontradas diferenças entre os momentos, sendo que o momento Pós foi maior que os demais ($p < 0,05$) e o momento Pós60 foi maior que os momentos Rep e Pré ($p < 0,05$).

Para os valores médios de PAS não foram encontradas diferenças entre tratamentos ($F = 0,012$; $p = 0,91$; $\eta^2 = 0,001$) e entre os momentos ($F = 3,70$; $p = 0,057$; $\eta^2 = 0,252$). Também não foi encontrada uma interação significativa entre os tratamentos e momentos ($F = 2,25$; $p = 0,10$; $\eta^2 = 0,519$).

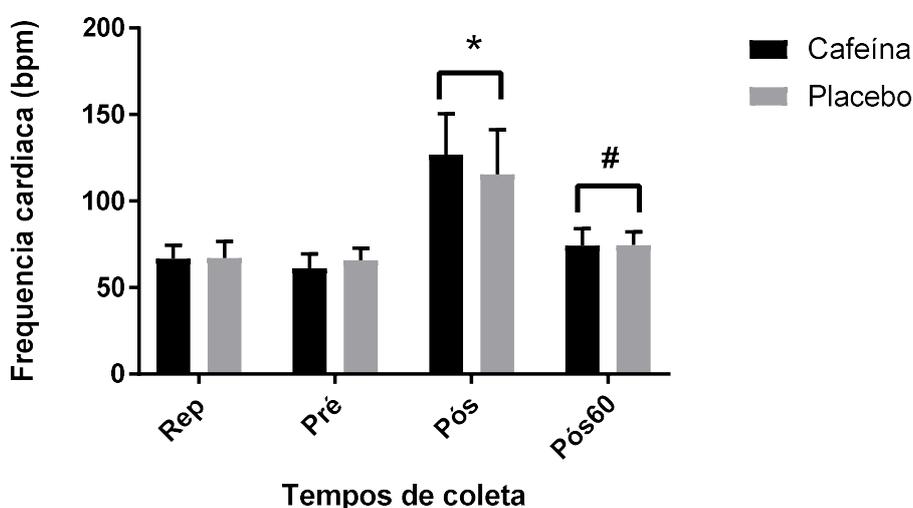


Gráfico 4 – Média de frequência cardíaca em repouso (Rep), antes do exercício (Pré), imediatamente após o exercício (Pós) e uma hora após o exercício (Pós60) para as condições placebo e cafeína. *Diferente de Rep, Pré e Pós60 ($p < 0,05$). #Diferente dos momentos Rep, Pré e Pós ($p < 0,05$).

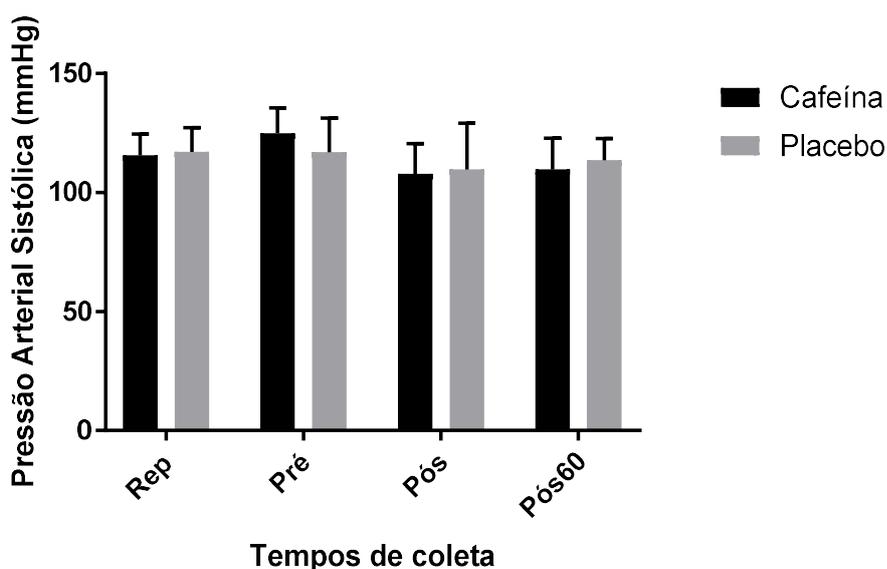


Gráfico 5 – Média de pressão arterial sistólica em repouso (Rep), antes do exercício (Pré), imediatamente após o exercício (Pós) e uma hora após o exercício (Pós60) para as condições placebo e cafeína.

No gráfico 6 são apresentados os valores médios de PAD, onde não foram encontradas diferenças entre tratamentos ($F = 0,82$; $p = 0,38$; $\eta^2 = 0,07$). Já entre os momentos, foram encontradas diferenças significativas ($F = 5,56$; $p = 0,003$; $\eta^2 = 0,34$). Não foi encontrada uma interação entre os tratamentos e momentos ($F = 1,13$; $p = 0,35$; $\eta^2 = 0,09$). A diferença entre momentos pode ser observada com um menor valor no momento Pós quando comparado ao momento Pré ($p = 0,03$).

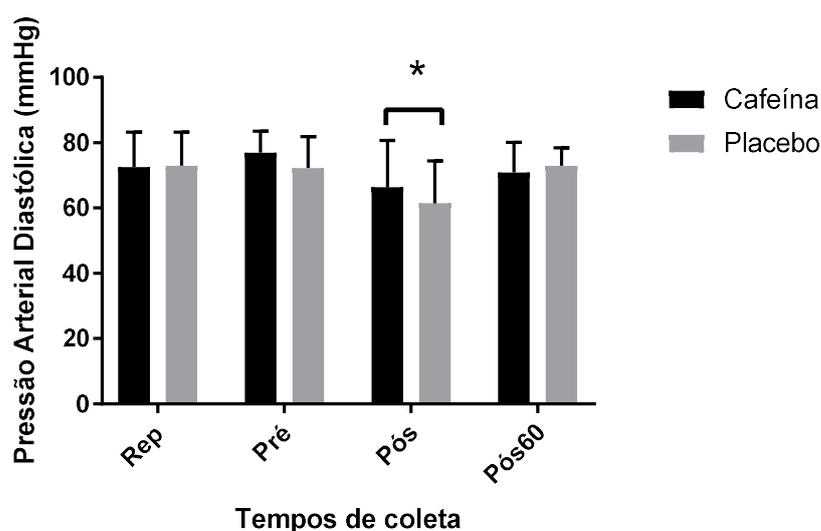


Gráfico 6 – Média de pressão arterial diastólica em repouso (Rep), antes do exercício (Pré), imediatamente após o exercício (Pós) e uma hora após o exercício (Pós60) para as condições placebo e cafeína. *Diferente do momento Pré ($p = 0,03$).

No gráfico 7 estão apresentados os valores de concentração de GL nos diferentes tempos para ambos os tratamentos. Não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos ($F = 0,52$; $p = 0,48$; $\eta^2 = 0,04$) ou momentos ($F = 2,60$; $p = 0,09$; $\eta^2 = 0,07$). Também não foi encontrada uma interação entre tratamentos e momentos ($F = 0,93$; $p = 0,43$; $\eta^2 = 0,07$).

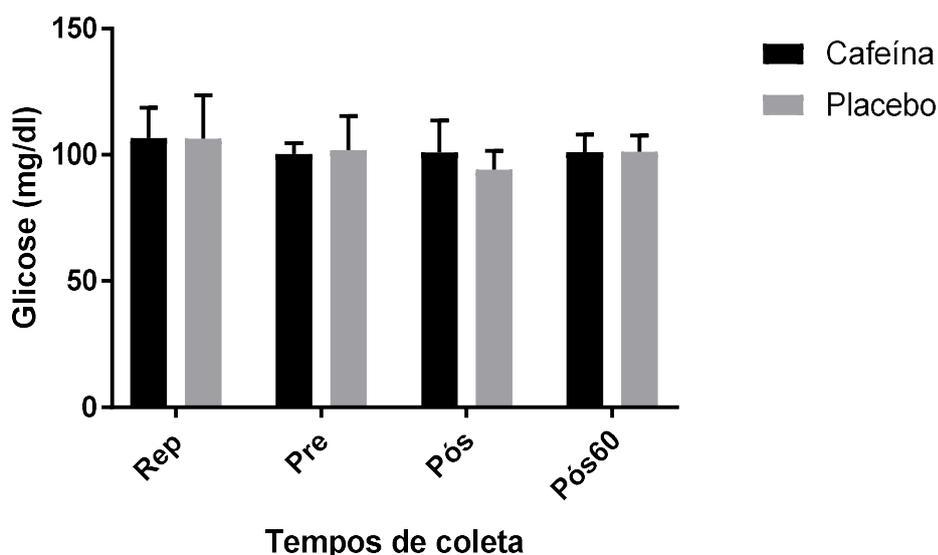


Gráfico 7 – Média de glicose plasmática em repouso (Rep), antes do exercício (Pré), imediatamente após o exercício (Pós) e uma hora após o exercício (Pós60) para as condições placebo e cafeína.

Os dados das variáveis bioquímicas medidas no plasma, de ácido úrico (AU), óxido nítrico (NO), substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e glutathiona reduzida (GSH), estão apresentados nos gráficos a seguir em médias e desvio padrão. As medidas foram realizadas em 3 momentos, antes do exercício (Pré), 5 min após o exercício (Pós5) e 60 min após o exercício (Pós60).

Os valores médios de concentração de AU no plasma estão representados no gráfico 8. Não foram apresentadas diferenças estatísticas entre os tratamentos ($F = 4,03$; $p = 0,07$, $\eta^2 = 0,26$), mas foram encontradas diferenças entre os momentos ($F = 7,53$; $p = 0,003$; $\eta^2 = 0,40$). Não foi encontrada interação entre tratamentos e momentos ($F = 1,52$; $p = 0,24$; $\eta^2 = 0,12$). Entre os momentos Pré e Pós60 foram encontradas diferenças significativas ($p = 0,013$).

