

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE EDUCAÇÃO FÍSICA E DESPORTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EDUCAÇÃO FÍSICA**

LEONARDO CARVALHO CALDAS

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE CAFEÍNA E
ÁCIDO CAFEICO NAS ADAPTAÇÕES DO MÚSCULO
ESQUELÉTICO INDUZIDAS POR TREINAMENTO**

VITÓRIA
2017

LEONARDO CARVALHO CALDAS

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE CAFEÍNA E
ÁCIDO CAFEICO NAS ADAPTAÇÕES DO MÚSCULO
ESQUELÉTICO INDUZIDAS POR TREINAMENTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Educação Física do Centro de Educação Física e Desportos da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Educação Física.

Orientador: Prof. Dr. Lucas Guimarães Ferreira.

VITÓRIA

2017

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

Caldas, Leonardo Carvalho, 1988-
C145e Efeito da suplementação de cafeína e ácido cafeico nas
adaptações do músculo esquelético induzidas por treinamento /
Leonardo Carvalho Caldas. – 2017.
63 f. : il.

Orientador: Lucas Guimarães Ferreira.
Dissertação (Mestrado em Educação Física) – Universidade
Federal do Espírito Santo, Centro de Educação Física e
Desportos.

1. Cafeína. 2. Hipertrofia. 3. Músculos – Treinamento. 4.
Ácido cafeico. I. Ferreira, Lucas Guimarães. II. Universidade
Federal do Espírito Santo. Centro de Educação Física e
Desportos. III. Título.

CDU: 796

LEONARDO CARVALHO CALDAS

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE CAFEÍNA E ÁCIDO CAFEICO
NAS ADAPTAÇÕES DO MÚSCULO ESQUELÉTICO INDUZIDAS
POR TREINAMENTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Educação Física do Centro de Educação Física e Desportos da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Educação Física.

Aprovada em 26 de Maio de 2017

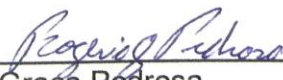
COMISSÃO EXAMINADORA



Dr. Lucas Guimarães Ferreira
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientador



Dr. Ana Paula Lima Leopoldo
Universidade Federal do Espírito Santo



Dr. Rogério Graça Pedrosa
Universidade Federal do Espírito Santo



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA



CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Efeitos da administração crônica de cafeína e ácido caféico em modelo de treinamento de contra resistência em ratos wistar", protocolo nº66/2015, sob a responsabilidade de Lucas Guimarães Ferreira que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata(exceto o homem), para fins de pesquisa científica(ou ensino)encontra-se de acordo com os preceitos da Lei 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal(CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS(CEUA) DO(A) Centro de Ciências da Saúde- Maruípe-Vitória-ES em reunião de 07/08/2015.

Vigência do Projeto	Início: Setembro/2015 Término:Junho/2018
Espécie/Linhagem	Ratos Wistar
Nº de Animais	Experimento Piloto:12 Protocolo Experimental:75 Total:87
Peso/Idade	Peso:200 a 250 gramas Idade:08-10 semanas
Sexo	Macho
Origem	Mamíferos

Presidente do
Comitê de Ética no Uso de Animais
CEUA/UFES

Vitória (ES), 04 de setembro 2015.

Aos meus pais, Marlene Carvalho
Caldas e Marcos Aurélio Pereira
Caldas pelo apoio e carinho constante.

AGRADECIMENTOS

Quero aqui deixar registrado todo meu agradecimento a todos que de alguma forma contribuíram para que esse trabalho pudesse ser realizado.

Ao amigo e orientador, Prof. Dr. Lucas Guimarães Ferreira, que além de um orientador sempre presente, me deu total liberdade para a condução desse trabalho. Um exemplo, de professor comprometido com a formação de seus alunos.

Ao Prof. Breno Valentim Nogueira por abrir as portas do seu laboratório (LUCCAR) e sua aluna Arícia Leone, também aos técnicos do laboratório histotécnico da UFES, Luccienne B. Oliveira, Viviane C. Meneguzzi, Sueli Brozeguini, Rafaela A. Araujo, pela contribuição técnica para a realização da análise histológica desse estudo.

Aos professores, Dr. Rodrigo L. Vancini e Dr. André S. Leopoldo, Dr. Wellington Lunz com quem pude conversar e trocar ideias sobre a condução desse trabalho.

Aos membros da banca, Profa. Dra. Ana Paula L. Leopoldo e Prof. Dr. Rogério G. Pedrosa, pelas correções e sugestões inicialmente já realizadas e novas sugestões que certamente virão para melhorar esse trabalho.

Aos amigos de laboratório, Wagner Barbosa, Arthur Azevedo, Alexandre Barroso, Taynan Luchi, que em vários momentos contribuíram com esse trabalho durante o protocolo de experimento e cuidado com os animais.

Aos amigos do cafezinho da tarde, Jóctan P. Cordeiro, Victor Gasparini, Victor M. Curty, Mauro G. Júnior, Wagner Muller, Andressa Damiani, Catarina Estringer, Priscila M. Coelho, Bettina Blanco, Amanda, Izabor Oakes, e tantos outros amigos de corredor pelas conversas sempre muito produtivas.

A CAPES, pela bolsa que me permitiu dedicar exclusivamente ao trabalho.

Aos meus pais, noiva, familiares e amigos não citados por todo apoio durante esse período de caminhada.

Deixo aqui meu muito obrigado!

RESUMO

Estudos *in vivo* e *in vitro*, têm observado que dois dos principais metabólitos presentes no café, a cafeína e o ácido cafeico, podem modular a atividade da via mTOR, considerada via chave na hipertrofia induzida por sobrecarga. Entretanto o efeito dessas substâncias nas adaptações do músculo esquelético induzida por treinamento ainda permanece desconhecido. OBJETIVO: Avaliar o efeito da administração crônica da cafeína, do ácido cafeico e a interação de ambos nas adaptações do músculo esquelético induzidas pelo treinamento com sobrecarga. MATERIAL E MÉTODOS: Foram utilizados 50 ratos Wistar divididos em 5 grupos: 1) Sedentário (S); 2) Treinado (T); 3) Treinado + cafeína (TC); 4) Treinado + ácido cafeico (TAc); 5) Treinado + cafeína e ácido cafeico (TCAc). Os grupos realizaram o treinamento de escalada de escada com cargas progressivas 3 vezes por semana durante 10 semanas. A suplementação foi administrada por gavagem (30 mg/kg) com duas doses diárias durante as 10 semanas de treinamento. Foram avaliados o as alterações no peso corporal, ingestão alimentar, desempenho de força (carga conduzida; carga total; volume de treinamento; n° de escaladas) e massa muscular dos músculos sóleo, plantar e extensor digital longo. Também foi analisada a área de secção transversa das fibras musculares utilizando a técnica de histologia por coloração com Hematoxilina e Eosina. RESULTADOS: Divididos em dois momentos, primeiro identificando o efeito do protocolo de treinamento (S vs. T) e em seguida identificando o efeito da suplementação (T; TC; TAc; TCAc). No primeiro momento, o protocolo de treinamento foi efetivo para aumentar a força no teste de carga conduzida (grupo T: $813 \pm 122,8\text{g}$ vs. grupo S: $383 \pm 67,0\text{g}$; $p < 0,0001$) e no teste de carga total (grupo T: $1269,8 \pm 143,4\text{g}$ vs. grupo S: $878,0 \pm 81,0\text{g}$; $p < 0,0001$) após a 10ª semana de treinamento. Além disso, ganhos de força foram observados ao longo do tempo ($p < 0,0001$). O treinamento também provocou reduções na ingestão alimentar total (grupo T: $245,6 \pm 11,6\text{g}$ vs. grupo S: $270,8 \pm 26,9\text{g}$; $p = 0,0068$). Não foram encontradas alterações no peso corporal, na massa muscular e na área de secção transversa dos músculos avaliados (valores de $p \geq 0,09$). No segundo momento, quando avaliado o efeito da suplementação, não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos para desempenho de força, peso corporal e ingestão alimentar (valores de $p \geq 0,13$). Para alterações na massa

muscular, quando o peso do músculo sóleo foi normalizado pelo peso corporal final, foi encontrado efeito principal para a cafeína ($p = 0,01$) e diferença entre os grupos T < TCAC ($p = 0,03$). Diferença entre os grupos T < TCAC também foi encontrada para o músculo plantar normalizado pelo peso corporal ($p = 0,04$), porém, com efeito principal para o ácido cafeico ($p = 0,04$). Entretanto, a análise da área de secção transversa das fibras não confirmaram esses resultados (valores de $p \geq 0,19$). Além disso, não foram observadas diferenças na massa muscular quando analisado o peso do tecido, ou normalizado pelo comprimento da tíbia ou peso seco entre os grupos (valores de $p \geq 0,05$). **CONCLUSÃO:** Os resultados do presente estudo demonstram que a cafeína e/ou ácido cafeico associados ao treinamento não estimularam aumentos na massa muscular e força. Os resultados demonstraram que o protocolo de treinamento foi efetivo para estimular maiores ganhos de força no grupo treinado, porém não foi observada hipertrofia muscular que pode estar associado ao menor consumo alimentar nos grupos treinados.

Palavras-chave: Cafeína, hipertrofia, músculos, treinamento, ácido cafeico.

ABSTRACT

In vivo and in vitro studies have been demonstrating that two of the main metabolites present in coffee - caffeine and caffeic acid - can modulate mTOR pathway activity, which is considered the key pathway in overload-induced skeletal muscle hypertrophy. However, the effect of these substances on skeletal muscle adaptations induced by resistance training remains unknown. **OBJECTIVE:** To evaluate the effect of chronic administration of caffeine, caffeic acid and their combination of both on skeletal muscle adaptations induced by resistance training. **MATERIALS AND METHODS:** Fifty male Wistar rats were divided into 5 groups: 1) Sedentary (S); 2) Trained (T); 3) Trained + caffeine (TC); 4) Trained + caffeic acid (TAc); 5) Trained + caffeine plus caffeic acid (TCAc). The groups performed ladder-climbing training with progressive loads 3 times per week for 10 weeks. Supplementation was given by gavage (30 mg/kg) with two daily doses during the 10 weeks of training. The changes in body weight, food intake, strength performance (load carried, total load, training volume, number of climbs) and muscle mass of the soleus, plantar and long digital extensor muscles were evaluated. We also analyzed the cross-sectional area of the muscle fibers using the histology technique by staining with Hematoxylin and Eosin. **RESULTS:** The study was divided in two moments, first identifying the effect of training protocol (S vs. T) and then identifying the effect of supplementation (T; TC; TAc; TCAc). The training protocol was effective to increase strength in the maximum carried loading test (T: $813 \pm 122.8\text{g}$ vs. S: $383 \pm 67.0\text{g}$; $p < 0.0001$) and in the total loading test (S: $878.0 \pm 81.0\text{g}$ vs. T: $1269.8 \pm 143.4\text{g}$; $p < 0.0001$) after the 10th week of training. In addition, strength gains were observed over time ($p < 0.0001$). Training protocol also led to reductions in total food intake (T: $245.6 \pm 11.6\text{g}$ vs. S: $270.8 \pm 26.9\text{g}$ $p = 0.0068$). No changes were observed in body weight, muscle mass and cross-sectional area of soleus, plantar and EDL (all $p \geq 0.09$). When the effect of supplementation was evaluated, no significant differences were found in strength performance, body weight and food intake (all $p \geq 0.13$). For changes in muscle mass, when weight of soleus muscle was normalized by final body weight, main effect was found for caffeine ($p = 0.01$) and difference between T < TCAc groups ($p = 0.03$). The difference between the groups T < TCAc was also found for the plantar muscle normalized by body weight ($p = 0.04$), but with main effect for caffeic acid (p

= 0.04). However, the analysis of the cross-sectional area of the fibers did not confirm these results (all values of $p \geq 0.19$). In addition, no differences in muscle mass were observed when tissue weight was analyzed or normalized by tibia length or dry weight between groups (p values ≥ 0.05). CONCLUSION: The results of the present study demonstrate that the caffeine and/or caffeic acid associated with resistance training did not result in further increases in muscle mass and strength. The resistance training protocol was effective in stimulating greater increases in strength in trained group, but no skeletal muscle hypertrophy was observed, which may be associated with lower food consumption in the trained condition.

Keywords: Caffeine, hypertrophy, muscles, training, caffeic acid.

LISTA DE ABREVIATURAS

Akt – Protein kinase B.

AMP – *Adenosine monophosphate*.

AMPK - *5' adenosine monophosphate-activated protein kinase*.

CYP1A – *Cytochrome P450, family 1, subfamily A*.

GH – *Growth hormone*.

GLUT-4 - *Glucose transporter type 4*.

GSK3_{beta} - *Glycogen synthase kinase 3 beta*.

IGF1 - *Insulin-like growth factor 1*.

mTOR - *Mammalian target of rapamycin*.

mTORC1 - *Mammalian target of rapamycin complex 1*.

Na⁺/K⁺ ATPase – *Sódio e potássio ATPase*.

PI3K - *Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase*.

p70S6K – *70-kDa ribossomal protein S6 kinase*.

S6 – *Ribossomal protein S6*.

4EBP1 - *Eukaryotic initiation factor 4E-binding protein 1*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Desenho representativo do período de treinamento.....	29
Figura 2 – Peso corporal após a 10ª semana de treinamento.....	35
Figura 3 – Consumo alimentar total mensurado durante 10 semanas de treinamento.....	35
Figura 4 – Carga conduzida fixada à cauda durante o teste de carga máxima.....	36
Figura 5 – Carga total (carga fixada à cauda + peso corporal) durante o teste de carga máxima.....	37
Figura 6 – Músculo sóleo dos grupos sedentário e treinado observado em corte transversal a partir de um microscópio óptico com lente objetiva de aumento de 20 vezes.....	39
Figura 7 – Efeito do protocolo de treinamento na área de secção transversa (μm^2) média a partir de 250 fibras por animal do músculo sóleo.....	39
Figura 8 – Músculo plantar dos grupos sedentário e treinado observado em corte transversal a partir de um microscópio óptico com lente objetiva de aumento de 20 vezes.....	40
Figura 9 – Efeito do protocolo de treinamento na área de secção transversa (μm^2) média a partir de 250 fibras por animal do músculo plantar.....	40
Figura 10 – Músculo sóleo dos grupos treinados e suplementados com cafeína e/ou ácido cafeico observado em corte transversal a partir de um microscópio óptico com lente objetiva de aumento de 20 vezes.....	44
Figura 11 – Efeito da suplementação na área de secção transversa (μm^2) média a partir de 250 fibras por animal do músculo sóleo.....	45

Figura 12 – Músculo plantar dos grupos treinados e suplementados com cafeína e/ou ácido cafeico observado em corte transversal a partir de um microscópio óptico com lente objetiva de aumento de 20 vezes.....46

Figura 13 – Efeito da suplementação na área de secção transversa (μm^2) média a partir de 250 fibras por animal do músculo plantar.....47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Fonte de cafeína presente nos alimentos.....	20
Tabela 2 – Peso corporal e desempenho de força basal dos grupos experimentais.....	34
Tabela 3 – Análise morfométrica do efeito do protocolo de treinamento nos músculos sóleo, plantar e EDL.....	38
Tabela 4 – Controle do peso corporal e ingestão alimentar durante 10 semanas de treinamento.....	41
Tabela 5 – Dados de desempenho de força entre os grupos suplementados durante 10 semanas de treinamento.....	42
Tabela 6 – Análise morfométrica do efeito da suplementação com 10 semanas de treinamento nos músculos sóleo, plantar e EDL.....	43

LISTA DE FOTOGRAFIAS

Fotografia 1 – Aparato de escalada de escada para treinamento em modelo animal.....	28
Fotografia 2 – Modelo de carga utilizada para fixação na cauda do animal.....	31

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
1.1 CONSUMO REGULAR DE CAFÉ E SAÚDE.....	18
1.2 CAFEÍNA E SAÚDE.....	19
1.3 CAFEÍNA E DESEMPENHO.....	21
1.4 COMPONENTES DO CAFÉ E AÇÃO SOBRE O MÚSCULO ESQUELÉTICO.....	23
2. OBJETIVO	26
3. MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1 ANIMAIS E TRATAMENTO.....	26
3.2 CONSUMO ALIMENTAR.....	27
3.3 PERÍODO DE FAMILIARIZAÇÃO	27
3.4 TESTE DE CARGA MÁXIMA.....	27
3.5 PERÍODO DE TREINAMENTO.....	29
3.6 COLETA E ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS.....	30
3.7 ANÁLISE HISTOLÓGICA.....	32
3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	32
4. RESULTADOS	33
4.1 EFEITO DO TREINAMENTO.....	34
4.1.1 Peso corporal	34
4.1.2 Ingestão alimentar	35

4.1.3	Desempenho de força	36
4.1.4	Músculo esquelético	37
4.2	EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM CAFEÍNA E ÁCIDO CAFEICO	41
4.2.1	Peso corporal	41
4.2.2	Ingestão alimentar	41
4.2.3	Desempenho de força	42
4.2.4	Músculo esquelético	42
5.	DISCUSSÃO	48
6.	CONCLUSÕES	55
	REFERÊNCIAS	57

INTRODUÇÃO

Coffea Arábica é o nome botânico dado a planta de café, cuja origem vem do centro da África, na Etiópia, onde a planta ainda hoje faz parte da vegetação natural. Antigos manuscritos persas dos anos de 575 descrevem que o cultivo de plantas de café fazia parte da agricultura de povos do Yêmen, onde o fruto era consumido *in natura*. Foi, entretanto, a Turquia o primeiro país a torrar os grãos de café por volta do século XIV e fazer uso da bebida na forma que hoje conhecemos. Por volta do século XVI a bebida passou a ser introduzida na Europa e mais tarde se espalhou para o resto do mundo (ABIC, 2009; CAPPELLETTI et al., 2015).

