

LAÍS MONTEIRO RODRIGUES LOUREIRO

EFEITO DO CAFÉ NA RECUPERAÇÃO DO GLICOGÊNIO MUSCULAR NO
PÓS-TREINO DE CICLISMO

Brasília, 2020



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

LAÍS MONTEIRO RODRIGUES LOUREIRO

EFEITO DO CAFÉ NA RECUPERAÇÃO DO GLICOGÊNIO MUSCULAR NO
PÓS-TREINO DE CICLISMO

Tese apresentada como requisito parcial para a
obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde
pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da
Saúde da Universidade de Brasília.

Orientadora: Teresa Helena Macedo da Costa

Co-orientador: Caio Eduardo Gonçalves Reis

BRASÍLIA

2020

LAÍS MONTEIRO RODRIGUES LOUREIRO

EFEITO DO CAFÉ NA RECUPERAÇÃO DO GLICOGÊNIO MUSCULAR NO
PÓS-TREINO DE CICLISMO

Tese apresentada como requisito parcial para a
obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde
pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da
Saúde da Universidade de Brasília.

Aprovado em 31 de agosto de 2020

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Teresa Helena M. da Costa - Presidente
Universidade de Brasília

Profa. Dra. Josely Correa Koury
Universidade Estadual do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Ricardo Moreno Lima
Universidade de Brasília

Prof. Dr. Francisco de Assis Rocha Neves
Universidade de Brasília

Prof. Dr. Emerson Fachin Martins (suplente)
Universidade de Brasília

A Vitor e João Paulo

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder saúde e me conduzir rumo à concretização deste trabalho.

À minha orientadora, professora Teresa Helena Macedo da Costa, pela honra de me permitir conduzir este projeto, pela generosidade na conduta da minha formação e por ser exemplo de entusiasmo pela carreira e pela vida.

Ao meu co-orientador, professor Caio Eduardo Gonçalves Reis, pelo companheirismo e tantos ensinamentos ao longo deste período.

Aos professores Sandra Arruda, Eugênio Neto, Guilherme Molina, João Durigan, Rita de Cássia Marqueti e Angélica Amato pelas contribuições valiosas ao longo de todo o trabalho.

Aos técnicos do laboratório, Thais, Mário e especialmente Luiz, por toda a ajuda e contribuição para o projeto.

Aos voluntários que participaram desta pesquisa, pela confiança e valiosa disponibilidade em contribuir com a ciência, a formação de pesquisadores e geração de conhecimento.

Aos alunos do curso de Nutrição da UnB, pela experiência enriquecedora no estágio em docência e como professora voluntária.

Aos colegas do laboratório, Marcela, Natália, André, Aráida, Alessandra, Bruna, Carolina, Rafael, Larissa, Ananda, Lara Nabuco, Lara Saraiva, Willian, e também aos alunos de iniciação científica, pela ajuda, colaboração e pela convivência sempre tão agradável.

Ao laboratório Sabin, pela parceria do Núcleo de Apoio à Pesquisa (NAP) com o nosso projeto.

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAPDF), pelo financiamento do projeto e concessão da bolsa de doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de doutorado.

À UnB e ao PPGCS, pela oportunidade de ingressar no programa e me tornar doutora em Ciências da Saúde.

A meus pais, Bráulio e Consolação, por me ajudarem de perto e de longe, pelo amor, carinho e pelas orações.

A meus irmãos Renan e Raphael, pelo carinho, torcida e sintonia.

Ao meu marido Vitor, por ser o melhor companheiro que eu poderia ter, por me ajudar a alcançar este objetivo sem nunca me deixar sobrecarregada e fazer a nossa caminhada muito feliz.

Ao meu filho João Paulo, por encher minha vida de felicidade, de amor e do cansaço bom da maternidade, que ajuda a superar os desafios na construção da minha carreira.

À Jo, por cuidar do meu bem mais precioso na minha ausência.

Às queridas Carol, Mari e Tati, pela amizade sincera de tantos anos, que mesmo distante me faz tão bem.

Aos familiares e amigos, pelo carinho, torcida e orações.