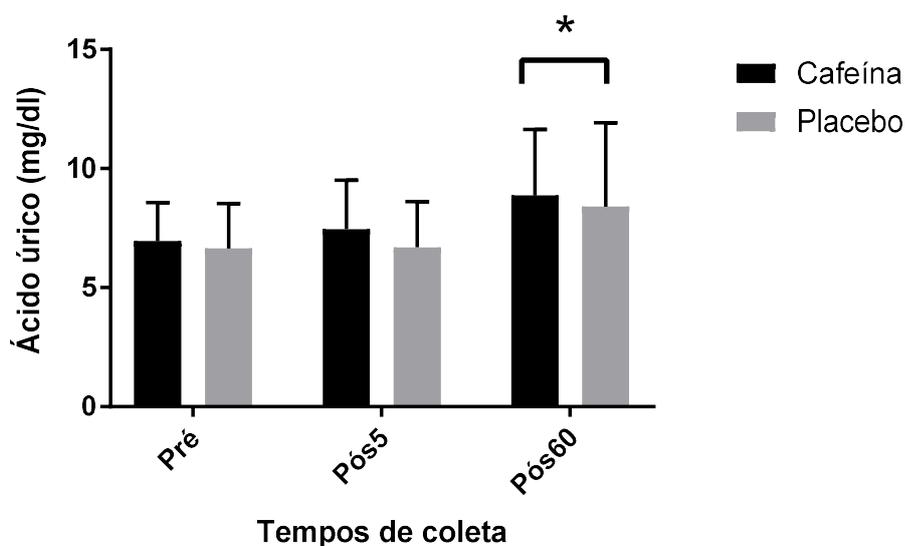


Gráfico 8 – Média de concentração plasmática de ácido úrico (AU) nos momentos pré (Pré), 5 min após (Pós5) e 60 min após (Pós60) o protocolo de *sprints* repetidos para as condições placebo e cafeína. * Diferente de Pré ($p = 0,013$)

Os valores médios de concentração de NO no plasma estão representados no gráfico 9. Não foram encontradas diferenças significativas entre tratamentos ($F = 0,07$; $p = 0,79$; $\eta^2 < 0,006$) e entre os momentos ($F = 4,75$; $p = 0,19$; $\eta^2 = 0,30$). Também não foi encontrada uma interação significativa entre tratamentos e momentos ($F = 3,38$; $p = 0,052$; $\eta^2 = 0,23$).

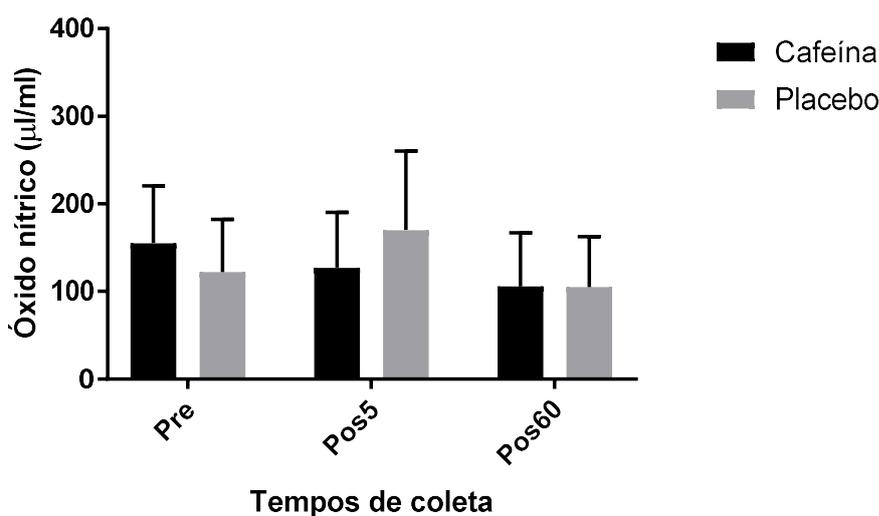


Gráfico 9 – Média da concentração plasmática de óxido nítrico (NO) nos momentos pré (Pré), 5 min após (Pós5) e 60 min após (Pós60) o protocolo de *sprints* repetidos para as condições placebo e cafeína.

Os valores médios de concentração de GSH no plasma estão representados no gráfico 10. Os valores não apresentaram diferenças significativas tanto entre tratamentos ($F = 0,005$; $p = 0,94$; $\eta^2 < 0,001$) quanto entre momentos ($F = 2,75$; $p = 0,08$; $\eta^2 = 0,20$). Também não foi encontrada uma interação significativa entre tratamentos e momentos ($F = 0,61$; $p = 0,55$; $\eta^2 = 0,05$).

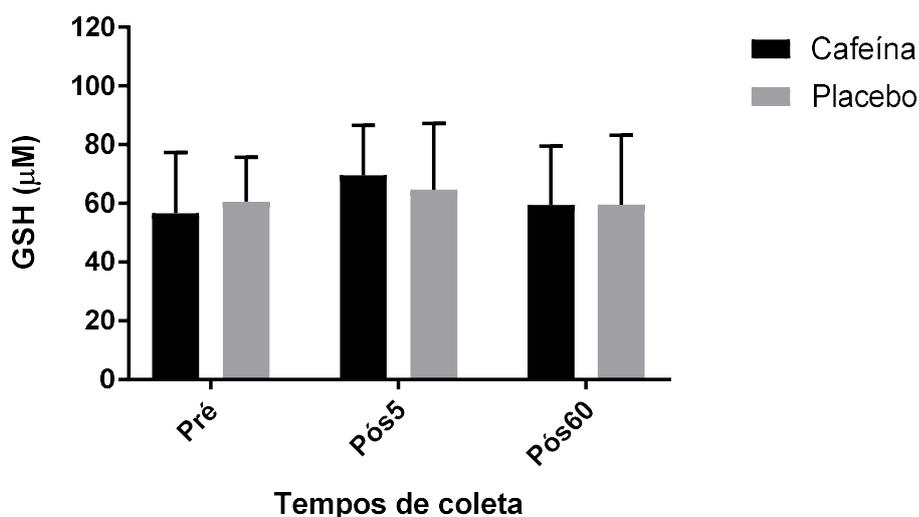


Gráfico 10 - Média de concentração plasmática de glutatona reduzida (GSH) no momento nos momentos pré (Pré), 5 min após (Pós5) e 60 min após (Pós60) o protocolo de sprints repetidos para as condições placebo e cafeína.

Os valores médios de concentração de mmMDA/ml no plasma, mensurados através do ensaio de TBARS, estão representados no Gráfico 11. Os valores não apresentaram diferença significativa entre tratamentos ($F = 1,35$; $p = 0,26$; $\eta^2 = 0,11$) e entre os momentos tempos ($F = 2,42$; $p = 0,11$; $\eta^2 = 0,18$). Não foi encontrada uma interação significativa entre os tratamentos e momentos ($F = 2,66$; $p = 0,09$; $\eta^2 = 0,19$).

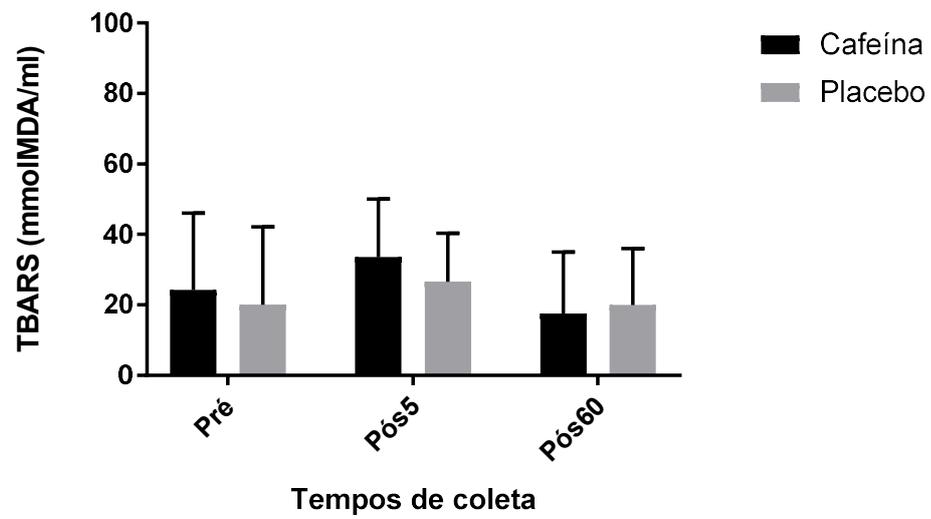


Gráfico 11 - Média de concentração plasmática de mmolMDA/ml no momento nos momentos pré (Pré), 5 min após (Pós5) e 60 min após (Pós60) o protocolo de *sprints* repetidos para as condições placebo e cafeína.

5 DISCUSSÃO

Apesar dos resultados controversos sobre os efeitos da cafeína durante o exercício intermitente, alguns estudos indicam uma possível ação ergogênica (ASTORINO; ROBERSON, 2010; SPRIET, 2014). No presente estudo a suplementação aguda com 6 mg.kg^{-1} de cafeína, 60 min antes do exercício, foi capaz de aumentar o desempenho no primeiro *sprint*, tanto para PPr e PMr. Pode ser observada uma diminuição do desempenho no decorrer do teste, independente da suplementação aplicada, o que indica que o intervalo de 60 segundos não permitiu uma recuperação plena (BALSOM et al., 1992). Apesar dos resultados não significativos no desempenho para os *sprints* seguintes, pode ser observada nas médias marginais (gráfico 12), uma tendência a valores ligeiramente maiores nos momentos iniciais para o grupo CAF. Um efeito tamanho pequeno na PPr pode ser notado nos quatro primeiros *sprints*, porém não ocorreu *sprints* seguintes. Já para PMr um efeito tamanho moderado pode ser notado no primeiro *sprints*, com um efeito pequeno nos *sprints* 2, 3, 5 e 6, e nos com efeito trivial nos demais *sprints*. Tal resultado corrobora com outros estudos, onde o efeito da cafeína fica mais proeminente no início das atividades intermitentes (LEE et al., 2011; SCHNEIKER et al., 2006).

Wellington et al.(2016) encontraram melhoras “praticamente significativas”, ou seja, uma tendência no desempenho em um protocolo de 9 *sprints* de 20m, realizado por jogadores semiprofissionais de rúgbi, e estes efeitos foram mais evidentes nas 3 primeiras séries. Outros estudos também mostraram uma tendência ao aumento do desempenho, porém sem diferenças estatísticas, o que pode indicar um efeito pequeno da suplementação com cafeína no exercício intermitente (PATON et al., 2001; STUART et al., 2005).