O café é considerado a bebida mais consumida no mundo depois da água, e estima-se que seu consumo seja de 1,6 bilhões de copos de café todos os dias (CAPPELLETTI et al., 2015; DIRKS-NAYLOR, 2015). O Brasil é considerado o maior produtor mundial de café, sendo responsável por 30% do mercado internacional e tem o segundo maior mercado consumidor do grão, ficando atrás apenas dos Estados Unidos (ABIC,2009; SOUSA; DA COSTA, 2015). O café é também o segundo alimento mais consumido entre os brasileiros com prevalência de consumo de 79% perdendo apenas para o arroz com 84% (SOUZA et al., 2013).

1.1 CONSUMO REGULAR DE CAFÉ E SAÚDE

A popularidade do café tem estimulado um crescente interesse da comunidade científica em investigar os efeitos do consumo regular da bebida sobre a saúde (CORNELIS, 2015). Atualmente, estudos epidemiológicos têm apontado que o consumo moderado de café (3 a 4 copos/dia, que equivale a 300 a 400mg de cafeína/dia) pode prevenir vários tipos de doenças crônicas, como doenças cardiovasculares, diabetes mellitus tipo 2, doença de Parkinson e diferentes tipos de câncer como carcinoma hepatocelular, endometrial, colorretal e mama (HIGDON; FREI, 2006; LUDWIG et al., 2014; SALAZAR-MARTINEZ et al., 2004; VAN DAM et al., 2006; VAN DAM; HU, 2005). Entretanto, apesar desses estudos sugerirem uma

ação benéfica do consumo de café na prevenção de doenças, ainda não se tem clareza de quais componentes bioativos presentes na bebida poderiam estar envolvidos nessas ações.

Uma xícara de café pode conter mais de mil compostos químicos (MEJIA; RAMIREZ-MARES, 2014). A composição química pode variar bastante, dependendo de fatores genéticos, ambientais e condições de manejo pré e pós-colheita (ABRAHÃO et al., 2008). Entretanto, o processo de torração é fundamental e causa uma série de mudanças químicas e físicas nas sementes de café verde, que só após esse processo ganham aroma e sabor característicos na sua forma final para o consumo (FARAH, 2012; WEI et al., 2012).

Dentro da classe de compostos bioativos estão a cafeína, os ácidos clorogênicos, a trigonelina, as melanoidinas e os diterpenos cafestol e *kahweol* (ABRAHÃO et al., 2008; ALMEIDA; BENASSI, 2011; LUDWIG et al., 2014). Esses compostos podem apresentar diferentes propriedades, como por exemplo, os diterpenos cafestol e *kahweol* que estão relacionados com o aumento dos níveis lipídicos. A trigonelina está relacionada a atividade antibacteriana, hipoglicêmica, neuroprotetora e estrogênica. As melanoidinas possuem atividade antioxidante, antimicrobiana, anticárie, anti-hipertensiva além da capacidade de modular a microflora do cólon. Os ácidos clorogênicos são reconhecidos por possuir atividade anticancerígena e propriedades antioxidantes. Já a cafeína é amplamente conhecida por seus efeitos sobre o sistema nervoso central (HIGDON; FREI, 2006; LIMA et al., 2010; LUDWIG et al., 2014).

1.2 CAFEÍNA E SAÚDE

Acredita-se que a cafeína é o psicoestimulante mais frequentemente consumido em todo o mundo, sendo ingerida predominantemente através do consumo de café (CAPPELLETTI et al., 2015). A cafeína também está presente em chás, refrigerantes, bebidas energéticas, estimulantes, produtos de chocolate e medicamentos (MEJIA; RAMIREZ-MARES, 2014). O teor de cafeína pode variar

bastante entre as fontes alimentares com maiores concentrações presentes no café expresso como apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 – Fonte de cafeína presente nos alimentos.

Fontes	Volume (mL)	Cafeína (mg)
Café expresso	30	50-150
Café Instantâneo	240	30-70
Café descafeinado	240	3-12
Chá erva mate	240	14-61
Chá instantâneo	240	33-64
Refrigerantes	350	22-69
Bebidas energéticas	240 - 695	33-400
Chocolates	220g	0-6
Medicamentos	1 comprimido	15-200

Tabela adaptado de Mejia, Ramirez-Mares (2014).

A cafeína é reconhecida por atuar principalmente sobre o sistema nervoso central melhorando a atenção, o humor, o estado de alerta e o desempenho cognitivo (CAPPELLETTI et al., 2015; HECKMAN; WEIL; DE MEJIA, 2010). Entretanto, altas doses (>400mg) podem provocar alterações comportamentais como ansiedade, tensão, nervosismo e distúrbios do sono (DOEPKER et al., 2016), enquanto doses extremas (10g/dia) podem, inclusive, causar intoxicação e levar à morte (CAPPELLETTI et al., 2015; JABBAR; HANLY, 2013).

A cafeína tem ação antagônica sobre os receptores de adenosina, principalmente sobre os receptores tipos A_1 e A_{2A} . O bloqueio dos receptores A_{2A} no gânglio basal parece ser fundamental para os efeitos estimulantes da cafeína (CAPPELLETTI et al., 2015). O efeito antagônico da cafeína sobre os receptores de adenosina também está relacionado à redução de risco de algumas doenças neurodegenerativas como o Alzheimer e Parkinson. A cafeína bloqueia os receptores de adenosina e estimula

a liberação de dopamina melhorando o desempenho do sistema dopaminérgico, reduzindo a resposta inflamatória, os déficits sensoriais e motores e a perda de células neuronais que está relacionado à fisiopatologia dessas doenças (CAPPELLETTI et al., 2015; HECKMAN; WEIL; DE MEJIA, 2010).

Embora a cafeína esteja associada a diversos benefícios a saúde, alguns efeitos adversos tem sido encontrados sobre o sistema cardiovascular, como aumento da pressão arterial, palpitações, arritmias e fibrilação atrial. (CAPPELLETTI et al., 2015; HARTLEY; LOVALLO; WHITSETT, 2004). Devido aos efeitos sobre sistema cardiovascular, diversos estudos tem se preocupado em avaliar a associação entre a cafeína e as doenças cardiovasculares. Entretanto, os resultados são inconclusivos, com alguns estudos sugerindo maior risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (HAPPONEN; VOUTILAINEN; SALONEN, 2004), e outros não encontrando associação (LOPEZ-GARCIA et al., 2006). Fatores genéticos como variações no gene CYP1A2 que regula a atividade da principal enzima responsável pelo metabolismo da cafeína pode influenciar os resultados (DOEPKER et al., 2016). Indivíduos que possuem uma taxa mais lenta de metabolização da cafeína parecem estar mais sujeitos a desenvolver a hipertensão ou sofrer de infarto do miocárdio (CORNELIS et al., 2006; PALATINI et al., 2009).

Tomados em conjunto, a maioria dos estudos com seres humanos tem encontrado uma associação positiva da cafeína com a saúde, principalmente quando consumido em doses moderadas (300 a 400mg/dia), estando os efeitos positivos relacionados principalmente com sistema nervoso central. Entretanto, a maior parte dos efeitos adversos sobre a saúde parece estar relacionada ao consumo de altas doses e a influência de fatores genéticos.

1.3 CAFEÍNA E DESEMPENHO

O interesse da comunidade científica pelo efeito ergogênico da cafeína sobre o desempenho é bastante antiga, com relatos de estudos realizados por laboratórios alemães desde o final do século XIX (WEISS; LATIES, 1962). Mas foi a partir do

início do século XX que estudos com maior rigor metodológico, utilizando grupo placebo, por exemplo, passaram a ser realizados e os efeitos da ingestão de cafeína sobre o desempenho atlético começaram a ser mais bem compreendidos. (RIVERS; WEBBER, 1907; WEISS; LATIES, 1962).

Atualmente existe grande número de estudos avaliando o efeito agudo da ingestão de cafeína sobre o desempenho. O efeito ergogênico tem sido encontrado em diversas modalidades esportivas, principalmente nas atividades com grande dependência da capacidade aeróbica (ASTORINO; ROBERSON, 2010; BURKE, 2008; DOHERTY; SMITH, 2004; GANIO et al., 2009). Há, ainda, alguns indícios de que a ingestão de cafeína poderia também aumentar o desempenho durante atividades de força muscular (WARREN et al., 2010). De fato, em virtude de seus efeitos, a cafeína já foi considerada substância proibida pela *World Anti Doping Agency* (WADA) na classe de estimulantes (classe A) até o final do ano de 2003 (ALTIMARI et al., 2006). Entretanto, desde 2004 a cafeína permanece fora da lista de substâncias proibidas e atualmente faz parte de um programa de monitoramento, que tem como objetivo identificar padrões de utilização indevido no esporte (WADA, 2016).

Várias hipóteses têm sido formuladas com base nos mecanismos celulares envolvidos para explicar o efeito ergogênico da cafeína. Sobre os exercícios aeróbicos de longa duração, uma das hipóteses envolve inibição da enzima fosfodiesterase e o conseqüente aumento da disponibilidade de AMP cíclico em conjunto com maior liberação de catecolaminas, o que levariam ao aumento da mobilização de ácidos graxos e redução da utilização do glicogênio, provocando assim um efeito poupador do glicogênio. Durante atividades de alta intensidade e curta duração, os mecanismos propostos envolveriam o aumento do recrutamento de unidades motoras e melhora do acoplamento excitação contração provocados por modificações na atividade da Na^+/K^+ ATPase e maior mobilização de cálcio a partir do retículo sarcoplasmático (DAVIS; GREEN, 2009).

Embora vários mecanismos periféricos tenham sido propostos, o principal efeito sobre o desempenho parece estar relacionado a ações sobre o sistema nervoso central, especialmente com efeitos antagônicos sobre os receptores de adenosina. Tal ação resultaria em reduções na percepção de dor e esforço e atenuação da

fadiga durante atividades aeróbicas e anaeróbicas (ASTORINO; ROBERSON, 2010; DAVIS; GREEN, 2009).

1.4 COMPONENTES DO CAFÉ E AÇÃO SOBRE O MÚSCULO ESQUELÉTICO

A literatura atual sugere que o café tem efeito benéfico sobre o músculo esquelético, aumentando a sensibilidade à insulina, estimulando a captação de glicose, atenuando a progressão da sarcopenia e aumentando a capacidade de regeneração do músculo esquelético lesionado (DIRKS-NAYLOR, 2015). O estudo de Guo et al. (2014), por exemplo, observou que camundongos envelhecidos tratados com café por quatro semanas, tiveram a manutenção da massa muscular e força e uma maior capacidade regenerativa do músculo esquelético lesionado. Além disso, o tratamento de células satélites isoladas com café aumentou a taxa de proliferação celular, o ciclo celular e o nível de ativação da Akt. Também tem sido observado que o uso crônico de café é capaz de induzir a autofagia em vários tecidos como o fígado, o coração e o músculo esquelético de camundongos, que estão associados a uma menor acetilação de proteínas celulares e menor ativação do complexo mTORC1 (PIETROCOLA et al., 2014).

Dois dos principais componentes bioativos do café são a cafeína e os ácidos clorogênicos que parecem ter efeito direto sobre o músculo esquelético (JENSEN et al., 2007; ONG; HSU; TAN, 2012). A cafeína, quando administrada de forma crônica em modelos animais pode diminuir a infiltração de células inflamatórias o dano muscular e marcadores inflamatórios plasmáticos. (BARCELOS et al., 2014; DA COSTA SANTOS et al., 2011). Outro estudo de Guarino et al. (2013) observou que a administração crônica da cafeína em ratos mais velhos promoveu aumento da expressão de GLUT-4 no músculo esquelético, melhorando a captação de glicose e reduzindo a resistência a insulina. Estudos também mostram que a cafeína modula a via da Quinase dependente de AMP (AMPK) no músculo esquelético (EGAWA et al., 2009; JENSEN et al., 2007).

O músculo esquelético é um tecido com alta capacidade de remodelação que modifica o seu tamanho de acordo com alterações na taxa de síntese e degradação proteica (BAEHR; TUNZI; BODINE, 2014). A hipertrofia muscular ou aumento da massa muscular ocorre quando a taxa de síntese proteica excede a taxa de degradação, levando a um balanço proteico positivo (MARCOTTE; WEST; BAAR, 2015).

A principal via de sinalização que determina a taxa de síntese proteica é a IGF1-PI3K-Akt-mTOR (SCHIAFFINO et al., 2013). Embora hormônios andrógenos e β -adrenérgicos agonistas possam modular essa via induzindo aumento na massa muscular (SCHIAFFINO et al., 2013), as alterações hormonais endógenas provocadas pelo treinamento de força elevando os níveis circulantes de GH, IGF-1 e testosterona não parecem ser necessários para os aumentos de síntese proteica e massa muscular (WEST et al., 2009, 2010). O treinamento de força estimula a síntese proteica a partir da mecanotransdução, convertendo estímulos mecânicos provocados pelas ações musculares em sinais químicos aumentando a atividade da via mTOR (ZANCHI; LANCHI, 2007). De fato, a inibição da mTOR com rapamicina (bloqueador específico da mTOR) inibe quase por completo a hipertrofia muscular induzida por sobrecarga (BODINE et al., 2001). Alternativamente a via mTOR também pode ser estimulada por nutrição (DUAN et al., 2016). Portanto, a combinação do treinamento de força em conjunto com estratégias nutricionais podem contribuir com maiores ganhos de massa muscular induzindo aumentos na atividade da via mTOR, considerada via chave na resposta da hipertrofia induzida por sobrecarga.