A todos que colaboraram para a concretização deste trabalho, meu sincero agradecimento.

I would feel more optimistic about a bright future for man if he spent less time proving that he can outwit Nature and more time tasting her sweetness and respecting her seniority.

- Elwyn Brooks White

SOBRE A AUTORA

Sou nutricionista, graduada em 2010 pela Universidade Federal de Viçosa (UFV). Minha principal experiência acadêmica durante a graduação foi a participação no Programa de Educação Tutorial/ PET-Nutrição por quatro anos, durante os quais tive amplo contato com atividades de Ensino, Pesquisa e Extensão. Ao me formar eu era uma nutricionista apaixonada pela profissão, queria muito fazer a diferença na vida das pessoas e ainda não pensava em seguir a carreira acadêmica.

Minha primeira experiência profissional foi como gerente de uma unidade de alimentação em uma multinacional, onde aprendi muito sobre os desafios do mercado de trabalho, gestão de pessoas e liderança. Ao mesmo tempo cursei uma pós-graduação *lato sensu* com o intuito de aprofundar os conhecimentos sobre a dinâmica de atendimentos nutricionais e iniciar também esta empreitada. Durante a elaboração do trabalho de conclusão de curso senti vontade de continuar os estudos e voltar à Academia.

Em 2013 retornei à UFV, ingressando no Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, cursando o mestrado na área de Saúde e Nutrição de Grupos Populacionais. Integrei o Grupo de Estudos e Práticas sobre Envelhecimento, Nutrição e Saúde/GREENS-UFV, que me ensinou muito sobre o papel da pesquisa científica e da aplicação prática do conhecimento na vida da comunidade. O mestrado foi uma experiência intensa e enriquecedora, que consolidou meu interesse na carreira acadêmica.

Em 2015, ao me mudar para Brasília, conheci professora Teresa, que me indicou o tema do projeto para o qual abriria uma vaga para o doutorado. Fui aprovada no processo seletivo para ingresso no Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília (UnB) e aceitei o desafio de migrar para a área da bioquímica e nutrição no esporte, desenvolvendo o projeto no Laboratório de Bioquímica da Nutrição, Núcleo de Nutrição. Participar de todas as etapas do desenvolvimento de uma pesquisa foi parte importantíssima na minha formação, começando pela elaboração do projeto, submissão ao comitê de ética e aos órgãos de financiamento, montagem do laboratório, seleção dos participantes, execução do experimento e agora, divulgação dos primeiros resultados obtidos. Durante o

doutorado também pude estar em sala de aula no estágio em docência e posteriormente como professora voluntária. O contato com os alunos da graduação foi muito proveitoso e a docência se tornou uma das partes mais gratificantes na construção da minha carreira.

Conhecer o processo de construção do conhecimento científico é um privilégio e traz grande responsabilidade. A nutrição nos esportes é uma área em pleno desenvolvimento e o crescente número de atletas em busca de saúde e melhor desempenho esportivo torna esta área passível de influências midiáticas e práticas sem comprovação. Neste sentido, a condução de pesquisas de qualidade é essencial para o acesso dos profissionais ao conhecimento baseado em evidências científicas. Esta tese tem o objetivo de divulgar os primeiros resultados obtidos no Projeto CaféEx, do qual tive a honra de ser a primeira doutoranda. Sou uma grande admiradora do esforço e disciplina dos atletas e me sinto muito feliz em poder contribuir para o sucesso deles. Que nossos resultados sejam proveitosos na sua árdua rotina de treinos e que esta tese seja útil para alunos e profissionais.