Em protocolos intermitentes, uma razão esforço-pausa $>1:5,5$ têm sido proposta para se observar efeitos ergogênicos da cafeína, onde esforços com razões menores parecem não ser suficientes para exaltar esses efeitos (DAVIS; GREEN, 2009; LEE et al., 2011). Durante estímulos curtos ($<10 \text{ s}$) os estoques de ATP são ressintetizados principalmente a partir dos sistemas anaeróbios (GAITANOS et al., 1993). A manipulação do período de recuperação pode ser

importante para a ressíntese dos estoques de CrP e remoção de possíveis metabólitos da glicólise (GLAISTER, 2005).

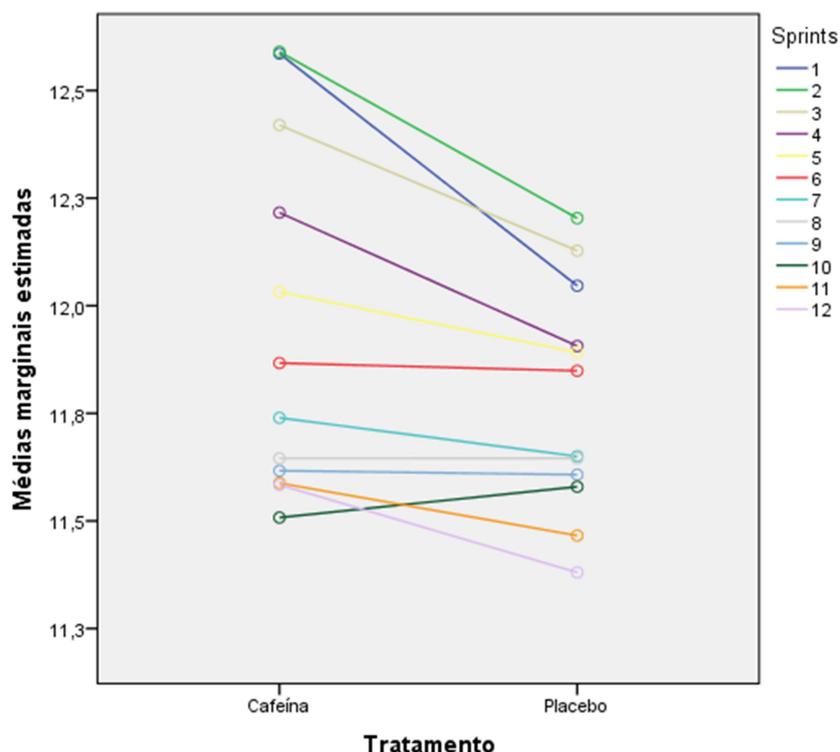


Gráfico 12– Médias marginais estimadas em cada sprint para ambos os tratamentos cafeína e placebo

A razão esforço-pausa adotada no presente estudo foi de 1:10, utilizando 6 s de esforço por 60 s de recuperação, onde foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos somente no primeiro *sprint*. No estudo realizado por Lee et al.(2011) a cafeína aumentou o PPr e PMr em protocolos de 4s de esforço por 90 s de recuperação ativa, porém quando empregados 20 s de recuperação, a suplementação não apresentou efeitos ergogênicos. Intervalos reduzidos não permitem uma recuperação suficiente das vias anaeróbias, aumentando a solicitação das vias aeróbias e diminuindo o desempenho (TSCHAKERT; HOFMANN, 2013). Pode ser observada uma diminuição da PMr e PPr no decorrer dos *sprints*, independente da suplementação. O que pode sugerir que o intervalo de 60 s não forneceu tempo suficiente de recuperação e consequente manutenção da potência durante os *sprints*. Apesar do resultado positivo, possivelmente intervalos maiores sejam necessários para manter o desempenho e efeito da cafeína durante as séries repetidas.

Não houve diferenças na PSE entre os tratamentos durante o exercício, a cafeína não afetou as respostas perceptuais em relação ao esforço. Um aumento da PSE entre cada *sprint* pode ser observado, o que já seria esperado neste tipo de exercício intermitente, devido à intensidade e intervalos relativamente curtos do protocolo. Na meta-análise realizada por Doherty e Smith (2005) foi relatada uma diminuição significativa da PSE em resposta a cafeína e que este fator poderia explicar 33% do aumento no desempenho. Porém a maioria desses resultados foram observados em exercícios de *endurance*, e no exercício intermitente os estudos indicam que a cafeína não modifica a PSE, mesmo quando há mudanças no desempenho (CROWE; LEICHT; SPINKS, 2006; LEE et al., 2011; SCHNEIKER et al., 2006).

Alguns fatores que podem ter grandes influências sobre os efeitos da cafeína, como o nível de treinamento dos indivíduos e as respostas individuais a suplementação com cafeína (SPRIET, 2014). No estudo de revisão de Astorino e Roberson (2010), foram avaliados 17 artigos envolvendo a suplementação com cafeína e esforços de característica anaeróbia (intermitentes, potência ou força), onde somente 65% deles encontraram resultados significativos. A diferença média encontrada entre tratamentos foi de $6,5 \pm 5,5\%$, variando de 1,0% a 20,0% nos estudos, demonstrando uma grande amplitude de resultados. Panton et al. (2001) relataram grande diferença do efeito entre indivíduos, com um aumento médio de 0,7%, mas uma variação individual de 2,4% (-3,4 a 4,9%). Astorino et al. (2008) e Hoffman et al. (2008) também encontraram grande diferença na resposta à cafeína entre os indivíduos, durante o desempenho em exercícios de força. Foi proposto que devido a variedades individuais na resposta à suplementação com cafeína, é possível que alguns sujeitos sejam responsivos, enquanto outros sejam não responsivos substância (DAVIS; GREEN, 2009). Essa resposta variada à cafeína pode ser devido a um polimorfismo dos genes que codificam o citocromo P450 1A2 ou receptores de Adenosina (Adora 2A), o que poderia gerar respostas diferentes nos indivíduos (CORNELIS; EL-SOHEMY; CAMPOS, 2007; JOSSE et al., 2012). Estes fatores podem ter influenciado a respostas em todas as variáveis medidas neste estudo.

Em algumas pesquisas podem ser observadas mudanças fisiológicas a partir da suplementação com cafeína, geralmente ligadas ao efeito antagonista aos

receptores de adenosina e o aumento da liberação de catecolaminas (COLLOMP et al., 1990a; LEBLANC et al., 1985). No presente estudo, não foram encontradas diferenças significativas nos parâmetros fisiológicos entre os tratamentos. A suplementação aguda com cafeína não foi capaz de alterar a FC, PAS, PAD e GL. Diferenças significativas foram encontradas somente entre os tempos de coletas, em resposta ao exercício. O aumento encontrado na FC em resposta a intensidade do exercício já seria esperada. Porém não reflete a intensidade da atividade, já que os intervalos de recuperação permitem uma oscilação da FC durante o exercício (GLAISTER, 2005)

É possível que o fato de serem consumidores habituais de cafeína possa ter atenuado os efeitos fisiológicos a partir da suplementação com cafeína. Estas parecem ser mais evidentes em não consumidores de cafeína ou com a utilização de doses maiores (SPRIET, 2014). Devido a essas respostas individuais, uma grande diferença no consumo de cafeína entre os participantes das pesquisas poderia ser uma variável interveniente nos resultados, já que parecem ser mais evidentes em não consumidores (ASTORINO; ROBERSON, 2010; GLIOTTONI et al., 2009; HASKELL et al., 2005). Porém no estudo de Irwin et al. (2011) foi verificado que tanto o consumo regular de cafeína, quanto a remoção de consumo antes da suplementação, não afetaram seus efeitos no desempenho e respostas perceptuais. Todos participantes deste estudo eram consumidores regulares de cafeína, com um consumo médio de $195 \pm 45,2$ mg por dia, tendo como fonte principal a ingestão de café. Em alguns estudos a ingestão por volta de 200 mg é classificado como um consumo moderado de cafeína (ATTWOOD et al., 2007). Dos 12 participantes, 4 deles conseguiram identificar corretamente o momento que receberam a suplementação de cafeína, enquanto somente 3 identificaram a suplementação utilizada em ambos os dias. Essa percepção dos efeitos da suplementação com cafeína parece ser mais evidente em não consumidores de café (ASTORINO et al., 2008).

Apesar de não terem sido realizadas medidas plasmáticas de cafeína, esses aumentos têm sido reportados nos estudos (ASTORINO; ROBERSON, 2010; DAVIS; GREEN, 2009). Benowitz et al. (1995) encontraram um aumento significativo dos volumes cafeína plasmática e consequente aumento das concentrações de dimetilxantinas após o consumo agudo de 6 mg.kg^{-1} de cafeína. Esses volumes adicionais de cafeína e formação de outras xantinas poderiam provocar aumentos

na atividade da xantina oxidase, provocando alteração na via de degradação das purinas e pirimidinas, com consequente aumento nas concentrações de AU (MAIUOLO et al., 2016). Porém essa relação não foi observada no presente estudo, onde em uma dose aguda a cafeína não modificou de forma significativa os volumes de AU entre tratamentos.

De acordo com a literatura um aumento nos valores plasmáticos de AU após exercício já poderia ser esperado, onde esse aumento pode variar de acordo com a intensidade do exercício (GREEN, H. J.; FRASER, 1988). Valores mais elevados indicariam um aumento no metabolismo das purinas, possivelmente devido a uma maior degradação de ATP, formação de IMP e consequente aumento de AU (HELLSTEN-WESTING et al., 1991). Os valores da presente pesquisa corroboram com os resultados anteriormente demonstrados pelo nosso grupo (SOUZA-JUNIOR et al., 2014) onde não foram detectados aumentos imediatamente após o exercício intenso de curta duração, mas com aumentos significativos após 60 min. O que reforça a hipótese de uma resposta tempo dependente do ácido úrico em relação aos exercícios intensos. Como o ácido úrico possui uma capacidade antioxidante, pressupõe-se que este aumento possa ser devido a um mecanismo de defesa ao estresse oxidativo gerado, como uma linha de defesa secundária, amenizando a possível peroxidação lipídica de membranas (SOUZA-JUNIOR et al., 2014).