O estudo de Joy et al. (2016), utilizando uma estratégia nutricional a base de cafeína de liberação prolongada e extrato de maçã em conjunto com o treinamento de força, observou que sujeitos suplementados tiveram maiores ganhos de massa muscular do que o grupo placebo. Embora os autores não tenham avaliado nenhum mecanismo celular, outros estudos apontam para o efeito da cafeína em vias de sinalização envolvendo a via mTOR. Por exemplo, Saiki et al. (2011) utilizando um modelo *in vitro* com células cultivadas, mostrou que o uso de altas concentrações de cafeína foi capaz de induzir a autofagia via inibição da sinalização da via PI3K / Akt / mTOR / p70S6K. Curiosamente, tal resultado indica uma ação inibitória sobre a via

da mTOR, ao menos em modelo *in vitro*. Estudos adicionais são necessários para melhor compreender tais efeitos.

Outro importante constituinte do café são os ácidos clorogênicos que quando hidrolisados dão origem aos ácidos cafeico e quínico (FERNANDES et al., 2001). O ácido cafeico representa cerca de 50% dos ácidos clorogênicos presentes no café. Ou seja, em uma xícara de 200 mL de café é possível encontrar entre 70 a 350mg de ácidos clorogênicos e de 35 a 175mg de ácido cafeico (FOOD-INFO, 2014). Estudos *in vitro* com ácido cafeico tem observado que ele pode modular vias de sinalização intracelular no músculo esquelético. Tsuda et al. (2012) demonstraram que o ácido cafeico estimulou a ativação da AMPK e o aumento do transporte de glicose independente à insulina. Outro estudo de Lee et al. (2009), utilizando o ácido cafeico fenetil ester, considerado um derivado do ácido cafeico (CUNHA, 2004), tratou células musculares precursoras (C₂C₁₂) e encontrou maior fosforilação das proteínas GSK3_{beta}, mTOR e beta-catenina. Essas proteínas quinases tem importante papel na síntese proteica e na hipertrofia do músculo esquelético induzida por sobrecarga (MCCARTHY; ESSER, 2010; SCHIAFFINO; MAMMUCARI, 2011).

Tomados em conjunto, dois dos principais metabólitos presentes no café, a cafeína e o ácido cafeico, tem efeito direto sobre o músculo esquelético envolvendo vias de sinalização celular e podendo atuar diretamente no controle da síntese proteica envolvendo a via mTOR. O efeito dessas substâncias nas adaptações do músculo esquelético, em particular na hipertrofia muscular induzida por treinamento, ainda permanece desconhecido. Além disso, o uso da cafeína para melhora do desempenho tem se tornado habitual entre atletas, tanto em competições como parte da rotina de treinamento (WARDENAAR et al., 2016). Entretanto, pouco se conhece sobre o efeito crônico no desempenho. Nossa hipótese é que a suplementação de cafeína e ácido cafeico estimule a hipertrofia do músculo esquelético em resposta a maior ativação da via mTOR.

2. OBJETIVO

Avaliar o efeito da administração crônica da cafeína, do ácido cafeico e a associação de ambos nas adaptações do músculo esquelético induzido por treinamento com sobrecarga.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS E TRATAMENTO

Foram utilizados 50 ratos Wistar adultos com peso médio de 270g e mantidos em ciclo claro/escuro invertido de 12h aclimatados à 23°C. Os animais permaneceram em gaiolas coletivas com 2 a 3 animais por gaiola. Todos os animais receberam água potável e ração padrão (Nuvilab CR-1-Nuvital®, Colombo, Paraná, Brasil). Os animais foram pareados de acordo com o desempenho no teste de carga máxima, como descrito na seção 3.4, e divididos em cinco grupos com dez animais por grupo: 1) Grupo sedentário (S); 2) Grupo treinado (T); 3) Grupo treinado e suplementado com cafeína (TC); 4) Grupo treinado e suplementado com ácido cafeico (TAc); 5) Grupo treinado e suplementado com cafeína e ácido cafeico (TCAc).

Os grupos foram suplementados por sonda intragástrica (gavagem) com dose de 30mg/kg de peso corporal, para cada substância, duas vezes ao dia durante as dez semanas de experimento. Essa dosagem corresponde ao cálculo proposto por Reagan-shaw et al. (2008) e teve como base o consumo diário estimado de ácido cafeico na população (250 a 500mg/dia) e a dose de cafeína usualmente utilizada em estudos com humanos (3 a 9mg/kg de peso corporal). Os outros grupos S e T receberam gavagem com água, estando sobre as mesmas condições experimentais.

3.2 CONSUMO ALIMENTAR

Todos os grupos receberam água ração padrão “*ad libidum*”. A cada dois dias 180g de ração foi ofertado e o consumo alimentar foi mensurado como a diferença entre oferta e a sobra da ração durante 48 horas a cada semana por caixa coletiva (2 ou 3 animais).

3.3 PERÍODO DE FAMILIARIZAÇÃO

O período de familiarização iniciou-se uma semana antes do período de treinamento. Todos os 50 animais foram familiarizados com o aparato de escalada de escada (*ladder climbing*) realizando três séries de escalada por três dias consecutivos sem carga adicional conforme proposto por Cassilhas et al. (2013).

O aparato foi construído conforme proposto por Hornenberger e Farrar (2004), em madeira medindo 110 cm de altura, com 2 centímetros entre cada degrau, com inclinação de 80° e contendo no topo uma base para repouso do animal a cada série realizada (Fotografia 1).

3.4 TESTE DE CARGA MÁXIMA

O teste de carga máxima foi realizado três vezes. O primeiro teste de carga máxima foi realizado após o último dia de familiarização, para divisão dos animais em cinco grupos (seção 3.1) e determinação da carga de treinamento. Os outros testes foram realizados na 5ª semana de treinamento para ajuste da carga de treinamento e na 10ª semana de treinamento para avaliação do desempenho de força após o período de experimento (Figura 1).



Fotografia 1 – Aparato de escalada de escada de escada para treinamento em modelo animal.

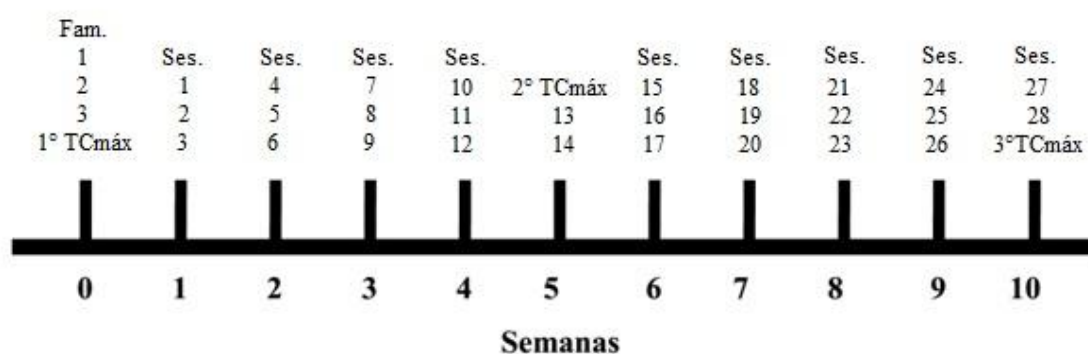


Figura 1 - Desenho representativo do período de treinamento.

Fam. = Período de familiarização; TCmáx = Teste de carga máxima; Ses. = Sessões de

O primeiro teste de carga máxima iniciou com 50% do peso corporal e a cada tentativa completada, adicionou-se 30g, até o momento que o animal não conseguisse atingir o topo da escada. O segundo e terceiro testes de carga máxima seguiram a mesma progressão de cargas (30g a cada tentativa bem sucedida), porém iniciou-se o teste com a maior carga atingida na última sessão de treinamento.

3.5 PERÍODO DE TREINAMENTO

O grupo sedentário não participou do treinamento. Os outros quatro grupos (T; TC; TAc; TCAc) realizaram o protocolo de treinamento com sobrecarga adaptado a partir de Hornberger e Farrar (2004). O treinamento foi realizado três vezes por semana (segunda, quarta e sexta), durante 10 semanas, totalizando 28 sessões de treinamento (Figura 1), realizados sempre no período da tarde, durante a fase escura do ciclo invertido de 12h.

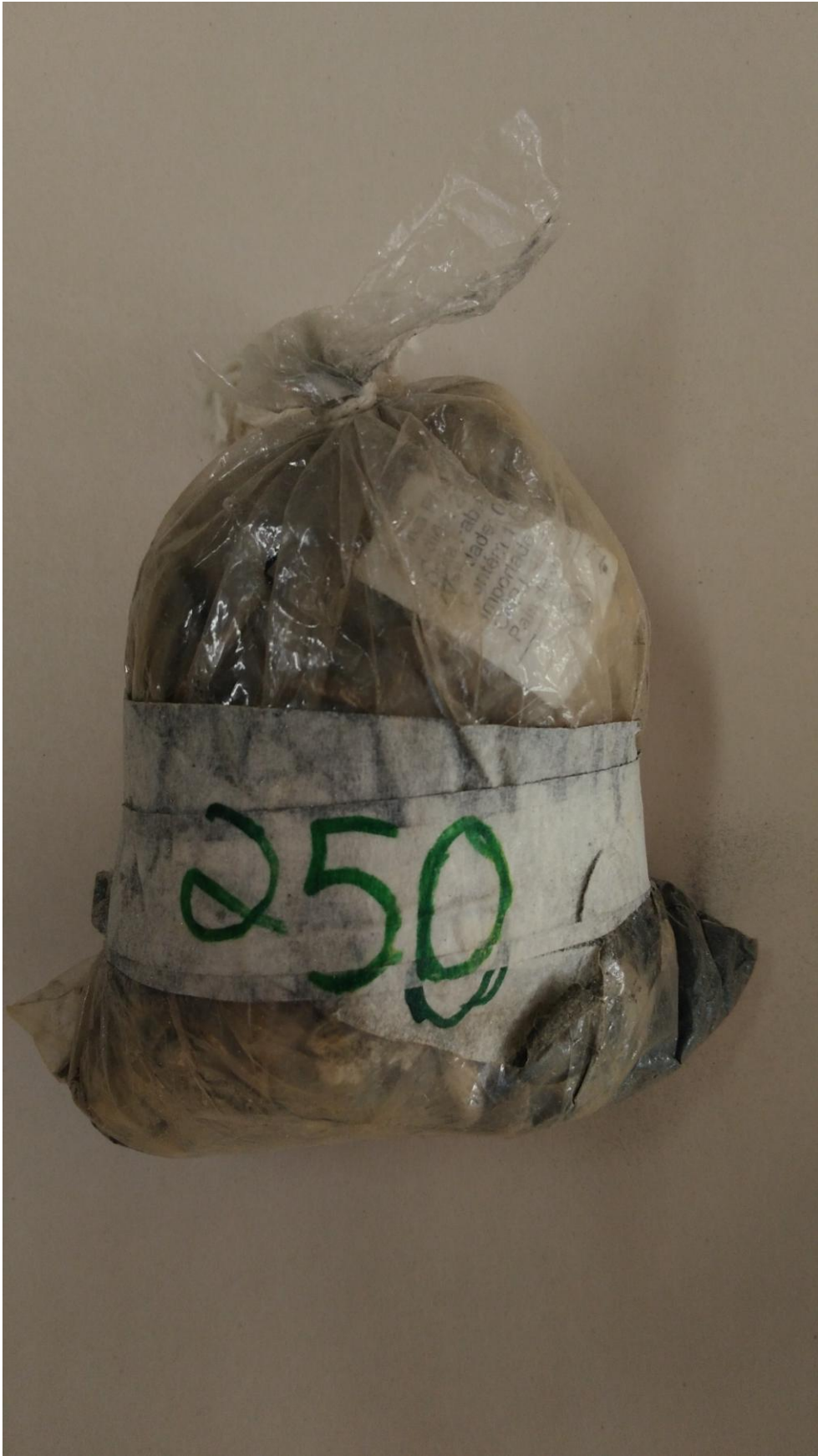
A cada sessão de treino, os animais realizaram 4 a 5 séries de escalada com intensidades progressivas de 50%, 75%, 90% e 100% da carga máxima estabelecida. Após completar a 4ª série, uma última tentativa (5ª série) foi realizada

utilizando 100% da carga máxima mais um adicional de 30g, para garantir que ao longo do tempo houvesse um aumento progressivo de carga. Caso a 5ª série fosse completada, uma nova carga máxima era estabelecida para a próxima sessão de treinamento.

As cargas foram construídas utilizando minério em pó armazenado em sacos plásticos de diferentes pesos (Fotografia 2). Para fixação da carga foi utilizada fita crepe anexada à cauda do animal e preso a um anzol.

3.6 COLETA E ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS

Vinte e quatro horas após a última sessão de treino, os animais foram anestesiados com ketamina (50mg/kg/ip) e xilazina (10mg/kg/ip) e eutanasiados por decapitação. Os músculos sóleo, plantar e extensor digital longo (EDL) foram retirados e pesados em balança analítica e depois divididos ao meio. Parte dos tecidos foi colocada em tubos *falcon* contendo solução de formaldeído em 10% e tampão fosfato-salino para fixação do material e análise histológica. A outra metade dos tecidos foi submetida à secagem em estufa sob temperatura de $60 \pm 5^{\circ}\text{C}$ por 48 horas.



Fotografia 2 - Modelo de carga utilizada para fixação na cauda do animal.

3.7 ANÁLISE HISTOLÓGICA

Após a fixação do material em formaldeído, o tecido foi submetido a etapa de inclusão do material em parafina. A etapa de inclusão compreendeu três fases: 1) Desidratação: para retirada da água dos tecidos e a substituição por álcool; 2) Diafanização: para substituição do álcool presente nos tecidos por xilol; 3) Impregnação: para substituição do xilol por parafina fundida em pequenos blocos. Todas essas fases foram realizadas com processador automático. Após a inclusão do material em parafina, um micrótomo (Leica® RM2145) foi utilizado para realizar cortes de 5 micrômetros do tecido, que foram posteriormente transferidos para lâminas de vidro apropriadas e submetidas a coloração com hematoxilina e eosina (HE). As lâminas foram fotografadas utilizando o microscópio óptico com uma lente objetiva de aumento de vinte vezes. As imagens foram digitalizadas e analisadas usando o software *Image Pro Plus*, versão 3.01. A área de seção transversa média das fibras musculares foi determinada a partir da circunferência de 250 fibras por animal.

3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os dados foram avaliados para a distribuição de normalidade de acordo com o teste Shapiro-Wilk. Dados que apresentaram coeficiente de variação elevado foram testados quanto à presença de *outliers*, utilizando o Grubbs' test (disponível em: <http://www.graphpad.com/quickcalcs/grubbs1/>).

A análise estatística foi dividida em três momentos. Primeiro avaliamos se todos os grupos antes do período de intervenção estavam distribuídos de forma homogênea para as variáveis peso corporal e desempenho de força. Para essa análise, foi utilizada a análise de variância (ANOVA) *one-way* ou Kruskal Wallis, de acordo com o resultado do teste de normalidade.

No segundo momento, para avaliar o efeito do treinamento (sedentário vs. treinado) foi utilizado o teste t independente ou Mann-Whitney para as variáveis de peso corporal, ingestão alimentar e alterações na massa muscular. Para análise de desempenho de força foi utilizada ANOVA *two-way* com medidas repetidas para tempo. Quando necessário, o pós-teste de Tukey foi utilizado.

Por último, no terceiro momento foi utilizada a ANOVA *two-way* (2 x 2: presença ou ausência de cafeína vs. presença ou ausência de ácido cafeico) para avaliar o efeito das diferentes substâncias administradas sobre as variáveis de interesse. Quando necessário, o pós-teste de Tukey foi utilizado. Para análise de área de secção transversa das fibras musculares foi calculado a média de 250 fibras por animal com sete animais por grupo. Todos os resultados obtidos foram expressos em média e desvio padrão. As conclusões estatísticas são discutidas ao nível de significância de 5%. Para análise estatística utilizou-se o software *GraphPad Prism* versão 6.01.