RESUMO

Introdução: O café é uma das bebidas mais consumidas no mundo e seu efeito nos exercícios físicos é conhecido graças ao papel da cafeína na melhora do desempenho. O carboidrato é o substrato energético primário para a realização de exercícios e um dos determinantes do desempenho dos atletas em esportes de resistência. Algumas substâncias do café têm mostrado resultados positivos no metabolismo da glicose e são promissoras em relação à recuperação de glicogênio muscular pós-treino. **Objetivo:** Investigar os efeitos do café com leite adoçado, consumido após exercício físico extenuante, sobre a resposta glicêmica e insulinêmica, e na deposição de glicogênio muscular. **Método:** Ensaio clínico, duplo cego, cruzado e randomizado. Foram selecionados ciclistas ou triatletas, adultos, do sexo masculino, treinados recreacionais, com VO_{2max} mínimo de 45 mL/kg/min e pico de potência (PPO) de 280 watts, obtidos em um teste incremental cardiopulmonar. Inicialmente os atletas compareceram ao laboratório para um exercício intervalado até a fadiga em cicloergômetro com objetivo de depletarem as reservas de glicogênio muscular. Na manhã seguinte retornaram em jejum e iniciaram o segundo protocolo de exercício a 70% PPO até fadiga, seguido da recuperação de 4 h. Foram realizadas oito coletas de sangue ao longo do experimento e duas biópsias musculares, no início (b1) e ao final (b2) da recuperação. Após a primeira biópsia os voluntários receberam a primeira dose da bebida teste (Café+leite) ou da bebida controle (Leite). A segunda dose da bebida foi fornecida no tempo 60 minutos e a terceira dose, nos moldes de um desjejum, no tempo 120 minutos. Foram fornecidos um total de 8mg de cafeína/kg de peso, 3,6g de carboidratos/kg e 0,9g de proteínas/kg (razão carboidrato/proteína de 4:1). Foram determinadas glicose e insulina na curva de tempo e calculadas as áreas totais abaixo da curva (TAUC) de resposta glicêmica e insulinêmica. A análise conduzida com o tecido muscular foi a dosagem de glicogênio nas biópsias b1 e b2. Foi aplicada a análise do efeito de medidas repetidas usando o procedimento de modelos mistos (PROC MIXED). Os valores das médias dos mínimos quadrados e seu erro padrão foram apresentados e comparados entre os tratamentos usando o teste *t de Student* com $\alpha = 0,05$. **Resultado:** Onze atletas completaram o experimento e participaram das análises (idade 39 ± 6 anos; IMC 24,0

$\pm 2,3 \text{ kg/m}^2$; $\text{VO}_{2\text{máx}} 59,9 \pm 8,3 \text{ mL/kg/min}$; $\text{PPO } 346 \pm 39 \text{ W}$). De acordo com a TAUC a ingestão de Café+leite resultou em maior resposta glicêmica ($p = 0,02$) e insulinêmica ($p = 0,03$) após 4 h de recuperação. Além disso, o tratamento Café+leite resultou em níveis de glicogênio muscular 40% maiores ao final da recuperação em comparação ao tratamento Leite ($p = 0,01$). Conclusão: O consumo de café com leite adoçado e uma refeição sólida favorece a produção de insulina, captação de glicose e a deposição de glicogênio muscular no período pós-treino. A adição de café a uma bebida com quantidades adequadas de carboidrato e proteína aumentou a TAUC na resposta glicêmica e insulinêmica e o acúmulo de glicogênio muscular durante as 4 h de recuperação após exercício extenuante.

Palavras-chave: café; exercício; glicogênio; glicose; insulina.

