



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

**MARCOS TEIXEIRA ORSINI**

**A INFLUÊNCIA DOS GENES CYP1A2 E ADORA2A NOS EFEITOS  
ERGOGÊNICOS DA CAFEÍNA E A NEUROBIOLOGIA DO EXERCÍCIO  
INTEGRADA**

Florianópolis  
2021

MARCOS TEIXEIRA ORSINI

**A INFLUÊNCIA DOS GENES CYP1A2 E ADORA2A NOS EFEITOS  
ERGOGÊNICOS DA CAFEÍNA E A NEUROBIOLOGIA DO EXERCÍCIO  
INTEGRADA**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Mestre em Neurociências.

Orientador: Prof. Dr. Aderbal Silva Aguiar Jr.

Florianópolis

2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Orsini, Marcos Teixeira

A influência dos genes CYP1A2 e ADORA2A nos efeitos ergogênicos da cafeína e a neurobiologia do exercício integrada / Marcos Teixeira Orsini, Diogo Kenzo Pereira ; orientador, Aderbal Silva Aguiar Jr., 2021.  
70 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós Graduação em Neurociências, Florianópolis, 2021.

Inclui referências.

1. Neurociências. 2. Influência genética nos efeitos da cafeína . 3. Percepção subjetiva de esforço. 4. Fadiga . 5. Genética no Esporte. I. Pereira, Diogo Kenzo. II. Silva Aguiar Jr., Aderbal. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Neurociências. IV. Título.

MARCOS TEIXEIRA ORSINI

**A INFLUÊNCIA DOS GENES CYP1A2 E ADORA2A NOS EFEITOS  
ERGOGÊNICOS DA CAFEÍNA E A NEUROBIOLOGIA DO EXERCÍCIO  
INTEGRADA**

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Aderbal Silva Aguiar Junior, Dr.  
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.(a) Ana Elisa Speck Aguiar, Dr.(a)  
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Guilherme Fleury Fina Speretta, Dr.  
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Neurociências.

---

Prof. Eduardo Luiz Gasnhar Moreira, Dr.  
Coordenação do Programa de Pós-Graduação

---

Prof. Aderbal Silva Aguiar Junior, Dr.

Orientador

Florianópolis, 2021.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a minha companheira Edylci por todo o amor e incentivo na minha vida pessoal e profissional, nos momentos felizes e naqueles de grande superação e perseverança.

Aos pequenos Cesar e Sarah, meus verdadeiros tesouros, fonte infinita de energia e alegria para minha vida.

À Universidade de Santa Catarina pela excelente estrutura do Programa de Pós-Graduação em Neurociências, incluindo todos os professores e colaboradores que propiciaram o meu desenvolvimento humano e acadêmico.

Ao meu orientador, professor Aderbal Silva Aguiar Jr., sempre solícito, atencioso e incentivador, oferecendo todo o suporte necessário para realização da minha pesquisa.

Ao amigo e parceiro de trabalho Diogo Kenzo, pelas incontáveis horas de discussão acadêmica entremeadas por agradáveis intervalos para o nosso cafezinho restaurador.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES)

## RESUMO

Há décadas a cafeína tem sido amplamente utilizada no esporte de alto rendimento pelos efeitos ergogênicos a ela atribuídos. Contudo, fatores ambientais, genéticos e epigenéticos podem influenciar na magnitude dos mesmos, desde indivíduos altamente responsivos, que melhoram significativamente o seu desempenho, aos que vivenciam efeitos ergolíticos ou até adversos com a sua suplementação. O estudo de fatores genéticos, mais especificamente polimorfismos presentes nos genes CYP1A2 (codificante da enzima citocromo P450 1A2, responsável por 95% da metabolização da cafeína) e ADORA2A (codificante dos receptores de adenosina A2A e alvos da cafeína) são potenciais candidatos para explicar parte desta variabilidade. Apesar das investigações publicadas nos últimos 8 anos, ainda não há um consenso sobre a sua influência. No intuito de elucidar a questão o presente estudo revisou as publicações envolvendo os polimorfismos dos genes CYP1A2 (rs762551) e ADORA2A (rs5751876), exercício e suplementação com cafeína. Duas bases de dados (Pubmed e Medline) foram acessadas entre 05/06/2018 e 14/11/2020. Após a utilização dos critérios de seleção 15 artigos foram escolhidos, abrangendo vários protocolos de exercício e suas respectivas valências fisiológicas (força, potência e resistência aeróbia), em populações distintas no tocante a aptidão física (atletas e amadores) e sexo (feminino e masculino). Onze deles avaliaram o polimorfismo no gene CYP1A2, 2 estudos em ADORA2A e outros 2 em ambos os genes. Quatro estudos (26%) constatarem efeito ergogênico da cafeína genótipo-dependente. Em relação a PSE (percepção subjetiva de esforço), apenas 1 estudo evidenciou redução significativa nesta variável. Segundo os próprios autores, considerável parcela dos resultados inconsistentes pode ser atribuída a questões metodológicas. Posteriormente, foram identificadas e comparadas as variáveis de maior relevância em ambos os estudos, suas potencialidades e limitações, em busca de um padrão metodológico de excelência lincado a proposta de uma abordagem multidisciplinar integrativa, permeando a Fisiologia do Exercício, as Neurociências e a Genética, possibilitando a ampliação do painel de polimorfismos genéticos no intuito de contribuir com os futuros estudos que pretendam investigar a influência genética no potencial ergogênico da cafeína.

**Palavras-chave:** Cafeína-genética-exercício. Cafeína - gene CYP1A2-ADORA2A. Percepção subjetiva de esforço. Receptores de adenosina. Fadiga central. Fadiga periférica.

## ABSTRACT

For decades, caffeine has been widely used in high-performance sports due to the ergogenic effects attributed to it. However, environmental, genetic and epigenetic factors can influence their magnitude, from highly responsive individuals, who significantly improve their performance, to those who experience ergolytic or even adverse effects with their supplementation. The study of genetic factors, more specifically polymorphisms found in the genes CYP1A2 (coding for the cytochrome P450 1A2 enzyme, responsible for 95% of the metabolism of caffeine) and ADORA2A (coding for A2A adenosine receptors and targets for caffeine) are potential candidates to explain part of this variability. Despite the researches published over the last 8 years, there is still no consensus on its influence. In order to elucidate the issue, the present study reviewed publications involving the polymorphisms of the CYP1A2 (rs762551) and ADORA2A (rs5751876) genes, exercise and caffeine supplementation. Two databases (Pubmed and Medline) were accessed between 06/05/2018 and 11/14/2020. After using the selection criteria, 15 articles were chosen, covering several exercise protocols and their respective physiological valences (strength, power and aerobic resistance), in different populations regarding physical fitness (athletes and amateurs) and sex (female and male). Eleven of them evaluated the polymorphism in the CYP1A2 gene, 2 studies in ADORA2A and another 2 in both genes. Four studies (26%) found a caffeine ergogenic effect genotype-dependent. Regarding RPE (rating of perceived exertion), only 1 study showed a significant reduction in this variable. According to the authors themselves, a considerable part of the inconsistent results can be attributed to methodological issues. Subsequently, the most relevant variables were identified and compared in both studies, their potentials and limitations, in search of a methodological standard of excellence linked to the proposal for an integrative multidisciplinary approach, permeating Exercise Physiology, Neuroscience and Genetics, enabling the expansion of the panel of genetic polymorphisms in order to contribute to future studies that intend to investigate the genetic influence on the ergogenic potential of caffeine.

**Keywords:** Caffeine-genetic-exercise. Caffeine-ADORA2A-CYP1A2 gene. Rate of perceived exertion. Adenosine receptors. Central fatigue. Peripheral fatigue.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma do levantamento bibliográfico realizado.....	18
Figura 2 – Cafeína e Adenosina na Neurotransmissão Dopaminérgica e Serotoninérgica .....	35
Figura 3 – Cafeína e a Neurobiologia do Exercício Integrada .....	48

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1– Recomendações para estudos envolvendo cafeína, exercícios e genética.....	46
Quadro 2 – Genes e polimorfismos para futuros estudos envolvendo cafeína e exercício .....	52

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estudos da influência do gene CYP1A2 na suplementação com cafeína.....	22
Tabela 2 – Estudos da influência do gene ADORA2A na suplementação com cafeína .....	25
Tabela 3 – Estudos da influência dos genes CYP1A2 e ADORA2A na suplementação com cafeína.....	25
Tabela 4 – Critérios metodológicos utilizados nos estudos dos genes CYP1A2 e ADORA2A .....	29

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-HTR	Receptor de serotonina
A1R	Receptor de adenosina A1
A2AR	Receptor de adenosina A2A
ADORA2A	Gene codificante do receptor de adenosina A2A
AGL	Ácidos graxos livres
AMPK	<i>Adenosine monophosphate-activated protein kinase</i>
CYP1A2	Gene codificante da enzima citocromo P4501A2
D2R	Receptor de dopamina 2
IMP	Inosina monofosfato
KO	<i>Knockout</i>
ER	Exercício Resistido
PCr	Enzima creatina fosfato
PSE	Percepção subjetiva de esforço
PVT	Teste de vigilância psicomotora
RER	<i>Respiratory exchange ratio</i>
RPE	<i>Rate of perceived exertion</i>
SNP	<i>Single nucleotide polymorphism</i>
$\dot{V}O_{2\text{máx}}$	Volume máximo de oxigênio consumido

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>MÉTODOS.....</b>	<b>16</b>
2.1	ESTRATÉGIA DE BUSCA.....	16
2.2	CRITÉRIOS DE SELEÇÃO (REVISÃO 1).....	16
2.3	CRITÉRIOS DE SELEÇÃO (REVISÃO 2).....	17
<b>3</b>	<b>RESULTADOS: A INFLUÊNCIA DOS GENES CYP1A2 E ADORA2A NOS EFEITOS ERGOGÊNICOS DA CAFEÍNA (REVISÃO 1).....</b>	<b>17</b>
3.1	RESULTADO DA BUSCA EM BASES DE DADOS.....	17
3.2	HIPÓTESES DA INFLUÊNCIA DOS GENES CYP1A2 e ADORA2A NO DESEMPENHO ESPORTIVO E PERCEPÇÃO SUBJETIVA DE ESFORÇO (PSE).....	18
3.3	A INFLUÊNCIA DO GENE CYP1A2 NA SUPLEMENTAÇÃO COM CAFEÍNA .	19
3.4	A INFLUÊNCIA DO GENE ADORA2A NA SUPLEMENTAÇÃO COM CAFEÍNA.....	23
3.5	A INFLUÊNCIA DOS GENES CYP1A2 E ADORA2A NA SUPLEMENTAÇÃO COM CAFEÍNA.....	23
3.6	A INFLUÊNCIA DO GENE CYP1A2 NA METABOLIZAÇÃO DA CAFEÍNA.....	26
3.7	A INFLUÊNCIA DOS GENES CYP1A2 E ADORA2A NA PERCEPÇÃO SUBJETIVA DE ESFORÇO (PSE) COM SUPLEMENTAÇÃO DE CAFEÍNA.....	26
3.8	CRITÉRIOS METODOLÓGICOS UTILIZADOS NOS ESTUDOS DOS GENES CYP1A2 E ADORA2A.....	26
<b>4</b>	<b>CAFEÍNA E A NEUROBIOLOGIA DO EXERCÍCIO INTEGRADA (REVISÃO 2).....</b>	<b>30</b>
4.1	RECEPTORES DE ADENOSINA, O PONTO DE PARTIDA?.....	30
4.2	RECEPTORES DE ADENOSINA: OS ALVOS DA CAFEÍNA.....	32
4.3	RECEPTORES DE ADENOSINA: FORMAÇÃO DE DÍMEROS E MODULAÇÃO ALOSTÉRICA.....	34
4.4	FADIGA CENTRAL E PERIFÉRICA.....	37

4.5	SISTEMA NERVOSO SIMPÁTICO E CAFEÍNA: NEUROTRANSMISSORES, NEUROHORMÔNIOS E RECEPTORES.....	39
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO E PERSPECTIVAS.....</b>	<b>41</b>
5.1	PROPOSTA METODOLÓGICA PARA FUTUROS ESTUDOS ENVOLVENDO CAFEÍNA, EXERCÍCIO E GENÉTICA: A BUSCA POR UM PADRÃO DE EXCELÊNCIA .....	41
5.2	CAFEÍNA E A NEUROBIOLOGIA DO EXERCÍCIO INTEGRADA: UMA ABORDAGEM MULTIDISCIPLINAR .....	47
5.3	CAFEÍNA, GENES E POLIMORFISMOS “CANDIDATOS” .....	48
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>54</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>55</b>
	<b>ANEXO A – Classificação do consumo de cafeína (mg/Kg).....</b>	<b>69</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O café é uma das bebidas mais consumidas no planeta. Seus grãos torrados contêm mais de 1000 componentes bioativos com potencial antioxidante, anti-inflamatório e anticarcinogênico. Dentre eles destacam-se a cafeína, os ácidos clorogênicos e os diterpenos, cafestol e kahweol (LIMA *et al.*, 2010; JESZKA-SKOWRON *et al.*, 2014). A cafeína (1,3,7-trimetilxantina), seu principal e mais estudado composto bioativo, é a substância psicoativa mais consumida no mundo (NEHLIG, 2018). Está presente naturalmente em sementes, folhas e frutos de mais de 60 espécies de plantas, mas são as sementes do café e as folhas de chá as suas principais fontes dietéticas. Também pode ser encontrada em chocolates, bebidas energéticas, refrigerantes a base de cola, suplementos para atletas e medicamentos (NEHLIG, 2018). Segundo Poole *et al.* (2017), há evidência que o consumo regular de café, frequentemente, confere mais benefícios do que efeitos deletérios a saúde.

No âmbito esportivo, a suplementação com cafeína é utilizada há décadas com a finalidade de melhorar o desempenho de atletas e indivíduos fisicamente ativos através de seus efeitos ergogênicos (RIVERS e WEBBER, 1907). Aproximadamente 75% dos atletas de elite usam cafeína antes ou durante eventos esportivos, sendo os praticantes de *endurance* os maiores consumidores (DEL COSO *et al.*, 2011). Assim como a Sociedade Internacional de Nutrição Esportiva (KERKSICK *et al.*, 2018), diversos grupos de pesquisa e entidades ligadas à Nutrição e ao Esporte preconizam o consumo de 3 a 6 mg/Kg de cafeína em exercícios de curta, média e longa duração, com predominância aeróbia ou anaeróbia. (GLAISTER *et al.*, 2008; GOLDSTEIN *et al.*, 2010; NADERI, 2016; BROOKS *et al.*, 2016; CHRISTENSEN *et al.*, 2017; SOUTHWARD *et al.*, 2018; GRGIC *et al.*, 2018; GRGIC *et al.*, 2019). Tem sido demonstrado que o café (a exemplo da cafeína) também confere efeito ergogênico no desempenho esportivo (HODGSON *et al.*, 2013; CLARKE *et al.*, 2017).

Existem alguns mecanismos propostos para elucidar a ação central e periférica da cafeína. A capacidade da cafeína em promover aumento da lipólise e oxidação de gorduras (diminuindo o *RER* - *respiratory exchange ratio*), preservando o glicogênio muscular e postergando a fadiga, foi um mecanismo bem explorado, principalmente nas décadas de 70 e 80 (COSTILL *et al.*, 1978; IVY *et al.*, 1979; ESSIG *et al.*, 1980; CRUZ *et al.*, 2015; LOUREIRO *et al.*, 2018), porém até os dias atuais não há um consenso sobre tal alegação (GRAHAM, 2001; GRAHAM *et al.*, 2008). É mais provável que o seu efeito simpatomimético,

influenciado pela intensidade do exercício, possa explicar a disponibilidade e utilização dos substratos energéticos. (JONES, 2008; BURNLEY e JONES, 2016).

Por outro lado, o aumento do lactato tem sido um efeito mais recorrente, principalmente quando estímulos mecânicos de maior intensidade, potencializados pela ação ergogênica da cafeína, requerem a participação da enzima lactato desidrogenase para regeneração de NAD<sup>+</sup> e manutenção da glicólise (GRAHAM e SPRIET, 1995; GRAHAM *et al.*, 2000; BELL e MACLELLAN, 2002). Atualmente, a hipótese mais aceita é o efeito estimulante da cafeína no sistema nervoso central, atuando como antagonista dos receptores de adenosina, principalmente A1R e A2AR (KALMAR e CAFARELLI, 2004; FERRÉ, 2008; KOUPEVA e RAVID, 2013; LAYLAND *et al.*, 2014; BOREA *et al.*, 2018; NEHLIG, 2018; FERRÉ *et al.*, 2018). Em exercícios intensos e prolongados, o aumento da demanda energética e condições de hipóxia tecidual podem elevar significativamente as concentrações de adenosina, impactando negativamente no desempenho esportivo e favorecendo o mecanismo de fadiga central (LAYLAND *et al.*, 2014). O efeito antagônico da cafeína nos receptores adenosinérgicos não apenas minimiza os efeitos da adenosina, como também promove um estímulo ergogênico a partir da ação de neurotransmissores excitatórios que atuam em diversas vias de transmissão, centrais e periféricas. Paralelamente, a cafeína também influencia a percepção subjetiva de esforço (PSE) e dor muscular pós-exercício, incluindo ao contexto um componente psicofisiológico (PLASKETT e CAFARELLI, 2001; MOTL *et al.*, 2003; DOHERTY e SMITH, 2005; MEEUSEN *et al.*, 2013). Dentre os métodos de PSE, as escalas de Borg são as mais utilizadas, com pontuação variando entre 6-20, para classificação de esforço “global”, e 0-10, preferencialmente para dor (BORG, 1990). As escalas de percepção permitem quantificar os sintomas promovidos pelo estímulo mecânico. É importante ressaltar que nos modelos de exercício que utilizam cafeína, a mensuração da PSE assume um papel único, uma vez que seus efeitos ergogênicos (também de natureza psicofisiológica) estão intimamente conectados as respostas aferidas nestas escalas.

Apesar da maioria dos estudos evidenciar o potencial da cafeína no Esporte, algumas investigações falharam em constatar seus efeitos ergogênicos (BUTTS e CROWELL, 1985; TARNOPOLSKY *et al.*, 1989; ALGRAIN *et al.*, 2015; GIERSCH *et al.*, 2018). É notável que poucos estudos enfatizam os efeitos da cafeína no contexto individual. A grande maioria das discussões e conclusões é pautada na média dos resultados obtidos. Uma análise mais criteriosa e individualizada permite identificar grande variabilidade, desde indivíduos que apresentam diminuição na percepção de esforço e melhora significativa no desempenho, aos que vivenciam

efeitos ergolíticos (queda no rendimento esportivo) e/ou adversos (ansiedade, nervosismo e distúrbios do sono) com a sua suplementação (ALSENE *et al.*, 2003; RETEY *et al.*, 2007; CHILDS *et al.*, 2008; ROGERS *et al.*, 2010; RENDA *et al.*, 2011; HOHOFF *et al.*, 2010; BODENMANN *et al.*, 2012; URRY e LANDOLT, 2014; NUNES *et al.*, 2017; SALINERO *et al.*, 2017; WIKOFF *et al.*, 2017; NEHLIG, 2018). A etiologia desta variabilidade ainda não foi bem estabelecida. Estudos sugerem diversos fatores que podem interferir na magnitude dos efeitos da cafeína, como por exemplo, tabagismo, gênero, fármacos, drogas de abuso, bebida alcoólica, consumo de fontes de cafeína, nutrientes/estado nutricional, microbiota intestinal, nível de aptidão física, protocolos de exercício e suplementação (incluindo momento, dosagem, forma e período do dia em que é administrada). Existe, portanto, relevante variação interindividual que sofre influência de fatores ambientais, genéticos e epigenéticos (HAMMONS *et al.*, 2001; PICKERING e KIELY, 2017; NEHLIG, 2018).

Nos últimos anos, o estudo de variantes genéticas, principalmente nos genes ADORA2A (codificante do receptor de adenosina A2A) e CYP1A2 (codificante da enzima citocromo P450 1A2, responsável por 95% da metabolização da cafeína) tem recebido atenção especial. Existe crescente evidência de que os polimorfismos genéticos possam, em parte, elucidar a variabilidade observada nos efeitos ergogênicos/ergolíticos da cafeína (YANG *et al.*, 2010; DE CATERINA E EL-SOHEMY, 2016; NEHLIG, 2018; FULTON *et al.*, 2018).

Em humanos, o gene CYP1A2 é responsável pela metabolização da cafeína em paraxantina (84%), teobromina (12%) e 4% de teofilina (NEHLIG, 2018). Grande parte da variabilidade interindividual na sua atividade enzimática pode ser explicada através da presença do polimorfismo genético 163C > A, caracterizado pela substituição do nucleotídeo A por C, na posição 163 (rs 762551), do gene CYP1A2. A presença do polimorfismo reduz a expressão da enzima alterando a taxa de metabolização e depuração da cafeína, podendo influenciar nos seus efeitos ergogênicos. Portadores do alelo C (genótipos AC e CC) correspondem a 54% da população e são caracterizados como “metabolizadores lentos” de cafeína, quando comparados aos homozigotos AA (46% da população), classificados como “metabolizadores rápidos” (CORNELIS *et al.*, 2006), que teriam uma vantagem teórica ao suplementar cafeína.