4. RESULTADOS

Inicialmente todos os animais foram pareados de acordo com o teste de carga máxima e depois distribuídos de forma aleatória para os grupos de intervenção. Como esperado no momento pré-intervenção, os grupos não apresentaram diferença estatística para as variáveis, peso corporal, carga conduzida (carga fixada à cauda) e carga total (carga fixada à cauda mais o peso corporal) como demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2– Peso corporal e desempenho de força basal dos grupos experimentais.

	Grupos				
	S	T	TC	TAc	TCAc
Peso corporal (g)	271,8 ± 57,3	274,1 ± 49,4	269,2 ± 43,6	267,8 ± 43,6	277,8 ± 62,3
Carga conduzida (g)	215,0 ± 56,4	212,0 ± 48,0	209,0 ± 63,0	223,0 ± 70,1	214,0 ± 49,0
Carga total (g)	469,3 ± 127,1	468,4 ± 112,5	462,7 ± 113,1	476,4 ± 115,4	476,8 ± 113,9

Dados expressos em média ± desvio padrão. S = Sedentário; T = Treinado; TC = Treinado e cafeína; TAc = Treinado e ácido cafeico; TCAc = Treinado e cafeína + ácido cafeico. Dados foram avaliados por ANOVA one-way ou Kruskal-Wallis (para carga total) de acordo com resultado do teste de normalidade Shapiro-Wilk test.

4.1 EFEITO DO TREINAMENTO

Os resultados foram avaliados em dois momentos. Inicialmente avaliado o efeito do treinamento para variáveis de desempenho, peso corporal, massa muscular e ingestão alimentar. No segundo momento, foram avaliados os efeitos da suplementação com cafeína e ácido cafeico (seção 4.2).

4.1.1 Peso corporal

Não foi encontrada diferença estatística no peso corporal após a 10ª semana de treinamento entre os grupos (S: 495,0 ± 58,8g e T:456,8 ± 45,2g; $p = 0,12$; Figura 2).

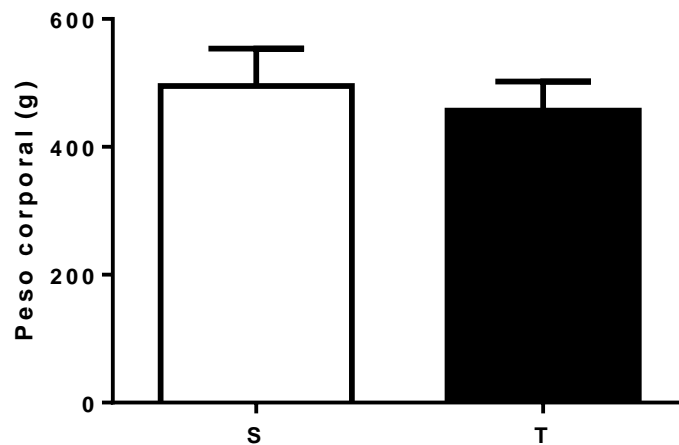


Figura 2 – Peso corporal após a 10ª semana de treinamento.

S = Sedentário (n = 10); T = Treinado (n = 10). Dados avaliados por teste t independente.

4.1.2 Ingestão alimentar

Foi encontrada diferença estatística para o consumo alimentar durante o período de intervenção entre os grupos S = $270,8 \pm 26,9\text{g}$ e T = $245,6 \pm 11,6\text{g}$, $p = 0,0068$ (Figura 3). O consumo médio diário para o grupo S foi de $27,1 \pm 2,7\text{g}$ e para o grupo T foi de $24,6 \pm 1,2\text{g}$.

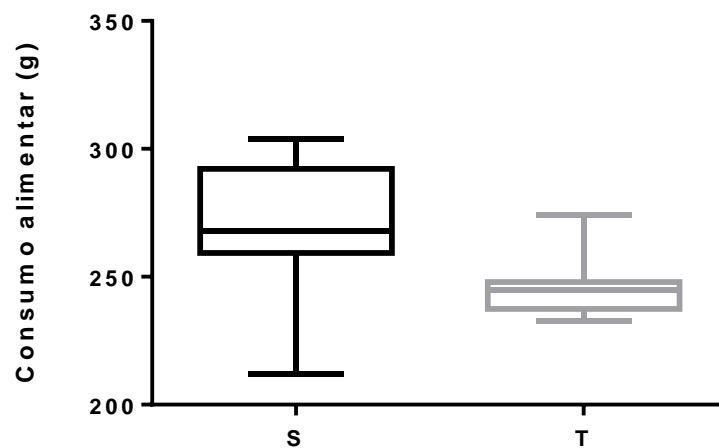


Figura 3 – Consumo alimentar total mensurado durante 10 semanas de treinamento.

S = Sedentário (n = 10); T = Treinado (n = 10).* = $p \leq 0,05$. Dados avaliados por Mann Whitney test.

4.1.3 Desempenho de força

Para avaliação do desempenho de força os resultados foram divididos em: 1) Carga conduzida (carga fixada à cauda do animal); 2) Carga total (carga fixada à cauda do animal somado ao peso corporal). Os testes foram realizados em 3 momentos: pré-treinamento, 5ª semana de treinamento e 10ª semana de treinamento.

Para o desempenho de carga conduzida, ambos os grupos apresentaram ganho de força ao longo do tempo (efeito principal para tempo, $p < 0,0001$). Também foi encontrado efeito principal para grupos ($p < 0,0001$) com diferença estatística para a 5ª semana de treinamento ($p < 0,0001$), entre os grupos S ($311,0 \pm 42,5g$) e T ($542,0 \pm 115,1g$) e para a 10ª semana de treinamento ($p < 0,0001$), grupo S ($383,0 \pm 67,0g$) e grupo T ($813,0 \pm 122,8g$) (Figura 4).

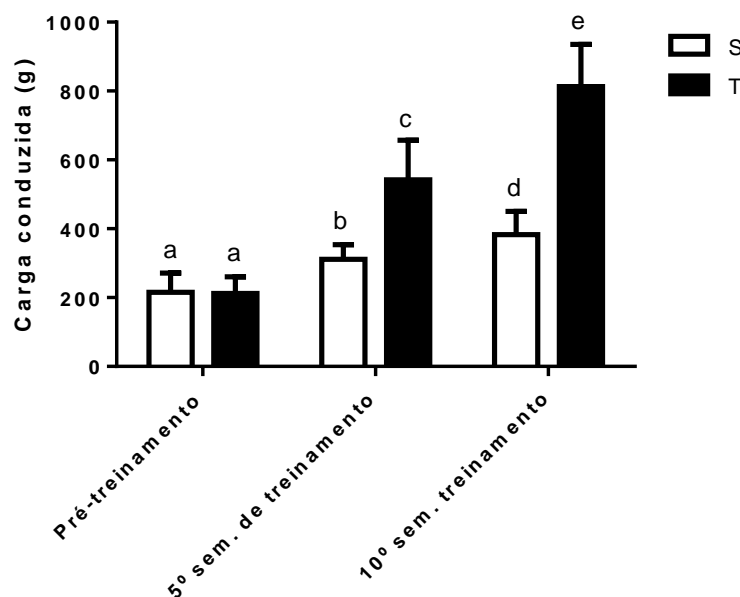


Figura 4 – Carga conduzida fixada à cauda durante o teste de carga máxima.

S = Sedentário (n = 10); T = Treinado (n = 10). Dados avaliados por ANOVA two-way com medidas repetidas para tempo. Foi encontrado efeito principal para tempo e grupos ($p < 0,0001$). Letras diferentes sobre as barras indicam diferença estatística com $p < 0,05$.

Para o desempenho de carga total, os resultados foram semelhantes, com efeito principal para tempo ($p < 0,0001$) e grupos ($p = 0,0007$). Portanto, ambos os grupos

apresentaram ganho de força ao longo do tempo, entretanto maiores ganhos de força foram observados nos grupos treinados. Após a 5^o semana de treinamento foi encontrado diferença estatística ($p = 0,0014$), entre os grupos S ($715,2 \pm 87,3g$) e T ($918,2 \pm 159,7g$) e também para a 10^o semana de treinamento ($p < 0,0001$), grupo S ($878,0 \pm 81,0g$) e grupo T ($1269,8 \pm 143,4g$) (Figura 5).

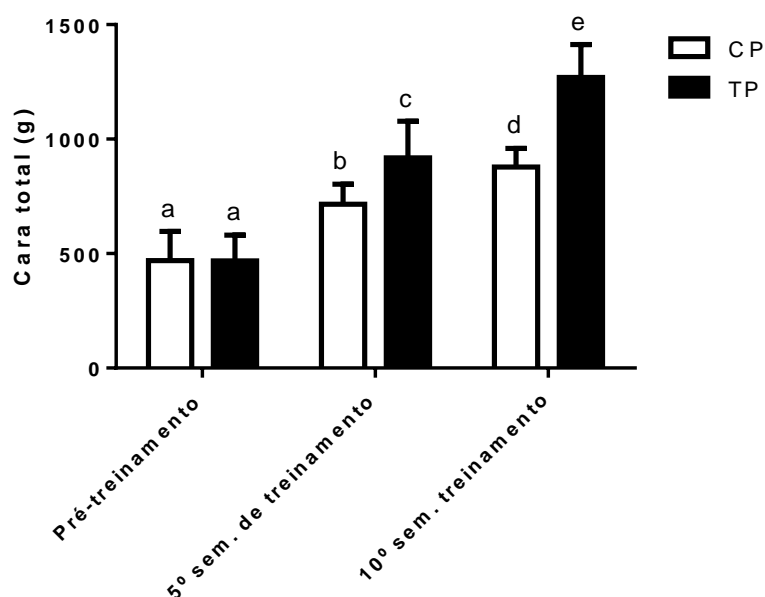


Figura 5 – Carga total (carga fixada à cauda + peso corporal) durante o teste de carga máxima.

S = Sedentário (n = 10); T = Treinado (n = 10). Dados avaliados por ANOVA two-way com medidas repetidas para tempo. Foi encontrado efeito principal para tempo ($p < 0,0001$) e grupos ($p = 0,0007$). Letras diferentes sobre as barras indicam diferença estatística com $p < 0,05$.

4.1.4 Músculo esquelético

Não foram encontradas diferenças estatísticas para as análises: 1) Peso do músculo; 2) Peso do músculo normalizado pelo peso corporal (%); 3) Peso do músculo normalizado pelo comprimento da tíbia; 4) Peso seco (%) para os músculos sóleo, plantar e EDL, (todos os valores de $p \geq 0,09$) como apresentado na Tabela 3.

Tabela 3– Análise morfométrica do efeito do protocolo de treinamento nos músculos sóleo, plantar e EDL.

	Grupos	
	S	T
Peso do sóleo (mg)	192,9 ± 22,9	183,3 ± 18,3
Peso do plantar (mg)	414,5 ± 70,5	383,0 ± 47,8
Peso do EDL (mg)	179,4 ± 47,2	176,4 ± 23,4
Peso do sóleo / peso corporal (%)	0,039 ± 0,005	0,040 ± 0,003
Peso do plantar / peso corporal (%)	0,084 ± 0,009	0,084 ± 0,011
Peso do EDL / peso corporal (%)	0,037 ± 0,009	0,039 ± 0,006
Comprimento da tibia (mm)	42,6 ± 1,0	42,1 ± 0,9
Peso do sóleo / tibia (mg/mm)	4,5 ± 0,5	4,3 ± 0,4
Peso do plantar / tibia (mg/mm)	9,7 ± 1,5	9,1 ± 1,1
Peso do EDL / tibia (mg/mm)	4,2 ± 1,1	4,2 ± 0,5
Peso seco - músculo sóleo (%)	27,8 ± 2,1	29,9 ± 3,0
Peso seco - músculo plantar (%)	27,4 ± 2,9	26,9 ± 1,3
Peso seco - músculo EDL (%)	26,5 ± 0,9	27,4 ± 1,6

Dados expressos em média ± desvio padrão a partir de 10 animais por grupo. S = Sedentário; T = Treinado. Dados foram avaliados por Teste t não pareado ou Mann Whitney (Peso do EDL / peso corporal; Peso seco - músculo plantar) de acordo com resultado do teste de normalidade Shapiro-Wilk.

Quando analisado a área de secção transversa das fibras musculares, não foram encontradas diferenças para o músculo sóleo ($p = 0,78$) e plantar ($p = 0,87$) entre os grupos (Figuras 6 a 9).

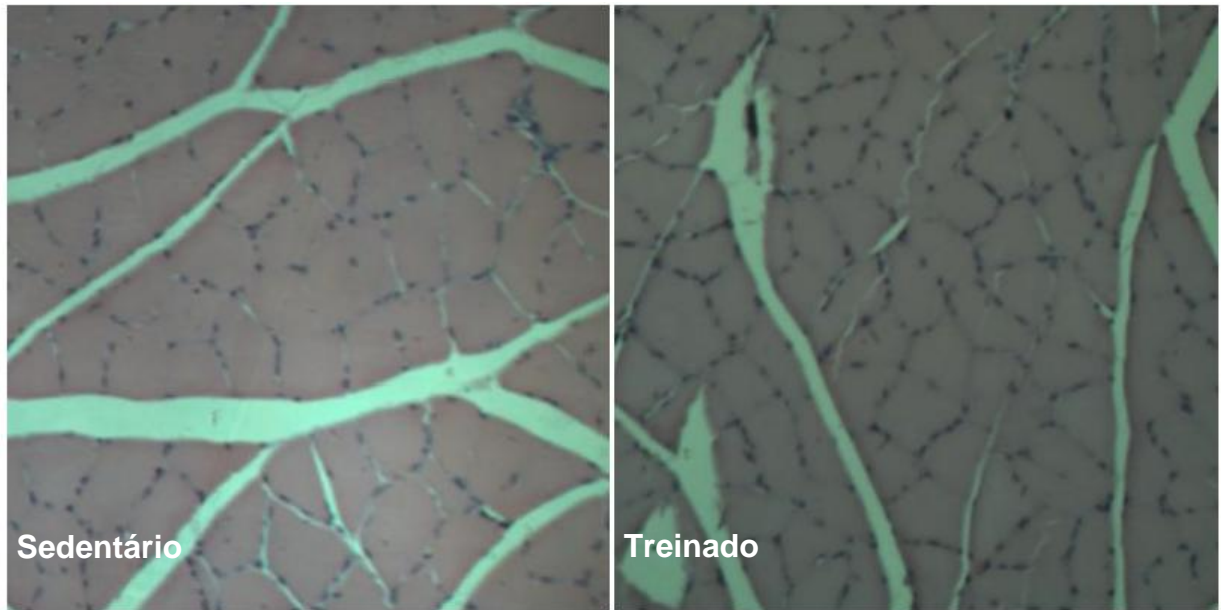


Figura 6 – Músculo sóleo dos grupos sedentário e treinado observado em corte transversal a partir de um microscópio óptico com lente objetiva de aumento de 20 vezes.

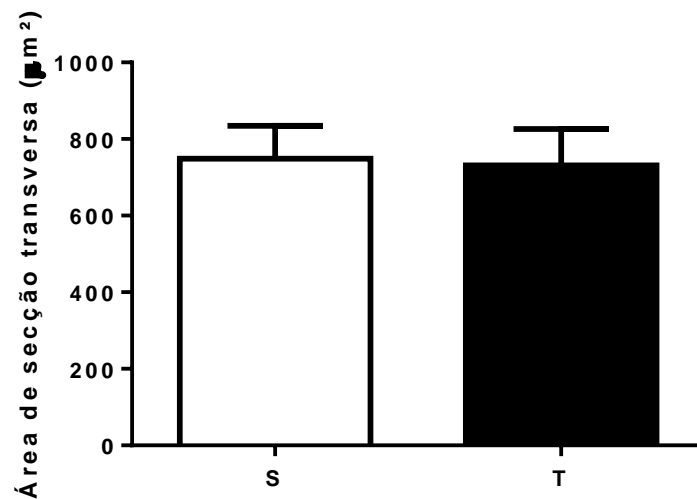


Figura 7 – Efeito do protocolo de treinamento na área de secção transversa (µm²) média a partir de 250 fibras por animal do músculo sóleo.