ABSTRACT

Introduction: Coffee is one of the most consumed beverages in the world and its effect on physical exercise is known due to the role of caffeine in improving performance. Carbohydrate is the primary energy substrate for exercise and one of the determinants of athletes' performance in endurance sports. Some substances in coffee have a positive effect on glucose metabolism and are promising for post-workout muscle glycogen recovery. **Objective:** To investigate the effects of sweetened coffee with milk consumed after intense exercise on glycemic and insulinemic response, and on muscle glycogen recovery. **Method:** Double-blind, crossover and randomized clinical trial. We selected adult recreational trained cyclists or triathletes, with a minimum VO_{2max} of 45 mL / kg / min and peak power output (PPO) of 280 watts, obtained in an incremental cardiopulmonary test. Initially, the athletes performed an intermittent exercise until fatigue on a cycle ergometer to deplete muscle glycogen reserves. The following morning, they returned to the laboratory in fasting state and started the second exercise protocol at 70% PPO until fatigue, followed by 4 h of recovery. Eight blood samples were collected throughout the experiment and two muscle biopsies were performed, at the beginning (b1) and at the end (b2) of the recovery. After the first biopsy, volunteers received the first dose of the test beverage (Coffee + milk) or the control beverage (Milk). The second dose was delivered in 60 minutes and the third, in the form of a breakfast, in 120 minutes. Beverages provided a total of 8mg of caffeine / kg of weight, 3.6g of carbohydrates / kg and 0.9g of proteins / kg (carbohydrate to protein ratio of 4:1). Glucose and insulin were determined on the time curve and the total areas under the curve (TAUC) of glycemic and insulinemic response were calculated. The analyzes conducted with the muscular tissue was the measurement of glycogen in biopsies b1 and b2. Analysis of the effect of repeated measures was applied using the mixed model procedure (PROC MIXED). The values of the least square means and their standard error were presented and compared between treatments using Student's t-test with $\alpha = 0.05$. **Result:** Eleven athletes completed the experiment and participated in the analyzes (age 39 ± 6 years; BMI 24.0 ± 2.3 kg / m²; VO_{2max} 59.9 ± 8.3 mL / kg / min; PPO 346 ± 39 W). According to TAUC, the intake of Coffee + milk resulted in a higher glycemic ($p = 0.02$) and insulinemic

response ($p = 0.03$) after 4 h of recovery. In addition, the Coffee + milk treatment resulted in muscle glycogen levels 40% higher at the end of recovery compared to the Milk treatment ($p = 0.01$). Conclusion: The intake of coffee with sweetened milk and a solid meal favors insulin production, glucose uptake and muscle glycogen deposition in the post-workout period. The addition of coffee to a beverage with adequate amounts of carbohydrate and protein increased the accumulation of muscle glycogen and the TAUC in the glycemic and insulinemic responses during the 4 h of recovery after intense exercise.

Keywords: coffee; exercise; glycogen; glucose; insulin.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Capítulo 1

Figura 1 Mecanismo de ação da insulina na célula muscular após ativação do receptor ativo de insulina (INS-R).....25

Figura 2 Síntese do glicogênio muscular.....28

Figura 3 Gráfico ilustrativo dos registros metabólicos durante o teste incremental cardiopulmonar máximo em um voluntário. Brasília - DF, 201833

Capítulo 2

Figura 4 Atleta em teste de esforço máximo incremental cardiopulmonar. Brasília - DF, 2019.....47

Figura 5 Desenho experimental na linha de tempo do Projeto CaféEx. Brasília - DF, 2019.....50

Figura 6 Amostra de tecido muscular obtida através de biópsia. Projeto CaféEx, Brasília - DF, 2019.....56

Figura 7 Fluxograma de recrutamento e participação dos voluntários. Projeto CaféEx, Brasília - DF, 2019.....61

Capítulo 3

Figura 8 (A) Curva glicêmica na recuperação durante 4 horas (240min); (B) Curva insulinêmica na recuperação durante 4 horas (240min); (C) Médias dos mínimos quadrados + Erro Padrão da Área Total Abaixo da Curva para glicose; (D) Médias dos mínimos quadrados + Erro Padrão da Área Total Abaixo da Curva para insulina. Projeto CaféEx, Brasília - DF, 2019.....66

Figura 9 Glicogênio muscular imediatamente após o exercício em cicloergômetro até fadiga voluntária (70% VO_{2max}) (0 h), ao final de 4 h de recuperação e a diferença entre 0h e 4h (Δ). Projeto CaféEx, Brasília - DF, 2019.....68

LISTA DE TABELAS

Capítulo 3

- Tabela 1** Características dos atletas participantes no início do estudo. Projeto CaféEx, Brasília - DF, 2019.....62
- Tabela 2** Média da ingestão diária de energia e macronutrientes dos atletas participantes durante o estudo. Projeto CaféEx, Brasília - DF, 2019.....63
- Tabela 3** Tempo total de exercício e ingestão de macronutrientes no jantar para depleção do glicogênio muscular nos dois experimentos. Projeto CaféEx, Brasília - DF, 2019.....63
- Tabela 4** Volume e quantidade total das refeições fornecidas durante o período de recuperação. Projeto CaféEx, Brasília - DF, 2019.....64
- Tabela 5** Valores de glicogênio obtidos no tecido muscular dos atletas nos dois dias de experimento, apresentados em g/100g ww⁻¹ e mmol/kg dw⁻¹. Projeto CaféEx, Brasília - DF, 2019.....67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%GC: Percentual de gordura corporal