Polimorfismos em outro gene “candidato”, ADORA2A, tem sido associados a distintos efeitos periféricos e centrais. O polimorfismo 1976C>T resulta na substituição do nucleotídeo C por T, na posição 1083 (rs5751876). Portadores do genótipo TT (15,5% da população) tem maior sensibilidade nos receptores A2A à cafeína e seus metabólitos, o que resultaria em efeito ergogênico mais pronunciado em comparação aos indivíduos portadores

dos genótipos CC (37,4%) e CT (47,1%), “menos sensíveis” (NEHLIG, 2018; ERBLANG *et al.*, 2019). Em contrapartida, estudos clínicos demonstram que os homozigotos TT são mais suscetíveis ao aumento da ansiedade, nervosismo e distúrbios do sono (ALSENE *et al.*, 2003; RETEY *et al.*, 2007; CHILDS *et al.*, 2008; ROGERS *et al.*, 2010; HOHOFF *et al.*, 2010; RENDA *et al.*, 2011; BODENMANN *et al.* 2012; URRY e LANDOLT, 2014; NUNES *et al.* 2017; SALINERO *et al.*, 2017; WIKOFF *et al.*, 2017; NEHLIG, 2018). Efeitos adversos que merecem atenção no esporte de alto rendimento, considerando que os atletas necessitam controlar a ansiedade e tensão inerentes aos eventos esportivos, propiciando condições ideais de recuperação entre as sessões de treino e competições.

Considerando os achados conflitantes envolvendo polimorfismos genéticos, o presente estudo tem o objetivo de revisar a influência dos genes CYP1A2 (rs 762551) e ADORA2A (rs 5751876) no desempenho esportivo e na percepção de esforço a partir da suplementação com cafeína. Adicionalmente, pretendemos fomentar um padrão metodológico racional conciliado a uma abordagem integrativa, permeando a Fisiologia do Exercício, as Neurociências e a Genética, culminando em um painel de polimorfismos que possa contribuir para futuros estudos da influência genética no potencial ergogênico da cafeína.

## **2 MÉTODOS**

### **2.1 ESTRATÉGIA DE BUSCA**

Duas bases de dados (Pubmed e Medline) foram acessadas por M.T.O. e D.K.P. de 05/06/2018 a 14/11/2020. Todos os trabalhos coletados foram revisados e agrupados em duas categorias: artigos envolvendo cafeína, exercício e os genes CYP1A2 e ADORA2A, foco da primeira parte do estudo (revisão 1), e material complementar para sustentação teórica da segunda parte (revisão 2).

### **2.2 CRITÉRIOS DE SELEÇÃO (REVISÃO 1)**

Para serem inclusos na revisão 1 os estudos deveriam atender aos seguintes critérios de inclusão: ensaios laboratoriais que contemplassem concomitantemente suplementação com cafeína, modelo experimental de exercício físico e a análise de polimorfismos nos genes

CYP1A2 e/ou ADORA2A. As principais palavras-chave utilizadas nas plataformas de busca de artigos científicos foram: cafeína-genética-exercício; cafeína-gene CYP1A2-ADORA2A.

### 2.3 CRITÉRIOS DE SELEÇÃO (REVISÃO 2)

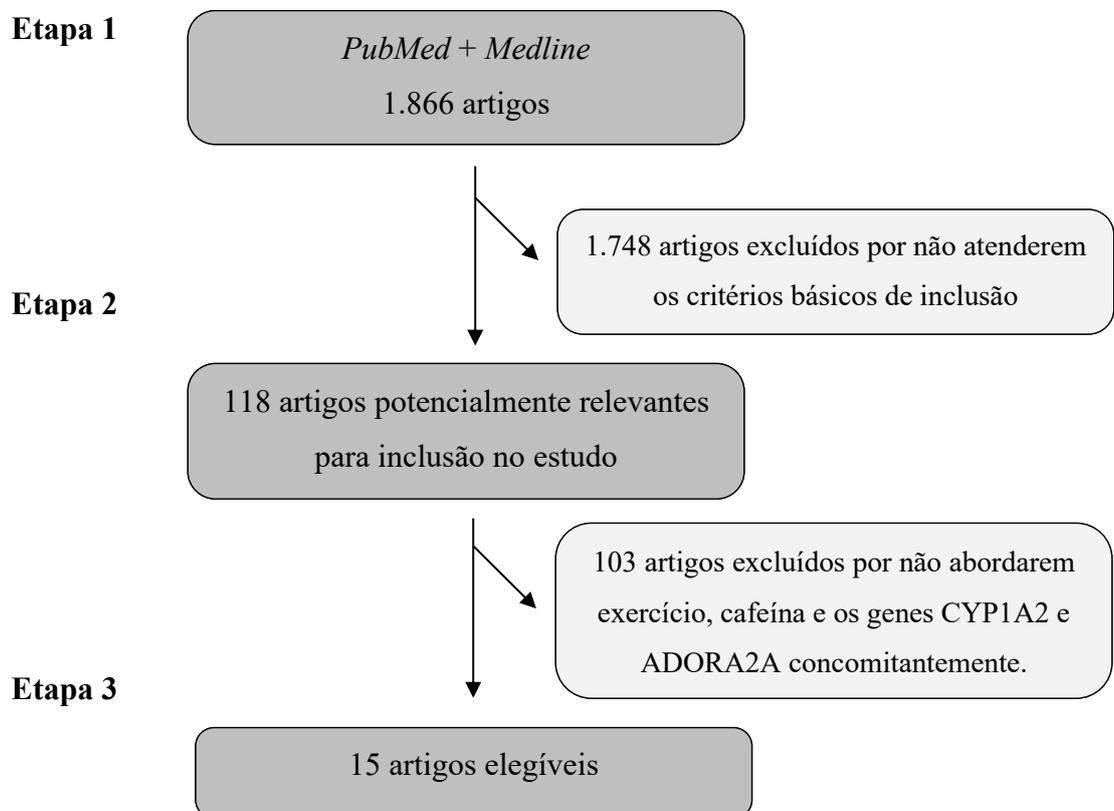
Na seleção do material para a sustentação teórica da segunda parte do estudo (revisão 2) foram inclusos artigos (ensaios laboratoriais, revisões, revisões sistemáticas, metanálises) e livros-texto referência nas áreas de Fisiologia do Exercício, Fisiologia Humana e Neurociências. Os componentes do levantamento bibliográfico deveriam abordar, de maneira individual ou conjunta, os seguintes temas: mecanismos (centrais e periféricos) de ação da cafeína e adenosina no âmbito clínico e/ou esportivo, receptores adenosinérgicos, fadiga central e periférica, percepção subjetiva de esforço (PSE), metabolismo energético, vias de neurotransmissão “acionadas” pela cafeína (e exercício físico) e fatores genéticos (polimorfismos) com influência no desempenho esportivo. As principais palavras-chave utilizadas nas plataformas de busca de artigos científicos foram: percepção subjetiva de esforço; receptores de adenosina; fadiga central; fadiga periférica.

## **3 RESULTADOS: A INFLUÊNCIA DOS GENES CYP1A2 E ADORA2A NOS EFEITOS ERGOGÊNICOS DA CAFEÍNA (REVISÃO 1)**

### 3.1 RESULTADO DA BUSCA EM BASES DE DADOS

Inicialmente foram identificados 1866 artigos (Figura 1). Posteriormente, 1748 artigos foram excluídos por não atenderem critérios básicos de inclusão, restando 118 artigos de relevância para o estudo. Ao final, foram selecionados 15 artigos que contemplavam concomitantemente os critérios de inclusão supracitados (suplementação com cafeína, modelo experimental de exercício físico e a análise de polimorfismos nos genes CYP1A2 e/ou ADORA2A). Apesar da existência de diversas variantes polimórficas nos genes CYP1A2 e ADORA2A, os 15 estudos elegíveis com modelos de exercício e cafeína avaliaram pontualmente os polimorfismos rs 762551 (CYP1A2) e/ou rs 5751876 (ADORA2A), os quais são alvo de crescente interesse no tocante a variabilidade dos efeitos centrais e periféricos promovidos pelas metilxantinas.

Figura 1 – Fluxograma do levantamento bibliográfico realizado



### 3.2 HIPÓTESES DA INFLUÊNCIA DOS GENES CYP1A2 E ADORA2A NO DESEMPENHO ESPORTIVO E PERCEPÇÃO SUBJETIVA DE ESFORÇO (PSE)

Quinze estudos avaliando polimorfismos genéticos nos genes CYP1A2 (rs 762551) e ADORA2A (rs 5751876) foram publicados entre 2012 a 2020. Os experimentos recrutaram populações distintas quanto a aptidão física (atletas e não atletas) e sexo (masculino e feminino) submetidas a diversos protocolos de exercício em suas respectivas valências fisiológicas (força, potência, resistência, agilidade, habilidade e precisão), além da suplementação com cafeína. Os referidos estudos avaliaram as duas hipóteses a seguir:

**A.** No gene CYP1A2, a hipótese primária a ser testada foi o efeito ergogênico da cafeína, de maneira potencializada, nos indivíduos portadores do genótipo AA (classificados como “metabolizadores rápidos”) em comparação aos indivíduos CC e AC, caracterizados “metabolizadores lentos”. A metabolização (hepática) mais rápida possibilitaria um acúmulo dos seus metabólitos (principalmente paraxantina) que a exemplo da cafeína são antagonistas

dos receptores A1 e A2A (DALY *et al.*, 1983; FREDHOLM *et al.*, 1999), o que poderia explicar um efeito ergogênico mais pronunciado nos indivíduos AA.

**B.** No gene ADORA2A, as hipóteses formatadas se apoiaram nas variações do efeito ergogênico da cafeína a partir do polimorfismo genético que altera a sensibilidade dos seus receptores (A2A), distribuídos central e periféricamente, onde portadores do genótipo TT (“mais sensíveis”) teriam maiores benefícios com a sua suplementação quando comparados aos portadores do alelo C (“menos sensíveis”).

### 3.3 A INFLUÊNCIA DO GENE CYP1A2 NA SUPLEMENTAÇÃO COM CAFEÍNA

Até o presente momento foram publicados 6 estudos em cicloergômetro para avaliar a influência polimórfica do gene CYP1A2 (rs 762551) nos efeitos ergogênicos da cafeína (Tabela 1). Womack *et al.* (2012) em um estudo pioneiro, com 35 atletas de ciclismo (sexo masculino), constataram que apenas os participantes com genótipo AA, classificados como “metabolizadores rápidos” de cafeína, obtiveram melhora significativa no tempo do percurso de 40 km, após suplementação com cafeína (6mg/kg). Em contrapartida, portadores do alelo C (genótipos AC e CC), caracterizados como “metabolizadores lentos”, não vivenciaram tal vantagem. Resultado semelhante foi confirmado por Guest *et al.* (2018) em um experimento onde 101 atletas (sexo masculino) foram submetidos a um teste de 10 km, com suplementação em cápsulas contendo 2 e 4 mg de cafeína/kg. Apenas os indivíduos homozigotos (AA) apresentaram melhora significativa no desempenho. Portadores dos genótipos AC e CC apresentaram efeitos nulo e ergolítico, respectivamente.

Em contrapartida, estudos posteriores (ALGRAIN *et al.*, 2015; PATAKY *et al.*, 2016; SALINERO *et al.*, 2017; GIERSCH *et al.*, 2018) falharam em demonstrar um efeito ergogênico, genótipo-dependente, favorecendo os “metabolizadores rápidos” (AA). Algrain *et al.* (2015), em um estudo com 20 ciclistas amadores (13 sexo masculino e 7 feminino), divididos em 2 grupos (homozigotos AA e portadores do alelo C), suplementados com 255 mg de cafeína, não constataram efeito ergogênico no teste de cicloergômetro, com duração de 30 min. Pataky *et al.* (2016), em um protocolo de 3 km (com duração aproximada de 5 min), amostra de 38 ciclistas amadores (25 sexo masculino e 13 feminino) e suplementação com 6 mg/Kg de cafeína, não conseguiram comprovar a vantagem dos portadores do genótipo AA. Surpreendentemente, os heterozigotos AC tiveram um melhor desempenho na execução do teste contra-relógio em cicloergômetro. Em concordância com os resultados de Womack *et al.* (2012) e Guest *et al.*

(2018), porém em um protocolo de exercícios resistidos, Rahimi (2018) conseguiu comprovar os efeitos ergogênicos da cafeína (6mg/kg), traduzidos em maior número de repetições (até a falha), apenas nos portadores do genótipo AA (Tabela 1). A investigação contou com uma amostra de 30 homens experientes em treinamento muscular resistido. Na categoria dos esportes competitivos em equipe, Klein et al. (2012) e Puente et al. (2018) contribuíram para a complexa tarefa de elucidar a “genética da cafeína” (Tabela 1). No estudo de Klein et al. (2012), 16 tenistas (8 sexo masculino e 8 feminino) foram selecionados para participar de um protocolo combinado de exercício em esteira ergométrica (com duração de 45 min intervalados, mimetizando as intensidades dos jogos de tênis) seguido de teste de habilidade, avaliado pelo número de bolas rebatidas com precisão. Os autores concluíram que a cafeína (6mg/Kg) melhorou o desempenho dos participantes no teste de habilidade, porém seu efeito ergogênico não foi genótipo-dependente. Os indivíduos AA apresentaram uma forte tendência no aumento da frequência cardíaca, que segundo os autores poderia ser explicado pela maior responsividade à cafeína, característica do genótipo. No contexto dos esportes competitivos coletivos, Puente *et al.* (2018) utilizaram um protocolo de exercícios combinados, iniciando com uma sequência de 10 repetições de saltos verticais, *sprints* e arremessos livres, seguida de corrida em velocidade com mudança de direção e finalizando com simulação de jogo de basquete (20 min). A amostra era composta por 19 atletas de elite (10 sexo masculino e 9 feminino), separados por genótipos AA e portadores do alelo C (CC e AC), suplementados com cafeína (3mg/kg). Apenas nos saltos *abalakov*, caracterizados por impulsos verticais com semiflexão do joelho e auxílio do movimento dos braços, houve diferença significativa entre os genótipos. Indivíduos AA obtiveram melhor desempenho em comparação aos portadores do alelo C, assim como tendência aumentada à insônia nas 24h posteriores ao teste. Spineli *et al.* (2020) selecionaram uma amostra com 100 atletas de diferentes modalidades (vôlei, atletismo e futebol), no intuito de investigar se os indivíduos AA teriam melhor desempenho em tarefas com múltiplas exigências fisiológicas, englobando força, potência, agilidade e resistência (Tabela 1). Os pesquisadores concluíram que a cafeína favoreceu os testes de resistência muscular e aeróbia, independente do genótipo. Um achado importante foi o efeito pronunciado da cafeína quando administrada antes das 10h. Salinero *et al.* (2017), conduziram experimento com 21 ciclistas amadores (14 sexo masculino e 7 feminino) submetidos a um teste visual de tempo de reação (na tela de um computador) por 8 minutos, seguido de um protocolo de exercício (teste *Wingate*), em cicloergômetro com duração de 30 segundos (Tabela 1). O propósito era investigar a influência das variações do gene CYP1A2 na *performance* cognitiva e física após

o consumo de 3 mg/Kg de cafeína. No teste cognitivo não houve diferença entre os grupos placebo e cafeína, nem mesmo entre os genótipos. Já no teste físico, a cafeína promoveu aumento da potência (média e pico) em ambos os grupos (genótipos AA e portadores do alelo C), porém sem diferença significativa entre eles. O único resultado distinto entre os genótipos foi o aumento do nervosismo em 31,3 % dos portadores do Alelo C, efeito não relatado em 100% dos homozigotos AA. Giersch *et al.* (2018), ainda em protocolo de cicloergômetro (3 Km), reuniram 20 ciclistas amadores (homens), dividindo os voluntários em metabolizadores rápidos (genótipo AA) e metabolizadores lentos (alelos CC + AC), na intenção de identificar diferenças no desempenho esportivo entre os genótipos (Tabela 1). Contudo, a hipótese de que os portadores do genótipo AA apresentariam melhor desempenho no cicloergômetro foi refutada. E por fim, em recente publicação no *Journal of International Society of Sports Nutrition*, Grgic *et al.* (2020) investigaram os efeitos da cafeína (3mg/kg) no exercício resistido, saltos verticais e teste Wingate (Tabela 1). Para tal, contaram com uma amostra de 22 homens com treinamento em exercícios resistidos, divididos em 13 homozigotos (AA) e 9 portadores do alelo C (7 AC e 2 CC), testados com cafeína ou placebo. A cafeína foi capaz de melhorar o rendimento na grande maioria dos testes e variáveis mensuradas (velocidade, potência e resistência), em comparação ao grupo placebo, porém o efeito ergogênico ocorreu independente do genótipo.

Tabela 1 – Estudos da influência do gene CYP1A2 na suplementação com cafeína

Autor Ano	Amostra	Cafeína Dose (mg/Kg)	Protocolos Exercício	Resultados Principais	PSE Protocolo	PSE Resultado
Womack 2012	35 (H) Ciclistas	6	Cicloergômetro <i>Time trial</i> - 40 km	Cafeína ergogênica para genótipo AA	Borg (6-20)	Sem diferença entre genótipos
Klein 2012	16 (8H + 8M) Tenistas	6	Esteira 50-80% $\dot{V}O_{2max}$ Jogo de tênis	Cafeína ergogênica independente do genótipo	Borg (6-20)	Sem diferença entre genótipos
Algrain 2015	20 (13H + 7M) Ciclistas amadores	3,5	Cicloergômetro <i>Time trial</i> -75% $\dot{V}O_{2max}$ Esforço máximo	Cafeína não ergogênica	Borg (6-20) Escala de dor adaptada (0-10)	Dados não disponíveis
Pataky 2016	38 (25H + 13M) Ciclistas amadores	6	Cicloergômetro <i>Time trial</i> – 3 km	Cafeína mais ergogênica para genótipo AC vs. AA	Não utilizou	-
Salinero 2017	21 (14H + 7M) Ciclistas amadores	3	Cicloergômetro Teste <i>Wingate</i> (3x 10 s)	Cafeína ergogênica independente do genótipo	Escala adaptada de percepção de esforço (1-10)	Sem diferença entre genótipos
Giersch 2018	20 (H) Ciclistas amadores	6	Cicloergômetro <i>Time trial</i> – 3 km	Cafeína não ergogênica	Não utilizou	-
Rahimi 2018	30 (H) Treinados E.R.	6	Musculação 3 séries – 85% 1 RM	Cafeína ergogênica para genótipo AA	Não utilizou	-
Guest 2018	101 (H) Atletas diversos	2 e 4	Cicloergômetro <i>Time trial</i> – 10 km	Cafeína ergogênica para genótipo AA	Borg (6-20)	Redução na PSE (-3%) apenas genótipo AA
Puente 2018	19 (10H + 9M) Atletas de basquete	3	Saltos e Corrida Jogo de basquete	Cafeína ergogênica genótipo AA (saltos <i>Abalakov</i> )	Escala adaptada de percepção de esforço (1-10)	Sem diferença entre genótipos
Spineli 2020	100 Atletas diversos	6	Força, Teste <i>Yo-Yo</i> , Abdominais e Flexão de braço	Cafeína ergogênica independente do genótipo	Borg (6-20)	Sem diferença entre genótipos
Grgic 2020	22 (H) Treinados E.R.	3	Supino, Saltos e Teste <i>Wingate</i>	Cafeína ergogênica independente do genótipo	Não utilizou	-

H – Homens. M – Mulheres. E.R – Exercício Resistido. PSE – Percepção Subjetiva de Esforço.

### 3.4 A INFLUÊNCIA DO GENE ADORA2A NA SUPLEMENTAÇÃO COM CAFEÍNA

Apenas dois estudos até o presente momento analisaram a influência polimórfica do gene ADORA2A nos efeitos ergogênicos da cafeína (Tabela 2). Loy *et al.* (2015) reuniram uma amostra de 12 mulheres, ciclistas amadoras, para um teste em cicloergômetro. As participantes deveriam pedalar por 20 min a 60% do  $\dot{V}O_{2max}$ , seguidos de 10 min de esforço máximo. A cafeína (5mg/kg) melhorou o desempenho (trabalho/KJ), nos 10 min finais, apenas nos homozigotos TT. As portadoras dos genótipos CT e CC não foram responsivas a suplementação. Grgic *et al.* (2020) selecionaram uma amostra de 20 atletas (sexo masculino) experientes em treinamento resistido, portadores apenas dos genótipos CT e CC (teoricamente “não responsivos”), excluindo da amostra os indivíduos com o genótipo TT (teoricamente “responsivos”). Os participantes foram submetidos a uma série de exercícios resistidos e o efeito ergogênico da cafeína foi evidenciado em 21 das 25 variáveis analisadas, contrariando os achados de Loy *et al.* (2015). Os autores concluíram que os indivíduos CT e CC poderiam continuar considerando a suplementação de cafeína para a melhora do seu rendimento esportivo.