S = Sedentário (n = 7); T = Treinado (n = 7). Dados avaliados por Mann Whitney test.

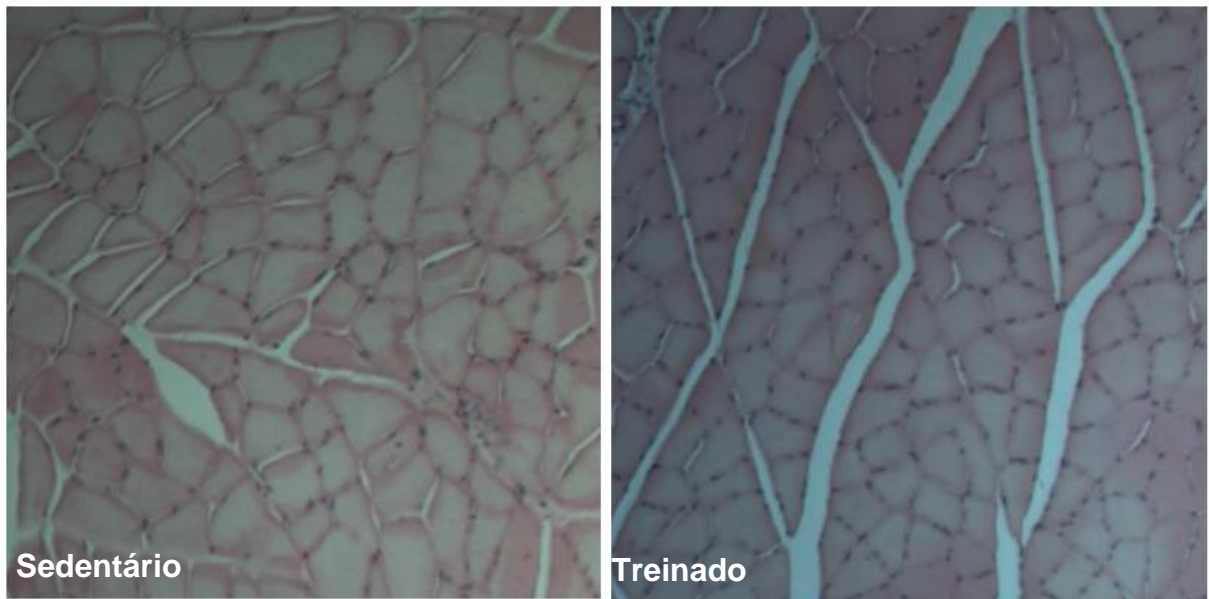


Figura 8 – Músculo plantar dos grupos sedentário e treinado observado em corte transversal a partir de um microscópio óptico com lente objetiva de aumento de 20 vezes.

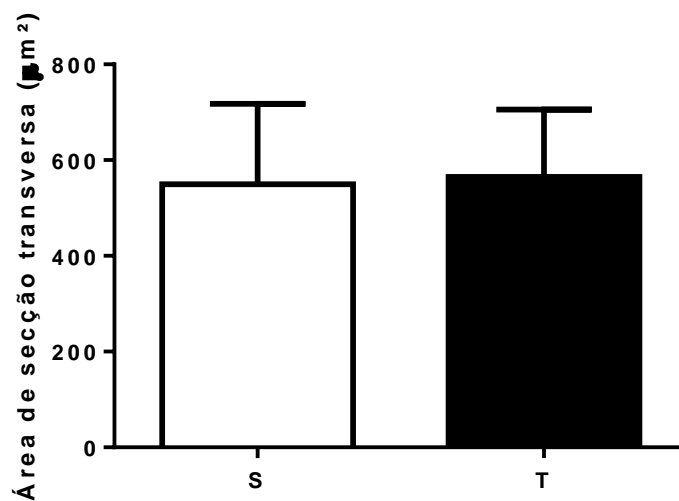


Figura 9 – Efeito do protocolo de treinamento na área de secção transversa (µm²) média a partir de 250 fibras por animal do músculo plantar.

S = Sedentário (n = 7); T = Treinado (n = 7). Dados avaliados por Mann Whitney test.

4.2 EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM CAFEÍNA E ÁCIDO CAFEICO

Os resultados são apresentados para o efeito da suplementação com cafeína e ou/ ácido cafeico associado ao protocolo de treinamento.

4.2.1 Peso corporal

Não foi encontrada diferença estatística entre os grupos para o peso corporal após a 10ª semana de treinamento, com efeito para cafeína ($p = 0,06$), efeito para ácido cafeico ($p = 0,66$) e efeito para interação ($p = 0,21$), como apresentados na Tabela 4.

4.2.2 Ingestão alimentar

Não foi encontrada diferença estatística entre os grupos para o consumo alimentar, com efeito para cafeína ($p = 0,17$), efeito para ácido cafeico ($p = 0,95$) e efeito para interação ($p = 0,18$), como apresentado na Tabela 4.

Tabela 4–Controle do peso corporal e ingestão alimentar durante 10 semanas de treinamento.

	Grupos			
	T	TC	TAc	TCAc
Peso corporal (g)	456,8 ± 45,2	408,4 ± 51,0	430,9 ± 53,8	421,1 ± 41,3
Consumo alimentar (g)	245,6 ± 11,6	245,8 ± 15,8	238,9 ± 16,8	252,0 ± 15,3
Consumo médio diário (g)	24,6 ± 1,2	24,6 ± 1,6	23,9 ± 1,7	25,2 ± 1,5

Dados expressos em média ± desvio-padrão a partir de 10 animais por grupo. T = Treinado; TC = Treinado e cafeína; TAc = Treinado e ácido cafeico; TCAc = Treinado e cafeína + ácido cafeico. Dados avaliados por ANOVA two-way.

4.2.3 Desempenho de força

Não foram encontradas diferenças estatísticas entre os grupos para nenhuma das variáveis avaliadas: 1) Carga conduzida na 10ª semana de treinamento; 2) Carga total conduzida na 10ª semana de treinamento; 3) Volume de treinamento (somatório da carga conduzida durante as 10 semanas de treinamento); 4) Número de escaladas (somatório do nº de escaladas durante as 10 semanas de treinamento). Entretanto, foi encontrada uma interação para o número de escaladas ($p = 0,02$), com a interação correspondendo a 13,61% da variação total, entretanto não foi encontrada diferença estatística entre os grupos ($p \geq 0,18$) (Tabela 5).

Tabela 5 – Dados de desempenho de força entre os grupos suplementados durante 10 semanas de treinamento.

	T	TC	TAc	TCAc
Carga conduzida (g)	813,0 ± 122,8	907,0 ± 156,8	885,0 ± 150,5	827,0 ± 121,1
Carga total (g)	1269,8 ± 143,4	1315,4 ± 163,1	1315,9 ± 166,2	1254,1 ± 131,8
Volume de treinamento (kg)	49,8 ± 11,5	57,0 ± 9,8	56,6 ± 11,4	51,9 ± 9,5
Escaladas (nº) †	119,7 ± 7,7	125,8 ± 5,9	125,5 ± 6,2	121,7 ± 5,8

Dados expressos em média ± desvio-padrão a partir de 10 animais por grupo. T = Treinado; TC = Treinado e cafeína; TAc = Treinado e ácido cafeico; TCAc = Treinado e cafeína + ácido cafeico. † = indica interação para cafeína e ácido cafeico. Dados avaliados por ANOVA two-way.

4.2.4 Músculo esquelético

Foi encontrado um resultado *outlier* ($p < 0,05$) para peso seco percentual do músculo EDL de um animal do grupo TAc (animal 9, peso seco do EDL = 47,3%). O grupo TAc sem a exclusão do valor *outlier* apresentava média de 29,5 ± 6,6% e após a exclusão do valor *outlier* média foi de 27,4 ± 1,7% (Tabela 5).

Não foram encontradas diferenças estatísticas para as análises: 1) Peso do músculo; 2) Peso do músculo normalizado pelo comprimento da tíbia; 3) Peso seco

(%), para os músculos sóleo, plantar e EDL (todos os valores de $p \geq 0,05$). Entretanto, quando o peso do músculo foi normalizado pelo peso corporal, para o músculo sóleo foi encontrado efeito principal para a cafeína ($p = 0,01$), com diferença estatística entre os grupos T ($0,040 \pm 0,003$) e grupo TCAC ($0,047 \pm 0,005$), com valor de $p = 0,03$. Para o músculo plantar normalizado pelo peso corporal, foi encontrado efeito principal para o ácido cafeico ($p = 0,04$), com diferença estatística entre os grupos T ($0,084 \pm 0,011$) e grupo TCAC ($0,096 \pm 0,007$), com valor de $p = 0,04$. Para o músculo EDL normalizado pelo peso corporal, não foi encontrada diferença estatística (valores de $p \geq 0,26$). Para o comprimento da tíbia foi encontrado uma interação ($p = 0,04$), que correspondeu a 10,15% da variação total, porém não houve diferença estatística entre os grupos suplementados com $p \geq 0,14$ (Tabela 6).

A análise de área de secção transversa das fibras musculares não revelou diferença estatística para os músculos sóleo (Figuras 10 e 11) e plantar (Figuras 12 e 13; valores de $p \geq 0,19$).

Tabela 6 - Análise morfométrica do efeito da suplementação com 10 semanas de treinamento nos músculos sóleo, plantar e EDL.

	Grupos			
	T	TC	TAC	TCAC
Peso do sóleo (mg)	183,3 ± 18,3	183,0 ± 32,4	180,2 ± 15,1	196,9 ± 20,9
Peso do plantar (mg)	383,0 ± 47,8	380,6 ± 63,5	402,7 ± 47,5	403,8 ± 52,4
Peso do EDL (mg)	176,4 ± 23,4	179,4 ± 22,7	183,3 ± 19,1	174,9 ± 31,0
Peso sóleo / peso corporal (%) #	0,040 ± 0,003	0,045 ± 0,005	0,043 ± 0,007	0,047 ± 0,005 *
Peso plantar / peso corporal (%) ‡	0,084 ± 0,011	0,093 ± 0,010	0,094 ± 0,008	0,096 ± 0,007 *
Peso EDL / peso corporal (%)	0,039 ± 0,006	0,044 ± 0,004	0,043 ± 0,004	0,041 ± 0,006
Comprimento da tíbia (mm) †	42,1 ± 0,9	41,3 ± 1,1	41,2 ± 1,0	41,6 ± 1,0
Sóleo / tíbia (mg/mm)	4,3 ± 0,4	4,4 ± 0,7	4,4 ± 0,4	4,7 ± 0,4
Plantar / tíbia (mg/mm)	9,1 ± 1,1	9,2 ± 1,4	9,8 ± 1,1	9,7 ± 1,1
EDL / tíbia (mg/mm)	4,2 ± 0,5	4,3 ± 0,5	4,4 ± 0,4	4,2 ± 0,7
Peso seco - músculo sóleo (%)	29,9 ± 3,0	27,3 ± 2,8	28,5 ± 2,6	27,7 ± 2,0
Peso seco - músculo plantar (%)	26,9 ± 1,3	26,1 ± 1,6	26,7 ± 1,2	26,9 ± 1,6
Peso seco - músculo EDL (%)	27,4 ± 1,6	27,0 ± 1,7	27,4 ± 1,7	27,5 ± 2,8

Dados expressos em média ± desvio-padrão a partir de 10 animais por grupo. T = Treinado; TC = Treinado e cafeína; TAC = Treinado e ácido cafeico; TCAC = Treinado e cafeína + ácido cafeico. # = indica efeito principal para cafeína; ‡ = indica efeito principal para ácido cafeico; † = indica efeito de interação; * = $p < 0,05$ para grupo T. Dados avaliados por ANOVA two-way.

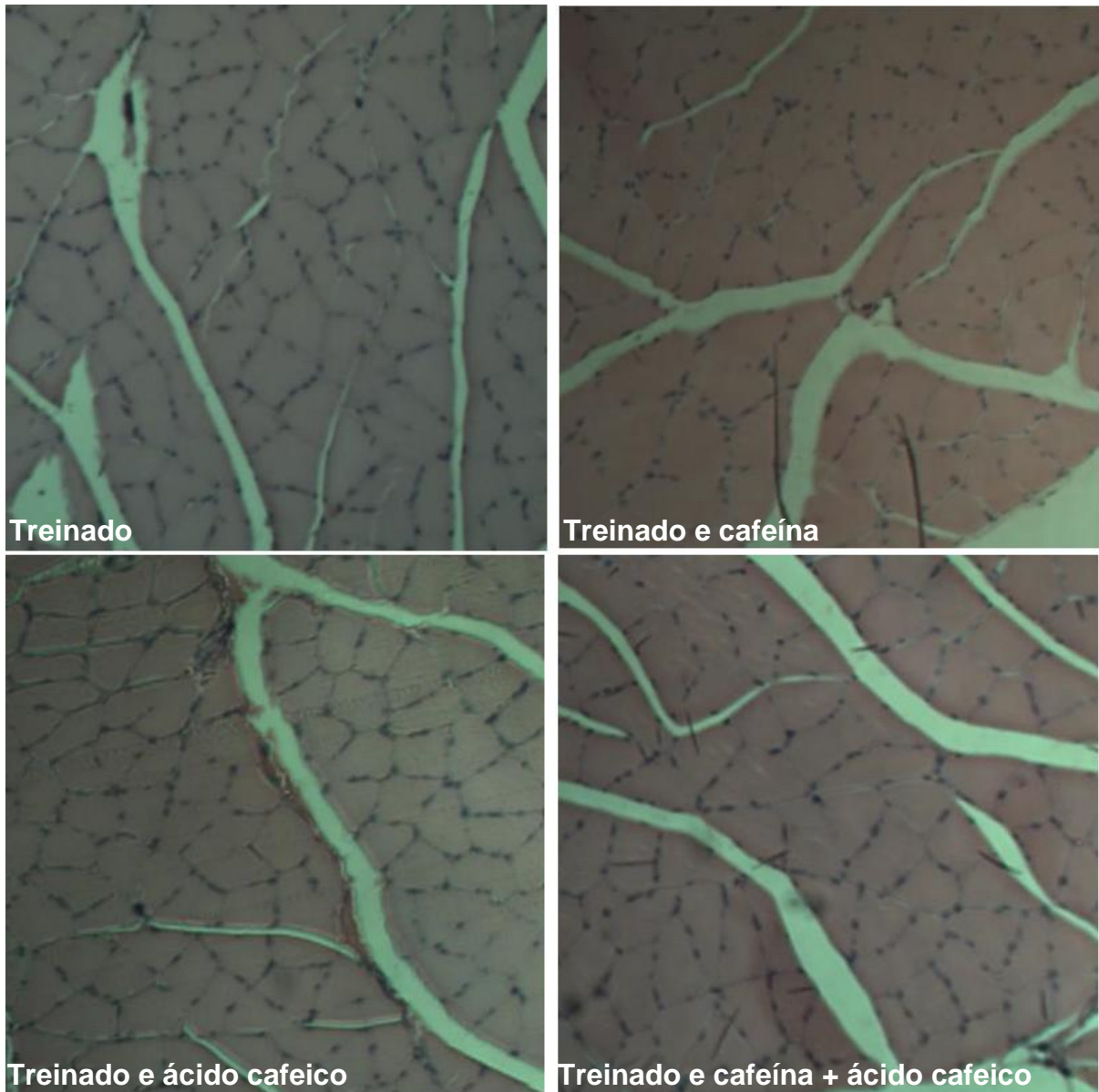


Figura 10 – Músculo sóleo dos grupos treinados e suplementados com cafeína e/ou ácido cafeico observado em corte transversal a partir de um microscópio óptico com lente objetiva de aumento de 20 vezes.