ACC: *Acetil-CoA carboxylase* ou Acetil-CoA carboxilase

Acetil-CoA: Acetil-Coenzima A

Akt: *Protein kinase B* ou Proteína quinase B

AMPK: *Adenosine monophosphate-activated protein kinase* ou Proteína quinase ativada por adenosina monofosfato

ATP: Adenosina trifosfato

b1: Primeira biópsia

b2: Segunda biópsia

BMX: *Bicycle moto cross* ou Bicicross

Ca²⁺: ânion de Cálcio

CaféEx: Café e Exercício físico

CaMK: Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase ou Proteína quinase dependente de Ca²⁺/calmodulina

CHO: Carboidrato ou Carboidratos

CO₂: Dióxido de carbono

DP: Desvio padrão

dw: *Dry weight* ou Peso seco

EP: Erro padrão

g: gramas

g/100g ww⁻¹: Gramas por cem gramas de peso úmido

G1P: *Glucose 1-phosphate* ou Glicose 1-fosfato

G6P: *Glucose 6-phosphate* ou Glicose 6-fosfato

GLUT-2: Transportador de glicose tipo 2

GLUT-4: Transportador de glicose tipo 4

GS: *Glycogen synthase* ou Glicogênio sintase

GSK3: *Glycogen synthase kinase 3* ou Glicogênio sintase quinase 3

h: Horas

IMC: Índice de massa corporal

INS-R: *Insulin receptor* ou Receptor ativo de insulina

IRS-1: *Insulin receptor substrate-1* ou Substrato do receptor de insulina-1

kg: Quilograma

mL/kg/min: Mililitro por quilograma por minuto

mmol/L: mili mol por litro

MTB: *Mountain bike*

nm: Nanômetros

O₂: Oxigênio

PI-3K: *Phosphatidylinositol-3-kinase* ou Fosfatidilinositol 3-quinase

PIP₂: *Phosphatidylinositol (4,5)-bisphosphate* ou Fosfatidilinositol (4,5)-bifosfato

PIP₃: *Phosphatidylinositol (3,4,5)-trisphosphate* ou Fosfatidilinositol (3,4,5)-trifosfato

PKB: *Protein kinase B* ou Proteína quinase B

PPO: *Peak power output* ou Pico de potência

QFA: Questionário de frequência alimentar

QR: Quociente respiratório

r²: Coeficiente de determinação

TAUC: *Total área under the curve* ou Área total abaixo da curva

TCLE: Termo de consentimento livre e esclarecido

UDP: *Uridine diphosphate* ou Uridina difosfato

UTP: *Uridine triphosphate* ou Uridina trifosfato

VCO₂: Volume de dióxido de carbono

VO_{2máx}: Volume máximo de oxigênio

ww: *Wet weight* ou Peso úmido

μL: Microlitros

μUI/mL: micro unidades internacionais por mililitro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
2.1 METABOLISMO DE CARBOIDRATOS	22
2.1.1 Glicose	22
2.1.2 Insulina	24
2.1.3 Glicogênio muscular	26
2.2 ESPORTES DE RESISTÊNCIA	29
2.2.1 Características e fisiologia do ciclismo	30
2.2.1.1 Teste incremental cardiopulmonar	31
2.2.2 Importância do glicogênio muscular durante o exercício	34
2.2.3 Recuperação do glicogênio muscular pós-exercício	34
2.3 CAFÉ NA RECUPERAÇÃO PÓS-EXERCÍCIO	36
2.3.1 Café	36
2.3.2 Compostos bioativos	36
2.3.3 Café e metabolismo do glicogênio	37
2.4 LEITE E SACAROSE NA RECUPERAÇÃO PÓS-EXERCÍCIO.....	38
3 HIPÓTESE	40
4 JUSTIFICATIVA	40
5 OBJETIVOS	41
5.1 OBJETIVO GERAL	41
5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	41
CAPÍTULO 2	42
6 MÉTODOS	42
6.1 DELINEAMENTO	42
6.2 PARTICIPANTES.....	43
6.2.1 Cálculo amostral	43
6.2.2 Critérios de inclusão	43
6.2.3 Critérios de exclusão	44
6.3 DIVULGAÇÃO E PRÉ-SELEÇÃO.....	44
6.4 TRIAGEM E TESTES PRELIMINARES.....	45
6.5 CONTROLE DA DIETA E ATIVIDADE FÍSICA.....	48