### 3.5 A INFLUÊNCIA DOS GENES CYP1A2 E ADORA2A NA SUPLEMENTAÇÃO COM CAFEÍNA

Carswell e colaboradores (2020) foram os primeiros pesquisadores a testar a influência polimórfica (individual e combinada) dos genes CYP1A2 e ADORA2A na ergogenicidade da cafeína (Tabela 3). Dezoito adultos (12 sexo masculino e 6 feminino), ciclistas amadores, agrupados por genótipos, receberam 3 mg/Kg de cafeína ou celulose microcristalina como placebo. Posteriormente, foram monitorados em teste de vigilância psicomotora (PVT), com objetivo principal de mensurar o tempo de reação, seguido de exercícios em cicloergômetro com duas fases distintas (70%  $\dot{V}O_{2max}$  e esforço máximo). O objetivo do estudo era avaliar a influência dos polimorfismos dos genes ADORA2A e CYP1A2 no desempenho cognitivo e no exercício após suplementação com cafeína. Foi proposta a hipótese de que a combinação dos genótipos CYP1A2-AA (“metabolizador rápido”) com ADORA2A-TT (“mais sensível”) poderia potencializar os efeitos ergogênicos da cafeína. No entanto, os 7 participantes que reuniram tal característica genotípica (CYP1A2-AA + ADORA2A-TT) não concretizaram a sua suposta vantagem teórica. Apenas no teste de performance cognitiva (tempo de reação) os

homozigotos AA apresentam melhores resultados em comparação aos indivíduos CC e AC (gene CYP1A2). Nenhuma diferença foi encontrada entre os genótipos CC, CT e TT do gene ADORA2A. Recentemente, um segundo estudo (Muñoz *et al.* 2020) avaliou a influência dos genes CYP1A2 e ADORA2A em 31 atletas (16 sexo masculino e 15 feminino) de handebol. Resultados semelhantes foram obtidos após o consumo de 3 mg/Kg de cafeína. Após uma sequência de testes com saltos, tiros de velocidade, agilidade, força e simulação de uma partida de handebol, foi constatada a ergogenicidade da cafeína na maioria das tarefas, porém de maneira independente dos genótipos dos participantes. Exceção observada no teste de velocidade de arremesso (7 metros de distância), onde os portadores do genótipo AA (gene CYP1A2) obtiveram melhor desempenho. Após a realização dos testes foram relatados episódios de insônia e excessiva proatividade nos indivíduos portadores do alelo C (gene CYP1A2) e homozigotos TT (gene ADORA2A), respectivamente.

Tabela 2 – Estudos da influência do gene ADORA2A na suplementação com cafeína

Autor Ano	Amostra	Cafeína Dose (mg/Kg)	Protocolo Exercício	Resultados Principais	PSE Protocolo	PSE Resultado
Loy 2015	12 (M) Ciclistas amadoras	5	Cicloergômetro <i>Time trial</i> 60% VO <sub>2</sub> pico Esforço máximo	Cafeína ergogênica no teste de esforço máximo apenas para genótipo TT	Borg (6-20)  Escala de dor adaptada (0-10)	Sem diferença entre genótipos
Grgic 2020	22 (H) Treinados E.R.	3	Supino, Saltos verticais e Teste <i>Wingate</i>	Cafeína ergogênica para genótipo CC e CT, em 21 das 25 variáveis analisadas	Não utilizou	-

H – Homens. M – Mulheres. E.R – Exercício Resistido. PSE – Percepção Subjetiva de Esforço.

Tabela 3 – Estudos da influência dos genes CYP1A2 e ADORA2A na suplementação com cafeína

Autor Ano	Amostra	Cafeína Dose (mg/Kg)	Protocolo Exercício	Resultados Principais	PSE Protocolo	PSE Resultado
Carswell 2020	18 (12H + 6M)  Ciclistas amadores	3	PVT Cicloergômetro <i>Time trial</i> 70% VO <sub>2max</sub> Esforço máximo	Cafeína ergogênica independente do genótipo  Genótipo AA (CYP1A2) apresentou melhor desempenho no PVT	Borg (6-20)	Sem diferença entre genótipos
Muñoz 2020	31 (16H + 15M)  Atletas de handebol	3	Teste de velocidade Agilidade Saltos verticais Força de prensão Arremesso de bola Jogo de handebol	Cafeína ergogênica independente do genótipo, exceto no teste de arremesso, no qual genótipo AA (CYP1A2) obteve melhor desempenho	Não informado	Sem diferença entre genótipos

H – Homens. M – Mulheres. PVT– Teste de Vigilância Psicomotora. PSE – Percepção Subjetiva de Esforço.

### 3.6 A INFLUÊNCIA DO GENE CYP1A2 NA METABOLIZAÇÃO DA CAFEÍNA

No que diz respeito a metabolização da cafeína, 3 estudos avaliaram cafeína e/ou seus metabólitos séricos (ALGRAIN *et al.*, 2015; GIERSCH *et al.*, 2018; Carswell *et al.*, 2020). No estudo de Algrain *et al.* (2015) os níveis séricos de cafeína não foram distintos entre metabolizadores rápidos (genótipo AA) e lentos (alelo C), nos 65 min posteriores a suplementação. Giersch *et al.* (2018) mensuraram cafeína e paraxantina séricas. Como esperado, os portadores do alelo C apresentaram maior nível de cafeína sérica (em comparação aos homocigotos AA) decorridos 60 min da suplementação, diferença não observada com a paraxantina. Carswell *et al.* (2020), não constataram diferenças significativas nos níveis circulantes de cafeína e paraxantina entre os genótipos do gene CYP1A2.

### 3.7 A INFLUÊNCIA DOS GENES CYP1A2 E ADORA2A NA PERCEPÇÃO SUBJETIVA DE ESFORÇO (PSE) COM SUPLEMENTAÇÃO DE CAFEÍNA

Considerando o total de 15 estudos (Tabelas 1 a 3), a PSE (percepção subjetiva de esforço) foi utilizada em 10 deles (64%), 7 através da escala 6-20 de Borg e 4 com escala de percepção de esforço/dor, pontuando até 10. Algrain *et al.* (2015) e Loy *et al.* (2015) utilizaram 2 métodos para cada estudo. Cinco estudos (33%) não usaram as escalas de percepção.

Guest *et al.* (2018) relataram que os indivíduos AA que consumiram 4mg/kg de cafeína apresentaram menor PSE (-3%) vs. placebo. No estudo de Puente *et al.* (2018) não foi constatado aumento na PSE, embora uma maior percepção de potência muscular tenha sido observada em portadores do genótipo AA (vs. placebo) nos saltos abalakov. Womack *et al.* (2012), Klein *et al.* (2012), Loy *et al.* (2015), Algrain *et al.* (2015), Salinero *et al.* (2017), Spineli *et al.* (2020), Carswell *et al.* (2020) e Muñoz *et al.* (2020) não constataram diferenças significativas entre os grupos cafeína vs. placebo, nem mesmo entre os genótipos.

### 3.8 CRITÉRIOS METODOLÓGICOS UTILIZADOS NOS ESTUDOS DOS GENES CYP1A2 E ADORA2A.

Apenas 4 estudos (WOMACK *et al.*, 2012; LOY *et al.*, 2015; GUEST *et al.*, 2018; RAHIMI *et al.*, 2018) conseguiram constatar efeito ergogênico da cafeína, genótipo-dependente, como hipotetizado. A grande maioria 73% (11) apresentou resultados que não

corroboraram com a hipótese e/ou inconclusivos. Segundo os próprios autores, boa parte das inconsistências podem ser atribuídas a questões metodológicas, como bem destacado por Giersch *et al.* (2018).

No intuito de colaborar com a evolução dos estudos da cafeína, em busca de um padrão metodológico racional e de excelência foram identificamos e comparadas as variáveis de maior relevância nos 15 estudos referidos (Tabela 4).

**Tamanho da Amostra.** Apenas 2 estudos (GUEST *et al.*, 2018; SPINELI *et al.*, 2020) reuniram amostra  $\geq 100$  participantes. No gene CYP1A2, a distribuição dos genótipos CC, AC e AA na população corresponde a 10, 44 e 46%, respectivamente. Considerando a distribuição genotípica de CYP1A2 e ADORA2A, a menor frequência alélica (10% da população) corresponde aos indivíduos CC (metabolizadores lentos, gene CYP1A2). Assim sendo, para obter uma amostra representativa de todos os genótipos em quantidade e proporção adequadas, seria necessário reunir entre 100 e 120 participantes, como citado no estudo de Grgic (GRGIC *et al.*, 2020). Nos 13 estudos restantes não foi possível recrutar o número ideal de participantes. Para solucionar a questão, a maioria dos pesquisadores optou por unificar os genótipos CC e CA, criando o grupo dos “portadores do alelo C”. O grupo referido minimizaria a questão da pequena contribuição amostral do genótipo CC ou até mesmo a sua ausência. No entanto, os resultados de Guest *et al.* (2018) podem colocar em dúvida tal estratégia, considerando que no seu recente trabalho (n=101) o grupo com genótipo CC (n=8) obteve o resultado mais expressivo de todo o estudo, no qual o seu desempenho foi 13,7% (tamanho do efeito = 1,3) pior (efeito ergolítico) em comparação ao grupo placebo.

**Nível de Treinamento.** No que diz respeito a análise qualitativa da amostra, existe importante variação no nível de aptidão física, incluindo atletas, indivíduos treinados e praticantes recreacionais.

**Cafeína (mg/kg).** A quantidade de cafeína utilizada nos ensaios laboratoriais manteve-se dentro do intervalo preconizado (3-6mg/kg) pelas principais diretrizes de nutrição esportiva. A recomendação de abstinência à cafeína (antes dos testes principais) variou entre 12 e 48 h, exceto em 1 estudo que adotou o padrão de 168 horas (1 semana) de privação (GUEST *et al.*, 2018). Todas as investigações documentaram a média de consumo de cafeína/dia, informação de extrema relevância na definição da dose ideal a ser suplementada, como discutiremos mais adiante.

**Cafeína sérica e metabólitos.** Apenas 3 estudos investigaram a cafeína sérica e/ou seus metabólitos (ALGRAIN *et al.*, 2015; GIERSCH *et al.*, 2018; CARSWELL *et al.*, 2020).

Pataky *et al.* (2016) enfatizaram a importância da análise bioquímica não apenas para avaliar a concentração sérica de cafeína, mas também a existência de um diferencial na velocidade de metabolização entre os distintos genótipos que pudesse conferir maior efeito ergogênico. “Se um genótipo específico melhora o desempenho devido a alterações no metabolismo, o acesso ao seu metabolismo deveria obviamente fortalecer as conclusões atribuídas a esta hipótese”, afirma Giersch *et al.* 2018. Segundo Spineli *et al.* (2020), a sua ausência foi a principal limitação do estudo.

**Controle dietético.** Apenas 2 estudos realizaram um controle dietético específico (PUENTE *et al.*, 2018; GRGIC *et al.*, 2020). Puente *et al.* (2018), por exemplo, instruíram os participantes a consumirem sua dieta habitual, na proporção padronizada de 60% de carboidratos, 16% proteínas e 24 % lipídios. Nos demais trabalhos, os voluntários foram orientados a consumir refeições leves (mantendo seu hábito alimentar) ou jejuar algumas horas antes dos testes. Algrain *et al.* 2015, levantaram a hipótese de que o jejum praticado por alguns participantes do seu estudo teria prejudicado o desempenho dos mesmos e contribuído para os resultados inconsistentes da sua investigação.

**Período do dia.** Sete estudos estabeleceram um padrão de horário para os ensaios. Nos outros 6, os horários oscilaram entre os períodos do dia, não havendo necessariamente um padrão fixo, provavelmente pela disponibilidade dos participantes e/ou dos laboratórios em que os experimentos foram realizados. Apenas 2 trabalhos não informaram o período do dia dos testes. Pataky e colaboradores (2016), observaram que a ingestão de cafeína no período da manhã (antes das 10h) melhorou o rendimento dos testes em cicloergômetro, em comparação a sua suplementação após as 10h.

**Percepção Subjetiva de Esforço (PSE).** Dos 15 estudos revisados, 7 deles utilizaram a PSE através da escala 6-20 de Borg.

**Análise individual.** Do total de 15 estudos, 7 deles (46%) apresentaram 1 gráfico/tabela com tratamento individual de pelo menos 1 das variáveis mensuradas.

**Novos genes/polimorfismos (*SNP-single nucleotide polymorphism*).** Em suas considerações finais, 7 estudos sugeriram que novos polimorfismos genéticos fossem considerados, ampliando o painel dos genes analisados, permitindo hipotetizar novos mecanismos de ação da cafeína a partir da individualidade genética.

Tabela 4 – Critérios metodológicos utilizados nos estudos dos genes CYP1A2 e ADORA2A

<b>Autor</b>	<b>Amostra N &gt; 40</b>	<b>Atleta Treinado</b>	<b>Cafeína ≥ 4mg/kg</b>	<b>Cafeína sérica</b>	<b>Controle Dietético</b>	<b>Período do Dia</b>	<b>PSE</b>	<b>Análise individual</b>
<b>Womack</b>		X	X			X	X	X
<b>Klein</b>		X	X			X	X	
<b>Algrain</b>				X		NI	X	X
<b>Pataky</b>			X			X		
<b>Salinero</b>							X	X
<b>Giersch</b>			X	X		X		
<b>Rahimi</b>		X	X					
<b>Guest</b>	X	X	X	X		NI	X	X
<b>Puente</b>		X			X		X	X
<b>Spineli</b>	X	X	X				X	
<b>Grgic 1</b>		X	X		X	X		
<b>Loy</b>			X				X	X
<b>Grgic 2</b>		X				X		
<b>Carswell</b>				X			X	X
<b>Muñoz</b>		X				X	X	

NI – Não informado

## 4 CAFEÍNA E A NEUROBIOLOGIA DO EXERCÍCIO INTEGRADA (REVISÃO 2)

Devido a ampla ação psicoestimulante da cafeína ao antagonizar aos receptores adenosinérgicos distribuídos por todo o organismo, se faz necessária a compreensão dos principais mecanismos envolvendo a sua suplementação e as distintas demandas metabólicas impostas pelo exercício físico. Tal abordagem é de suma importância à medida que propicia embasamento para posterior investigação de novos polimorfismos genéticos que possam influenciar no potencial ergogênico da cafeína.

### 4.1 RECEPTORES DE ADENOSINA, O PONTO DE PARTIDA?

Por que os receptores de adenosina são potenciais candidatos para explicar os efeitos ergogênicos da cafeína?

Os receptores de adenosina são expressos na maioria dos órgãos e tecidos do corpo humano, incluindo sistema nervoso central e periférico, músculo (liso, esquelético e cardíaco) rins, fígado, pâncreas, pulmão, glândulas salivares e adrenais, olhos, tecido adiposo e células do sistema imune (FREDHOLM, 1995; LYNGE e HELLSTEN, 2000; MIZUNO *et al.*, 2005; FERRÉ, 2008; FERRÉ, 2010; FREDHOLM *et al.*, 2011, CHEN *et al.*, 2013; LAYLAND *et al.*, 2014, BOREA *et al.*, 2018). Desempenham importantes funções na sinalização neuronal (excitatória e inibitória), nos mecanismos motores, vasoconstrição, vasodilatação, processos inflamatórios, imunidade, dor, memória, aprendizado e sono. (JACOBSON, 2009; TARNOPOLSKY, 2010; CHEN *et al.*, 2013; FERRÉ *et al.* 2018; BOREA *et al.*, 2018). Assim sendo, o interesse pelo seu ligante endógeno (a adenosina) como agente terapêutico e neuromodulador já existe há décadas e ganhou força adicional no final dos anos 90. Ledent *et al.* (1997) realizaram experimentos em ratos nocaute (KO) para o gene que codifica o receptor de adenosina A2A. Iniciativa que permitiu ampliar o conhecimento sobre a sua função e abriu caminho para estudos posteriores em modelos de animais KO para os outros tipos de receptor (A1 e A3) de adenosina (FREDHOLM *et al.*, 2005). Os estudos pioneiros, o aperfeiçoamento dos modelos experimentais e os resultados obtidos ao longo dos anos, levaram a descoberta de potenciais agentes farmacológicos (agonistas e antagonistas), a exemplo da cafeína e teofilina, baseados na compreensão dos mecanismos envolvidos nas respostas fisiológicas dos receptores adenosinérgicos. O entendimento do “fino” ajuste na modulação dos receptores de adenosina possibilitou terapia para o tratamento de diversas doenças, dentre elas as doenças

cardiovasculares (ex.: doença arterial coronariana), respiratórias (ex.: asma), neurodegenerativas (ex.: doença de Parkinson), articulares (ex.: artrite reumatóide), hepáticas (ex.: esteatose hepática não alcoólica) e diversos tipos de câncer, como por exemplo, o melanoma (CHEN *et al.*, 2013; BOREA *et al.*, 2018). De fato, no âmbito clínico, existe um sólido corpo de evidências traduzido em terapias medicamentosas que justificam todo o estudo e o investimento de longa data para compreensão dos mecanismos envolvendo os receptores de adenosina e seus ligantes.

Paralelamente, no âmbito esportivo, estudos científicos apontam (em sua maioria) melhora na *performance* com uso da cafeína. No entanto, os mecanismos envolvidos na fisiologia do esporte são igualmente complexos e carecem de maior aprofundamento.

Afinal, seria possível fazer a translação do robusto corpo de evidências clínico/farmacológico para modelos experimentais no âmbito esportivo? Os resultados conflitantes e/ou inconclusivos acerca dos efeitos ergogênicos/ergolíticos da cafeína poderiam ser explicados, ao menos em parte, pelas variantes que envolvem sua interação com os receptores de adenosina?

Recentemente, nosso grupo (Aguiar *et al.* 2020) tentou evoluir em ambas as questões. Os pesquisadores conduziram um experimento com camundongos nocauteados (KO) para o gene ADORA2A, submetendo-os a um protocolo de exercícios, após administração de cafeína e um antagonista seletivo (SCH 58261) dos receptores A2A. Foi hipotetizado que os receptores A2A seriam essenciais para os efeitos ergogênicos da cafeína, avaliados pelo desempenho de teste em campo aberto e exercício em esteira ergométrica. Ao final do estudo foi possível concluir que os efeitos ergogênicos dos antagonistas SCH58261 e da cafeína, dependem da expressão dos receptores A2A, considerando que apenas os animais *wild type* (ADORA2A<sup>++</sup>), sem alteração genética, vivenciaram melhora no desempenho dos testes físicos e nos parâmetros metabólicos mensurados. Os resultados evidenciaram aumento da potência, distância percorrida e volume máximo de oxigênio ( $\dot{V}O_{2max}$ ), além do significativo desvio de substrato energético (pela diminuição da RER-*respiratory exchange ratio*), despertando novamente a hipótese de uma ação não apenas central, mas de natureza periférica. Outro achado de extrema relevância, foi a identificação do prosencéfalo como provável região responsável pelo efeito ergogênico, possibilitada por uma estratégia metodológica em que um grupo de animais (fêmeas) apresentavam deleção global do gene ADORA2A, enquanto o outro (machos) apenas na região do prosencéfalo. Ambos os grupos KO (KO “global” e KO “prosencefalo”) tiveram seu desempenho prejudicado, permitindo atribuir ao prosencéfalo (região de extrema relevância no componente motivacional) e aos receptores A2AR uma importância singular nos futuros estudos que pretendam investigar os mecanismos da cafeína no exercício físico.

A somatória dos resultados no âmbito clínico, culminando em potenciais agentes farmacológicos e, mais recentemente, os promissores resultados obtidos na ciência do exercício, acreditamos ser referencial suficiente para uma exploração mais aprofundada das variáveis que contextualizam os efeitos ergogênicos da cafeína, a começar pelos receptores adenosinérgicos.

#### 4.2 RECEPTORES DE ADENOSINA: OS ALVOS DA CAFEÍNA

Em humanos, foram identificados 4 tipos de receptores de adenosina, A1, A2A, A2B e A3 no organismo humano. (FERRÉ, 2008; FREDHOLM *et al.* 2011; CHENG *et al.*, 2017). Basicamente podem ser subdivididos em 2 grupos, considerando sua similaridade e especificidade de acoplamento à proteína G. Apesar das 4 isoformas, os receptores A1 e A2 são os maiores alvos da cafeína (FREDHOLM *et al.*, 1999). Os A1R são ligados a proteínas  $G_i$  e  $G_o$ , as quais inibem a adenilato ciclase reduzindo os níveis de cAMP intracelular, assim como a ativação da proteína cinase A (PKA). Adicionalmente, a estimulação de A1R ativa a fosfolipase C (PLC), promovendo a abertura de determinados tipos de canais de potássio e o bloqueio (temporário) de canais de cálcio sensíveis a voltagem, o que eleva sua concentração intracelular. A cascata de sinalização culmina com a redução da liberação de neurotransmissores excitatórios, diminuindo a taxa de disparo neuronal. Por outro lado, os receptores A2A acoplam-se as proteínas G excitatórias ( $G_{\alpha}$  nos tecidos periféricos e  $G_{\alpha}$  no cérebro) que por sua vez estimulam adenilato ciclase, aumentam o cAMP e ativam a proteína quinase A (PKA). A abertura de canais de cálcio sensíveis a voltagem faz parte da sequência dos eventos neurofisiológicos do receptor, bem como a excitabilidade neuronal. Portanto, A1R e A2AR conferem ações opostas na sinalização celular (FERRÉ, 2010; FREDHOLM *et al.*, 1999; BOREA *et al.*, 2018).