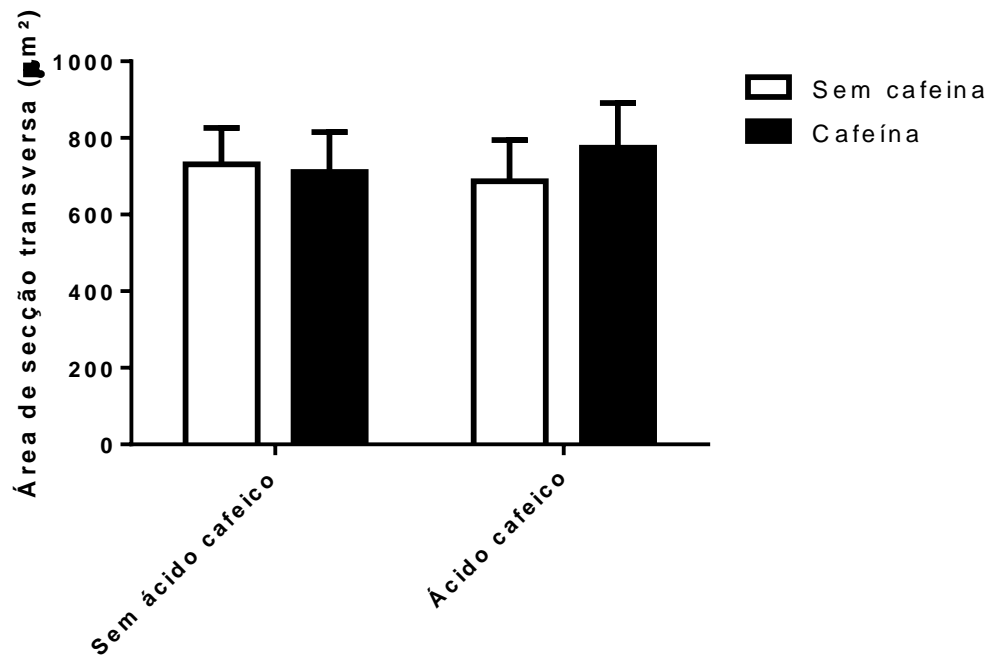


Figura 11- Efeito da suplementação na área de secção transversa (μm^2) média a partir de 250 fibras por animal do músculo sóleo.

Dados a partir de 7 animais por grupo. Dados avaliados por ANOVA two way.

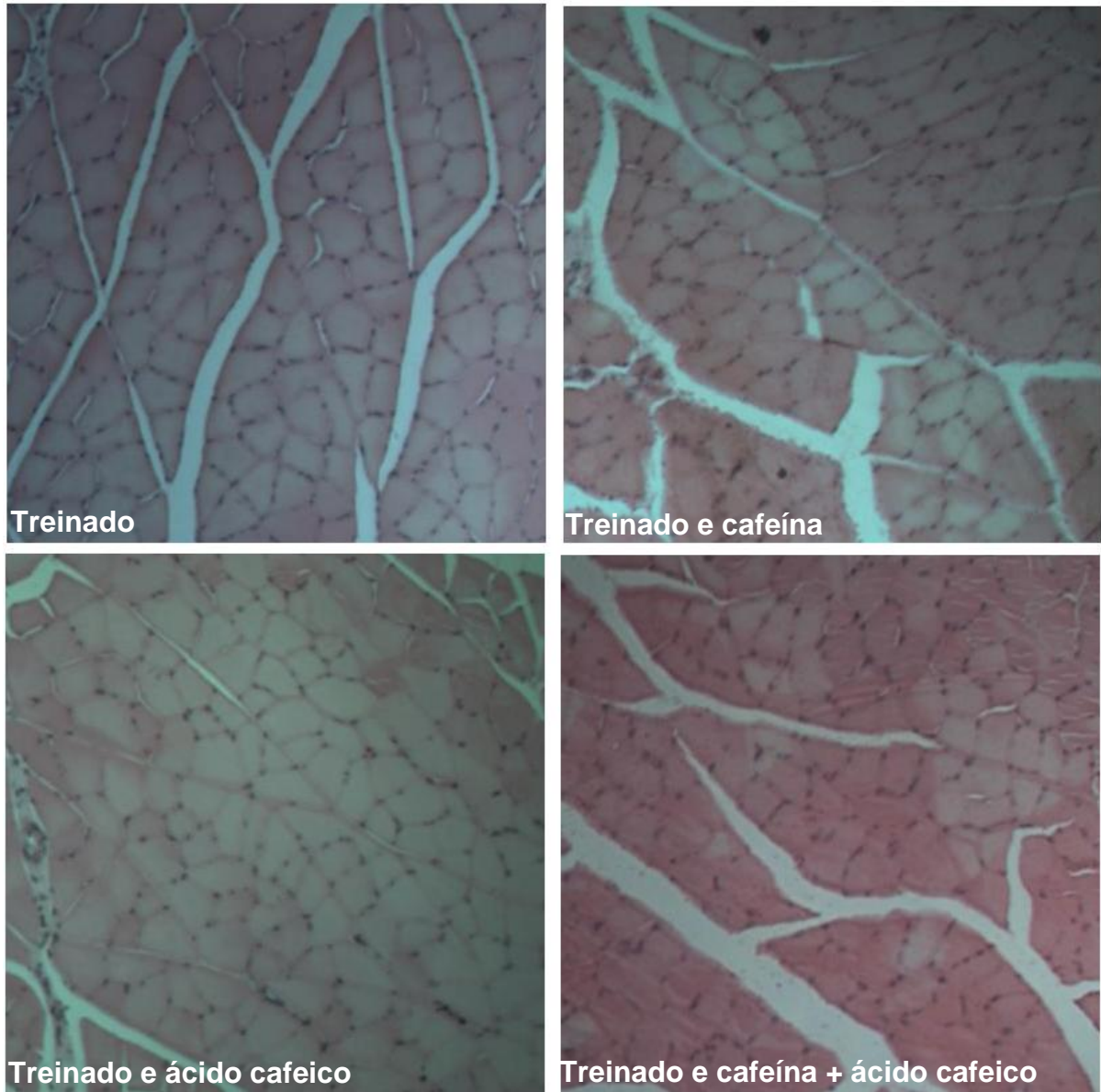


Figura 12 - Músculo plantar dos grupos treinados e suplementados com cafeína e/ou ácido cafeico observado em corte transversal a partir de um microscópio óptico com lente objetiva de aumento de 20 vezes.

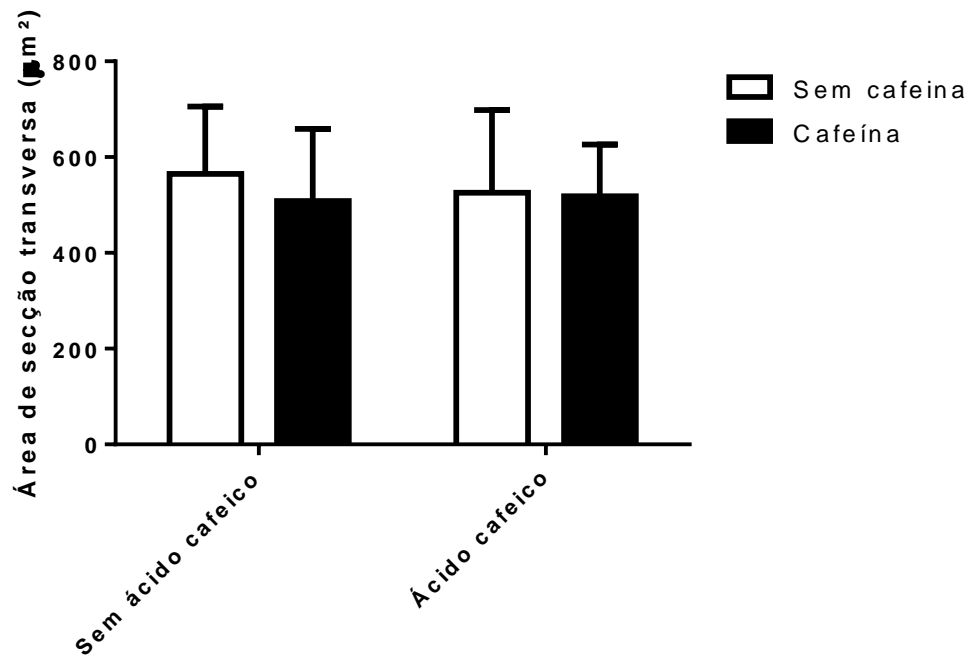


Figura 13 - Efeito da suplementação na área de secção transversa (μm^2) média a partir de 250 fibras por animal do músculo plantar.

Dados a partir de 7 animais por grupo. Dados avaliados por ANOVA two way.

5. DISCUSSÃO

Os resultados principais mostraram que a suplementação com cafeína e/ou ácido cafeico associada ao treinamento não induziu alterações na massa muscular e força. A hipótese desse estudo era que a cafeína e/ou o ácido cafeico pudessem aumentar a atividade da via mTOR, estimulando a síntese proteica provocando aumento da massa muscular e força. Entretanto não foi observada diferença no ganho de força entre os grupos treinados e suplementados (T; TC; TAc; TCAC), tanto para as avaliações a partir do teste de carga máxima, como no volume de treinamento e número de escaladas. Para o número de escaladas foi encontrado efeito de interação ($p = 0,02$), porém, não foram observados diferença entre os grupos. Portanto a suplementação com cafeína e ácido cafeico não afetou as variáveis de desempenho mensuradas.

Até o momento, desconhecemos qualquer efeito do ácido cafeico sobre o desempenho. Por outro lado, estudos investigando o efeito da cafeína têm encontrado aumento na força máxima, no número de repetições executadas e no volume de treinamento (ARAZI; DEHLAVINEJAD; GHOLIZADEH, 2016; DUNCAN; OXFORD, 2011), embora outros estudos tenham falhado em demonstrar aumento de força e resistência muscular (ASTORINO; ROHMANN; FIRTH, 2007; BOND et al., 1986; MARTINEZ et al., 2016). O efeito ergogênico da cafeína está associado à ingestão aguda, sendo ainda pouco conhecido o efeito crônico sobre o desempenho.

Um estudo recente (BEAUMONT et al., 2016) avaliou o efeito crônico da cafeína sobre o desempenho aeróbico e encontrou atenuação da melhoria de desempenho observada após a ingestão aguda. Os participantes foram submetidos a exercício máximo em cicloergômetro de membros inferiores por 30 minutos em três ocasiões distintas. No primeiro e segundo testes, todos os sujeitos foram suplementados com cafeína ou placebo de forma duplo cega (ingestão aguda). O terceiro teste foi realizado após a suplementação crônica de cafeína ou placebo por quatro semanas. No grupo controle (placebo por 4 semanas), o desempenho foi similar entre a 1ª e 2ª exposição a cafeína, com aumentos de 6,7% e 6,1% do desempenho. Entretanto, no grupo exposto a suplementação crônica, foi observada redução de 7,3% do desempenho entre a 1ª e 2ª exposição à cafeína (efeito agudo vs. crônico), além

disso, não foi observada diferença de desempenho entre a condição placebo e a condição com exposição crônica a cafeína.

Nossos resultados são similares ao estudo acima à medida que a exposição crônica de cafeína e/ou ácido cafeico não provocaram modificações sobre o desempenho de força. Nossos resultados não podem ser interpretados em relação ao efeito agudo, pois dados em relação ao desempenho inicial de força foram realizados antes do período de suplementação.

Em relação às alterações na massa muscular, quando o peso do músculo sóleo foi normalizado pelo peso corporal, foi identificado efeito principal para a cafeína ($p = 0,01$) com diferença significativa entre os grupos T vs. TCAC ($p = 0,03$) com maior peso do músculo sóleo (17,5%) para o grupo TCAC. Diferença também foi observada entre os grupos T vs. TCAC ($p = 0,04$; 14,3% maior para o grupo TCAC) no peso do músculo plantar normalizado pelo peso corporal, porém, com efeito principal significativo para o ácido cafeico ($p = 0,04$).

Nossos resultados apontam que o peso corporal pode não ser um bom normalizador para alterações na massa muscular, pois as alterações inicialmente identificadas entre os grupos T vs. TCAC não foram observadas para a maioria das outras variáveis analisadas, como peso dos músculos, peso seco dos músculos, peso do músculo normalizado pelo comprimento da tíbia e principalmente quando avaliado a área de secção transversa das fibras musculares. Além disso, o peso corporal pode sofrer influência de outros fatores.

Zheng et al. (2014) observaram que os ácidos clorogênicos em conjunto com cafeína reduzem o acúmulo de gordura intra-abdominal e ganho de peso corporal, estudos também indicam que a cafeína altera a taxa metabólica de repouso aumentando o gasto energético e contribuindo para as alterações no peso corporal (ACHESON et al., 2004; HECKMAN; WEIL; DE MEJIA, 2010; RUDELLE et al., 2007). Entretanto não observamos modificações no peso corporal dos animais após as diferentes estratégias de suplementação.

Em outro estudo (DA COSTA SANTOS et al., 2011) investigaram o efeito do treinamento de baixa intensidade utilizando a natação por 40 minutos com carga correspondendo a 4% do peso corporal. Ratos Wistar foram divididos em quatro

grupos, grupo sedentário controle (SCO), grupo treinado controle (TCO), grupo sedentário mais cafeína (SCAF) e grupo treinado mais cafeína (TCAF). O treinamento e a cafeína não foram capazes de provocar alterações no peso corporal e no peso do músculo sóleo. Além disso, não foram observadas alterações no diâmetro das fibras musculares entre os grupos TCO e TCAF. Esse estudo corrobora com nossos resultados, pois não observamos alterações no peso corporal, massa muscular e área de secção transversa das fibras musculares com as diferentes suplementações associadas ao treinamento.

Nosso protocolo de treinamento não foi capaz de promover modificações na massa muscular dos animais (grupo treinado vs. sedentário). A ausência da hipertrofia muscular com o protocolo de treinamento poderia, pelo menos em parte, justificar a ausência do efeito da suplementação. Considerando a hipótese que a suplementação teria apenas um efeito sinérgico na massa muscular, a incapacidade do protocolo de treinamento em estimular o aumento da massa muscular poderia justificar a ausência do efeito sinérgico da suplementação.

Os efeitos da ingestão de cafeína ou ácido cafeico sobre as vias de sinalização intracelular no músculo esquelético são pouco conhecidos. Alguns estudos *in vitro* tem demonstrado que a cafeína poderia estimular a proteína AMPK (JENSEN et al., 2007; RANEY; TURCOTTE, 2008; EGAWA et al., 2009). Além disso, foi demonstrado que a ativação da AMPK pode inibir a ativação da via da mTOR em resposta a contrações do músculo esquelético através de estimulação elétrica (THOMSON et al, 2008), o que poderia resultar na atenuação da ativação desta via e, conseqüentemente, na hipertrofia muscular em resposta ao treinamento com sobrecarga. Para testar essa hipótese, Moore et al. (2017) utilizaram um modelo de sobrecarga crônica (tenotomia), capaz de induzir hipertrofia de 15%, em combinação com a ingestão de cafeína. Entretanto, os autores não observaram aumento adicional na massa muscular dos animais tratados com cafeína durante o período de 2 semanas. Esse estudo também não encontrou alterações na atividade da mTOR e na proliferação e diferenciação de mioblastos (células C₂C₁₂) tratadas com cafeína em doses fisiológicas. Nesse mesmo estudo, utilizando camundongos submetidos a contração muscular por estímulos elétricos e tratados com cafeína por injeção intraperitoneal, não foram observadas diferenças na síntese proteica e fosforilação das proteínas p70S6K, S6 ou 4EBP1 (*downstream* da mTOR), entre os grupos

cafeína e controle. Portanto, a cafeína não afetou a atividade da mTOR, a síntese proteica e a hipertrofia muscular induzida por sobrecarga. Tomados em conjunto, as pesquisas de Moore et al. (2017), da Costa Santos et al. (2011) e o nossos resultados indicam que a cafeína não estimula a hipertrofia muscular após o treinamento de baixa, alta intensidade ou sobrecarga crônica.