Os valores encontrados para NO também não apresentaram diferenças estatísticas entre os tratamentos e momentos, porém com uma tendência a queda nos momento Pós60 ($p = 0,065$), o que poderia ser uma resposta ao efeito antioxidante do AU. Para o grupo CAF os valores de NO caíram progressivamente entre os momentos, já para o grupo PLA houve um aumento no Pós com consequente queda. Uma possível ação da cafeína como antagonista a adenosina poderia consequentemente inibir a estimulação da eNOS (LI et al., 1995). Apesar desse comportamento, não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos

As concentrações de AU podem influenciar as concentrações de NO no plasma, onde AU diminui a interação da calmodulina e a eNOS, podendo inibir a produção de NO (PARK et al., 2013). Além disso o AU é um poderoso antioxidante plasmático, e pode reagir diretamente com NO, um radical livre, formando 6-aminouracil (GERSCH et al., 2008). O que pode ser um mecanismo responsável

pelas diminuições, apesar de não significativas, de NO no período Pós60. Pois no mesmo momento, foram encontrados aumentos das concentrações de AU.

Tanto o exercício, quanto a suplementação com cafeína parecem não ter afetado os valores de TBARS e GSH, onde não foram encontradas diferenças significativas entre tratamentos e momentos. Os níveis de TBARS apresentaram tendência a valores maiores no momento Pós5, possivelmente em consequência do estresse gerado pelo exercício. Para GSH pode ser notada uma tendência a maiores valores no momento Pós5 ($p = 0,8$), possivelmente como uma resposta ao estresse gerado, pois seu aumento pode ser indicado como uma defesa adicional contra o estresse oxidativo (JI et al., 1993). Embora seja esperada uma diminuição de GSH devido sua ação antioxidante, e ação da enzima GPx, alguns estudos têm apresentados resultados similares, com pequenos aumentos em resposta ao exercício intenso (JI et al., 1993; POLOTOW et al., 2016). Apesar de uma única dose de exercício intenso poder aumentar o estresse oxidativo, indivíduos treinados possuem um sistema antioxidante mais eficiente, o que pode ter atenuado esses aumentos (BLOOMER, 2008).

A cafeína teve efeito no exercício de curta duração de 6 s, porém parece não perdurar durante os *sprints* repetidos, e existe a possibilidade de que maiores intervalos sejam necessários para que este efeito se prolongue. Quanto aos efeitos sobre os parâmetros fisiológicos, estes podem ter sido amenizados pela reposta individual ou até mesmo pelo fato dos participantes serem consumidores regulares de café. Devido à dificuldade de mensurar o estresse oxidativo de forma exata, a análise de um maior número de parâmetros se faz necessária a fim de investigar os efeitos da suplementação de forma mais precisa.

6 CONCLUSÃO

No presente estudo a suplementação aguda com 6 mg.kg^{-1} de cafeína foi capaz de aumentar o desempenho no primeiro *sprint*, sem efeitos significativos nos *sprints* seguintes. Porém não alterou de forma significativa a percepção de esforço, os parâmetros fisiológicos e parâmetros bioquímicos. O desempenho apesar de alterado somente no primeiro *sprint* mostrou tendência a maiores valores nos períodos iniciais para o grupo CAF, o que indica um efeito principalmente no início do exercício intermitente, o que vai de acordo com a literatura.

O aumento das concentrações de AU se mostrou tempo dependente, pois não foi verificado aumento significativo no momento pós5, mas no momento pós60 esse aumento de AU pôde ser observado. Uma tendência a valores menores de NO foram encontrados no momento Pós60, mesmo ponto onde há aumentos significativos de AU, o que pode ser devido a uma ação antioxidante do AU. Nos parâmetros bioquímicos de TBARS e GSH não foram encontradas diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos e entre os momentos. Porém o comportamento dos dados apresentou tendências diferentes entre os momentos, o que pode indicar um leve aumento do estresse oxidativo, equilibrado por uma resposta antioxidante.

A resposta individual pode ter afetado os resultados, como proposto em estudos anteriores, onde alguns dos participantes poderiam ser responsivos, enquanto outros seriam não responsivos a cafeína. Possivelmente o tempo de intervalo de 60 s não permitiu uma recuperação suficiente e uma manutenção do desempenho, o que pode ter afetado a ação da cafeína. Estudos futuros devem analisar intervalos diferentes para avaliação dos efeitos sobre o desempenho, assim como utilizar um maior número de parâmetros a fim de elucidar os possíveis efeitos da cafeína sobre parâmetros bioquímicos relacionados ao balanço redox.

REFERÊNCIAS

ALTIMARI, L. R. et al. EFEITOS ERGOGÊNICOS DA CAFEÍNA SOBRE O DESEMPENHO FÍSICO. **Rev. paul. Educ. Fís.**, v. 14, n. 2, p. 141-58, 2000.

ALTIMARI, L. R. et al. Cafeína e performance em exercícios anaeróbios. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, p. 17-27, 2006.

AMES, B. N. et al. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 78, n. 11, p. 6858-6862, 1981.

ANSELME, F. et al. Caffeine increases maximal anaerobic power and blood lactate concentration. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 65, n. 2, p. 188-91, 1992.

ARSLAN, E.; ARAS, D. Comparison of body composition, heart rate variability, aerobic and anaerobic performance between competitive cyclists and triathletes. **Journal of Physical Therapy Science**, v. 28, n. 4, p. 1325-1329, 2016.

ASTORINO, T. A. et al. 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. 211-7, May 15 2012.

ASTORINO, T. A.; ROBERSON, D. W. Efficacy of acute caffeine ingestion for short-term high-intensity exercise performance: a systematic review. **J Strength Cond Res**, v. 24, n. 1, p. 257-65, Jan 2010.

ASTORINO, T. A.; ROHMANN, R. L.; FIRTH, K. Effect of caffeine ingestion on one-repetition maximum muscular strength. **Eur J Appl Physiol**, v. 102, n. 2, p. 127-32, Jan 2008.

ASTORINO, T. A. et al. Effect of caffeine intake on pain perception during high-intensity exercise. **Int J Sport Nutr Exerc Metab**, v. 21, n. 1, p. 27-32, Feb 2011.

ATTWOOD, A. S.; HIGGS, S.; TERRY, P. Differential responsiveness to caffeine and perceived effects of caffeine in moderate and high regular caffeine consumers. **Psychopharmacology**, v. 190, n. 4, p. 469-477, 2007// 2007.

BAE, J. et al. The effect of coffee, tea, and caffeine consumption on serum uric acid and the risk of hyperuricemia in Korean Multi-Rural Communities Cohort. **Rheumatol Int**, v. 35, n. 2, p. 327-36, Feb 2015.

BALSOM, P. D. et al. Maximal-intensity intermittent exercise: effect of recovery duration. **Int J Sports Med**, v. 13, n. 7, p. 528-33, Oct 1992.

BAR-OR, O. The Wingate anaerobic test. An update on methodology, reliability and validity. **Sports Medicine**, v. 4, n. 6, p. 381-94, Nov-Dec 1987.

BARATLOO, A. et al. The Role of Caffeine in Pain Management: A Brief Literature Review. **Anesth Pain Med**, v. 6, n. 3, p. e33193, Jun 2016.

BEGAS, E. et al. In vivo evaluation of CYP1A2, CYP2A6, NAT-2 and xanthine oxidase activities in a Greek population sample by the RP-HPLC monitoring of caffeine metabolic ratios. **Biomed Chromatogr**, v. 21, n. 2, p. 190-200, Feb 2007.

BELL, D. G.; JACOBS, I.; ELLERINGTON, K. Effect of caffeine and ephedrine ingestion on anaerobic exercise performance. **Med Sci Sports Exerc**, v. 33, n. 8, p. 1399-403, Aug 2001.

BENOWITZ, N. L. et al. Sympathomimetic effects of paraxanthine and caffeine in humans. **Clin Pharmacol Ther**, v. 58, n. 6, p. 684-91, Dec 1995.

BIRBEN, E. et al. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. **The World Allergy Organization journal**, v. 5, n. 1, p. 9-19, 01/13 2012.

BLOOMER, R. J. Effect of exercise on oxidative stress biomarkers. **Adv Clin Chem**, v. 46, p. 1-50, 2008.

BODE-BOGER, S. M. et al. Exercise increases systemic nitric oxide production in men. **J Cardiovasc Risk**, v. 1, n. 2, p. 173-8, Aug 1994.

BRUNETTO, D.; RIBEIRO, J. L.; FAYH, A. P. T. Efeitos do consumo agudo de cafeína sobre parâmetros metabólicos e de desempenho em indivíduos do sexo masculino. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 16, p. 171-175, 2010.

BUCHHEIT, M.; LAURSEN, P. B. High-intensity interval training, solutions to the programming puzzle: Part I: cardiopulmonary emphasis. **Sports Med**, v. 43, n. 5, p. 313-38, May 2013.

CALDWELL, A. R. et al. Effect of Caffeine on Perceived Soreness and Functionality following an Endurance Cycling Event. **J Strength Cond Res**, Aug 19 2016.

CAPUTO, F. et al. Cafeína e desempenho anaeróbio. **Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano**, v. 14, p. 602-614, 2012.

CARRILLO, J. A.; BENITEZ, J. Clinically significant pharmacokinetic interactions between dietary caffeine and medications. **Clin Pharmacokinet**, v. 39, n. 2, p. 127-53, Aug 2000.

CHEN, J. T.; KOTANI, K. Association between coffee consumption and an oxidative stress marker in women. **Wien Klin Wochenschr**, v. 127, n. 13-14, p. 567-9, Jul 2015.

COLLOMP, K. et al. Effects of caffeine ingestion on performance and anaerobic metabolism during the Wingate Test. **Int J Sports Med**, v. 12, n. 5, p. 439-43, Oct 1991.

COLLOMP, K. et al. Benefits of caffeine ingestion on sprint performance in trained and untrained swimmers. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 64, n. 4, p. 377-80, 1992.

COLLOMP, K. et al. Effect of acute or chronic administration of caffeine on performance and on catecholamines during maximal cycle ergometer exercise. **Comptes rendus des séances de la Société de biologie et de ses filiales.**, v. 184, n. 1, p. 87-92, 1990a.

_____. [Effect of acute or chronic administration of caffeine on performance and on catecholamines during maximal cycle ergometer exercise]. **C R Seances Soc Biol Fil**, v. 184, n. 1, p. 87-92, 1990b.