A cafeína, como bem consolidado na literatura, é uma antagonista dos receptores de adenosina, sendo A1R e A2AR os seus maiores alvos. (FERRÉ, 2008). O acoplamento da cafeína aos receptores A2A (principalmente em regiões estriatais do encéfalo) promove o seu bloqueio, impedindo que o acúmulo de adenosina possa prejudicar o rendimento esportivo pelo estabelecimento da fadiga central e periférica (MEEUSEN *et al.*, 2013). No entanto, classificá-la como apenas um “bloqueador” de receptores é, no mínimo, subestimar seu amplo alcance na fisiologia humana. Ao antagonizar os receptores de adenosina em diferentes conformações (homodiméricas, heterodiméricas e heterotriméricas), a cafeína pode “amplificar” sua capacidade de ação pelas vias de sinalização dopaminérgica, glutamatérgica, adrenérgica, noradrenérgica, serotoninérgica, colinérgica e gabaérgica (FREDHOLM, 1995; FREDHOLM *et*

*al.*, 1999; FERRÉ, 2008; CHEN *et al.*, 2013; MEEUSEN *et al.*, 2013; BOREA *et al.*, 2018; NEHLIG, 2018; FERRÉ *et al.*, 2018). Os receptores A1 e A2 estão distribuídos por diversos tecidos corporais, centrais e periféricos, portanto os efeitos ergogênicos da cafeína, muito provavelmente, resultam da somatória de ambos, talvez com participação diferenciada do sistema nervoso central, como sugerido por Davis *et al.* (2002) e mais recentemente evidenciado por Aguiar *et al.* (2020). Portanto, considerando a ação farmacológica bem consolidada e a sua eficácia terapêutica em órgãos periféricos, como por exemplo, o efeito vasodilatador no tratamento de isquemias cardíacas (LAYLAND *et al.*, 2014), não é possível descartar a possibilidade de um efeito local em modelos de exercício físico.

No sistema nervoso central, os receptores A1 são expressos em diversas regiões do encéfalo, com destaque para o córtex cerebral e medula espinal, microglia e astrócitos (HASKÓ *et al.*, 2005; BENARROCH, 2008, FERRÉ 2008; FREDHOLM *et al.*, 2011). Sua modulação direta ou indireta (a partir da ativação de outros receptores e/ou neurotransmissores) influencia no controle da atividade motora, comportamento, ciclo sono-vigília e morte celular. De modo geral atuam como inibidores nos terminais pré-sinápticos. No sistema nervoso autônomo, são fundamentais na redução da atividade simpática e aumento da parassimpática. Periféricamente, os receptores A1 estão distribuídos nos olhos, medula adrenal, músculo esquelético, fígado, rins, adipócitos, glândulas salivares, esôfago, intestino, testículos, pulmões, coração, vasos sanguíneos, células do sistema imune (neutrófilos), sistema gastrointestinal, pâncreas e diversos tecidos, atuando como anti-nociceptores (LYNGE e HELLSTEN, 2000; CHEN *et al.*, 2013; BOREA *et al.*, 2018). Por outro lado, os receptores A2AR estão em grande concentração no estriado em neurônios dopaminérgicos, mas também presentes em inervações colinérgicas, noradrenérgicas, glutamatérgicas e gabaérgicas, ambas envolvidas no movimento (FERRÉ, 2010). Também podem ser encontrados na microglia e nos astrócitos (FERRÉ *et al.*, 1992; HASKÓ *et al.*, 2005; BENARROCH, 2008, FERRÉ, 2008; FREDHOLM *et al.*, 2011). No sistema nervoso central, mais especificamente no hipocampo, núcleo accumbens e córtex, assumem papel importante na formação da memória, aprendizado, recompensa/aversão, regulação da integração sensório-motora e na estimulação da atividade nervosa sensorial (YEE *et al.*, 2020). Nos tecidos periféricos, A2ARs atuam na modulação de processos inflamatórios, imunológicos (em neutrófilos, linfócitos, monócitos e macrófagos), circulatórios e na angiogênese (CHEN *et al.*, 2013, BOREA *et al.*, 2018). São encontrados no baço (em células do sistema imune), rins, fígado, coração, pulmão e vasos sanguíneos, promovendo vasodilatação na maioria dos tecidos. Na musculatura esquelética têm função vasodilatadora, com maior presença

nas fibras do tipo 1 (oxidativas e de contração lenta) em comparação as do tipo 2 (glicolíticas e de rápida contração). Receptores A2A, ao contrário de A1, atuam predominantemente na ativação do sistema nervoso simpático (BENARROCH, 2008; CHEN *et al.*, 2013; BOREA *et al.*, 2018).

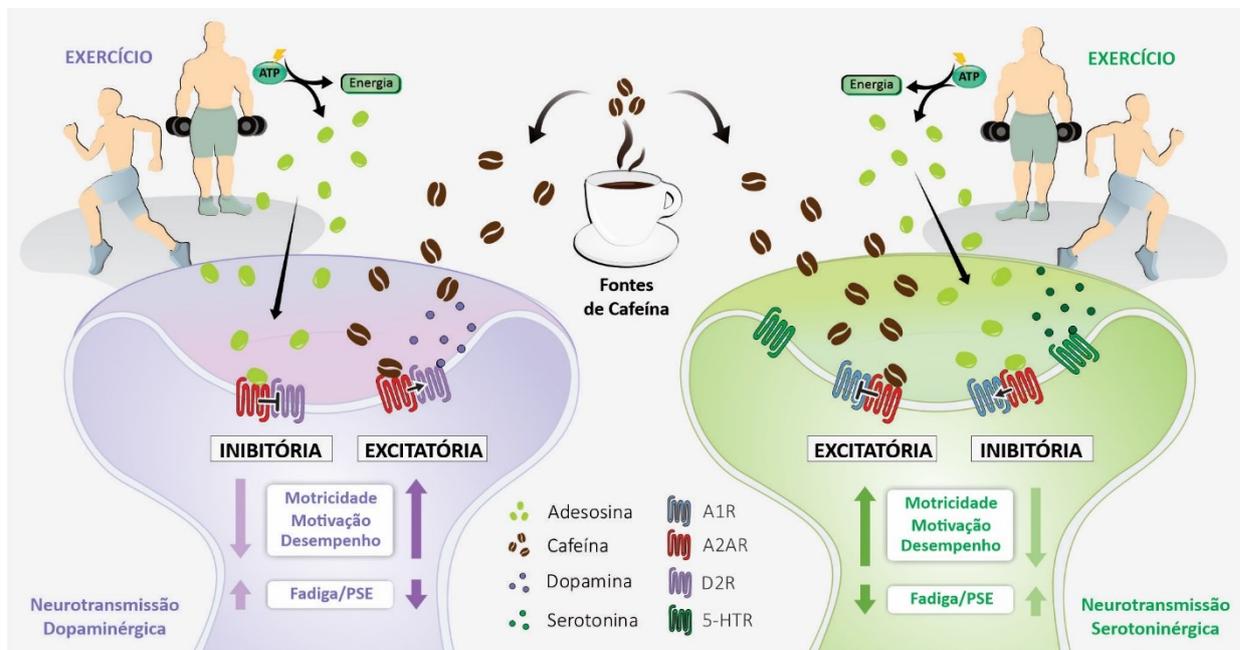
### 4.3 RECEPTORES DE ADENOSINA: FORMAÇÃO DE DÍMEROS E MODULAÇÃO ALOSTÉRICA

Além da ação individual dos receptores de adenosina (A1 e A2A), diversos trabalhos identificaram estruturas homodiméricas, heterodiméricas e até heterotriméricas, onde um receptor pode controlar a afinidade do outro (adjacente) através da modulação alostérica (FREDHOLM *et al.*, 2011). Grande parte dos efeitos ergogênicos da cafeína estão condicionados a sua interação com os receptores de adenosina e a capacidade deles em modular os sistemas de neurotransmissão excitatória. A ativação motora e motivacional são dois dos principais efeitos da ação da cafeína e dependem da interação de diversos sistemas de neurotransmissão, como por exemplo os sistemas dopaminérgico, colinérgico e noradrenérgico.

**Ativação motora.** O sistema dopaminérgico ascendente tem participação fundamental na ativação motora, com origem no mesencéfalo (substância negra e área tegmental ventral) e projeções no estriado (núcleo caudado e putâmen), núcleo accumbens, tubérculo olfatório, córtex (principalmente região pré-frontal), amígdala e hipocampo (FERRÉ, 2010). O modelo heterodimérico mais explorado e importante alvo da cafeína, com significantes avanços no tratamento da doença de Parkinson (FERRÉ *et al.*, 2018), é a combinação dos receptores de adenosina A2A e D2D (A2AR-D2DR), presente em regiões estriatais do encéfalo. Mais especificamente, localizam-se pós sinapticamente nos espinhos dendríticos dos neurônios gabaérgicos que expressam predominantemente o peptídeo encefalina. Na interação A2AR-D2DR, a cafeína ao se ligar nos A2ARs aumenta a afinidade da dopamina pelos seus receptores, promovendo subsequente efeito motor (Figura 2). No entanto, estudos mais recentes sugerem que o sucesso desta interação e, por conseguinte, da estimulação motora, depende da presença de agonistas e antagonistas adenosinérgicos, em concentrações específicas, e da ocupação concomitante do agonista e antagonista (adenosina e cafeína) nos receptores A2AR-D2R em uma formação tetraheterodimérica. (FREDHOLM *et al.*, 2005; FUXE *et al.*, 2005; FERRÉ, 2008; FERRÉ *et al.*, 2008; FERRÉ, 2010; VOICULESCU *et al.* 2014; FERRÉ *et al.*, 2016; BOREA *et al.*, 2018; FERRÉ *et al.*, 2018). Semelhante antagonismo foi descrito em receptores A1A-D1

localizados na mesma classe de neurônios (gabaérgicos), pós sinápticamente, porém em células nervosas que expressam dinorfina. Adicionalmente, na região pré-sináptica de neurônios localizados em terminais glutamatérgicos foi identificada a interação heterodimérica A1R-A2AR. A cafeína ao antagonizar os A2ARs, bloqueia A1R, promovendo a liberação de glutamato (FERRÉ, 2010). Já em terminais dopaminérgicos, a ação da cafeína nos neurônios pré-sinápticos igualmente estimula a produção de glutamato. Ambas as conformações (A1R-A2AR e A1R) contribuem de maneira importante para a liberação de dopamina. A somatória dos eventos excitatórios (pela cafeína) e inibitórios (pela adenosina) nos receptores dos neurônios pré e pós-sinápticos será a resultante da magnitude da taxa de disparo neuronal, afetando diretamente a resposta motora neuromuscular.

Figura 2 – Cafeína e Adenosina na Neurotransmissão Dopaminérgica e Serotoninérgica



Diante do contexto, a cafeína poderia assumir papel fundamental no desempenho esportivo pela sua capacidade de suprimir o mecanismo inibitório imposto pela adenosina e potencializar a ação motora através da liberação de glutamato e dopamina. Já existem evidências suficientes comprovando o importante papel da dopamina na atividade locomotora e/ou nos efeitos psicoestimulantes promovidos pela cafeína. Tanto o bloqueio dos receptores, quanto a supressão do neurotransmissor, prejudica os efeitos excitatórios impostos pela cafeína (GARRETT E GRIFFITHS, 1997; FERRÉ, 1992). Mais recentemente, Lee *et al.* (2019)

demonstraram aumento significativo dos níveis plasmáticos de dopamina nos indivíduos que consumiram 3 mg/Kg de cafeína, em protocolo de esteira ergométrica.

**Comportamento motivado.** Além do benefício motor, a cafeína exerce importante efeito excitatório/motivacional, determinante no desempenho de atletas que necessitam transpor limites para atingir padrões de excelência e assim ingressar na elite do esporte de alto rendimento. Tal efeito, depende da ativação do chamado “sistema de motivação ascendente” (*ascending arousal system*) que compreende as regiões do tegmento pontomesenfálico, prosencéfalo basal e o hipotálamo. As propriedades excitatórias/motivacionais da cafeína estão condicionadas a sua capacidade de antagonizar o efeito indutor do sono promovido pelo acúmulo de adenosina, principalmente no córtex pré-frontal (ACQUAS *et al.*, 2002; HIGASHI *et al.*, 2004; BASHEER *et al.*, 2004; BJORNESS e GREENE, 2009; FERRÉ *et al.*, 2010). O “sistema de motivação ascendente” implica na participação, direta ou indireta, de diversas vias de neurotransmissão (colinérgica, glutamatérgica, noradrenérgica, serotoninérgica, dopaminérgica, histaminérgica, orexinérgica e gabaérgica) e dos estímulos provenientes dos sistemas motor, visceral, sensorial e límbico (emocional/comportamental). A modulação da taxa de disparo neuronal e os efeitos na indução do sono/motivação, dependem, dentre outras variáveis, da ativação dos receptores A1 e A2A pelos seus agonistas/antagonistas. (BASHEER *et al.*, 2004; BJORNESS e GREENE, 2009). De maneira geral, a ativação dos A1Rs reduz a excitabilidade neuronal através da modulação do sistema corticopetal do prosencéfalo basal, principalmente pela redução da transmissão colinérgica (VAN DORT *et al.*, 2009). Por outro lado, a ativação dos A2ARs ocorre em neurônios da área pré-óptica do hipotálamo anterior, moduladores dos sistemas histaminérgicos e orexinérgicos (HUANG *et al.*, 2007)). Estudos em roedores (ACQUAS *et al.*, 2002) e humanos (HIGASHI *et al.*, 2004) atestam o efeito antagonico da cafeína (na excitabilidade e estado de vigília) nos A1Rs através do aumento da sinalização colinérgica no córtex pré-frontal.

Em suma, os efeitos estimulantes impostos pela cafeína no sistema nervoso central compartilham algumas áreas e sistemas ascendentes de neurotransmissão (ex.: hipotálamo e sistema dopaminérgico), basta verificar que importantes aferências do “sistema de motivação ascendente” provêm de áreas motoras do encéfalo. Tal colocalização motivou a hipótese de que os neurônios do sistema corticopetal do prosencéfalo basal não estariam apenas relacionados com excitabilidade e motivação, mas também com a motricidade (SZYMUSIAK *et al.*, 2000) e a possível dependência e/ou hierarquia entre os sistemas (motor e motivacional), onde, por exemplo, a inativação estriatal de A2AR comprometeria não apenas atividade motora como também o efeito motivacional promovido pela cafeína (SHEN *et al.*, 2008). Portanto, a

compreensão dos mecanismos que envolvem os efeitos ergogênicos da cafeína requer uma análise integrada das redes neuronais atuantes, bem como da ação da adenosina (e seus antagonistas) em suas distintas conformações de receptores.

#### 4.4 FADIGA CENTRAL E PERIFÉRICA

A fadiga, caracterizada pela redução na capacidade do músculo produzir força e potência, tem sido foco de discussão no esporte desde a década de 60 (ROWELL *et al.*, 1966 e BERGSTROM *et al.*, 1967). Diversas hipóteses envolvendo mecanismos periféricos e centrais estão sendo testadas.

Periféricamente, a depleção de substrato energético (ex.: glicogênio), acúmulo de lactato, espécies reativas de oxigênio, aumento de potássio (K<sup>+</sup>) e fosfatos inorgânicos (Pi), além do estresse termorregulatório, foram algumas das teorias propostas (ALLEN *et al.*, 2008).

A fadiga central, definida pela redução na transmissão neural ou no comando motor muscular, resulta no declínio da produção de força, afetando também a capacidade de realizar tarefas mentais/cognitivas (ENOKA e STUART, 1992). Centralmente, foi postulado que alterações na sinalização de determinados neurotransmissores, principalmente dopamina e serotonina, poderiam explicar a “instalação” da fadiga (DAVIS e BALEY, 1997). A dopamina foi o primeiro neurotransmissor relacionado a fadiga e sua importância no desempenho demonstrada em modelos experimentais de exercício e investigações com uso de anfetamina (DAVIS e BALEY, 1997; GERALD, 1978; CHAOULOFF *et al.*, 1987). Heyes *et al.* (1985) observaram, em roedores, que o aumento induzido dos níveis de dopamina aumentava a latência a exaustão. No entanto, em humanos que receberam L-3,4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA), precursora da dopamina, não foi constatado tal benefício (MEEUSEN *et al.*, 1997). Wang *et al.* (2000) não verificaram mudanças nas concentrações sinápticas de dopamina usando a tecnologia de imagem de tomografia por emissão de pósitrons (PET) em humanos submetidos a exercício intenso em esteira ergométrica por 30 minutos. Os autores concluíram que as mudanças na sinalização dopaminérgica não foram expressivas o suficiente para serem detectadas com a tecnologia empregada.

No ano de 1987, foi proposto que a fadiga seria desencadeada pelo aumento das concentrações de serotonina no encéfalo (NEWSHOLME *et al.*, 1987), resultando naquela que seria uma das mais exploradas hipóteses para explicar o declínio da performance, “a teoria da fadiga central”. Os neurônios serotoninérgicos têm sua origem nos núcleos da rafe, na linha

média do tronco encefálico, projetando-se inferiormente para a medula espinal e ascendendo para a maior parte do encéfalo. Os núcleos inferiores influenciam na dor e locomoção, enquanto os da porção superior participam do ciclo sono-vigília, comportamentos emocionais e humor (BEAR *et al.*, 2015; SILVERTHORN, 2016), variáveis relevantes para o exercício físico que também podem ser moduladas pela ação da cafeína. A teoria da fadiga central (principalmente em eventos esportivos de longa duração, acima de 2 horas) inicia com aumento da demanda energética e mobilização de ácidos graxos livres (AGL), que por sua vez ligam-se a albumina e são transportados aos tecidos alvo. A medida que o exercício progride, a concentração de AGL aumenta ainda mais e o triptofano, que compete pelo mesmo carreador, a albumina (porém com menor afinidade) dissocia-se da mesma, assumindo forma (livre) e tamanho necessários para atravessar a barreira hematoencefálica. Paralelamente, a redução do nível sérico de aminoácidos de cadeia ramificada (BCAA), proveniente do catabolismo proteico aumentado, facilita o influxo do triptofano na região encefálica, uma vez que ambos aminoácidos compartilham o mesmo sistema de transporte. Já no interior do encéfalo, o triptofano convertido em serotonina (pela enzima triptofano hidroxilase 2), impacta negativamente na motricidade, motivação, alerta, cognição e memória, aumentando também a PSE, sintomas característicos da fadiga. É importante ressaltar que a combinação A1R-A2AR, presente em neurônios serotoninérgicos no hipocampo (CUNHA *et al.*, 1994), influencia a sinalização de serotonina, onde os agonistas de A1R (ex.: adenosina) reduzem a sua liberação, enquanto a ativação de A2AR resulta no aumento do neurotransmissor (OKADA *et al.*, 2001; KALMAR e CAFARELLI, 2004; FERRÉ, 2010). Assim sendo, a cafeína ao antagonizar A2AR reduziria os níveis de serotonina, postergando a fadiga (Figuras 2 e 3). A revisão de Meeusen *et al.* (2006) apresentou diversos estudos realizados (em animais e humanos) com suplementação de aminoácidos de cadeia ramificada (BCAA), carboidratos e fármacos, no intuito de compreender como minimizar o impacto da sinalização serotoninérgica e postergar a fadiga. No entanto, estudos em humanos foram discrepantes, limitados e distantes de uma evidência concreta.

Estudos posteriores reforçaram que a participação da sinalização serotoninérgica no controle motor espinal seria dependente das concentrações do seu neurotransmissor, onde níveis moderados de serotonina produziram efeitos contráteis positivos, ao passo que altas concentrações inibiriam a excitabilidade dos motoneurônios (COTEL *et al.*, 2013; PERRIER e COTEL, 2015; PERRIER, 2016). Adicionalmente, foi proposto que não especificamente a serotonina, mas sim o seu principal metabólito, a quinurenina, estaria envolvida nos mecanismos da fadiga central, fazendo da via triptofano-quinurenina foco de futuras investigações.

(YAMAMOTO *et al.*, 2011, YAMASHITA e YAMAMOTO, 2017; YAMASHITA, 2020). A razão aumentada serotonina-dopamina parece uma forte candidata para explicar o fenômeno da fadiga central, embora não esteja totalmente elucidada e possam existir outras vias de neurotransmissão participando do fenômeno, como é o caso da noradrenérgica e colinérgica (CARTER *et al.*, 1995; MEEUSEN *et al.*, 2006; FERRÉ, 2010).

Os mecanismos centrais e periféricos desencadeadores da fadiga tem sido constantemente explorados. A grande diversidade (em intensidade e duração) de protocolos de exercício utilizados em ensaios clínicos dificulta as comparações, que deveriam ocorrer entre eventos de mesmo natureza. Em uma esclarecedora revisão, Burnley e Jones (2016) trouxeram importante contribuição ao “categorizar” os protocolos de exercício em “moderados” (abaixo do limiar de lactato e potência crítica), “pesados” (acima do limiar de lactato e abaixo da potência crítica) e “severos” (acima do limiar de lactato e potência crítica). Segundo os autores, é imprescindível considerar a relação potência-duração do exercício antes de qualquer especulação a respeito dos mecanismos de fadiga (centrais ou periféricos), pois os mesmos variam em função das demandas metabólicas/energéticas do estímulo mecânico em questão. Os pesquisadores sugerem que a participação dos mecanismos centrais (e talvez psicológicos) aumentam à medida que a intensidade do exercício decresce, portanto, estímulos mais intensos seriam predominantemente influenciados por eventos periféricos.

Independente da predominância de elementos centrais ou periféricos na gênese da fadiga, a cafeína tem papel crucial na manutenção do exercício e PSE, ao antagonizar os receptores adenosinérgicos distribuídos (central e periféricamente) por todo o organismo, potencializando a neurotransmissão excitatória, suprimindo a inibitória e, por conseguinte, postergando a fadiga.