Entretanto, estudos sugerem que os compostos químicos do café oferecem um efeito protetor sobre o músculo esquelético em condições de atrofia muscular. Durante o envelhecimento a perda de massa muscular progressiva é conhecida como sarcopenia. Esse processo acontece devido ao desequilíbrio entre síntese e degradação proteica, ou entre apoptose e processos de regeneração ou um conjunto desses fatores (COMBARET et al., 2009; FAN et al., 2016). O café, rico em cafeína e ácido cafeico, pode contribuir para atenuar a sarcopenia. Por exemplo, estudos a partir de modelos animais tem observado que o café é capaz de aumentar a taxa de proliferação celular de células satélites e melhorar a capacidade de regeneração do músculo esquelético (GUO et al., 2014). Pietrocola et al. (2014), também observaram que o tratamento com café estimula a autofagia no músculo esquelético, o que pode contribuir com a regulação da degradação proteica (DIRKS-NAYLOR, 2015; FAN et al., 2016). Portanto, a atenuação dessas alterações metabólicas podem contribuir com a manutenção da massa muscular durante o envelhecimento.

O protocolo de treinamento utilizado envolveu o modelo de escalada de escada (*ladder climbing*), utilizando cargas progressivas. Esse modelo foi escolhido, por ser um modelo de treinamento que depende de uma ação muscular voluntária e permite a exposição do animal a um período de sobrecarga aguda, seguido por um período de recuperação, semelhante ao que acontece no treinamento de força com seres humanos diferente dos modelos não voluntários por estímulos elétricos ou procedimentos cirúrgicos de ablação e tenotomia (CHOLEWA et al., 2014; HORNBERGER; FARRAR, 2004; NETO et al., 2016).

O padrão de movimento durante a escalada envolve a ação muscular dos membros anteriores e posteriores (NASCIMENTO et al., 2013) com adaptações musculares observadas em ambos os membros (NETO et al., 2016). Em relação ao membro posterior, aumentos na massa muscular foram encontrados em diversos músculos

como, gastrocnêmico, quadríceps, flexor longo do halux (FHL), extensor digital longo (EDL) sóleo e plantar (CASSILHAS et al., 2013; DUNCAN; WILLIAMS; LYNCH, 1998; JUNG et al., 2015; LEE et al., 2004; TANG et al., 2014).

Optamos por analisar os músculos dos membros posteriores, sóleo por ter predomínio de fibras tipo I (fibras de contração lenta), plantar com predomínio de fibras tipo II (fibras de contração rápida) e o EDL com predomínio de fibras tipo II, porém, com ação muscular oposta, ou seja, ação de extensão plantar (DESCHENES et al., 2015; DIMOV; DIMOV, 2007; SOUKUP; ZACHAROVÁ; SMERDU, 2002). No presente trabalho, entretanto, não foram encontradas alterações na massa desses músculos após o protocolo de treinamento, o que está de acordo com parte da literatura que também não observou essas alterações após o treinamento com o modelo de escalada de escada (DESCHENES et al., 2015; DESCHENES; JUDELSON; KRAEMER, 2000; NETO et al., 2016). Diversos fatores podem ter contribuído para a divergência nos resultados. Por exemplo, diferentes protocolos de treinamento têm sido utilizados, incluindo variações em relação à frequência de treinamento, duração do treinamento, número de escaladas, intensidade do treinamento e tipo de padronização da intensidade que pode ser realizada em relação ao peso corporal ou ao desempenho de força do animal (NETO et al., 2016).

O protocolo de treinamento utilizado no presente estudo foi adaptado de Hornberger et al. (2014). O protocolo de Hornberger et al. (2014) foi realizado durante 8 semanas, com uma sessão a cada 3 dias, totalizando 20 sessões. A cada sessão foram realizadas de 4 a 9 escalas, com 50%, 75%, 90% e 100% da carga máxima até a 4ª série, a partir da 5ª série foram adicionados 30g a cada tentativa bem sucedida. A hipertrofia de músculos dos membros posteriores foi observada em estudos que utilizaram esse mesmo protocolo de treinamento (LEE et al., 2004) ou adaptado para três vezes por semana (JUNG et al., 2015). A principal diferença em relação ao nosso protocolo foi em relação ao número de tentativas realizadas após a 4ª série. Apenas uma tentativa foi realizada, resultando em 5 séries totais, o que poderia sugerir que número de escaladas, e conseqüentemente o volume de treinamento diário, foram menores em nosso estudo. Infelizmente os estudos acima citados não ofereceram informações sobre o número de escaladas totais completadas. Dados a partir de nosso estudo piloto usando o protocolo de Hornberger et al. (2014), encontrou que a média diária de escaladas foi de 4,2 por

sessão de treino. Esse resultado é semelhante ao número de escaladas realizado a partir desse experimento para todos os grupos treinados (T = 4,3; TC = 4,5; TAC = 4,5; TCAC = 4,3). Portanto, o número de escaladas e volume de treinamento diário não parece ser o principal motivo das diferenças observadas. Além disso, nosso protocolo deve duração de 10 semanas com um total de 28 sessões de treino, portanto um volume 40% maior, se levado em consideração o período total de treinamento.

O estudo de Cassilhas et al. (2013) também mostrou que o protocolo de escalada de escada é efetivo para induzir hipertrofia em diferentes músculos do membro posterior incluindo o músculo plantar com aumentos de 38% na área de secção transversa das fibras musculares. O protocolo de treinamento utilizou o peso corporal como referência de carga, utilizando 8 séries de escalada, a 1ª e 2ª série com 50%, 3ª e 4ª série com 75%, 5ª e 6ª série com 90% e 7ª e 8ª série com 100% do peso corporal. O treinamento foi realizado 5 vezes por semana durante 8 semanas. As comparações para volume de treinamento são difíceis de ser realizadas, porque embora esse estudo apresentasse maior número de séries e maior número de sessões, eles utilizaram o peso corporal como referência de carga. Portanto, a carga de treinamento utilizada foi inferior ao utilizado em nosso protocolo. No nosso estudo, a carga conduzida ao final do treinamento correspondeu a 178% do peso corporal e mesmo assim não foi suficiente para estimular a hipertrofia muscular. Outros estudos usando intensidades inferiores também têm encontrado hipertrofia. Por exemplo, Hellyer et al. (2012) utilizou ratos Sprague-Dawley treinados 3 vezes por semana durante 10 semanas, realizando 3 séries de 10 escaladas. A intensidade variou de 0% a 80% do peso corporal, com aumentos progressivos a cada semana, iniciando com apenas o peso corporal (0%) e atingindo uma carga adicional de 80% na 10ª semana de treinamento. Os autores observaram aumentos de 10 a 20% na área de secção transversa do FHL para os diferentes tipos de fibras (I, IIa, IIb e IIx).

Além das alterações na massa muscular, é esperado que o protocolo de treinamento em escalada de escada também provoque adaptações a nível neuromuscular (DESCHENES et al., 2015; DESCHENES; JUDELSON; KRAEMER, 2000). Nossos resultados indicam que ganhos de força aconteceram ao longo do tempo independente do treinamento, porém maiores ganhos de força foram observados

nos grupos treinados tanto para carga conduzida como carga total. Ganhos de força têm sido encontrados em vários estudos. Nascimento et al.(2013) utilizaram ratos Wistar treinados 5 vezes por semana durante 16 semanas, realizando 6 escaladas com 75% do peso corporal e observaram que os animais eram capazes de conduzir cargas entre 520 a 750g ao final do experimento. Por sua vez, Grans et al.(2014) utilizaram ratos Wistar treinados 5 vezes por semana durante 12 semanas, realizando 15 escaldas com cargas entre 40 a 60% da carga máxima e verificou que os animais eram capazes de conduzir cargas de aproximadamente 520g ao final do experimento. Outros estudos com linhagem de ratos Sprague-Dawley tem observado ganhos de força ainda mais significativos, por exemplo, Hornberger et al. (2014) observou que após 8 semanas de treinamento os ratos eram capazes de conduzir cargas de aproximadamente 1100g. De forma similar, Lee et al. (2004) observaram que após 8 semanas de treinamento os ratos conduziram cargas de 1400g.

Embora o presente estudo não tenha encontrado alterações na massa muscular dos animais treinados, foram observado ganho de força significativo, com carga conduzida de $813,0 \pm 122,8\text{g}$ para o grupo treinado e apenas $383,0 \pm 67,0\text{g}$ para o grupo controle. Portanto, esse protocolo foi mais eficiente que outros para aumento de força em ratos Wistar, provavelmente porque utilizamos maiores intensidades de treinamento que corresponderam até 178% do peso corporal.

Outro fator que pode ter contribuído para ausência da hipertrofia muscular no grupo treinado pode estar relacionado ao menor consumo alimentar. O consumo médio diário para o grupo treinado foi de $24,6 \pm 1,2\text{g}$ e para o grupo sedentário de $27,1 \pm 2,7\text{g}$. Katch et al. (1979), por exemplo, observou que ratos exercitados em esteira de corrida reduzem o consumo alimentar e o ganho de peso quando comparados ao grupo sedentário. Eles também observaram que intensidade mais elevada de treino resulta em menor consumo alimentar e ganho de peso corporal quando comparado ao exercício de baixa intensidade.

Diminuições no consumo alimentar em conjunto com o maior gasto energético provocado pelo exercício pode provocar um balanço energético negativo. Esse balanço energético negativo associado ao exercício tem sido observado por Cortright et al. (1997) a provocar reduções no peso corporal, na massa gorda e na

massa muscular de ratos exercitados de forma voluntária quando comparado aos ratos sedentários. De fato, as alterações no balanço energético e na ingestão alimentar tem sido uma preocupação a partir de estudos com modelos animais submetidos ao treinamento. Parte dos estudos que observaram ganhos de hipertrofia com o protocolo de treinamento em escalada de escada criaram estratégias para igualar o consumo alimentar. Foi o caso dos estudos de Hornberger et al. (2014) e Lee et al. (2004). O grupo treinado teve acesso livre a ração e água, enquanto o grupo sedentário teve o acesso restrito a ração, de forma a igualar o consumo calórico em relação ao grupo treinado.

Estudos que observaram a hipertrofia muscular permitindo acesso livre à ração e água para ambos os grupos (sedentário e treinado) não mensuraram o consumo alimentar (BEGUE et al., 2013; CASSILHAS et al., 2013; HELLYER et al., 2012; NASCIMENTO et al., 2013) ou não encontraram diferença para o consumo entre os grupos (JUNG et al., 2015). Dentro dos estudos que avaliaram a hipertrofia muscular, até onde se tem conhecimento, o nosso foi o primeiro a encontrar menor consumo alimentar no grupo treinado com o modelo de escada. Portanto é possível que a ausência da hipertrofia muscular no nosso estudo em conjunto com Deschenes et al. (2000), Deschenes et al. (2015), e Neto et al. (2013), possam estar relacionados a um menor consumo alimentar no grupo treinado, provocando um balanço energético negativo e interferindo nos ganhos de massa muscular. Infelizmente os estudos acima citados não mensuraram o consumo alimentar.

6. CONCLUSÕES

O resultado principal desse estudo mostrou que a cafeína e/ou ácido cafeico associado ao treinamento com sobrecarga não estimula aumentos na massa muscular e força. Os resultados secundários apontam que ratos jovens apresentam ganhos de força ao longo do tempo que são independentes do treinamento. Entretanto maiores ganhos de força são encontrados nos grupos treinados. O protocolo de treinamento adotado provocou reduções no consumo alimentar dos

ratos treinados e pode ter contribuído para a ausência de hipertrofia muscular nesses grupos.

REFERÊNCIAS

- ABIC - Associação Brasileira da Indústria de Café. **História**. 2009. Disponível em: <<http://www.abic.com.br/publique/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=38>>. Acesso em: 19 de fev. 2017.
- ABRAHÃO, S. A. et al. Compostos bioativos em café integral e descafeinado e qualidade sensorial da bebida. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 12, p. 1799–1804, 2008.
- ACHESON, K. J. et al. Metabolic effects of caffeine in humans: lipid oxidation or futile cycling? **The American journal of clinical nutrition**, v. 79, n. 1, p. 40–6, 2004.
- ALMEIDA, M. B.; BENASSI, M. DE T. Atividade antioxidante e estimativa do teor de melanoidinas em cafés torrados comerciais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 1, p. 1893–1900, 2011.
- ALTIMARI, L. R. et al. Cafeína e performance em exercícios anaeróbios. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 1, p. 17–26, 2006.
- ARAZI, H.; DEHLAVINEJAD, N.; GHOLIZADEH, R. The acute effect of caffeine supplementation on strength, repetition sustainability and work volume of novice bodybuilders. **Turkish Journal of Kinesiology**, v. 2, n. 3, p. 43–48, 2016.
- ASTORINO, T. A.; ROBERSON, D. W. Efficacy of Acute Caffeine Ingestion for Short-term High-Intensity Exercise Performance: A Systematic Review. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 24, n. 1, p. 257–265, 2010.
- ASTORINO, T. A.; ROHMANN, R. L.; FIRTH, K. Effect of caffeine ingestion on one-repetition maximum muscular strength. **European Journal of Applied Physiology**, v. 102, n. 2, p. 127–132, 2007.
- BAEHR, L. M.; TUNZI, M.; BODINE, S. C. Muscle hypertrophy is associated with increases in proteasome activity that is independent of MuRF1 and MAFbx expression. **Frontiers in physiology**, v. 5, n. 69, p. 1–8, 2014.
- BARCELOS, R. et al. Caffeine Intake May Modulate Inflammation Markers in Trained Rats. **Nutrients**, v. 6, n. 4, p. 1678–1690, 2014.
- BEAUMONT, R. et al. Chronic ingestion of a low dose of caffeine induces tolerance to the performance benefits of caffeine. **Journal of Sports Sciences**, v. 0, n. 0, p. 1–8, 2016.
- BEGUE, G. et al. Early Activation of Rat Skeletal Muscle IL-6/STAT1/STAT3 Dependent Gene Expression in Resistance Exercise Linked to Hypertrophy. **PLoS ONE**, v. 8, n. 2, p. e57141, 2013.
- BODINE, S. C. et al. Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy in vivo. **Nature cell biology**, v. 3, n. 11, p. 1014–9, 2001.
- BOND, V. et al. CAFFEINE INGESTION AND ISOKINETIC STRENGTH V. BOND,

EdD, K. GRESHAM, MS, J. McRAE, PhD and R. J. TEARNEY, PhD Dept. of Physical Education,. **British journal of sports medicine**, v. 20, n. 3, p. 135–137, 1986.

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

CAPPELLETTI, S. et al. Caffeine: cognitive and physical performance enhancer or psychoactive drug? **Current neuropharmacology**, v. 13, n. 1, p. 71–88, 2015.

CARE STUDY GROUP. Maternal caffeine intake during pregnancy and risk of fetal growth restriction: a large prospective observational study. **BMJ (Clinical research ed.)**, v. 337, n. nov03 2, p. a2332, 2008.