CORNELIS, M. C.; EL-SOHEMY, A.; CAMPOS, H. Genetic polymorphism of the adenosine A2A receptor is associated with habitual caffeine consumption. **Am J Clin Nutr**, v. 86, n. 1, p. 240-4, Jul 2007.

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.

DAVIS, J. K.; GREEN, J. M. Caffeine and anaerobic performance: ergogenic value and mechanisms of action. **Sports Med**, v. 39, n. 10, p. 813-32, 2009.

DEMIRKAN, E. et al. Physical Fitness Differences between Freestyle and Greco-Roman Junior Wrestlers. **Journal of Human Kinetics**, v. 41, p. 245-251, 2014.

DEVASAGAYAM, T. P. et al. Caffeine as an antioxidant: inhibition of lipid peroxidation induced by reactive oxygen species. **Biochim Biophys Acta**, v. 1282, n. 1, p. 63-70, Jun 13 1996.

DI FRANCESCO MARINO, S. et al. The effect of physical exercise on endothelial function. **Sports Med**, v. 39, n. 10, p. 797-812, 2009.

DIAZ-LARA, F. J. et al. Caffeine improves muscular performance in elite Brazilian Jiu-jitsu athletes. **Eur J Sport Sci**, p. 1-8, Feb 10 2016.

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, n. 2, p. 69-78, Apr 2005.

DOHERTY, M. et al. Caffeine is ergogenic after supplementation of oral creatine monohydrate. **Med Sci Sports Exerc**, v. 34, n. 11, p. 1785-92, Nov 2002.

ECHEVERRI, D. et al. Caffeine's Vascular Mechanisms of Action. **Int J Vasc Med**, v. 2010, p. 834060, 2010.

ELIN, R. J.; JOHNSON, E.; CHESLER, R. Four methods for determining uric acid compared with a candidate reference method. **Clin Chem**, v. 28, n. 10, p. 2098-100, Oct 1982.

ELOKDA, A. S.; NIELSEN, D. H. Effects of exercise training on the glutathione antioxidant system. **Eur J Cardiovasc Prev Rehabil**, v. 14, n. 5, p. 630-7, Oct 2007.

FENSTER, L. et al. Rate of caffeine metabolism and risk of spontaneous abortion. **Am J Epidemiol**, v. 147, n. 5, p. 503-10, Mar 1 1998.

FISHER-WELLMAN, K.; BLOOMER, R. J. Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. **Dyn Med**, v. 8, p. 1, 2009.

FRAGA, C. G.; LEIBOVITZ, B. E.; TAPPEL, A. L. Lipid peroxidation measured as thiobarbituric acid-reactive substances in tissue slices: characterization and comparison with homogenates and microsomes. **Free Radic Biol Med**, v. 4, n. 3, p. 155-61, 1988.

GAITANOS, G. C. et al. Human muscle metabolism during intermittent maximal exercise. **J Appl Physiol (1985)**, v. 75, n. 2, p. 712-9, Aug 1993.

GAMBELUNGHE, C. et al. Physical exercise intensity can be related to plasma glutathione levels. **J Physiol Biochem**, v. 57, n. 2, p. 9-14, Mar 2001.

GARLIPP-PICCHI, M. et al. Efeitos do ácido ascórbico nos biomarcadores de estresse oxidativo em nadadores de elite. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 19, p. 394-398, 2013.

GEBICKI, J. M. Oxidative stress, free radicals and protein peroxides. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 595, p. 33-39, 4/1/ 2016.

GERSCH, C. et al. Inactivation of Nitric Oxide by Uric Acid. **Nucleosides, nucleotides & nucleic acids**, v. 27, n. 8, p. 967-978, 2008.

GIBALA, M. J.; GILLEN, J. B.; PERCIVAL, M. E. Physiological and health-related adaptations to low-volume interval training: influences of nutrition and sex. **Sports Med**, v. 44 Suppl 2, p. S127-37, Nov 2014.

GLAISTER, M. Multiple sprint work : physiological responses, mechanisms of fatigue and the influence of aerobic fitness. **Sports Med**, v. 35, n. 9, p. 757-77, 2005.

GLAISTER, M. et al. Caffeine supplementation and multiple sprint running performance. **Med Sci Sports Exerc**, v. 40, n. 10, p. 1835-40, Oct 2008.

GLAISTER, M. et al. The influence of recovery duration on multiple sprint cycling performance. **J Strength Cond Res**, v. 19, n. 4, p. 831-7, Nov 2005.

GLANTZOUNIS, G. K. et al. Uric acid and oxidative stress. **Curr Pharm Des**, v. 11, n. 32, p. 4145-51, 2005.

GLIOTTONI, R. C. et al. Effect of caffeine on quadriceps muscle pain during acute cycling exercise in low versus high caffeine consumers. **Int J Sport Nutr Exerc Metab**, v. 19, n. 2, p. 150-61, Apr 2009.

GOLDSTEIN, E. R. et al. International society of sports nutrition position stand: caffeine and performance. **J Int Soc Sports Nutr**, v. 7, n. 1, p. 5, 2010.

GRAHAM-PAULSON, T.; PERRET, C.; GOOSEY-TOLFREY, V. Improvements in Cycling but Not Handcycling 10 km Time Trial Performance in Habitual Caffeine Users. **Nutrients**, v. 8, n. 7, Jun 25 2016.

GRAHAM, T. E. Caffeine and exercise: metabolism, endurance and performance. **Sports Med**, v. 31, n. 11, p. 785-807, 2001.

GRAHAM, T. E. et al. Caffeine ingestion does not alter carbohydrate or fat metabolism in human skeletal muscle during exercise. **J Physiol**, v. 529 Pt 3, p. 837-47, Dec 15 2000.

GRAHAM, T. E.; HIBBERT, E.; SATHASIVAM, P. Metabolic and exercise endurance effects of coffee and caffeine ingestion. **Journal of Applied Physiology**, v. 85, n. 3, p. 883-889, 1998-09-01 00:00:00 1998.

GRAHAM, T. E.; SPRIET, L. L. Performance and metabolic responses to a high caffeine dose during prolonged exercise. **J Appl Physiol (1985)**, v. 71, n. 6, p. 2292-8, Dec 1991.

_____. Metabolic, catecholamine, and exercise performance responses to various doses of caffeine. **J Appl Physiol (1985)**, v. 78, n. 3, p. 867-74, Mar 1995.

GREEN, D. J. et al. Effect of exercise training on endothelium-derived nitric oxide function in humans. **J Physiol**, v. 561, n. Pt 1, p. 1-25, Nov 15 2004.

GREEN, H. J.; FRASER, I. G. Differential effects of exercise intensity on serum uric acid concentration. **Med Sci Sports Exerc**, v. 20, n. 1, p. 55-9, Feb 1988.

GREEN, J. et al. Effects of caffeine on repetitions to failure and ratings of perceived exertion during resistance training. **Int J Sports Physiol Perform**, 2007.

GREEN, J. M. et al. Caffeine effects on velocity selection and physiological responses during RPE production. **Appl Physiol Nutr Metab**, p. 1-6, Jun 30 2016.

GREEN, L. C. et al. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N]nitrate in biological fluids. **Anal Biochem**, v. 126, n. 1, p. 131-8, Oct 1982.

GREER, F.; MCLEAN, C.; GRAHAM, T. E. Caffeine, performance, and metabolism during repeated Wingate exercise tests. **J Appl Physiol (1985)**, v. 85, n. 4, p. 1502-8, Oct 1998.

GREER, F.; MORALES, J.; COLES, M. Wingate performance and surface EMG frequency variables are not affected by caffeine ingestion. **Appl Physiol Nutr Metab**, v. 31, n. 5, p. 597-603, Oct 2006.

GUERRA, R. O.; BERNARDO, G. C.; GUTIÉRREZ, C. V. Cafeína e esporte. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 6, p. 60-62, 2000.

HARBILI, S. The Effect of Different Recovery Duration on Repeated Anaerobic Performance in Elite Cyclists. **Journal of Human Kinetics**, v. 49, p. 171-178, 2015.

HASKELL, C. F. et al. Cognitive and mood improvements of caffeine in habitual consumers and habitual non-consumers of caffeine. **Psychopharmacology**, v. 179, n. 4, p. 813-825, 2005// 2005.

HECKMAN, M. A.; WEIL, J.; GONZALEZ DE MEJIA, E. Caffeine (1, 3, 7-trimethylxanthine) in foods: a comprehensive review on consumption, functionality, safety, and regulatory matters. **J Food Sci**, v. 75, n. 3, p. R77-87, Apr 2010.

HELLSTEN-WESTING, Y.; SOLLEVI, A.; SJODIN, B. Plasma accumulation of hypoxanthine, uric acid and creatine kinase following exhausting runs of differing durations in man. **Eur J Appl Physiol Occup Physiol**, v. 62, n. 5, p. 380-4, 1991.

HIGDON, J. V.; FREI, B. Coffee and health: a review of recent human research. **Crit Rev Food Sci Nutr**, v. 46, n. 2, p. 101-23, 2006.

HOFFMAN, J. R. et al. Effect of a pre-exercise energy supplement on the acute hormonal response to resistance exercise. **J Strength Cond Res**, v. 22, n. 3, p. 874-82, May 2008.

HUBNER-WOZNIAK, E. et al. Anaerobic performance of arms and legs in male and female free style wrestlers. **J Sci Med Sport**, v. 7, n. 4, p. 473-80, Dec 2004.

IRWIN, C. et al. Caffeine withdrawal and high-intensity endurance cycling performance. **J Sports Sci**, v. 29, n. 5, p. 509-15, Mar 2011.

JACKSON, A. S.; POLLOCK, M. L. Generalized equations for predicting body density of men. **British Journal of Nutrition**, v. 40, n. 3, p. 497-504, Nov 1978.

JACKSON, M. J.; VASILAKI, A.; MCARDLE, A. Cellular mechanisms underlying oxidative stress in human exercise. **Free Radic Biol Med**, Feb 18 2016.

JENKINS, N. T. et al. Ergogenic effects of low doses of caffeine on cycling performance. **Int J Sport Nutr Exerc Metab**, v. 18, n. 3, p. 328-42, Jun 2008.

JI, L. L. et al. Blood glutathione status during exercise: effect of carbohydrate supplementation. **J Appl Physiol (1985)**, v. 74, n. 2, p. 788-92, Feb 1993.