#### 4.5 SISTEMA NERVOSO SIMPÁTICO E CAFEÍNA: NEUROTRANSMISSORES, NEUROHORMÔNIOS E RECEPTORES

O sistema nervoso simpático, a exemplo do adenosinérgico, é influenciado pela ação da cafeína. Os receptores alfa e beta adrenérgicos estão distribuídos por todo o corpo e são a base da modulação simpática e parassimpática do sistema nervoso autônomo. A sinalização do sistema nervoso simpático ocorre basicamente através de 2 vias, a direta (pelas fibras eferentes pós-ganglionares atuando diretamente no órgão efector, com ação predominante do neurotransmissor noradrenalina) e a indireta, na qual a medula da glândula suprarrenal é estimulada pelo

neurotransmissor acetilcolina (através das fibras pré-ganglionares), culminado na liberação de adrenalina (correspondente a 80% da secreção da glândula) e noradrenalina, que atingem a corrente sanguínea e então os tecidos alvo (MC ARDLE *et al.*, 2015; BEAR *et al.*, 2015; SILVERTHORN, 2016). A maior parte dos estudos, em distintos protocolos de treinamento, indica que a cafeína é capaz de aumentar de maneira significativa a liberação de catecolaminas, principalmente adrenalina, antes e durante o exercício (PAPADELIS *et al.*, 2003; MAGKOS e KAVOURAS, 2004; JONES, 2008). Por outro lado, a ativação direta, com maior dependência da noradrenalina, parece ser menos pronunciada na presença de cafeína. A magnitude das variações das catecolaminas durante o exercício é influenciada pela sua intensidade (BURNLEY e JONES, 2016). Exercícios mais intensos, com predominância anaeróbia, determinam maior participação do sistema nervoso simpático e de seus respectivos neurotransmissores/neurohormônios, ao contrário de atividades com menor intensidade e predominância aeróbia. Adicionalmente, já é sabido que as concentrações de noradrenalina são maiores em repouso (em comparação a adrenalina) e que o seu aumento ocorre em exercícios acima de 50% do  $\dot{V}O_{2max}$ , distintamente da adrenalina que ocorre em intensidades iguais ou superiores a de 75 %  $\dot{V}O_{2max}$ . Como acontece na resposta de “luta e fuga”, o organismo em exercício intenso, prioriza a atividade energética/metabólica de órgãos essenciais, reduzindo a participação dos não essenciais, como é o caso do trato gastrointestinal. A ativação dos receptores alfa 1 resulta em vasoconstrição arterial (principalmente por noradrenalina) desviando o fluxo sanguíneo para os vasos de tecidos prioritários (coração, pulmão e músculo esquelético), que por sua vez sofrem vasodilatação pelos receptores  $\beta 1$  (ativados por noradrenalina e adrenalina) e  $\beta 2$  (ativados preferencialmente por adrenalina). No coração, os receptores  $\beta 1$  ativados promovem o aumento da frequência cardíaca, contratilidade e volume de sangue ejetado. Já os receptores  $\beta 2$  aumentam o aporte energético de ácidos graxos (nos adipócitos e músculo esquelético) e glicose (no fígado e músculo esquelético), além do oxigênio pela broncodilatação pulmonar. Assim sendo, os adrenoceptores, alfa 1,  $\beta 1$  e  $\beta 2$ , alvos das catecolaminas, por estimulação do exercício e potencializados pela cafeína, constituem importante peça na fisiologia do exercício e desempenho esportivo (MC ARDLE *et al.*, 2015; BEAR *et al.*, 2015; SILVERTHORN, 2016). Foi postulado que a cafeína aumentaria a taxa de disparo neuronal em neurônios colinérgicos mesocorticais e noradrenérgicos do locus coeruleus, influenciando na ativação simpática, possivelmente por um mecanismo pré-sináptico dependente do antagonismo dos receptores de adenosina A1. (FREDHOLM, 1995; FREDHOLM *et al.*, 1999).

## 5 DISCUSSÃO E PERSPECTIVAS

### 5.1 PROPOSTA METODOLÓGICA PARA FUTUROS ESTUDOS ENVOLVENDO CAFEÍNA, EXERCÍCIO E GENÉTICA: A BUSCA POR UM PADRÃO DE EXCELÊNCIA

Em busca de um padrão metodológico racional, após revisar e confrontar os 15 estudos publicados entre 2012 e 2020 envolvendo cafeína, exercício e genética, suas potencialidades e limitações, foi possível ampliar o nível de informação, com respaldado em literatura de excelência, e traduzi-lo em recomendações práticas (Quadro 1). Abaixo apresentaremos as variáveis de maior relevância para os modelos experimentais em questão.

**Tamanho da amostra.** Para obter uma amostra contemplando todos os genótipos em quantidade e proporção adequadas é importante identificar a menor frequência alélica dentre os genes estudados, considerando a equação de equilíbrio de Hardy-Weinberg. Exemplo: Entre os genes CYP1A2 e ADORA2A, a menor frequência alélica (10% da população) corresponde aos indivíduos CC (metabolizadores lentos, gene CYP1A2). Assim sendo, o ideal seria necessário recrutar entre 100 e 120 participantes, como destacado por GRGIC e colaboradores (2020). É interessante destacar que dos 15 estudos em questão apenas 2 atingiram o número ideal de participantes.

**Crossover.** Já é sabido que os estudos *crossover* agregam confiabilidade aos modelos experimentais ao permitirem comparações intra-sujeito e não apenas entre os participantes. No modelo experimental em questão, onde variáveis multigênicas e multifatoriais (ex.: ambientais e epigenéticas) interagem, seria de extrema valia a adoção de delineamento experimental *crossover* para minimizar a presença de possíveis interferentes.

**Nível de Treinamento.** É fundamental avaliar o nível de aptidão física da amostra por métodos objetivos (ex.: testes de capacidade cardiopulmonar ou força, dependendo do protocolo de exercício em questão), garantindo assim uma amostra homogênea. Os estudos com cafeína, treinamento e genética comumente selecionam grupos de participantes com diversos níveis de treinamento, desde atletas profissionais a praticantes recreacionais. A seleção de uma amostra com os chamados “praticantes recreacionais” deve ser avaliada com a devida cautela, uma vez que o referido grupo pode não apresentar um padrão médio de desempenho, oscilando significativamente no decorrer dos ensaios experimentais, o que poderia comprometer a fidedignidade dos resultados. Além disso, foi sugerido que atletas profissionais teriam maior densidade dos receptores A2A (MIZUNO *et al.*, 2005), assim como expressão aumentada de CYP1A2 (KOCHANASKA *et al.*, 2014) pelo efeito da prática de exercícios mais intensos.

**Cafeína (habituação/tolerância).** Até o presente momento, a questão sobre uma possível habituação com o uso contínuo da cafeína ainda não se encontra totalmente esclarecida. Estudos em animais apontam para uma possível tolerância através dos receptores adenosinérgicos A1 e A2A pelos seus antagonistas. O efeito agudo da cafeína parece ocorrer pelo antagonismo em ambos os receptores. Entretanto, a administração crônica promove um efeito de tolerância principalmente em A1R, enquanto os efeitos remanescentes da ativação motora seriam atribuídos aos receptores A2A (JACOBSON *et al.*, 1996; KARCZ-KUBICHA *et al.*, 2003). Beaumont *et al.* (2017), em protocolo de exercícios de resistência, demonstraram que após 28 dias de administração (crônica) com 3mg/kg de cafeína, os seus efeitos ergogênicos foram totalmente suprimidos. Outra investigação, com a mesma dose de cafeína por 20 dias consecutivos, envolvendo exercícios aeróbios e anaeróbios, demonstrou um decréscimo progressivo dos seus efeitos ao longo do experimento (LARA *et al.*, 2019). Em artigo de revisão, Pickering e Kiely (2018) abordaram as conflitantes questões. Qual a real necessidade de evitar o consumo de café/cafeína no período (de horas ou dias) que antecede a sua suplementação? Seria estratégico utilizar doses maiores de cafeína para garantir seu efeito ergogênico, mesmo aumentando a probabilidade de sofrer reações adversas como tremor, insônia, nervosismo e taquicardia? Embora com um desfecho não totalmente conclusivo, foi sugerido que a abstinência a cafeína seria dispensável antes de sua suplementação, podendo, em alguns casos, desencadear efeitos colaterais (dor de cabeça, fadiga, irritabilidade, dor muscular, náusea e distúrbios no sono) tão prejudiciais quanto os ocasionados pela administração de altas doses (acima de 9 mg/kg).

Recentemente, Filip *et al.* (2020) sugeriram a implantação de um questionário que possa avaliar (por no mínimo 4 semanas) e classificar com maior precisão o nível de consumo habitual de cafeína (em mg/kg e não valor absoluto) dos participantes para que seja possível determinar a dose (aguda) a ser administrada, garantindo o máximo da sua ergogenicidade e minimizando o efeito de tolerância.

Por hora, parece mais plausível adotar redução no consumo habitual (garantindo uma dose maior de cafeína na suplementação), o que minimizaria os efeitos indesejados de tolerância e abstinência, principalmente ao considerar atletas profissionais que consomem quantidade expressiva de café/cafeína habitualmente.

**Controle dietético.** A minoria dos estudos realiza controle dietético específico nos modelos envolvendo suplementação com cafeína. O estado nutricional impacta diretamente nas reservas energéticas do organismo e pode causar prejuízo no desempenho, principalmente em atividades mais intensas (KERKSICK *et al.*, 2018). Adicionalmente, é importante destacar que

além do estado nutricional/energético, alguns compostos alimentares podem interferir na metabolização da cafeína (por intermédio de CYP1A2) e conseqüentemente nos seus efeitos centrais e periféricos. O consumo de toranja, conhecida como *grapefruit*, prolonga a meia vida da cafeína em 31%, reduzindo a sua depuração em 23% (NEHLIG, 2018). Contrariamente, as hortaliças da família das brássicas, incluindo a couve-flor, repolho, brócolis, couve-manteiga, couve de bruxelas, mostarda, nabo, agrião, rabanete e rúcula, assim como altas quantidades de vitamina C, aumentam a sua depuração. O açafrão da terra (curcuma longa) tem a propriedade de reduzir a atividade de CYP1A2, a exemplo dos vegetais da família das apiáceas, da qual fazem parte a cenoura, salsinha, aipo, coentro, erva-doce e nabo. Por fim, é sabido que o álcool atua como inibidor da atividade de CYP1A2. O consumo de 50g/dia é suficiente para aumentar a meia vida da cafeína em 72%, reduzindo a sua depuração em 36% (NEHLIG, 2018).

Em suma, estado nutricional, consumo habitual de cafeína/dia e determinados compostos alimentares (incluindo bebidas alcoólicas) podem influenciar na atividade de CYP1A2 e, portanto, devem ser monitorados no período que abrange os ensaios clínicos e eventos esportivos.

**Cafeína (dose suplementada).** A quantidade de cafeína utilizada nos ensaios laboratoriais tem variado dentro dos limites preconizados (3-6mg/kg) pela grande maioria das diretrizes de nutrição esportiva. No entanto, como discutido por alguns autores (SALINERO *et al.*, 2017; GRGIC *et al.*, 2020; CARSWELL *et al.*, 2020), a quantidade moderada (3mg/kg) pode ter sido um fator limitante em seus experimentos. Contudo, não é possível afirmar que protocolos com doses baixas ou moderadas ( $\leq 3$ mg/kg) de cafeína estão propensos ao insucesso. Estudos demonstram a ergogenicidade da cafeína mesmo com doses relativamente baixas (SPRIET, 2014).

Considerando que o consumo (principalmente entre atletas profissionais) de gêneros alimentares contendo cafeína pode facilmente igualar (ou até ultrapassar) a dose suplementada, seria estratégico utilizar de 4 a 6 mg/Kg (dependendo do consumo habitual) para garantir ergogenicidade e minimizar possível efeito de tolerância, como supracitado.

**Cafeína (período do dia).** A padronização dos experimentos no período matutino pode contribuir para o controle do experimento, tendo em vista possíveis interferências do ciclo circadiano (SCHMITT *et al.*, 2018; GRGIC *et al.*, 2019) e maior atividade da enzima CYP1A2 pela manhã (PERERA *et al.*, 2013; RODRIGUEZ *et al.*, 2015; PATAKY *et al.*, 2016).

**Cafeína sérica e metabólitos.** A presença da análise bioquímica é imprescindível para mensuração da cafeína e seus metabólitos, constituindo importante controle para o experimento,

além de permitir a identificação de variações no tempo de metabolização entre os distintos genótipos de CYP1A2 que pudessem conferir efeito ergogênico/ergolítico pronunciado.

**Tratamento individual dos resultados.** A análise individual dos resultados pode contribuir substancialmente na interpretação das respostas fisiológicas de cada participante do estudo, principalmente aqueles que apresentam grande amplitude de resposta em relação ao grupo placebo e entre genótipos. No caso específico da cafeína, exercício e polimorfismos genéticos, permitiria “rastrear” (através das respostas extremas, ergogênicas ou ergolíticas) variáveis e mecanismos que pudessem explicar tal efeito.

**Genes/polimorfismos.** Os estudos com CYP1A2 e ADORA2A caminharam separadamente no período entre 2012 e abril de 2020 quando Carswell *et al.* (2020) tiveram a iniciativa de unificá-los em um mesmo experimento. A hipótese apoiava-se na ideia de encontrar no grupo amostral um indivíduo com o “genótipo ideal”, que contemplasse, concomitantemente, as características de um “metabolizador rápido” de cafeína (genótipo CYP1A2-AA) e a versão “mais sensível” dos receptores A2A (genótipo ADORA2A-TT). O “genótipo ideal” (CYP1A2-AA + ADORA2A-TT) teria a vantagem de metabolizar a cafeína rapidamente em seus subprodutos (paraxantina, teofilina e teobromina), promovendo a disponibilidade dos mesmos, que seriam acoplados a um receptor com alta sensibilidade, potencializando seus efeitos ergogênicos.

A ampliação do painel de genes com influência nos efeitos ergogênicos promovidos pela cafeína pode auxiliar na compreensão de novos mecanismos de ação a partir da individualidade genética (Quadro 2).

**Protocolo de Treinamento.** A adoção de protocolos de treinamento bem definidos (ex.: protocolos em ergômetros), com predominância aeróbia ou anaeróbia, pode facilitar a mensuração de biomarcadores do metabolismo energético, assim como o “rastreamento” de possíveis mecanismos envolvidos na ergogenicidade da cafeína. Em contrapartida, esportes coletivos ou atividades mistas, com grande alternância no metabolismo energético e limitações na mensuração de volume e/ou intensidade, dificultam a padronização do estímulo mecânico imposto e consequentemente o controle do experimento.

**Percepção Cognitivo – Motivacional.** Por se tratar de um agente psicoestimulante, pertencente ao grupo das xantinas, é interessante avaliar alterações no comportamento, como euforia, proatividade e nível de atenção, após a suplementação, durante e após os testes.

**Percepção Subjetiva de Esforço (PSE).** Até o presente momento, na grande maioria dos modelos envolvendo cafeína, exercício e polimorfismos genéticos, não foi constatada uma

redução significativa na PSE de maneira genótipo-dependente. Resultados mais expressivos foram observados na metanálise de Doherty e Smith (2005), na qual 21 estudos (n = 202 participantes) foram selecionados no intuito de avaliar a PSE e desempenho físico em protocolos de ciclismo, corrida, natação e remo. No estudo, que não investigava variantes genéticas, a cafeína foi capaz de reduzir a PSE em aproximadamente 6% (vs. placebo), promovendo melhora de 11% no desempenho esportivo. Foi sugerido pelos mesmos autores (DOHERTY e SMITH, 2001; DOHERTY e SMITH, 2005) que em exercícios submáximos contínuos (de 70 a 90% do  $\dot{V}O_{2max}$ ) é possível identificar a redução na PSE ao longo da sua execução. Já em atividades anaeróbias extremas de curta duração, acima da potência crítica, parece que a mensuração do esforço através da PSE perde a sua fidedignidade (BURNLEY e JONES, 2016). Doherty *et al.* (2004) aconselham utilizar um protocolo denominado “pré-carga” para exercícios de intensidade máxima e supramáxima, caracterizado por uma fase submáxima constante, seguida de esforço supramáximo. Segundo os pesquisadores, o método permite visualizar a ação ergogênica da cafeína pela redução da PSE na fase inicial (submáxima), resultando em maior desempenho na fase final (supramáxima). Além disso, protocolos de exercício com maior duração, utilizando a estratégia “pré-carga”, permitem mensurar parâmetros de ambos os sistemas metabólicos, ATP-CP, glicolítico e oxidativo, como por exemplo: lactato, frequência cardíaca, catecolaminas,  $\dot{V}O_2$ , RER (*respiratory exchange ratio*), ácidos graxos livres (AGL), dentre outros.

Estudos sugerem que as alterações na PSE ocorrem a partir de mecanismos centrais e periféricos. Centralmente, a cafeína age em sistemas excitatórios e inibitórios de neurotransmissão, potencializando a participação dos centros motor e motivacional, propiciando melhora na *performance* e respectivos marcadores metabólicos, que por sua vez impactam na PSE (FERRÉ, 2010).

Na periferia, Dempsey *et al.* (2003, 2006) propuseram uma “competição” pelo fluxo sanguíneo dos músculos respiratórios e periféricos durante o exercício de alta intensidade. Também foi sugerida a existência de uma hierarquia entre eles, na qual os músculos periféricos, por intermédio do sistema nervoso central (ativação simpática) sofreriam estímulo vasoconstritor, priorizando maior fluxo sanguíneo para a musculatura envolvida no mecanismo respiratório, que utiliza expressivos 15% da demanda total de oxigênio (SHEEL *et al.*, 2018). A redução na eficácia dos músculos respiratórios suprime a oxigenação alveolar e da musculatura periférica, implicando no aumento da produção de metabólitos em ambos os tecidos, aumentando a PSE e impactando negativamente no desempenho esportivo. Contrariamente, a cafeína atuaria aumentando a eficácia da musculatura ventilatória (SUPINSKI *et al.*, 1986), atenuando a

frequência respiratória e o volume tidal (BROWN *et al.*, 1991), reduzindo a PSE, contribuindo assim para a manutenção do exercício (SUPINSKI *et al.*, 1986; BROWN *et al.*, 1991; DOHERTY *et al.*, 2004; DOHERTY *et al.*, 2005; LANGFORD *et al.*, 2017).

A PSE, embora um método subjetivo, mostra-se ferramenta imprescindível nos modelos de exercício que utilizam cafeína, mostrando uma interdependência funcional com as respostas fisiológicas, onde a modulação de determinadas variáveis (ex.: aumento de adenosina ou efeito da própria cafeína) altera a percepção subjetiva (de natureza psicofisiológica) modificando a performance, que por sua vez afeta a PSE, formando um ciclo contínuo de retroalimentação (NOBLE e ROBERTSON, 1996). Em exercícios submáximos contínuos (de 70 a 90% do  $\dot{V}O_{2max}$ ) é possível identificar a redução na PSE ao longo da sua execução (DOHERTY e SMITH, 2001; DOHERTY e SMITH, 2005). Já em atividades anaeróbias extremas (de curta duração) e acima da potência crítica, a mensuração do esforço através da PSE perde a sua fidedignidade (BURNLEY e JONES, 2016).

Quadro 1– Recomendações para estudos envolvendo cafeína, exercícios e genética

VARIÁVEL	RECOMENDAÇÃO
<b>Tamanho da Amostra</b>	Recrutar tamanho amostral suficiente para representar, nas proporções adequadas, todos os genótipos em questão, considerando para tal o gene que apresenta a menor frequência alélica
<i>Crossover</i>	Dar preferência ao delineamento experimental <i>crossover</i> <sup>1</sup>
<b>Nível de Treinamento</b>	Incluir no experimento indivíduos com aptidão física equivalente, preferencialmente com elevado nível de condicionamento, pois atividades mais intensas podem alterar a expressão de diversas proteínas alvo, como por exemplo, os receptores de adenosina e a enzima CYP1A2
<b>Cafeína</b> (Habituação/tolerância)	Garantir que o consumo habitual de cafeína (avaliado em mg/kg e não em valor absoluto) seja menor do que a dose administrada no ensaio experimental, através de recordatório $\geq 4$ semanas ( <b>Anexo A</b> ) conciliado a mensuração sérica ou urinária
<b>Controle Dietético</b>	Padronizar dieta (macro e micronutrientes), excluindo alimentos e bebidas alcoólicas que possam interferir no metabolismo de CYP1A2
<b>Cafeína</b> (Dose suplementada)	Utilizar dose de 4 a 6 mg/kg, considerando o consumo habitual
<b>Cafeína</b> (Período do dia)	Priorizar o período matutino na realização dos testes, considerando o ciclo circadiano e possível aumento da atividade de CYP1A2 pela manhã.
<b>Cafeína e metabólitos séricos</b>	Realizar análise bioquímica para assegurar se foram atingidas as concentrações ideais de cafeína e identificar possíveis variações na sua metabolização entre os distintos genótipos de CYP1A2
<b>Tratamento individual dos resultados</b>	Apresentar resultado individual de pelo menos uma das variáveis mensuradas, permitindo identificar possíveis diferenças genotípicas

<sup>1</sup> São estudos longitudinais em que os participantes atuam como seu próprio controle, recebendo os distintos tratamentos pelo mesmo período de tempo.