CASSILHAS, R. C. et al. Animal model for progressive resistance exercise: a detailed description of model and its implications for basic research in exercise. **Motriz: Revista de Educação Física**, v. 19, n. 1, p. 178–184, 2013.

CHOLEWA, J. et al. Basic Models Modeling Resistance Training: An Update for Basic Scientists Interested in Study Skeletal Muscle Hypertrophy. **Journal of Cellular Physiology**, v. 229, n. 9, p. 1148–1156, 2014.

COMBARET, L. et al. Skeletal muscle proteolysis in aging. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 12, n. 1, p. 37–41, 2009.

CORNELIS, M. C. et al. Coffee, CYP1A2 genotype, and risk of myocardial infarction. **JAMA**, v. 295, n. 10, p. 1135–41, 2006.

CORNELIS, M. C. Toward systems epidemiology of coffee and health. **Current Opinion in Lipidology**, v. 26, n. 1, p. 20–29, 2015.

CORTRIGHT, R. N. et al. Daily exercise reduces fat, protein and body mass in male but not female rats. **Physiology & behavior**, v. 62, n. 1, p. 105–11, 1997.

CUNHA, Fernanda Marques da. **Estudo dos efeitos de derivados do ácido caféico em modelos de inflamação in vitro e in vivo**. 2004. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

DA COSTA SANTOS, V. B. et al. Effects of chronic caffeine intake and low-intensity exercise on skeletal muscle of Wistar rats. **Experimental physiology**, v. 96, n. 11, p. 1228–1238, 2011.

DAVIS, J. K.; GREEN, J. M. Caffeine and Anaerobic Performance. **Sports Medicine**, v. 39, n. 10, p. 813–832, 2009.

DESCHENES, M. R. et al. Effect of resistance training on neuromuscular junctions of young and aged muscles featuring different recruitment patterns. **Journal of Neuroscience Research**, v. 93, n. 3, p. 504–513, 2015.

DESCHENES, M. R.; JUDELSON, D. A.; KRAEMER, W. J. Effects of resistance training on neuromuscular junction morphology. **Muscle & Nerve**, v. 23, n. October,

p. 1576–1581, 2000.

DIMOV, D. T.; DIMOV, I. Muscle Fiber Types and Fiber Morphometry in the Soleus Muscle of the Rat. **Medicine and Biology**, v. 14, n. 3, p. 121–127, 2007.

DIRKS-NAYLOR, A. J. The benefits of coffee on skeletal muscle. **Life Sciences**, v. 143, p. 182–186, 2015.

DOEPKER, C. et al. Caffeine: Friend or Foe? **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 7, n. 1, p. 117–137, 2016.

DOHERTY, M.; SMITH, P. M. Effects of caffeine ingestion on exercise testing: a meta-analysis. **International journal of sport nutrition and exercise metabolism**, v. 14, n. 6, p. 626–46, 2004.

DUAN, Y. et al. The role of leucine and its metabolites in protein and energy metabolism. **Amino Acids**, v. 48, n. 1, p. 41–51, 2016.

DUNCAN, M. J.; OXFORD, S. W. The Effect of Caffeine Ingestion on Mood State and Bench Press Performance to Failure. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 25, n. 1, p. 178–185, 2011.

DUNCAN, N. D.; WILLIAMS, D. A.; LYNCH, G. S. Adaptations in rat skeletal muscle following long-term resistance exercise training. **European Journal of Applied Physiology**, v. 77, n. 4, p. 372–378, 1998.

EGAWA, T. et al. Caffeine acutely activates 5'adenosine monophosphate-activated protein kinase and increases insulin-independent glucose transport in rat skeletal muscles. **Metabolism: clinical and experimental**, v. 58, n. 11, p. 1609–17, 2009.

FAN, J. et al. Autophagy as a Potential Target for Sarcopenia. **Journal of Cellular Physiology**, v. 231, n. 7, p. 1450–1459, 2016.

FARAH, Adriana. **Coffee: emerging health effects and disease prevention**. 1^o Ed. Oxford, UK: Wiley-Blackwell, 2012.

FERNANDES, S. M. et al. Teores de polifenóis, ácido clorogênico, cafeína e proteína em café torrado. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 7, n. 3, p. 197–199, 2001.

FOOD-INFO. **Coffe: Acids compounds**. 2014. Disponível em: <<http://www.food-info.net/uk/products/coffee/acids.htm>>. Acesso em: 6 fev. 2017.

GANIO, M. S. et al. Effect of Caffeine on Sport-Specific Endurance Performance: A Systematic Review. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 23, n. 1, p. 315–324, 2009.

GRANS, C. F. et al. Resistance training after myocardial infarction in rats: its role on cardiac and autonomic function. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 103, n. 1, p. 60–8, 2014.

GUARINO, M. P. et al. Chronic caffeine intake reverses age-induced insulin resistance in the rat: effect on skeletal muscle Glut4 transporters and AMPK activity.

AGE, v. 35, n. 5, p. 1755–1765, 2013.

GUO, Y. et al. Coffee treatment prevents the progression of sarcopenia in aged mice in vivo and in vitro. **Experimental gerontology**, v. 50, n. 1, p. 1–8, 2014.

HAPPONEN, P.; VOUTILAINEN, S.; SALONEN, J. T. Coffee drinking is dose-dependently related to the risk of acute coronary events in middle-aged men. **The Journal of nutrition**, v. 134, n. 9, p. 2381–6, 2004.

HARTLEY, T. R.; LOVALLO, W. R.; WHITSETT, T. L. Cardiovascular effects of caffeine in men and women. **The American journal of cardiology**, v. 93, n. 8, p. 1022–6, 2004.

HECKMAN, M. A.; WEIL, J.; DE MEJIA, E. G. Caffeine (1, 3, 7-trimethylxanthine) in Foods: A Comprehensive Review on Consumption, Functionality, Safety, and Regulatory Matters. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 3, p. R77–R87, 2010.

HELLYER, N. J. et al. Reduced Ribosomal Protein S6 Phosphorylation After Progressive Resistance Exercise in Growing Adolescent Rats. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 26, n. 6, p. 1657–1666, 2012.

HIGDON, J. V.; FREI, B. Coffee and Health: A Review of Recent Human Research. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 46, n. 2, p. 101–123, 2006.

HORNBERGER, T. A.; FARRAR, R. P. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. **Canadian journal of applied physiology**, v. 29, n. 1, p. 16–31, 2004.

JABBAR, S. B.; HANLY, M. G. Fatal Caffeine Overdose. **The American Journal of Forensic Medicine and Pathology**, v. 34, n. 4, p. 321–324, 2013.

JENSEN, T. E. et al. Caffeine-induced Ca(2+) release increases AMPK-dependent glucose uptake in rodent soleus muscle. **American journal of physiology. Endocrinology and metabolism**, v. 293, n. 1, p. E286-92, 2007.

JOY, J. M. et al. Twelve weeks supplementation with an extended-release caffeine and ATP-enhancing supplement may improve body composition without affecting hematology in resistance-trained men. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 13, n. 1, p. 25, 2016.

JUNG, S. et al. The effect of ladder-climbing exercise on atrophy/hypertrophy-related myokine expression in middle-aged male Wistar rats. **The Journal of Physiological Sciences**, v. 65, n. 6, p. 515–521, 2015.

KATCH, V. L.; MARTIN, R.; MARTIN, J. Effects of exercise intensity on food consumption in the male rat. **The American journal of clinical nutrition**, v. 32, n. 7, p. 1401–7, 1979.

LEE, E. S. et al. Caffeic acid phenethyl ester accumulates beta-catenin through GSK-3beta and participates in proliferation through mTOR in C2C12 cells. **Life sciences**, v. 84, n. 21–22, p. 755–9, 2009.

LEE, S. et al. Viral expression of insulin-like growth factor-I enhances muscle hypertrophy in resistance-trained rats. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)**, v. 96, n. 3, p. 1097–1104, 2004.

LIMA, F. A. DE et al. Café e saúde humana: um enfoque nas substâncias presentes na bebida relacionadas às doenças cardiovasculares. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 6, p. 1063–1073, 2010.

LOPEZ-GARCIA, E. et al. Coffee consumption and coronary heart disease in men and women: a prospective cohort study. **Circulation**, v. 113, n. 17, p. 2045–53, 2006.

LUDWIG, I. A. et al. Coffee: biochemistry and potential impact on health. **Food & Function**, v. 5, n. 8, p. 1695, 2014.

MARCOTTE, G. R.; WEST, D. W. D.; BAAR, K. The Molecular Basis for Load-Induced Skeletal Muscle Hypertrophy. **Calcified Tissue International**, v. 96, n. 3, p. 196–210, 2015.

MARTINEZ, N. et al. The effect of acute pre-workout supplementation on power and strength performance. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 13, n. 1, p. 29, 2016.

MCCARTHY, J. J.; ESSER, K. A. Anabolic and catabolic pathways regulating skeletal muscle mass. **Current opinion in clinical nutrition and metabolic care**, v. 13, n. 3, p. 230–5, 2010.

MEJIA, E. G. DE; RAMIREZ-MARES, M. V. Impact of caffeine and coffee on our health. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 25, n. 10, p. 489–492, 2014.

MOORE, T. M. et al. The effect of caffeine on skeletal muscle anabolic signaling and hypertrophy. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, [Epub ahead of print], 2017.

NASCIMENTO, V. et al. Morphoquantitative analysis revealed Triceps Brachialis muscle hypertrophy by specific Resistance training equipment in rats. **J. Morphol. Sci.**, v. 30, n. 4, p. 276–280, 2013.

NAWROT, P. et al. Effects of caffeine on human health. **Food Additives and Contaminants**, v. 20, n. 1, p. 1–30, 2003.

NETO, W. K. et al. Quantitative Morphological Analysis Revealed Muscular Hypertrophy in Different Skeletal Muscle Types Induced by Anabolic Steroid and Resistance Training in Rats. **Aust. J. Basic & Appl. Sci.**, v. 7, n. 14, p. 591–598, 2013.

NETO, W. K. et al. Vertical Climbing for Rodent Resistance Training : a Discussion about Training Parameters. **International Journal of Sports Science**, v. 6, n. March, p. 36–49, 2016.

ONG, K. W.; HSU, A.; TAN, B. K. H. Chlorogenic Acid Stimulates Glucose Transport in Skeletal Muscle via AMPK Activation: A Contributor to the Beneficial Effects of

Coffee on Diabetes. **PLoS ONE**, v. 7, n. 3, p. e32718, 2012.

PALATINI, P. et al. CYP1A2 genotype modifies the association between coffee intake and the risk of hypertension. **Journal of hypertension**, v. 27, n. 8, p. 1594–1601, 2009.

PIETROCOLA, F. et al. Coffee induces in vivo autophagy. **Cell Cycle**, v. 13, n. 12, p. 1987–1994, 2014.

RANEY M. A.; TURCOTTE L. P. Evidence for the involvement of CaMKII and AMPK in Ca²⁺-dependent signaling pathways regulating FA uptake and oxidation in contracting rodent muscle. **J Appl Physiol** (1985). 2008 May;104(5):1366-73.

REAGAN-SHAW, S.; NIHAL, M.; AHMAD, N. Dose translation from animal to human studies revisited. **FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 22, n. 3, p. 659–61, 2008.

RIVERS, W. H. R.; WEBBER, H. N. The action of caffeine on the capacity for muscular work. **The Journal of Physiology**, v. 36, n. 1, p. 33–47, 1907.

RUDELLE, S. et al. Effect of a thermogenic beverage on 24-hour energy metabolism in humans. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 15, n. 2, p. 349–55, 2007.

SAIKI, S. et al. Caffeine induces apoptosis by enhancement of autophagy via PI3K/Akt/mTOR/p70S6K inhibition. **Autophagy**, v. 7, n. 2, p. 176–187, 2011.

SALAZAR-MARTINEZ, E. et al. Coffee consumption and risk for type 2 diabetes mellitus. **Annals of internal medicine**, v. 140, n. 1, p. 1–8, 2004.

SCHIAFFINO, S. et al. Mechanisms regulating skeletal muscle growth and atrophy. **FEBS Journal**, v. 280, n. 17, p. 4294–4314, 2013.

SCHIAFFINO, S.; MAMMUCARI, C. Regulation of skeletal muscle growth by the IGF1-Akt/PKB pathway: insights from genetic models. **Skeletal Muscle**, v. 1, n. 1, p. 4, 2011.

SOUKUP, T.; ZACHAROVÁ, G.; SMERDU, V. Fiber type composition of soleus and extensor digitorum longus muscles in normal female inbred lewis rats. **Acta histochem**, v. 104, n. 4, p. 399–405, 2002.

SOUSA, A. G.; DA COSTA, T. H. M. Usual coffee intake in Brazil: results from the National Dietary Survey 2008–9. **British Journal of Nutrition**, v. 113, n. 10, p. 1615–1620, 2015.

SOUZA, A. D. M. et al. Alimentos mais consumidos no Brasil: Inquérito Nacional de Alimentação 2008-2009. **Rev Saúde Pública**, v. 47, p. 190–199, 2013.

TANG, L. et al. Decrease in myostatin by ladder-climbing training is associated with insulin resistance in diet-induced obese rats. **Chinese medical journal**, v. 127, n. 12, p. 2342–9, 2014.

THOMSON D. M.; FICK C. A.; GORDON S. E. AMPK activation attenuates S6K1, 4E-BP1, and eEF2 signaling responses to high-frequency electrically stimulated skeletal muscle contractions. **J Appl Physiol** (1985). 2008 Mar;104(3):625-32.

TSUDA, S. et al. Coffee polyphenol caffeic acid but not chlorogenic acid increases 5'AMP-activated protein kinase and insulin-independent glucose transport in rat skeletal muscle. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 23, n. 11, p. 1403–9, 2012.

VAN DAM, R. M. et al. Coffee, Caffeine, and Risk of Type 2 Diabetes: A prospective cohort study in younger and middle-aged U.S. women. **Diabetes Care**, v. 29, n. 2, p. 398–403, 2006.

VAN DAM, R. M.; HU, F. B. Coffee Consumption and Risk of Type 2 Diabetes. **JAMA**, v. 294, n. 1, p. 97, 2005.

WARDENAAR, F. C. et al. Nutritional Supplement Use by Dutch Elite and Sub-Elite Athletes: Does Receiving Dietary Counselling Make a Difference? **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, p. 1–25, 2016.

WARREN, G. L. et al. Effect of caffeine ingestion on muscular strength and endurance: a meta-analysis. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 42, n. 7, p. 1375–87, 2010.

WEI, F. et al. Roasting Process of Coffee Beans as Studied by Nuclear Magnetic Resonance: Time Course of Changes in Composition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 4, p. 1005–1012, 2012.

WEISS, B.; LATIES, V. G. Enhancement of human performance by caffeine and the amphetamines. **Pharmacological reviews**, v. 14, p. 1–36, 1962.

WEST, D. W. D. et al. Resistance exercise-induced increases in putative anabolic hormones do not enhance muscle protein synthesis or intracellular signalling in young men. **The Journal of Physiology**, v. 587, n. 21, p. 5239–5247, 2009.

WEST, D. W. D. et al. Elevations in ostensibly anabolic hormones with resistance exercise enhance neither training-induced muscle hypertrophy nor strength of the elbow flexors. **Journal of Applied Physiology**, v. 108, n. 1, p. 60–67, 2010.

ZANCHI, N. E.; LANCHI, A. H. Mechanical stimuli of skeletal muscle: implications on mTOR/p70s6k and protein synthesis. **European Journal of Applied Physiology**, v. 102, n. 3, p. 253–263, 2007.

ZHENG, G. et al. Chlorogenic acid and caffeine in combination inhibit fat accumulation by regulating hepatic lipid metabolism-related enzymes in mice. **British Journal of Nutrition**, v. 112, n. 6, p. 1034–1040, 2014.