JOSSE, A. R. et al. Associations between polymorphisms in the AHR and CYP1A1-CYP1A2 gene regions and habitual caffeine consumption. **Am J Clin Nutr**, v. 96, n. 3, p. 665-71, Sep 2012.

KALMAR, J. M.; CAFARELLI, E. Effects of caffeine on neuromuscular function. **J Appl Physiol (1985)**, v. 87, n. 2, p. 801-8, Aug 1999.

KALOW, W.; TANG, B. K. The use of caffeine for enzyme assays: a critical appraisal. **Clin Pharmacol Ther**, v. 53, n. 5, p. 503-14, May 1993.

KERKSICK, C.; WILLOUGHBY, D. The Antioxidant Role of Glutathione and N-Acetyl-Cysteine Supplements and Exercise-Induced Oxidative Stress. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 2, n. 2, p. 38-44, 2005.

KHOSLA, U. M. et al. Hyperuricemia induces endothelial dysfunction. **Kidney Int**, v. 67, n. 5, p. 1739-42, May 2005.

KIYOHARA, C. et al. Inverse association between coffee drinking and serum uric acid concentrations in middle-aged Japanese males. **Br J Nutr**, v. 82, n. 2, p. 125-30, Aug 1999.

KURTZ, A. M. et al. Effects of caffeinated versus decaffeinated energy shots on blood pressure and heart rate in healthy young volunteers. **Pharmacotherapy**, v. 33, n. 8, p. 779-86, Aug 2013.

LANDOLT, H. P. et al. Caffeine reduces low-frequency delta activity in the human sleep EEG. **Neuropsychopharmacology**, v. 12, n. 3, p. 229-38, May 1995.

LEBLANC, J. et al. Enhanced metabolic response to caffeine in exercise-trained human subjects. **J Appl Physiol (1985)**, v. 59, n. 3, p. 832-7, Sep 1985.

LEE, C. L.; LIN, J. C.; CHENG, C. F. Effect of caffeine ingestion after creatine supplementation on intermittent high-intensity sprint performance. **Eur J Appl Physiol**, v. 111, n. 8, p. 1669-77, Aug 2011.

LI, J. M. et al. Adenosine enhances nitric oxide production by vascular endothelial cells. **Am J Physiol**, v. 269, n. 2 Pt 1, p. C519-23, Aug 1995.

LOWENSTEIN, C. J. et al. Nitric oxide inhibits viral replication in murine myocarditis. **Journal of Clinical Investigation**, v. 97, n. 8, p. 1837-1843, 1996.

LU, J. F. et al. [Determination of caffeine metabolite for the evaluation of N-acetyltransferase, CYP1A2 and xanthine oxidase activities]. **Yao Xue Xue Bao**, v. 32, n. 11, p. 813-8, Nov 1997.

LV, X. et al. Caffeine protects against alcoholic liver injury by attenuating inflammatory response and oxidative stress. **Inflamm Res**, v. 59, n. 8, p. 635-45, Aug 2010.

MAHDAVI, R. et al. Effects of Caffeine Supplementation on Oxidative Stress, Exercise-Induced Muscle Damage and Leukocytosis. **Journal of Faculty of Pharmacy**, v. 18, n. 3, p. 177-182, 2012/10/2 2012.

MAIORANA, A. et al. Exercise and the nitric oxide vasodilator system. **Sports Med**, v. 33, n. 14, p. 1013-35, 2003.

MAIUOLO, J. et al. Regulation of uric acid metabolism and excretion. **Int J Cardiol**, v. 213, p. 8-14, Jun 15 2016.

MARIDAKIS, V. et al. Caffeine attenuates delayed-onset muscle pain and force loss following eccentric exercise. **J Pain**, v. 8, n. 3, p. 237-43, Mar 2007.

MCLELLAN, T. M.; CALDWELL, J. A.; LIEBERMAN, H. R. A review of caffeine's effects on cognitive, physical and occupational performance. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 71, p. 294-312, 12// 2016.

MOTL, R. W. et al. Effect of caffeine on leg muscle pain during cycling exercise among females. **Med Sci Sports Exerc**, v. 38, n. 3, p. 598-604, Mar 2006.

MYERS, D. E.; SHAIKH, Z.; ZULLO, T. G. Hypoalgesic effect of caffeine in experimental ischemic muscle contraction pain. **Headache**, v. 37, n. 10, p. 654-8, Nov-Dec 1997.

NAWROT, P. et al. Effects of caffeine on human health. **Food Addit Contam**, v. 20, n. 1, p. 1-30, Jan 2003.

NIEBAUER, J.; COOKE, J. P. Cardiovascular effects of exercise: role of endothelial shear stress. **J Am Coll Cardiol**, v. 28, n. 7, p. 1652-60, Dec 1996.

OLCINA, G. J. et al. Effect of Caffeine on Oxidative Stress During Maximum Incremental Exercise. **Journal of Sports Science & Medicine**, v. 5, n. 4, p. 621-628, 2006.

PARK, J. H. et al. Uric acid attenuates nitric oxide production by decreasing the interaction between endothelial nitric oxide synthase and calmodulin in human umbilical vein endothelial cells: a mechanism for uric acid-induced cardiovascular disease development. **Nitric Oxide**, v. 32, p. 36-42, Aug 1 2013.

PAŞAOĞLU, H. et al. The effect of caffeine on oxidative stress in liver and heart tissues of rats. **Turk J Med Sci**, 2011.

PASMAN, W. J. et al. The effect of different dosages of caffeine on endurance performance time. **Int J Sports Med**, v. 16, n. 4, p. 225-30, May 1995.

PATON, C. D.; HOPKINS, W. G.; VOLLEBREGT, L. Little effect of caffeine ingestion on repeated sprints in team-sport athletes. **Med Sci Sports Exerc**, v. 33, n. 5, p. 822-5, May 2001.

PELUSO, I.; RAGUZZINI, A. Salivary and Urinary Total Antioxidant Capacity as Biomarkers of Oxidative Stress in Humans. **Patholog Res Int**, v. 2016, p. 5480267, 2016.

PETTERSEN, S. A. et al. Caffeine supplementation does not affect match activities and fatigue resistance during match play in young football players. **J Sports Sci**, v. 32, n. 20, p. 1958-1965, Dec 2014.

PINHO, R. A. D. et al. Doença arterial coronariana, exercício físico e estresse oxidativo. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 94, p. 549-555, 2010.

POLOTOW, T. G. et al. Effect of 1-RM, 80%RM, and 50%RM strength exercise in trained individuals on variations in plasma redox biomarkers. **J Strength Cond Res**, Oct 27 2016.

PORRO, B. et al. Nitric oxide synthetic pathway in patients with microvascular angina and its relations with oxidative stress. v. 2014, p. 726539, 2014.

POWERS, S. K.; RADAK, Z.; JI, L. L. Exercise-induced oxidative stress: past, present and future. **J Physiol**, Feb 19 2016.

PRASANTHI, J. R. et al. Caffeine protects against oxidative stress and Alzheimer's disease-like pathology in rabbit hippocampus induced by cholesterol-enriched diet. **Free Radic Biol Med**, v. 49, n. 7, p. 1212-20, Oct 15 2010.

RAHMAN, I.; KODE, A.; BISWAS, S. K. Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic recycling method. **Nat. Protocols**, v. 1, n. 6, p. 3159-3165, 01/print 2007.

RHEA, M. R. Determining the magnitude of treatment effects in strength training research through the use of the effect size. **J Strength Cond Res**, v. 18, n. 4, p. 918-20, Nov 2004.

RICHARDSON, D. L.; CLARKE, N. D. Effect of Coffee and Caffeine Ingestion on Resistance Exercise Performance. **J Strength Cond Res**, v. 30, n. 10, p. 2892-900, Oct 2016.

ROB, D. et al. Uric Acid as a Marker of Mortality and Morbidity in Fabry Disease. **PLoS One**, v. 11, n. 11, p. e0166290, 2016.

SALIN-PASCUAL, R. J. et al. Caffeine challenge in insomniac patients after total sleep deprivation. **Sleep Med**, v. 7, n. 2, p. 141-5, Mar 2006.

SANTOS RDE, A. et al. Caffeine alters anaerobic distribution and pacing during a 4000-m cycling time trial. **PLoS One**, v. 8, n. 9, p. e75399, 2013.

SCHNEIKER, K. T. et al. Effects of caffeine on prolonged intermittent-sprint ability in team-sport athletes. **Med Sci Sports Exerc**, v. 38, n. 3, p. 578-85, Mar 2006.

SEBASTIAO, A. M.; RIBEIRO, J. A. Adenosine receptors and the central nervous system. **Handb Exp Pharmacol**, n. 193, p. 471-534, 2009.

SELAMOGLU, S. et al. Aerobic and anaerobic training effects on the antioxidant enzymes of the blood. **Acta Physiol Hung**, v. 87, n. 3, p. 267-73, 2000.

SEN, C. K. Glutathione homeostasis in response to exercise training and nutritional supplements. **Mol Cell Biochem**, v. 196, n. 1-2, p. 31-42, Jun 1999.

SHAH, S. A. et al. Impact of Acute Energy Drink Consumption on Blood Pressure Parameters: A Meta-analysis. **Ann Pharmacother**, v. 50, n. 10, p. 808-15, Oct 2016.

SHI, X.; DALAL, N. S.; JAIN, A. C. Antioxidant behaviour of caffeine: efficient scavenging of hydroxyl radicals. **Food Chem Toxicol**, v. 29, n. 1, p. 1-6, Jan 1991.

SILVA, A. C. E. et al. Escalas de Borg e OMNI na prescrição de exercício em cicloergômetro. **Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano**, v. 13, p. 117-123, 2011.

SIRI, W. E. Body composition from fluid apaces and density: Analysis of methods. In J. Brozek & A. Henschel (Eds.), *Techniques for measuring body composition*. In: (Ed.): Washington, DC: National Academy of Science and Natural Resource Council, 1961.

SOKMEN, B. et al. Caffeine use in sports: considerations for the athlete. **J Strength Cond Res**, v. 22, n. 3, p. 978-86, May 2008.

SOUZA-JUNIOR, T. P. et al. A cafeína potencializa o desempenho em atividades de endurance? **Brazilian Journal of Biomotricity**, v. 6, n. 3, p. 144-152, 2012.