Quadro 1 – Continuação

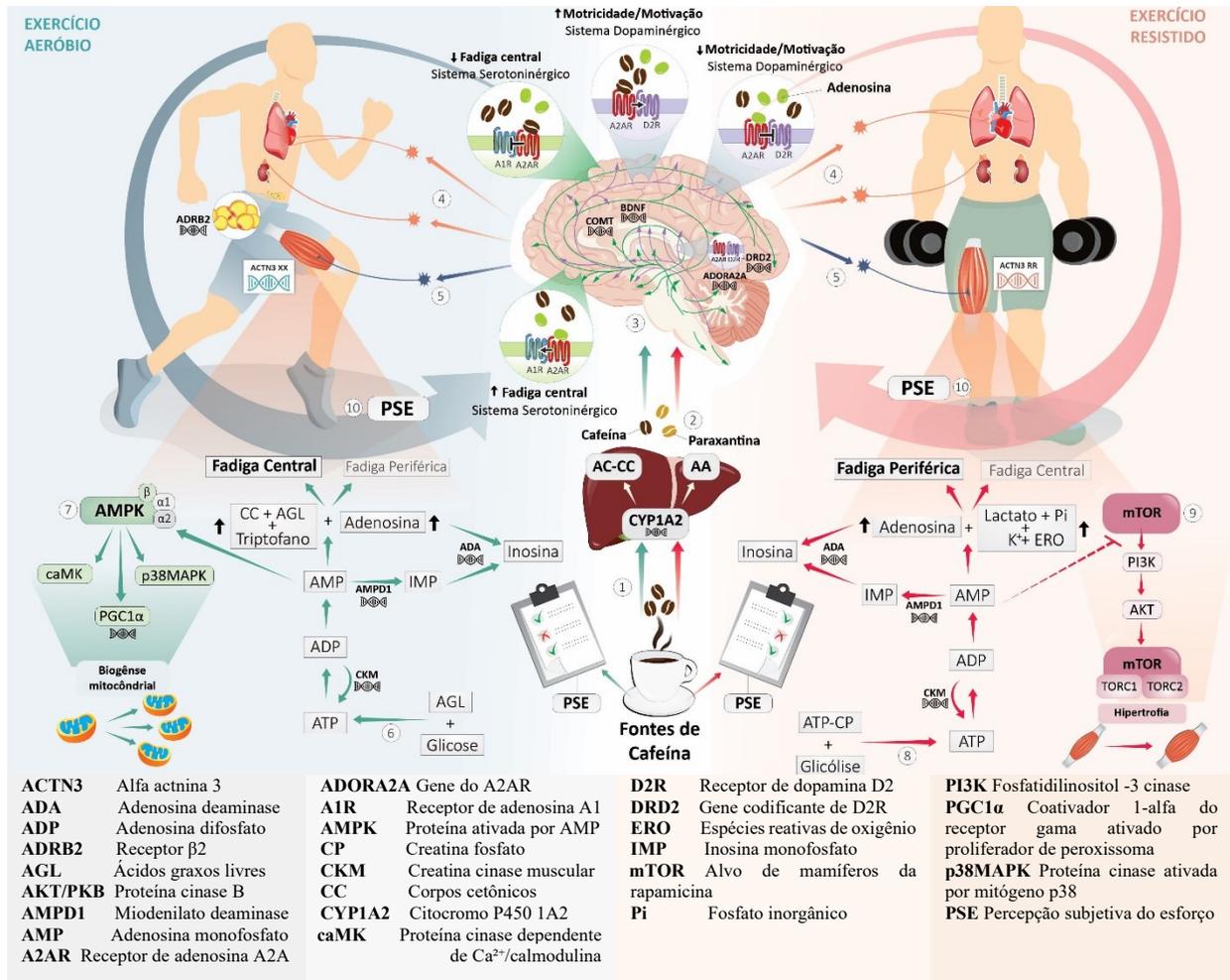
<b>Genes/Polimorfismos</b>	Ampliar o painel de genes que possam influenciar ou sofrer influência dos efeitos ergogênicos promovidos pela cafeína ( <b>Quadro 2</b> )
<b>Protocolo de Treinamento</b>	Optar por protocolos bem definidos, com predominância aeróbia ou anaeróbia, evitando exercícios mistos (ex.: esportes coletivos) com grande alternância nos sistemas energéticos intra e inter testes
<b>Percepção Cognitivo-Motivacional</b>	Avaliar alterações no comportamento, como euforia, proatividade e nível de atenção após a suplementação, durante e após os testes
<b>Percepção Subjetiva de Esforço (PSE)</b>	Utilizar a PSE como ferramenta para avaliar a ação psicofisiológica da cafeína entre os genótipos, em modelos de exercício aeróbio e resistido. Para mensurar a PSE de maneira mais abrangente, possibilitando identificar alterações no metabolismo energético, é recomendado um modelo de exercício com duração suficiente para trabalhar distintos valores de $\dot{V}O_2$ (do submáximo ao supramáximo), permitindo observar as variações da PSE. Em exercícios resistidos de curta duração, o mais plausível é mensurar a PSE apenas ao longo do teste, pois ao seu término os participantes invariavelmente apresentarão um nível de esforço máximo

## 5.2 CAFEÍNA E A NEUROBIOLOGIA DO EXERCÍCIO INEGRADA: UMA ABORDAGEM MUSTIDISCIPLINAR

Grande parte dos mecanismos supracitados, envolvendo receptores (seus agonistas e antagonistas), enzimas e proteínas “chave”, estão sendo bem explorados na área clínica e podem ser de grande valia para a ciência do Esporte, uma vez que influenciam aspectos cruciais para o desempenho, tais como, regulação do estímulo motor, sistemas cardiopulmonar, cardiovascular e energético, reflexo, tempo de reação, alerta, concentração, motivação, memória, sistema de recompensa, percepção de esforço e fadiga (central e/ou periférica).

Considerando todo o contexto e o seu amplo efeito fisiológico, é pouco provável que as respostas para os efeitos ergogênicos da cafeína estejam restritas apenas a interferência polimórfica dos genes CYP1A2 e ADORA2A. Além de atenuar os efeitos da adenosina, a cafeína influencia diversas vias de neurotransmissão excitatórias, além de promover a ativação de adrenoceptores pelas catecolaminas (principalmente a adrenalina), aumentando a disponibilidade energética e oxigenação dos principais tecidos corporais envolvidos no exercício, abrindo uma ampla gama de possibilidades para o estudo de mecanismos, genes e seus respectivos polimorfismos. Portanto, acreditamos ser imprescindível uma abordagem multidisciplinar integrada, procurando elencar e compreender a interação das principais vias de sinalização e seus componentes, considerando o protocolo do exercício em questão (aeróbio, misto ou anaeróbio), sistemas corporais “acionados” (centrais e periféricos) e seus principais marcadores bioquímicos (Figura 3).

Figura 3 – Cafeína e a Neurobiologia do Exercício Integrada



1- Metabolização hepática da cafeína em CYP1A2 por metabolizadores lentos (genótipos AC e CC) ou rápidos (genótipo AA) 2- Biotransformação da cafeína em paraxantina (em amarelo), teobromina e teofina 3- Ativação dos sistemas excitatórios de neurotransmissão (cafeína) ou inibitórios (adenosina) 4- Ativação do sistema nervoso simpático 5- Ativação do sistema nervoso motor somático 6- Utilização do sistema energético oxidativo com formação de adenosina e acúmulos de subprodutos, favorecendo a fadiga central 7- Ativação da via AMPK (biogênese mitocondrial) 8- Ativação do sistema energético anaeróbico (alático e láctico) e acúmulo de subprodutos, favorecendo a fadiga periférica 9- Ativação da via mTOR (hipertrofia muscular) 10- Ciclo contínuo da PSE: cafeína reduz a percepção subjetiva de esforço, impactando positivamente no desempenho psicofisiológico.

### 5.3 CAFEÍNA, GENES E POLIMORFISMOS “CANDIDATOS”

Os efeitos da cafeína são fisiologicamente significativos, impactando em todo o organismo através de uma eficiente rede de sinalização neuronal e sistema circulatório (por neurohormônios e hormônios), permeando diversas vias de sinalização que conversam entre si (*cross talking*). Diante do contexto, é provável que algumas proteínas “chave” e seus respectivos

genes (codificantes) assumam importante papel. Polimorfismos genéticos podem alterar (aumentando ou suprimindo) a expressão e, conseqüentemente, a função dessas proteínas. Assim sendo, a investigação de novos polimorfismos pode auxiliar na compreensão da variabilidade identificada nos efeitos ergogênicos/ergolíticos promovidos pela cafeína.

Portanto, além da análise dos polimorfismos nos genes CYP1A2 e ADORA2A, seria estratégico incluir novos potenciais polimorfismos ao painel de genes analisados (Quadro 2).

**DRD2/ANKK1** (rs1800497) – O polimorfismo conhecido por Taq1A no gene ANKK1 (*ankyrin repeat and kinase domain-containing 1*) está localizado próximo ao DRD2 (gene do receptor de dopamina D2R) e por muito tempo suas variações genéticas foram atribuídas a ele. Estudos sugerem estreita relação entre os 2 genes, na qual ANKK1 regula a transcrição de DRD2. O polimorfismo determina menor densidade estriatal de receptores D2R em portadores do alelo T (A1). Inversamente, o alelo C (A2) está associado ao aumento de D2R nas membranas pré e pós-sináptica (JONSSON *et al.*, 1999; RITCHIE e NOBLE, 2003; CHILDS *et al.*, 2008).

Portanto, os polimorfismos presentes no heterodímero ADORA2A-DRD2 são fortes candidatos para a compreensão dos mecanismos que norteiam a variabilidade dos efeitos ergogênicos/ergolíticos da cafeína, uma vez que a modulação alostérica dos receptores A2A e D2 é o alicerce da teoria que pode explicar a origem dos seus efeitos motores/motivacionais. É possível que o impacto polimórfico conjugado de ambos os polimorfismos seja mais pronunciado do que o seu efeito isolado (CHILDS *et al.*, 2008).

**COMT** (rs4680) – O gene COMT codifica a enzima catecol-O-metiltransferase, responsável pela degradação da dopamina, essencial para função cognitiva (FIOCCO *et al.*, 2010), além das outras catecolaminas, adrenalina e noradrenalina. Uma de suas principais funções é controlar os níveis de dopamina no córtex pré-frontal do cérebro (MIER *et al.*, 2010). O polimorfismo Val158Met (rs4680) implica na substituição do aminoácido valina (Val) pela metionina (Met) na posição 158. A síntese de um aminoácido alternativo (a metionina) reduz de maneira significativa a síntese da enzima, implicando no aumento das concentrações das catecolaminas e da atividade do sistema nervoso simpático. Homozigotos Met/Met (AA) apresentam atividade enzimática 3 a 4 vezes menor que os indivíduos Val/Val (GG) e, portanto, sinalização dopaminérgica aumentada (NOOHI *et al.*, 2014). No esporte de alto rendimento, onde o atleta é submetido a importante estresse físico e mental, uma elevada e persistente concentração de dopamina (característica do genótipo Met/Met) pode ser desfavorável para a *performance*, dificultando o controle emocional em situações de grande estresse e pressão (TARTAR *et al.*, 2020). Adicionalmente, portadores do alelo Met apresentam menor limiar a

dor. Sua vantagem parece estar relacionada a ambientes menos estressantes, em tarefas que exigem memorização e atenção. Em contrapartida, os portadores do alelo Val vivenciam maior limiar a dor e controle emocional em situações de alto estresse, porém com modesta redução na função cognitiva e memória (STEIN *et al.*, 2006; TARTAR *et al.*, 2020). Considerando o impacto do polimorfismo Val158Met na sinalização neuronal excitatória, seja pelo aumento da neurotransmissão dopaminérgica ou ativação do sistema nervoso simpático (através da adrenalina e noradrenalina), parece viável incluir os polimorfismos do gene COMT no painel de genes a ser analisado.

**ADRB2** (rs 1042713 e rs 1042714) – O gene ADRB2 é responsável pela síntese dos receptores  $\beta_2$  adrenérgicos presentes nas membranas de diversos tecidos corporais, acoplados à proteína G, com importantes funções, cardiovascular (ex.: vasodilatação), cardiopulmonar (ex.: broncodilatação) e energética (ex.: lipólise). Diferentes combinações alélicas podem alterar a sensibilidade da adrenalina (seu principal ligante) com o receptor, assim como a resposta fisiológica nos tecidos alvos. Dois polimorfismos, Gly16Arg (rs 1042713) e Glu27Gln (rs 1042714) tem sido foco de estudos, com o propósito de investigar a sua influência na *performance* de atletas de força/potência e resistência aeróbia (SNYDER *et al.*, 2008; JONES *et al.*, 2016; VAN ITERSON *et al.*, 2017). A presença do alelo G (rs 1042713) está associada a menor densidade do receptor, predispondo ao aumento do IMC e decréscimo do  $\dot{V}O_{2max}$ , impactando negativamente no rendimento esportivo, principalmente em atividades com predominância aeróbia. Por outro lado, foi verificado significativo aumento na frequência do alelo A em atletas de *endurance* (WOLFARTH *et al.*, 2007; TSIANOS *et al.*, 2009). Outras investigações envolvendo o polimorfismo Glu27Gln (rs 1042714) confirmam que a individualidade genética dos receptores  $\beta_2$  pode interferir na eficácia de protocolos de exercício no controle do peso corporal (LEONSKA *et al.*, 2016). Foi sugerido que a melhora na *performance* cognitiva pela ação da cafeína não estaria apenas condicionada ao gene que codifica os receptores de adenosina A2AR (ADORA2A), mas também a variantes genéticas de ADRB2 (RENDA *et al.*, 2015), o que reforça ainda mais o interesse em ambos os genes.

**BDNF** (rs 6265) – O gene BDNF (*brain derived neurotrophic factor*) é responsável pela síntese de um fator neurotrófico que atua na diferenciação e crescimento dos neurônios centrais, periféricos, sinapses, desenvolvimento e regeneração da musculatura esquelética e memória de longo prazo (POO, 2001; CLOW e JASMIN, 2010; FRITSCH *et al.*, 2010). Polimorfismos presentes no gene podem alterar a sua expressão, assim como a característica fenotípica (SANCHEZ *et al.*, 2011). A principal e mais investigada variável é o polimorfismo Val66Met

(rs 6265), conhecido pelo seu impacto em atividades motoras, possivelmente pela necessidade de aumento de BDNF no córtex motor (FRITSCH *et al.*, 2010). Portadores do genótipo AA apresentam maior capacidade de aprendizado em tarefas motoras, melhor tempo de reação e motivação para “prosseguir” no exercício, quando comparados aos genótipos AG e GG (MORIN-MONCET *et al.*, 2014; CALDWELL *et al.*, 2014). Sebastião *et al.*, (2011), sugeriram que a interação dos receptores A2AR (do gene ADORA2A) é necessária para a maioria das ações sinápticas e regulação dos níveis de BDNF encefálico, o que confere ao gene importância ímpar nos estudos envolvendo cafeína, exercício e polimorfismos genéticos.

**AMPD1** (rs 17602729) – O gene AMPD1 codifica a isoforma M da enzima AMP deaminase, conhecida também por miodenilato deaminase, expressa em altos níveis na musculatura esquelética, principalmente em fibras musculares do tipo II, com importante atuação no metabolismo energético e formação de ATP. Em exercícios de força, potência e alta intensidade, onde a demanda energética é muito alta, ocorre queda na razão ATP/ADP, prejudicando o processo contrátil do músculo e favorecendo a instalação da fadiga (STATHIS *et al.*, 1994). Na tentativa de restabelecer o equilíbrio energético e o trabalho muscular, a enzima minimiza (indiretamente) o acúmulo de ADP e também de adenosina ao catalisar a reação  $AMP + H_2O \rightarrow IMP + NH_3$  (amônia). O polimorfismo C34T (rs 17602729) no gene AMPD1 interfere na síntese enzimática, de maneira que os portadores do alelo C, principalmente homozigotos CC, possuem atividade enzimática maior (quando comparados aos heterozigotos CT e homozigotos TT), favorecendo o rendimento em modalidades de alta intensidade que requerem rápida produção de ATP (DIAS *et al.*, 2007; FISHER *et al.*, 2007; FEDOTOVSKAYA *et al.*, 2013; GINEVICIENE *et al.*, 2014). Uma vez que o polimorfismo impacta na síntese de ATP e adenosina, a qual “concorre” com a cafeína pela ligação nos receptores adenosinérgicos, é possível que o polimorfismo em questão influencie na magnitude dos seus efeitos ergogênicos.

**ADA** (rs 73598374) – O gene ADA codifica a enzima adenosina deaminase que participa da reação irreversível de adenosina em inosina, com importante papel no controle energético celular. O polimorfismo conhecido por ADAG22A (rs 73598374) pode alterar de maneira significativa a síntese da enzima, impactando nas concentrações de adenosina intra e extracelular (NAPOLIONI e PREDAZZI, 2010). Segundo Battistuzzi *et al.* (1981), portadores do genótipo GA podem apresentar um decréscimo de 20 a 30% na atividade enzimática, provocando aumento nas concentrações de adenosina. Se incluirmos exercício e cafeína na equação, teríamos um indivíduo com nível crescente de adenosina, decorrente do exercício, potencializado pela sua individualidade genética, e do outro lado a cafeína “competindo” pelo

acoplamento ao receptor compartilhado. Polimorfismos no gene ADA podem influenciar nos efeitos ergogênicos da cafeína, na *performance* e na qualidade do sono (MAZZOTTI *et al.*, 2011, LANDOLF, 2011).

Quadro 2 – Genes e polimorfismos para futuros estudos envolvendo cafeína e exercício

Gene	Proteína Expressa	Polimorfismo
<b>DRD2/ANKK1</b>	Receptores D2-dopaminérgicos	rs 1800497
<b>COMT</b>	Enzima Catecol-O-Metil Transferase	rs 4680
<b>ADRB2</b>	Receptores $\beta$ 2-adrenérgico	rs 1042713
<b>ADRB2</b>	Receptores $\beta$ 2-adrenérgico	rs 1042714
<b>BDNF</b>	Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro	rs 6265
<b>AMPD1</b>	Enzima Adenosina Monofosfato Deaminase	rs 17602729
<b>ADA</b>	Enzima Adenosina Deaminase	rs 73598374
<b>CKMM</b>	Enzima Creatina Cinase	rs 811989
<b>ACTN3</b>	Alfa-actinina 3	rs 1815739
<b>PPARGC1A</b>	PGC1 $\alpha$	rs 8192678

**CKMM (rs 811989)** – O gene CKMM codifica a isoforma muscular da enzima creatina cinase (CKM) que a exemplo da AMPD1 e ADA, supracitadas, auxiliam na manutenção de níveis ótimos de energia, atuando de maneira oposta a adenosina. A enzima CKM é responsável pela ressíntese do ATP ao catalisar a reação na qual a creatina fosfato (PCr) “doa” um fosfato energético ao ADP, resultando em creatina e ATP. Estudos preliminares em animais constataram que a expressão reduzida da enzima afeta negativamente a força e a potência muscular, desviando o metabolismo anaeróbio para o oxidativo através do aumento da captação de oxigênio (VAN

DEURSEN *et al.*, 1993; GRASSI *et al.*, 2010). No esporte de alto rendimento, estudos indicam que o polimorfismo no gene CKMM (A/G), substituição de guanina por adenina, impacta no desempenho. O alelo G tem sido correlacionado a expressão aumentada de CKM, o que favorece o metabolismo energético anaeróbio. Por outro lado, a presença do alelo A resulta em atividade enzimática reduzida, favorecendo os mecanismos oxidativos (fosforilação oxidativa). Em concordância, Fedotovskaya *et al.* (2012) identificaram elevada frequência do alelo A em atletas de *endurance*, em comparação aos atletas de força, com predominância do alelo G.

**ACTN3** (rs 1815739) – O gene da alfa actinina-3 é reponsável pela síntese da proteína de mesmo nome, presente exclusivamente nas fibras musculares de contração rápida (tipo II), o que favorece modalidades esportivas que requerem força, velocidade e potência muscular (PIMENTA *et al.* 2011; EYNON *et al.* 2013; LEE *et al.* 2016; PICKERING e KIELY, 2017). O polimorfismo R577X tem sido um dos mais estudados em diferentes populações de atletas. Atualmente, existem evidências que confirmam maior frequência do alelo C (representados por RR ou RX) nos atletas de força e potência, o que lhes garante a expressão da alfa actinina-3, favorecendo este tipo de atividade (MA *et al.*, 2013). Em contrapartida, homozigotos TT (representados por XX) não sintetizam a proteína e seriam beneficiados em atividades de resistência aeróbia, porém ainda não há um consenso em estudos com humanos (NIEMI e MAJAMA, 2005; PICKERING e KIELY, 2017; NEZHAD *et al.*, 2019). A expressão da alfa actinina 3 (ou a sua ausência) promove diferenciação no fenótipo da fibra muscular esquelética, em termos metabólicos e contráteis, além da ativação de importantes vias de sinalização, como é o caso da mTOR (PICKERING e KIELY, 2017).

Considerando que a cafeína atua central e periféricamente, aumentando a disponibilidade de substratos energéticos e promovendo ativação motora (principalmente pelo sistema dopaminérgico), seria estratégico correlacioná-la os genótipos ACTN3 em distintos modelos de exercício.