SOUZA-JUNIOR, T. P. et al. Delayed uric acid accumulation in plasma provides additional anti-oxidant protection against iron-triggered oxidative stress after a wingate test. **Biology of Sport**, v. 31, n. 4, p. 271-276, 2014.

SOUZA JR., T. P. D.; OLIVEIRA, P. R. D.; PEREIRA, B. Exercício físico e estresse oxidativo: efeitos do exercício físico intenso sobre a quimioluminescência urinária e malondialdeído plasmático. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 11, p. 91-96, 2005.

SOUZA JUNIOR, T. P. D.; PEREIRA, B. Creatina: auxílio ergogênico com potencial antioxidante? **Revista de Nutrição**, v. 21, p. 349-353, 2008.

SPRIET, L. L. Exercise and sport performance with low doses of caffeine. **Sports Med**, v. 44 Suppl 2, p. S175-84, Nov 2014.

ST CLAIR GIBSON, A. et al. The conscious perception of the sensation of fatigue. **Sports Med**, v. 33, n. 3, p. 167-76, 2003.

STUART, G. R. et al. Multiple effects of caffeine on simulated high-intensity team-sport performance. **Med Sci Sports Exerc**, v. 37, n. 11, p. 1998-2005, Nov 2005.

TENG, C. L. et al. Does a single cup of caffeinated drink significantly increase blood pressure in young adults? A randomised controlled trial. **Aust Fam Physician**, v. 45, n. 1, p. 65-8, Jan-Feb 2016.

TENG, G. G. et al. Serum urate levels and consumption of common beverages and alcohol among Chinese in Singapore. **Arthritis Care Res (Hoboken)**, v. 65, n. 9, p. 1432-40, Sep 2013.

THOMAS, J. R.; NELSON, J. K.; SILVERMAN, S. J. **Métodos de pesquisa em atividade física**. ArtMed, 2007. ISBN 9788536308647.

TSCHAKERT, G.; HOFMANN, P. High-intensity intermittent exercise: methodological and physiological aspects. **Int J Sports Physiol Perform**, v. 8, n. 6, p. 600-10, Nov 2013.

UMEMURA, T. et al. Effects of acute administration of caffeine on vascular function. **Am J Cardiol**, v. 98, n. 11, p. 1538-41, Dec 1 2006.

VARMA, S. D.; HEGDE, K. R.; KOVTUN, S. Oxidative stress in lens in vivo: inhibitory effect of caffeine. A preliminary report. **Mol Vis**, v. 16, p. 501-5, Mar 23 2010.

WELLINGTON, B. M.; LEVERITT, M. D.; KELLY, V. G. The Effect of Caffeine on Repeat High Intensity Effort Performance in Rugby League Players. **Int J Sports Physiol Perform**, p. 1-19, Aug 24 2016.

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**, v. 26, n. 2, p. 116-120, 1992.

WOOLF, K.; BIDWELL, W. K.; CARLSON, A. G. The effect of caffeine as an ergogenic aid in anaerobic exercise. **Int J Sport Nutr Exerc Metab**, v. 18, n. 4, p. 412-29, Aug 2008.

ZERAATPISHE, A. et al. The Effects of Caffeine Supplements on Exercise-Induced Oxidative Damages. **Asian J Sports Med**, v. 6, n. 4, p. e23023, Dec 2015.

APÊNDICES

APÊNDICE 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nós, Professor Dr. Tácito Pessoa de Souza Junior e Mestrando Alexandre Ricardo Okuyama do programa de pós-graduação em Educação Física da Universidade Federal do Paraná, estamos convidando você, homem (maior de 18 anos) saudável e fisicamente ativo, habituado ao exercício de alta intensidades, da cidade de Curitiba/PR a participar de um estudo intitulado: “Efeito da suplementação com cafeína sobre o desempenho físico e o balanço redox em um protocolo de exercício físico intermitente de alta intensidade (HIIT)”. Maiores evidências científicas sobre os efeitos da suplementação de cafeína no exercício intermitente (caracterizado por períodos curtos de esforço separados por períodos de descanso) poderá ser útil para a melhor prescrição deste suplemento, para elaboração de novas pesquisas na área e formação de um corpo de evidências que suportem seu uso.

- a) O estresse oxidativo ocorre por um desequilíbrio entre os fatores pró-oxidantes (maléficos) e antioxidantes (protetores), e quando o primeiro se mostra aumentando pode causar danos à saúde. O objetivo desta pesquisa é verificar os possíveis benefícios da suplementação aguda (de uma única dose) com cafeína no desempenho e combate ao estresse oxidativo gerado durante o exercício intermitente (caracterizado por períodos curtos de esforço separados por períodos de descanso).
- b) Caso você participe da pesquisa, será necessário que você compareça em 3 dias diferentes ao Laboratório de Fisiologia do Exercício e Exergames/PUC-PR. Realize as medidas de peso, altura, pressão arterial, frequência cardíaca, glicemia, e realize protocolos de exercício intenso em uma bicicleta-ergométrica. Será necessário que consuma duas cápsulas em dias distintos, separados por 7 dias, uma contendo cafeína e outra contendo placebo, numa proporção de 6 mg por kg corporal. Também serão realizadas coletas sanguíneas da região do antebraço por um enfermeiro, em dois dos três dias, antes e após realizar o exercício intenso, totalizando 4 coletas.
- c) Para tanto você deverá comparecer no Laboratório de Fisiologia do Exercício e Exergames/PUC-PR. localizado na Rua Imaculada Conceição nº 1155, Bairro Prado Velho, CEP: 80215-901 em 3 dias distintos para realização dos protocolos de exercício, exames laboratoriais e a coleta de sangue, o que levará aproximadamente 2 horas em cada dia, totalizando 6 horas.
- d) Alguns riscos relacionados ao estudo podem ser: sentir agitação, nervosismo, insônia, desconforto gastro-intestinal, aumento da pressão, arritmias (palpitações), aumento do volume da urina, dores musculares, cansaço ou desconforto devido a suplementação e o exercício intenso. As possíveis complicações que podem ocorrer durante a coleta sanguínea pode destacar o desconforto, formação de hematoma, punção acidental de uma artéria, infecção, lesão nervosa, dor. Você poderá deixar a pesquisa a qualquer momento em que achar necessário. Os procedimentos em caso de qualquer um dos incidentes acima estão descritos no item e).
- e) As coletas serão realizadas na presença de enfermeiros e profissionais de educação física, os quais possuem treinamento básico em primeiros socorros, e realizarão os primeiros atendimentos no próprio local. Caso alguma lesão, mal estar, ou qualquer outro fator que necessite remoção, o serviço Plus Santé será acionado, com o qual a Pontifícia Universidade Católica é conveniada.
- f) Após a coleta o sangue será transportado e armazenado na Universidade Cruzeiro do Sul localizada na cidade de São Paulo – SP (Rua Galvão Bueno - 868, Liberdade, CEP 01506-000), onde serão realizadas todas as análises sanguíneas.

Rubricas Participante da Pesquisa e /ou responsável legal _____
Pesquisador Responsável _____

- g) Os benefícios esperados com essa pesquisa serão os avanços científicos e entendimentos sobre o efeito da cafeína no exercício intermitente. Você receberá todos os dados das avaliações de pressão arterial, glicemia, frequência cardíaca, desempenho e análises sanguíneas.
- h) Os pesquisadores Prof. Dr. Tácito Pessoa Junior Tel. (41) 9217-7879 e Mestrando Alexandre Ricardo Okuyama Tel. (41) 96266854 serão responsáveis por este estudo poderão ser localizados no Departamento de Educação Física, Rua Coração de Maria, 92, CEP 80210-132 Campus Jardim Botânico Curitiba PR – Brasil no horário entre as 8:00 e as 17:00 para esclarecer eventuais dúvidas que o senhor possa ter e fornecer-lhe as informações que queira, antes, durante ou depois de encerrado o estudo.
- i) A sua participação neste estudo é voluntária e se o senhor 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.
- j) As informações relacionadas ao estudo poderão ser conhecidas por pessoas autorizadas pelo Prof. Dr. Tácito Pessoa de Souza Júnior. 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.
- k) As despesas necessárias para a realização da pesquisa (exames e suplementação e etc.) não são de sua responsabilidade e pela sua participação no estudo você não receberá qualquer valor em dinheiro. Caso haja custos de transporte até o local, o valor será reembolsado pelo próprio pesquisador. Será disponibilizado um médico para a realização dos exames médicos necessários para assegurar que está apto a participar das atividades propostas na pesquisa. E este exame também será custeado pelo próprio pesquisador.
- l) O material obtido – todas as medidas, antropométricas, das variáveis fisiológicas, de capacidades físicas e das amostras sanguíneas – serão utilizados unicamente para essa pesquisa e serão destruídos/descartados ao término do estudo. As amostras sanguíneas serão descartadas segundo as normas de recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica e Medicina Laboratorial para a coleta de sangue venoso, ao final da pesquisa. Entretanto caso decida-se utilizar a amostras para outras pesquisas, será realizada uma nova submissão ao Comitê de Ética em Pesquisa, você será informado e recrutado para assinar um novo Termo de consentimento livre esclarecido, como este.
- m) Quando os resultados forem publicados, seus dados serão preservados e não aparecerá seu nome, e sim um código.
- n) 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. Eu entendi o que não posso fazer durante a pesquisa e fui informado que serei atendido sem custos para mim se eu apresentar algum dos problemas relacionados ao estudo.

Curitiba, ____ de _____ de 2016

[Assinatura do Participante de Pesquisa]

[Assinatura do Pesquisador Responsável ou quem aplicou o TCLE]

APÊNDICE 2

**FICHA 2 – PRÁTICA DE ATIVIDADE FÍSICA E USO DE SUPLEMENTOS E
MEDICAMENTOS**

Nome:	
Email:	Tel:

Pratica Exercício Físico () Sim () Não
Modalidades:
Tempo de prática:
Dias por semana:
Horas por Dia:
Uso de Suplementos () Sim () Não
Tipo e marca:
Dose consumida:
Vitaminas: (A,C,E ou complexos vitamínicos)

Uso de Medicamentos () Sim () Não
Tipo e marca:
Doses consumida :

Declaração: Assumo a veracidade das informações prestadas acima

Assinatura: _____

Data: ___/___/___

APÊNDICE 3

FICHA 3 – CONSUMO DE PRODUTOS E CONTENHAM CAFEÍNA

Nome:	
Email:	Tel:

CONSUMO DE CAFÉ

- Consumo de café:
() Sim () Não
- Tipos de café que consome regularmente:
() Filtrado (filtro de papel)
() Filtrado (coador de pano)
() Solúvel
() Descafeinado
() Fervido/Mocha ou percolado
() Expresso
() Não sabe
() Outro: _____
- Frequência de consumo _____ vezes/dia
- Tamanho da porção que geralmente consome (copo americano, xícara pequena, xícara grande, caneca)

CONSUMO DE PRODUTOS CONTENDO CAFEÍNA

Produto	Tipo/Marca	Quantidade por Dia
Chá (preto, mate, branco, verde)		
Chocolate (ao leite, amargo, branco)		
Bebida achocolatada		
Refrigerantes (Cola, Guaraná)		
Bebidas Energéticas		
Suplementos (Pré-treinos e Termogênicos)		
Analgésicos		
Remédio para gripe		

APÊNDICE 4

LISTA DE PRODUTOS/ALIMENTOS

Prezado participante, o consumo dos itens abaixo deve ser evitado em um período de no mínimo 24 horas anteriores ao comparecimento no laboratório para o dia da coleta. Tal medida é necessária para o controle do consumo de cafeína, presente em todos os itens abaixo, o que poderia prejudicar o resultado da pesquisa.

Café	Whey protein
Cafeína	BCAA
Chás	Matodextrina
Bebidas Energéticas	Termogênicos
Chocolate	Beta-alanina
Achocolatados	Omega 3/6
Vitamina C (balas, efervescentes)	Bicarbonato
Refrigerantes	Glutamina
Guaraná (pó, bebidas)	Analgésicos
Sucos Funcionais/Detox (Frutas, Legumes, Tuberculos, Folhas)	Remédios para gripe
Suplementos poli vitamínicos	Anti-inflamatórios
Suplementos de beterraba	Relaxantes musculares
Creatina	Antibióticos
Pré-treinos	Suplementos Antioxidantes

APÊNDICE 5

FICHA 4 – FICHA DE IDENTIFICAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO

Nome:	Data:
-------	-------

Você conseguiu identificar qual suplementação utilizou? () Sim () Não

Se sim, qual suplementação você acha que utilizou? () Cafeína () Placebo

Por que? _____

Sentiu algum efeito colateral? () Sim () Não

Se sim, quais dos citados abaixo:

() Diurese

() Arritmia

() Dor de Cabeça

() Desconfortos Gastrointestinais

() Aumento da disposição/sensação de alerta

() Aumento da Ventilação

() Aumento da Frequência Cardíaca

() Outros _____

ANEXOS

ANEXO 1

PAR Q*
Physical Activity Readiness Questionnaire

Este questionário tem objetivo de identificar a necessidade de avaliação clínica antes do início da atividade física. Caso você marque mais de um sim, é aconselhável a realização da avaliação clínica. Contudo, qualquer pessoa pode participar de uma atividade física de esforço moderado, respeitando as restrições médicas.

Por favor, assinale “sim” ou “não” as seguintes perguntas:

1) Alguma vez seu médico disse que você possui algum problema de coração e recomendou que você só praticasse atividade física sob prescrição médica?

() sim () não

2) Você sente dor no peito causada pela prática de atividade física?

() sim () não

3) Você sentiu dor no peito no último mês?

() sim () não

4) Você tende a perder a consciência ou cair como resultado do treinamento?

() sim () não

5) Você tem algum problema ósseo ou muscular que poderia ser agravado com a prática de atividades físicas?

() sim () não

6) Seu médico já recomendou o uso de medicamentos para controle de sua pressão arterial ou condição cardiovascular?

() sim () não

7) Você tem consciência, através de sua própria experiência e/ou de aconselhamento médico, de alguma outra razão física que impeça a realização de atividades físicas ?

() sim () não

Gostaria de comentar algum outro problema de saúde seja de ordem física ou psicológica que impeça a sua participação na atividade proposta?

Declaração: Assumo a veracidade das informações prestadas acima e declaro que estou em plenas condições de saúde e apto a realizar exercícios físicos, sem nenhuma restrição médica para me submeter a um programa de treinamento físico. Declaro, ainda, que não sou portador de nenhuma moléstia infecto contagiosa que possa prejudicar os demais frequentadores do ambiente de exercícios.

Nome: _____

Assinatura: _____ Data: ____ / ____ / ____

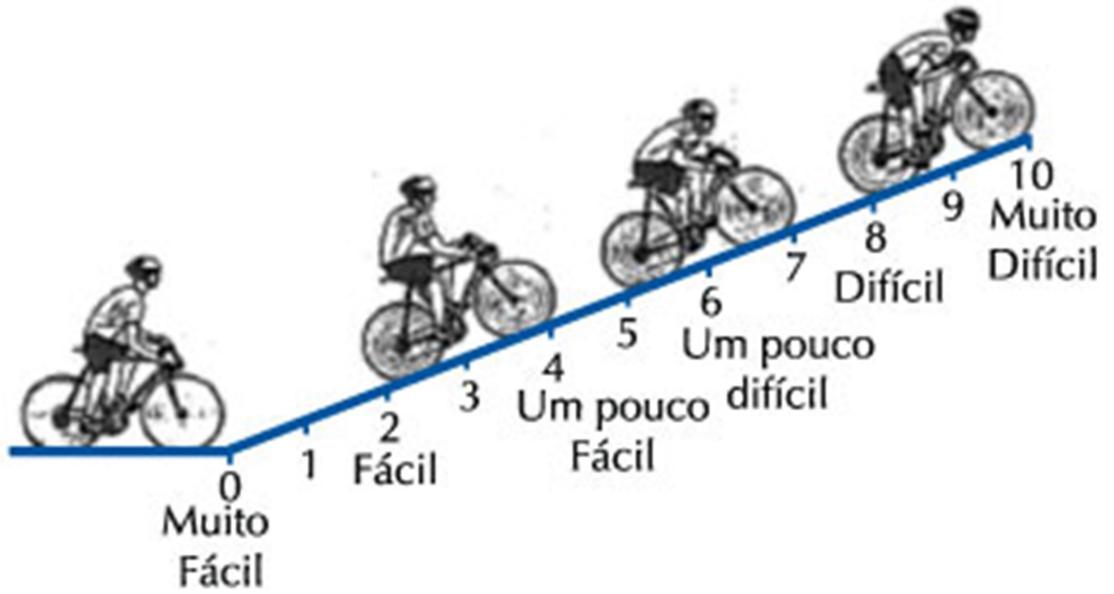
Suplementos			
Tipo	Dose	Marca	Frequencia de uso

Quem indicou o uso de suplementos: _____

Você usa algum medicamento?

Observações: _____

ANEXO 3



Escala OMNI de percepção de esforço para adultos em ciclo ergômetro adaptada para o português. Fonte: SILVA et al. (2011)

ANEXOS 4

CERTIFICADO DE ANÁLISE DA CAFEÍNA ANIDRA – LAUDO DE PUREZA

CERTIFICADO DE ANÁLISE

PRODOTO.: CAFEINA ANIDRA
 FARM.: 01/07/14
 VAL. VENC.: 30/06/18
 LOT. FAB/INTERNO.: 1041407496
 PROCED.: BRASIL
 ORIGEM.: CHINA
 EMISSAO.: 28/10/14
 N. FISCAL.: 000069371

NOME DO PRODUTO: CAFEINA ANIDRA
 FÓRMULA MOLECULAR: C₈H₁₀N₄O₂
 PES. MOLECULAR: 194,19
 CAT. TERAPÊUTICA: ESTIMULANTE DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL
 U.C.: 01642 (CAFEINA)
 FATOR DE CORREÇÃO: 1,0010
 CAS: 58-08-2
 FARM. ANTE: CSNO INNOVATION PHARMACEUTICAL

BOLÉTIM DE ANÁLISE: 2568/14

TESTES	ESPECIFICAÇÕES	RESULTADOS
ASPECTO FÍSICO:	BRANCO CRISTALINO, OU FINO OU CRISTAIS	DE ACORDO
COR:	BRANCO OU QUASE BRANCO	DE ACORDO
OPACIDADE:	FAIXA DE POSAÇÃO/IN/PERDA POR SECAGEM/ SEMPRE TESTE	DE ACORDO
OPACIDADE DA SOLUÇÃO:	LÍMPIDA E INCOLOR	DE ACORDO
IMPUREZAS RELATADAS:	CADA IMPUREZA: A, B, C, D, E e F MAX. 0,1%	< 0,1%
	IMP. NÃO ESPECIFICADA MAX. 0,1%	< 0,1%
	IMPUREZAS TOTAIS MAX. 0,1%	< 0,1%
	IMPUREZA INDIVIDUAL MAX. 0,1%	< 0,1%
	IMPUREZAS TOTAIS MAX. 0,1%	< 0,1%
IMPUREZAS ORGANICAS:	MAX. 500 PPM	< 500 PPM
SUBST. INDETERMINADOS:	MAX. 10 PPM	< 10 PPM
PERDAS POR SECAGEM:	MAX. 0,50%	0,08%
RENDIMENTO POR INCINERAÇÃO:	MAX. 0,1%	0,07%
FAUSCADA DE CÁLSIO:	194 - 219°C	236,1 - 236,7°C
TEMP. DE FUSÃO:	16,5% A 101,0% (B.A.)	99,9%
GRAV. ESPECÍFICA:	MEN. 95% PASSA ATRAVÉS DE 100MESH	DE ACORDO

RESULTADOS TRANSCritos DO LAUDO DE ANÁLISE DO FABRICANTE (BP2613/USF36).
 DILUIÇÃO: APROVALO

Dra. LUCIANA PEREIRA
 FARM. RESP. P. CO 2400

SEDE: ENDIMENTO GEMINI: sac@geminifarmaceutica.ind.br 08007715008



Gemini Indústria de Injeções Farmacêuticas Ltda
 Rua Faustino Neto, 285 - Galpão 05 - São Bernardo do Campo - SP - Brasil
 CEP: 09851-720 - Telefone: (0xx11) 2067-5600
 V.P. - 4D, Quadra 08, Módulo 01 e 02, DAIMA - Anápolis - GO - Brasil
 CEP: 75132-105 - Telefone: (0xx62) 3701-5460
 www.geminifarmaceutica.ind.br