**PPARGC1A** (rs8192678) – O gene PPARGC1A codifica o PGC1 $\alpha$  (coativador 1- alfa do receptor gama ativado por proliferador de peroxissoma) envolvido em diversos processos celulares, como por exemplo, regulação da respiração celular, metabolismo energético (lipídico e glicídico), biogênese mitocondrial, termogênese adaptativa, sinalização da insulina e diferenciação das fibras musculares (LIN *et al.*, 2002; RUSSEL *et al.*, 2003; NEZHAD *et al.* 2019; PETR *et al.*, 2019). O polimorfismo Gly428Ser (rs8192678) tem sido associado ao desempenho de atletas, principalmente em modalidades de *endurance*, com maior participação do metabolismo oxidativo (PETR *et al.*, 2019). Maior expressão de PGC1 $\alpha$  e melhora do

rendimento esportivo tem sido atribuídos a presença do alelo G. (ENYNON *et al.*, 2009; MACIEJEWSKA *et al.*, 2012; PETR *et al.*, 2019). Por se tratar de um gene atuante no metabolismo energético, diferenciação das fibras musculares e biogênese mitocondrial, sua influência (aguda e crônica) nos efeitos ergogênicos da cafeína pode ser considerada.

## 6 CONCLUSÃO

O presente estudo não alcançou um parecer conclusivo no que diz respeito a influência polimórfica dos genes CYP1A2 e ADORA2A nos efeitos ergogênicos da cafeína. A diversidade metodológica e as limitações dos artigos, identificadas muitas vezes pelos próprios autores, dificultaram sobremaneira as comparações diretas e conclusões subsequentes. Mais estudos contemplando os 2 genes no mesmo experimento são necessários para esclarecer o cenário.

Contudo, ao nosso entendimento, procuramos dar um passo à frente ao revisar e confrontar potencialidades e limitações dos referidos estudos, suas concordâncias e discrepâncias, resultando em informações práticas (Quadro 1) para adoção de um padrão metodológico de excelência em futuras investigações envolvendo cafeína, exercício e polimorfismos genéticos. Adicionalmente, através de uma abordagem integrada (Figura 3), permeando a Fisiologia do Exercício, as Neurociências e a Genética, pretendemos incentivar a inclusão de novos polimorfismos genéticos (Quadro 2) aos modelos experimentais para que em um futuro próximo possamos avaliar a real necessidade da elaboração de diretrizes que preconizem doses seguras e ergogênicas de cafeína considerando também a individualidade genética nas estratégias de suplementação.

## REFERÊNCIAS

- ACQUAS, E.; TANDA, G.; DI CHIARA, G. Differential effects of caffeine on dopamine and acetylcholine transmission in brain areas of drug-naive and caffeine-pretreated rats. *Neuropsychopharmacology*, v. 27, n. 2, p. 182-193, 2002.
- AGUIAR, A. S. et al. . Neuronal adenosine A2A receptors signal ergogenic effects of caffeine. *Scientific Reports*, v. 10, n. 1, p. 13414, 2020.
- ALGRAIN HAYA, A. et al. . The Effects of a Polymorphism in the Cytochrome P450 CYP1A2 Gene on Performance Enhancement with Caffeine in Recreational Cyclists. *Journal of Caffeine Research*, v. 6, n. 1, p. 34-39, 2015.
- ALLEN, D. G.; LAMB, G. D.; WESTERBLAD, H. Skeletal muscle fatigue: Cellular mechanisms. *Physiological Reviews*, v. 88, n. 1, p. 287-332, 2008.
- ALSENE, K. et al. . Association Between A2a Receptor Gene Polymorphisms and Caffeine-Induced Anxiety. *Neuropsychopharmacology*, v. 28, n. 9, p. 1694-1702, 2003.
- BASHEER, R. et al. . Adenosine and sleep-wake regulation. *Progress in Neurobiology*, v. 73, n. 6, p. 379-396, 2004.
- BATTISTUZZI, G. et al. . Activity of adenosine deaminase allelic forms in intact erythrocytes and in lymphocytes. *Annals of Human Genetic*, v. 45, n. 1, p. 15-19, 1981.
- BEAR, M. F. *Neurociências: Desvendando o Sistema Nervoso*, 4ª edição, Artmed, 2015.
- 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. 35, n. 19, p. 1920-1927, 2017.
- BELL, D. G.; MC LELLAN, T. M. Exercise endurance 1, 3, and 6 h after caffeine ingestion in caffeine users and nonusers. *Journal of Applied Physiology*, v. 93, n. 4, p. 1227-1234, 2002.
- BENARROCH, E. E. Adenosine and its receptors: Multiple modulatory functions and potential therapeutic targets for neurologic disease. *Neurology*, v. 70, n. 3, p. 231-236, 2008.
- BERGSTRÖM J. et al. . Diet, muscle glycogen and physical performance. *Acta Physiologica Scandinavica*, v. 71, n. 2, p. 140-150, 1967.
- BJORNESS, T.; GREENE, R. Adenosine and Sleep. *Current Neuropharmacology*, v. 7, n. 3, p. 238-245, 2009.
- BODENMANN, S. et al. . Polymorphisms of ADORA2A modulate psychomotor vigilance and the effects of caffeine on neurobehavioural performance and sleep EEG after sleep deprivation. *British Journal of Pharmacology*, v. 165, n. 6, p. 1904-1913, 2012.
- BOREA, P. A. et al. . Pharmacology of Adenosine Receptors: The State of the Art. *Physiological Reviews*, v. 98, n. 3, p. 1591-1625, 2018.

BORG, G. Psychophysical scaling with applications in physical work and the perception of exertion. *Scandinavian Journal of Work Environment and Health*, v. 16, n. 1, p. 55-58, 1990.

BROOKS, J. H.; WYLD, K.; CHRISMAS, B. C. R. Caffeine Supplementation as an Ergogenic Aid for Muscular Strength and Endurance: A Recommendation for Coaches and Athletes. *Journal of Athletic Enhancement*, v. 5, n. 4, 2016.

BROWN, D. D. et al. . Effect of caffeine ingestion on alveolar ventilation during moderate exercise. *Aviation Space and Environmental Medicine*, v. 62, n. 9, p. 860-864, 1991.

BURNLEY, M.; JONES, A. M. Power–duration relationship: Physiology, fatigue, and the limits of human performance. *European Journal of Sport Science*, v. 18, n. 1, p. 1-12, 2016.

BUTTS, N. K.; CROWELL, D. Effect of Caffeine Ingestion on Cardiorespiratory Endurance in Men and Women. *Research Quarterly for Exercise and Sport*, v. 56, n. 4, p. 301-305, 1985.

CALDWELL HOOPER, A. E.; BRYAN, A. D.; HAGGER, M. S. What keeps a body moving? The brain-derived neurotrophic factor val66met polymorphism and intrinsic motivation to exercise in humans. *Journal of Behavioral Medicine*, v. 37, n. 6, p. 1180-1192, 2014.

CARSWELL, A. T. et al. . The effect of caffeine on cognitive performance is influenced by CYP1A2 but not ADORA2A genotype, yet neither genotype affects exercise performance in healthy adults. *European Journal of Applied Physiology*, v. 120, n. 7, p. 1495-1508, 2020.

CARTER, A. J. et al. . Caffeine enhances acetylcholine release in the hippocampus in vivo by a selective interaction with adenosine A1 receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 273, n. 2, p. 637-642, 1995.

CHAOULOFF, F. et al. . Amphetamine and alpha-methyl-p-tyrosine affect the exercise-induced imbalance between the availability of tryptophan and synthesis of serotonin in the brain of the rat. *Neuropharmacology*, v. 26, n. 8, p. 1099-1106, 1987.

CHEN, J. F.; ELTZSCHIG, H. K.; FREDHOLM, B. B. Adenosine receptors as drug targets what are the challenges? *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 12, n. 4, p. 265-286, 2013.

CHENG, R. K. Y. et al. . Structures of Human A1 and A2A Adenosine Receptors with Xanthines Reveal Determinants of Selectivity. *Structure*, v. 25, n. 8, p. 1275-1285, 2017.

CHILDS, E. et al. . Association between ADORA2A and DRD2 Polymorphisms and Caffeine-Induced Anxiety. *Neuropsychopharmacology*, v. 33, n. 12, p. 2791-2800, 2008.

CHRISTENSEN, P. M. et al. . Caffeine and Bicarbonate for Speed. A Meta-Analysis of Legal Supplements Potential for Improving Intense Endurance Exercise Performance. *Frontiers in Physiology*, v. 8, n. 240, 2017.

CLARKE, N. D. et al. . Coffee Ingestion Enhances One-Mile Running Race Performance. *International Journal of Sports Physiology and Performance*, v. 13, n. 6, p. 789-794, 2017.

CLOW, C.; JASMIN, B. J. Brain-derived neurotrophic factor regulates satellite cell differentiation and skeletal muscle regeneration. *Molecular Biology in Cell*, v. 21, n. 13, p. 2182-2190, 2010.

CORNELIS, M. C. et al. . Coffee, CYP1A2 genotype, and risk of myocardial infarction. *JAMA*, v. 295, n. 10, p. 1135-1141, 2006.

COSTILL, D. L.; DALSKY, G. P.; FINK, W. J. Effects of caffeine ingestion on metabolism and exercise performance. *Med. Sci. Sports*, v. 10, n. 3, p. 155-158, 1978.

COTEL, F. et al. . Serotonin spillover onto the axon initial segment of motoneurons induces central fatigue by inhibiting action potential initiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 110, n. 12, p. 4774-4779, 2013.

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

CUNHA, R. A. et al. . Evidence for functionally important adenosine A2a receptors in the rat hippocampus. *Brain Res.*, v. 649, n 1-2, p. 208-216, 1994.

DALY, J. W.; BUTTS-LAMB, P.; PADGETT, W. Subclasses of adenosine receptors in the central nervous system: interaction with caffeine and related methylxanthines. *Cellular and Molecular Neurobiology*, v. 3, n. 1, p. 69-80, 1983.

DAVIS, J. et al. . Central nervous system effects of caffeine and adenosine on fatigue. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, v. 284, n. 2, p. 399-404, 2002.

DAVIS, J. M.; BAILEY, S. P. Possible mechanisms of central nervous system fatigue during exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, v. 29, n. 1, p. 45-57, 1997.

DE CATERINA, R.; EL-SOHEMY, A. Moving towards Specific Nutrigenetic Recommendation Algorithms: Caffeine, Genetic Variation and Cardiovascular Risk. *Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics*, v. 9, n. 2-4, p. 106-115, 2016.

DEL COSO, J.; MUNOZ, G.; MUNOZ-GUERRA, J. Prevalence of caffeine use in elite athletes following its removal from the World Anti-Doping Agency list of banned substances. *Applied Physiology Nutrition and Metabolism*, v. 36, n. 4, p. 555-561, 2011.

DEMPSEY, J. A. et al. . Consequences of exercise-induced respiratory muscle work. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, v. 151, n. 2-3, p. 242-250, 2006.

DEMPSEY, J. A. et al. . Pulmonary system limitations to exercise in health. *Canadian Journal of Applied Physiology*, v. 28, n. 1, p. 2-24, 2003.

DIAS, R. G. et al. . Polimorfismos genéticos determinantes da performance física em atletas de elite. *Revista Brasileira de Medicina Do Esporte*, v. 13, n. 3, p. 209-216, 2007.

DOHERTY, M. et al. . Caffeine lowers perceptual response and increases power output during high-intensity cycling. *Journal of Sports Sciences*, v. 22, n. 7, p. 637-643, 2004.

DOHERTY, M. et al. . Rating of perceived exertion during high-intensity treadmill running. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, v. 33, n. 11, p. 1953-1958, 2001.

DOHERTY, M.; SMITH, P. M. Effects of caffeine ingestion on rating of perceived exertion during and after exercise: A meta-analysis. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, v.15, n. 2, p. 69-78, 2005.

ERBLANG, M. et al. . The Impact of Genetic Variations in ADORA2A in the Association between Caffeine Consumption and Sleep. *Genes*, v. 10, n. 12, p. 1021, 2019.

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

ESSIG, D.; COSTILL, D. L.; VAN HANDEL, P. Effects of caffeine ingestion on utilization of muscle glycogen and lipid during leg ergometer cycling. *International Journal of Sports Medicine*, v.1, n.2, p. 86-90, 1980.

EYNON, N. et al. . Do ppargc1a and pparalpha polymorphisms influence sprint or endurance phenotypes? *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*, v. 20, n. 1, p. e145-150, 2009.

EYNON, N. et al. . Genes for elite power and sprint performance: Actn3 leads the way. *Sports Medicine*, v. 43, n. 9, p. 803-817, 2013.

FEDOTOVSKAYA, O. N. et al. . Association of muscle-specific creatine kinase (CKMM) gene polymorphism with physical performance of athletes. *Human Physiology*, v. 38, n. 1, p. 89-93, 2012.

FEDOTOVSKAYA, O. N.; DANILOVA, A. A.; AKHMETOV, I. I. Effect of AMPD1 Gene Polymorphism on Muscle Activity in Humans. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, v. 154, n. 4, p. 489-491, 2013.

FERRÉ, S. An update on the mechanisms of the psychostimulant effects of caffeine. *Journal of Neurochemistry* v. 105, n. 4, p. 1067-1079, 2008.

FERRÉ, S. et al. . Adenosine-dopamine interactions in the brain. *Neuroscience*, v. 51, n. 3, p. 501-512, 1992.

FERRÉ, S. et al. . Allosteric mechanisms within the adenosine A2A-dopamine D2 receptor heterotetramer. *Neuropharmacology*, v. 104, p. 154-160, 2016.

FERRÉ, S. et al. . An Update on Adenosine A2A-Dopamine D2 Receptor Interactions: Implications for the Function of G Protein-Coupled Receptors. *Current Pharmaceutical Design*, v. 14, n. 15, p. 1468-1474, 2008.

FERRÉ, S. et al. . New Developments on the Adenosine Mechanisms of the Central Effects of Caffeine and Their Implications for Neuropsychiatric Disorders. *Journal of Caffeine and Adenosine Research*, v. 8, n. 4, p. 121-131, 2018.

FERRÉ, S. Role of the Central Ascending Neurotransmitter Systems in the Psychostimulant Effects of Caffeine. *Journal of Alzheimer's Disease*, v. 20, n. 1, p. 35-49, 2010.

FILIP, A. et al. . Inconsistency in the ergogenic effect of caffeine in athletes who regularly consume caffeine: Is it due to the disparity in the criteria that defines habitual caffeine intake? *Nutrients*, v. 12, n. 4, p. 1087, 2020.

FIOCCO, A. J. et al. . Comt genotype and cognitive function: An 8-year longitudinal study in white and black elders. *Neurology*, v. 74, n. 16, p. 1296-1302, 2010.

FISCHER, H. et al. . AMP deaminase deficiency is associated with lower sprint cycling performance in healthy subjects. *Journal of Applied Physiology*, v. 103, n. 1, p. 315-322, 2007.

FREDHOLM, B. B. Adenosine, Adenosine Receptors and the Actions of Caffeine. *Pharmacology & Toxicology*, v. 76, n. 2, p. 93-101, 1995.

FREDHOLM, B. B. et al. . Actions of adenosine at its receptors in the CNS: insights from knockouts and drugs. *Annual Reviews of Pharmacology and Toxicology*, v. 45, p. 385-412, 2005.

FREDHOLM, B. B. et al. . Actions of Caffeine in the Brain with Special Reference to Factors That Contribute to Its Widespread Use. *Pharmacological Reviews*, v. 51, n. 1, p. 83-133, 1999.

FREDHOLM, B. B. et al. . International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXXI. Nomenclature and Classification of Adenosine Receptors-An Update. *Pharmacological Reviews*, v. 63, n. 1, p. 1-34, 2011.

FRITSCH, B. et al. . Direct Current Stimulation Promotes BDNF-Dependent Synaptic Plasticity: Potential Implications for Motor Learning. *Neuron*, v. 66, n. 2, p. 198-204, 2010.

FULTON, J. et al. . Impact of Genetic Variability on Physiological Responses to Caffeine in Humans: A Systematic Review. *Nutrients*, v. 10, n. 10, p. 1373, 2018.

FUXE, K. et al. . Adenosine A2A and Dopamine D2 Heteromeric Receptor Complexes and Their Function. *Journal of Molecular Neuroscience*, v. 26, n. 2-3, p. 209-220, 2005.

GARRETT, B. E.; GRIFFITHS, R. R. The role of dopamine in the behavioral effects of caffeine in animals and humans. *Pharmacological Biochemistry Behavior*, v. 57, n. 3, p. 533-541, 1997.

GERALD, M. C. Effects of (+) -amphetamine on the treadmill endurance performance of rats. *Neuropharmacology*, v. 17, n. 9, p. 703-704, 1978.

GIERSCH, G. E. W. et al. . The Effect of the CYP1A2 -163 C > A Polymorphism on Caffeine Metabolism and Subsequent Cycling Performance. *Journal of Caffeine and Adenosine Research*, v. 8, n. 2, p. 65-70, 2018.

GINEVIČIENĖ, V. et al. . AMPD1 rs17602729 is associated with physical performance of sprint and power in elite Lithuanian athletes. *BMC Genetics*, v. 15, n. 1, p. 58, 2014.

GLAISTER, M. et al. . Caffeine Supplementation and Multiple Sprint Running Performance. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, v. 40, n. 10, p. 1835-1840, 2008.

GOLDSTEIN, E. R. et al. . International society of sports nutrition position stand: caffeine and performance. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, v. 7, n. 1, p. 5, 2010.

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

GRAHAM, T. E. et al. . Caffeine ingestion does not alter carbohydrate or fat metabolism in human skeletal muscle during exercise. *Journal of Physiology*, v. 529, n. 3, p. 837-847, 2000.

GRAHAM, T. E. et al. . Does caffeine alter muscle carbohydrate and fat metabolism during exercise? *Applied Physiology Nutrition and Metabolism*, v. 33, n. 6, p. 1311-1318, 2008.

GRAHAM, T. E.; SPRIET, L. L. Metabolic, catecholamine, and exercise performance responses to various doses of caffeine. *Journal of Applied Physiology*, v. 78, n. 3, p. 867-874, 1995.

GRASSI, B. et al. . Faster O<sub>2</sub> uptake kinetics in canine skeletal muscle in situ after acute creatine kinase inhibition. *The Journal of Physiology*, v. 589, n. 1, p. 221-233, 2010.

GRGIC, J. et al. . ADORA2A C Allele Carriers Exhibit Ergogenic Responses to Caffeine Supplementation. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, v. 15, n. 1, p. 18, 2020.

GRGIC, J. et al. . CYP1A2 genotype and acute effects of caffeine on resistance exercise, jumping, and sprinting performance. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, v. 17, n. 21, 2020.

GRGIC, J. et al. . Effects of caffeine intake on muscle strength and power: a systematic review and meta-analysis. *Nutrients*, v. 12, n. 3, p. 741, 2018.

GRGIC, J. et al. . The effects of time of day-specific resistance training on adaptations in skeletal muscle hypertrophy and muscle strength: a systematic review and metaanalysis. *Chronobiol*, v. 36, p. 449-460, 2019.

GRGIC, J. et al. . Wake up and smell the coffee: caffeine supplementation and exercise performance - an umbrella review of 21 published meta-analyses. *British Journal of Sports Medicine*, v. 54, n. 11, p. 681-688, 2019.

GUEST, N. et al. . Caffeine, CYP1A2 Genotype, and Endurance Performance in Athletes. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, v. 50, n. 8, p. 1570-1578, 2018.

HAMMONS, G. J. et al. . Specific site methylation in the 5-flanking region of CYP1A2: Interindividual differences in human livers. *Life Sciences*, v. 69, n. 7, p. 839-845, 2001.

HASKÓ, G. et al. . Adenosine receptor signaling in the brain immune system. *Trends in Pharmacological Sciences*, v. 26, n. 10, p. 511–516, 2005.

HEYES, M. P.; GARNETT, E. S.; COATES, G. Central dopaminergic activity influences rats ability to exercise. *Life Sciences*, v. 36, n. 7, p. 671-677, 1985.

HIGASHI, T. et al. . Changes in regional cerebral blood volume in frontal cortex during mental work with and without caffeine intake: functional monitoring using near-infrared spectroscopy. *Journal of Biomedical Optics*, v. 9, n. 4, p. 788-793, 2004.

HODGSON, A. B.; RANDELL, R. K.; JEUKENDRUP, A. E. The Metabolic and Performance Effects of Caffeine Compared to Coffee during Endurance Exercise. *PLoS ONE*, v. 8, n. 4, p. e59561, 2013.

HOHOFF, C. et al. . Adenosine A (2A) receptor gene: evidence for association of risk variants with panic disorder and anxious personality. *J. Psychiatr.*, v. 44, n. 14, p. 930-937, 2010.

HUANG, Z. L.; URADE, Y.; HAYAISHI, O. Prostaglandins and adenosine in the regulation of sleep and wakefulness. *Current Opinion in Pharmacology*, v. 7, n. 1, p. 33-38, 2007.

IVY, J. L.; COSTILL, D. L.; FINK, W. J. Influence of caffeine and carbohydrate feedings on endurance performance. *Med. Sci. Sports*, v.11, n. 1, p. 6-11, 1979.

JACOBSON, K. A. et al. . Adenosine receptor ligands: differences with acute versus chronic treatment. *Trends in Pharmacological Sciences*, v. 17, n. 3, p. 108–113, 1996.

JACOBSON, K. A. Introduction to Adenosine Receptors as Therapeutic Targets. *Handbook of Experimental Pharmacology*, n. 193, p. 1-24, 2009.

JESZKA-SKOWRON, M.; ZGOLA-GRZESKOWIAK, A.; GRZESKOWIAK, T. Analytical methods applied for the characterization and the determination of bioactive compounds in coffee. *European Food Research and Technology*, v. 240, n. 1, p. 19-31, 2014.

JONES, G. Caffeine and other sympathomimetic stimulants: modes of action and effects on sports performance. *Essays in Biochemistry*, v. 44, p. 109-124, 2008.

JONES, N. et al. . A genetic-based algorithm for personalized resistance-training. *Biology of Sport*, v. 33, n. 2, p. 117-126, 2016.

JONSSON, E. G. et al. . Polymorphisms in the dopamine D2 receptor gene and their relationships to striatal dopamine receptor density of healthy volunteers. *Molecular Psychiatry*, v. 4, n. 3, p. 290-296, 1999.

KALMAR, J. M.; CAFARELLI, E. Caffeine: a valuable tool to study central fatigue in humans? *Exercise and Sport Sciences Reviews*, v. 32, n. 4, p. 143-147, 2004.

KARCZ-KUBICHA, M. et al. . Involvement of Adenosine A1 and A2A Receptors in the Motor Effects of Caffeine after its Acute and Chronic Administration. *Neuropsychopharmacology*, 28(7):1281-1291, 2003.

KERKSICK, C. M. et al. . ISSN exercise & sports nutrition review update: research and recommendations. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, v.15, n. 1, p. 38, 2018.

KLEIN, C. S. et al. . The Effect of Caffeine on Performance in Collegiate Tennis Players. *Journal of Caffeine Research*, v. 2, n. 3, p. 111-116, 2012.

KOCHANSKA-DZIUROWICZ, A. A. et al. . The effect of maximal physical exercise on relationships between the growth hormone (GH) and insulin-like growth factor 1 (IGF-1) and transcriptional activity of CYP1A2 in young ice hockey players. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, v. 55, n. 3, p. 158-163, 2014.

KOUPENOVA, M.; RAVID, K. Adenosine, adenosine receptors and their role in glucose homeostasis and lipid metabolism. *Journal of Cellular Physiology*, v. 228, p. 1703-1712, 2013.

LANDOLF, H. P. Genetic determination of sleep EEG profiles in healthy humans. *Progress in Brain Research*, p. 51-56, 2011.

LANGFORD, T.; GREEN, J. Caffeine Alters RPE-Based Intensity Production. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, v. 49, p. 295, 2017.

LARA, B. et al. . Time course of tolerance to the performance benefits of caffeine. *PLoS ONE*, v.14, n. 1, p. e0210275, 2019.

LAYLAND, J. et al. . Adenosine: physiology, pharmacology, and clinical applications. *JACC: Cardiovascular Interventions*, v. 7, n. 6, p. 581-91, 2014.

LEDENTE, C. et al. . Aggressiveness, hypoalgesia and high blood pressure in mice lacking the adenosine A2A receptor. *Nature*, v. 388, n. 6643, p. 674-678, 1997.

LEE, F. X. Z. et al. . How does  $\alpha$ -actinin-3 deficiency alter muscle function? Mechanistic insights into ACTN3, the “gene for speed. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, v. 1863, n. 4, p. 686-693, 2016.

LEONSKA-DUNIEC, A.; AHMETOV, I. I.; ZMIJEWSKI, P. Genetic variants influencing effectiveness of exercise training programmes in obesity – an overview of human studies. *Biology of Sport*, v. 33, n. 3, p. 207-214, 2016.

LIMA, F. A. et al. . Coffee and human health: a focus on the substances of the beverage related to cardiovascular disease. *Revista de Nutrição*, v. 23, n. 6, p. 1063-1073, 2010.

LIN, J. et al. . Transcriptional co-activator pgc-1 alpha drives the formation of slow-twitch muscle fibres. *Nature*, v. 418, n. 6899, p. 797-801, 2002.

LOUREIRO, L. M. R.; REIS, C. E. G.; COSTA, T. H. M. Effects of Coffee Components on Muscle Glycogen Recovery: A Systematic Review. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, v. 28, n. 3, p. 284-293, 2018.

LOY, B. D. et al. . Caffeine Is Ergogenic for Adenosine A2A Receptor Gene (ADORA2A) T Allele Homozygotes: A Pilot Study. *Journal of Caffeine Research*, v. 5, n. 2, p. 73-81, 2015.

LYNGE, L.; HELLSTEN, Y. Distribution of adenosine A1, A2A and A2B receptors in human skeletal muscle. *Acta Physiologica Scandinavica*, v. 168, n. 4, p. 283-290, 2000.

MA, F. et al. . The Association of Sport Performance with ACE and ACTN3 Genetic Polymorphisms: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Plos One*, v. 8, n. 1, p. e54685, 2013.

MACIEJEWSKA, A. et al. . The ppargc1a gene gly482ser in polish and russian athletes. *Journal of Sports Sciences*, v. 30, n. 1, p. 101-113, 2012.

MAGKOS, F.; KAVOURAS, S. A. Caffeine and ephedrine: Physiological, metabolic and performance-enhancing effects. *Sports Medicine*, v. 34, n. 13, p. 871-889, 2004.

MAZZOTTI, D. R. et al. . Effects of the Adenosine Deaminase Polymorphism and Caffeine Intake on Sleep Parameters in a Large Population Sample. *Sleep*, v. 34, n. 3, p. 399-402, 2011.

MC ARDLE, W. D. *Fisiologia do Exercício: nutrição, energia e desempenho humano*. 8ª edição, Guanabara Koogan, 2016.

MEEUSEN, R. et al. . Central fatigue: the serotonin hypothesis and beyond. *Sports Medicine*, v. 36, n. 10, p. 881-909, 2006.

MEEUSEN, R. et al. . Endurance performance in humans: the effect of a dopamine precursor or a specific serotonin (5-HT2A/2C) antagonist. *International Journal of Sports Medicine*, v. 18, n. 8, p. 571-577, 1997.

MEEUSEN, R.; ROELANDS, B.; SPRIET, L. L. Caffeine, Exercise and the Brain. *Nestlé Nutrition Institute Workshop Series*, v. 76, p. 1-12, 2013.

MIER, D.; KIRSCH, P.; MEYER-LINDENBERG, A. Neural substrates of pleiotropic action of genetic variation in COMT: a meta-analysis. *Mol. Psychiatry*, v. 15, n. 9, p. 918-927, 2010.

MIZUNO, M. et al. . Greater adenosine A2A receptor densities in cardiac and skeletal muscle in endurance-trained men: a TMSX PET study. *Nuclear Medicine and Biology*, v. 32, n. 8, p. 831-836, 2005.

MORIN-MONCET, O. et al. . Bdnf val66met polymorphism is associated with abnormal interhemispheric transfer of a newly acquired motor skill. *Journal of Neurophysiology*, v. 111, n. 10, p. 2094-2102, 2014.

MOTL, R. W.; O'CONNOR, P. J.; DISHMAN, R. K. Effect of caffeine on perceptions of leg muscle pain during moderate intensity cycling exercise. *The Journal of Pain*, v. 4, n. 6, p. 316-321, 2003.

MUÑOZ, A. et al. . Effects of CYP1A2 and ADORA2A Genotypes on the Ergogenic Response to Caffeine in Professional Handball Players. *Genes*, v. 11, n. 8, p. 933, 2020.

NADERI, A. et al. . Timing, Optimal Dose and Intake Duration of Dietary Supplements with Evidence-Based Use in Sports Nutrition. *Journal of Exercise Nutrition and Biochemistry*, v. 20, n. 4, p. 1-12, 2016.

NAPOLIONI, V.; PREDAZZI, I. M. Age and gender-specific association between ADA (22G>A) and TNF- $\alpha$  (-308G>A) genetic polymorphisms. *Tissue Antigens*, v. 76, n. 4, p. 311-314, 2010.

NEHLIG, A. Interindividual Differences in Caffeine Metabolism and Factors Driving Caffeine Consumption. *Pharmacological Reviews*, v. 70, n. 2, p. 384-411, 2018.

NEWSHOLME, E. A.; ACKWORTH, I. N.; BLOMSTRAND, E. Amino acids, brain neurotransmitters and a functional link between muscle and brain that is important in sustained exercise. In *Advances in Myochemistry*, p. 127-133, 1987.

NEZHAD, F. Y. et al. . Genes Whose Gain or Loss-of-Function Increases Endurance Performance in Mice: A Systematic Literature Review. *Frontiers in Physiology*, v. 10, p. 262, 2019.

NIEMI, A. K.; MAJAMAA, K. Mitochondrial DNA and actn3 genotypes in finnish elite endurance and sprint athletes. *European Journal Human Genetics*, v. 13, n. 8, p. 965-969, 2005.

NOBLE, R. J., ROBERTSON, R. J. Perceived exertion. Champaign, Illinois: Human Kinetics, 1996.

NOOHI, F. et al. . Association of comt val158met and drd2 g>t genetic polymorphisms with individual differences in motor learning and performance in female young adults. *Journal of Neurophysiology*, v. 111, n 3, p. 628-640, 2014.

NUNES, R. A. et al. . The association between caffeine consumption and objective sleep variables is dependent on ADORA2A c.1083T>C genotypes. *Sleep Medicine*, v. 30, p. 210-215, 2017.

OKADA, M. et al. . Adenosine Receptor Subtypes Modulate Two Major Functional Pathways for Hippocampal Serotonin Release. *The Journal of Neuroscience*, v. 21, n. 2, p. 628-640, 2001.

PAPADELIS, C. et al. . Effects of mental workload and caffeine on catecholamines and blood pressure compared to performance variations. *Brain and Cognition*, v. 51, n 1, p. 143-154, 2003.

PATAKY, M. W. et al. . Caffeine and 3-km cycling performance: Effects of mouth rinsing, genotype, and time of day. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, v. 26, n. 6, p. 613-619, 2016.

PERERA, V.; GROSS, A. S.; MCLACHLAN, A. J. Diurnal variation in CYP1A2 enzyme activity in South Asians and Europeans. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 65, n. 2, p. 264-270, 2013.

PERRIER, J. F. Modulation of motoneuron activity by serotonin. *Danish Medical Journal*, v. 63, n. 2, p. 1-12, 2016.

PERRIER, J. F.; COTEL, F. Serotonergic modulation of spinal motor control. *Current Opinion in Neurobiology*, v. 33, p. 1-7, 2015.

PETR, M. et al. . Association of Elite Sports Status with Gene Variants of Peroxisome Proliferator Activated Receptors and Their Transcriptional Coactivator. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 21, n. 1, p. 162, 2019.

PICKERING, C.; KIELY, J. Are the Current Guidelines on Caffeine Use in Sport Optimal for Everyone? Inter-individual Variation in Caffeine Ergogenicity, and a Move Towards Personalised Sports Nutrition. *Sports Medicine*, v. 48, n. 1, p. 7-16, 2018.

PIMENTA, E. M. et al. . The actn3 genotype in soccer players in response to acute eccentric training. *European Journal Applied Physiology*, v. 112, n. 4, p. 1495-1503, 2011.

PLASKETT, C. J.; CAFARELLI, E. Caffeine increases endurance and attenuates force sensation during submaximal isometric contractions. *Journal of Applied Physiology*, v. 91, n. 4, p. 1535-1544, 2001.

POO, M. M. Neurotrophins as synaptic modulators. *Nature Reviews Neuroscience*, v. 2, n. 1, p. 24-32, 2001.

POOLE, R. et al. . Coffee consumption and health: umbrella review of meta-analyses of multiple health outcomes. *BMJ*, v. 118, n. 3, p. 69-70, 2017.

PUENTE, C. et al. . The CYP1A2 -163C>A polymorphism does not alter the effects of caffeine on basketball performance. *PLOS ONE*, v. 13, n. 4, p. e0195943, 2018.

RAHIMI, R. The effect of CYP1A2 genotype on the ergogenic properties of caffeine during resistance exercise: a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover study. *Irish Journal of Medical Science*, p. 1-9, 2018.

RENDA, G. et al. . Genetic determinants of blood pressure responses to caffeine drinking. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 95, n. 1 p. 241-248, 2011.

RENDA, G. et al. . Genetic determinants of cognitive responses to caffeine drinking identified from a double-blind, randomized, controlled trial. *European Neuropsychopharmacology*, v. 25, n. 6, p. 798-807, 2015.

RETEY, J. V. et al. . A genetic variation in the adenosine A2A receptor gene (ADORA2A) contributes to individual sensitivity to caffeine effects on sleep. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, v. 81, n. 5, p. 692-698, 2007.

RITCHIE, T.; NOBLE, E. P. Association of Seven Polymorphisms of the D2 Dopamine Receptor Gene with Brain Receptor-Binding Characteristics. *Neurochemical Research*, v. 28, n. 1, p. 73-82, 2003.

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

RODRÍGUEZ, M. et al. . Improvements on neuromuscular performance with caffeine ingestion depend on the time-of-day. *Journal of Science and Medicine in Sport*, v. 18, n. 3, p. 338-342, 2015.

ROGERS, P. J. et al. . Association of the Anxiogenic and Alerting Effects of Caffeine with ADORA2A and ADORA1 Polymorphisms and Habitual Level of Caffeine Consumption. *Neuropsychopharmacology*, v. 35, n. 9, p. 1973-1983, 2010.

ROWELL, L. B. et al. . Splanchnic removal of lactate and pyruvate during prolonged exercise in man. *Applied Physiology*, v. 21, n. 6, p. 1773-1783, 1966.

RUSSELL, A. P. et al. . Endurance Training in Humans Leads to Fiber Type-Specific Increases in Levels of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\gamma$  Coactivator-1 and Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\alpha$  in Skeletal Muscle. *Diabetes*, v. 52, n. 12, p. 2874-2881, 2003.

SALINERO, J. J. et al. . CYP1A2 Genotype Variations Do Not Modify the Benefits and Drawbacks of Caffeine during Exercise: A Pilot Study. *Nutrients*, v. 9, n. 3, p. 269, 2017.

SANCHEZ, M. M. et al. . Bdnf polymorphism predicts the rate of decline in skilled task performance and hippocampal volume in healthy individuals. *Translational Psychiatry*, v. 1, n. 10, p. e51, 2011.

SCHMITT, K. et al. . Circadian Control of DRP1 Activity Regulates Mitochondrial Dynamics and Bioenergetics. *Cell Metabolism*, v. 27, n. 3, p. 657-666, 2018.

SEBASTIÃO, A. M. et al. . Modulation of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) actions in the nervous system by adenosine A2A receptors and the role of lipid rafts. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Biomembranes*, v. 1808, n. 5, p. 1340-1349, 2011.

SHEEL, A. W.; BOUSHEL, R. C.; DEMPSEY, J. A. Competition for blood flow distribution between respiratory and locomotor muscles: implications for muscle fatigue. *Journal of Applied Physiology*, v. 125, p. 820-831, 2018.

SHEN, H. Y. et al. . Selective inactivation of adenosine A2A receptors in striatal neurons abolishes motor and arousal effects of caffeine. *Learning Memory*, v. 18, n. 7, p. 459-474, 2008.

SILVERTHORN, D. U. *Human physiology: an integrated approach*, 7th edition, Hardcover Publish Company, 2016.

SNYDER, E. M.; JOHNSON, B. D.; JOYNER, M. J. Genetics of B2-adrenergic receptors and the cardiopulmonary response to exercise. *Exercise in Sport Sciences Reviews*, v. 36, n. 2, p. 98-105, 2008.

SOUTHWARD, K.; RUTHERFURD-MARKWICK, K. J.; ALI, A. The Effect of Acute Caffeine Ingestion on Endurance Performance: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sports Medicine*, v. 48, n. 8, p. 1913-1928, 2018.

SPINELLI, H. et al. . Caffeine improves various aspects of athletic performance in adolescents independent of their 163 C>A CYP1A2 genotypes. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, v. 30, n. 10, p. 1869-1877, 2020.

SPRIET, L. L. Exercise and sport performance with low doses of caffeine. *Sports Medicine*, v. 44, n. 2, p. 75-84, 2014.

STATHIS, C. G. et al. . Influence of sprint training on human skeletal muscle purine nucleotide metabolism. *Journal of Applied Physiology*, v. 76, n. 4, p. 1802-1809, 1994.

STEIN, D. J. et al. . Warriors Versus Worriers: The Role of COMT Gene Variants. *CNS Spectrums*, v. 11, n. 10, p. 745-748, 2006.

SUPINSKI, G. S.; LEVIN, S.; KELSON, S. G. Caffeine effect on respiratory muscle endurance and sense of effort during loaded breathing. *Journal of Applied Physiology*, v. 60, n. 6, p. 2040-2047, 1986.

SZYMUSIAK, R.; ALAM, N.; MCGINTY, D. Discharge patterns of neurons in cholinergic regions of the basal forebrain during waking and sleep. *Behavioural Brain Research*, v. 115, n. 2, p. 171-182, 2000.

TARNOPOLSKY, M. A. Caffeine and Creatine Use in Sport. *Annals of Nutrition and Metabolism*, v. 57, n. 2, p. 1-8, 2010.

TARNOPOLSKY, M. A. et al. . Physiological responses to caffeine during endurance running in habitual caffeine users. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, v. 21, n. 4, p. 418-424, 1989.

TARTAR, J. L. et al. . The "Warrior" COMT Val/Met Genotype Occurs in Greater Frequencies in Mixed Martial Arts Fighters Relative to Controls. *Journal of Sports Sciences of and Medicine*, v. 19, n. 1, p. 38-42, 2020.

TSIANOS, G. I. et al. . Associations of polymorphisms of eight muscle- or metabolism-related genes with performance in Mount Olympus marathon runners. *Journal of Applied Physiology* v. 108, n. 3, p. 567-574, 2010.

URRY, E.; LANDOLT, H. P. Adenosine, Caffeine, and Performance: From Cognitive Neuroscience of Sleep to Sleep Pharmacogenetics. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, v. 25, p. 331-366, 2014.

VAN DEURSEN, J. et al. . Skeletal Muscles of Mice Deficient in Muscle Creatine Kinase Lack Burst Activity. *Cell*, v. 74, n. 4, p. 621-631, 1993.

VAN DORT, C. J.; BAGHDOYAN, H. A.; LYDIC, R. Adenosine A (1) and A (2A) receptors in mouse prefrontal cortex modulate acetylcholine release and behavioral arousal. *Journal of Neuroscience*, v. 29, p. 871-881, 2009.

VAN ITERSON, E. H.; SNYDER, E. M.; JOHNSON, B. D. Alveolar air and oxidative metabolic demand during exercise in healthy adults: the role of single-nucleotide polymorphisms of the  $\beta$  2 AR gene. *Physiological Reports*, v. 5, n. 20, p. e13476, 2017.

VOICULESCU, M. et al. . Molecular and pharmacodynamic interactions between caffeine and dopaminergic system. *Journal of Medicine and Life*, v. 7, n. 4, p. 30-38, 2014.

WANG, G. J. et al. . PET studies of the effects of aerobic exercise on human striatal dopamine release. *Journal Nucl. Med.*, v. 41, n. 8, p. 1352-1356, 2000.

WIKOFF, D. et al. . Systematic review of the potential adverse effects of caffeine consumption in healthy adults, pregnant women, adolescents, and children. *Food and Chemical Toxicology*, v. 109, n. 1, p. 585-648, 2017.

WOLFARTH, B. et al. . Association between a B2-adrenergic receptor polymorphism and elite endurance performance. *Metabolism*, v. 56, p. 1649–1651, 2007.

WOMACK, J. C. et al. . The influence of a CYP1A2 polymorphism on the ergogenic effects of caffeine. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, v. 9, n. 1, p. 7, 2012.

YAMAMOTO, T.; AZECHI, H.; BOARD, M. Essential Role of Excessive Tryptophan and its Neurometabolites in Fatigue. *The Canadian Journal of Neurological Sciences*, v. 39, n. 1, p. 40-47, 2011.

YAMASHITA, M. Potential Role of Neuroactive Tryptophan Metabolites in Central Fatigue: Establishment of the Fatigue Circuit. *International Journal of Tryptophan Research*, v. 13, n. 1, p. 1-15, 2020.

YAMASHITA, M.; YAMAMOTO, T. Tryptophan circuit in fatigue: From blood to brain and cognition. *Brain Research*, v. 1675, p. 116-126, 2017.

YANG, A.; PALMER, A. A.; DE WIT, H. Genetics of caffeine consumption and responses to caffeine. *Psychopharmacology*, v. 211, n. 3, p. 245-257, 2010.

YEE, M. et al. . Segregation of caffeine reward and aversion in the rat nucleus accumbens shell versus core. *European Journal of Neuroscience*, v. 52, n. 3, p. 3074-3086, 2020.

**ANEXO A – Classificação do consumo de cafeína (mg/Kg)**

<b>Consumo habitual de cafeína</b>	<b>Dose de cafeína (<math>\geq 4</math> semanas)</b>
<b>Não consumidor</b>	< 25 mg/dia
<b>Consumo baixo</b>	de 25 mg/dia a 0.99 mg/kg/dia
<b>Consumo leve</b>	1.00 – 2.99 mg/kg/dia
<b>Consumo moderado</b>	3.00 – 5.99 mg/kg/dia
<b>Consumo alto</b>	6.00 – 8.99 mg/kg/dia
<b>Consumo muito alto</b>	>9.00 mg/kg/dia

Fonte: Filip *et al.* 2020