6.6 EXPERIMENTO	49
6.6.1 Fase Preparatória	49
6.6.2 Fase Experimental	50
6.6.2.1 Exercício	51
6.6.2.2 Recuperação	51
6.6.2.3 Biópsia muscular	52
6.6.2.4 Bebidas e refeição teste	53
6.6.2.4.1 <i>Cegamento dos participantes e pesquisadores</i>	54
6.6.2.4.2 <i>Aceitação das bebidas</i>	55
6.7 ANÁLISES E VARIÁVEIS	55
6.7.1 Sangue	55
6.7.2 Tecido muscular	56
6.7.2.1 Glicogênio muscular	57
6.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA	58
6.9 ASPECTOS ÉTICOS	59
7 FINANCIAMENTO	61
7.1 PROJETO	61
7.2 BOLSAS	61
CAPÍTULO 3	62
8 RESULTADOS	62
8.1 SELEÇÃO E CARACTERÍSTICAS DOS PARTICIPANTES	62
8.2 INTERVENÇÃO DIETÉTICA E EXERCÍCIO PARA DEPLEÇÃO DO GLICOGÊNIO MUSCULAR	64
8.3 BEBIDAS	65
8.3.1 Cegamento dos participantes	66
8.3.2 Aceitação das bebidas	66
8.4 RESPOSTA GLICÊMICA E INSULINÊMICA	66
8.5 GLICOGÊNIO MUSCULAR	68
9 DISCUSSÃO	70
9.1 GLICOGÊNIO MUSCULAR	70
9.2 RESPOSTA GLICÊMICA E INSULINÊMICA	73

9.3 CARACTERÍSTICAS DOS PARTICIPANTES	75
9.4 CEGAMENTO DOS ATLETAS QUANTO AO TIPO DE BEBIDA	76
9.5 SINTOMAS GASTROINTESTINAIS DURANTE O EXPERIMENTO	77
10 CONCLUSÃO	78
REFERÊNCIAS	79
APÊNDICES	88
ANEXO	101

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

O café é um dos alimentos mais comercializados do mundo, com seu consumo crescendo a cada ano [1]. Seu efeito benéfico nos exercícios físicos, especialmente nos esportes de resistência (*endurance*), é conhecido graças ao papel da cafeína na melhora do desempenho, na redução da percepção de esforço, fadiga ou dor associada ao exercício, quando consumida antes dos treinos [2, 3]. Além dos efeitos comprovados no esporte, há evidências de benefício do consumo de café no metabolismo da glicose, mesmo com adição de açúcar, especialmente em estudos de seguimento a longo prazo [4]. Por outro lado, delineamentos experimentais agudos com consumo de café cafeinado e descafeinado observaram aumento da secreção e sensibilidade à insulina em vários perfis individuais [5–7].

O carboidrato (CHO) é o substrato energético primário para a realização de exercícios físicos e um dos determinantes do desempenho dos atletas em esportes de resistência moderada a alta [8–10]. Embora as reservas de glicogênio muscular não se recuperem completamente em poucas horas, é interessante que os atletas sigam as recomendações nutricionais na fase inicial da recuperação (0–4 h) para maximizar o processo, devido às taxas de síntese de glicogênio serem ligeiramente mais altas durante esta fase [11, 12]. Deve haver atenção especial às recomendações nos casos em que os atletas treinam mais de uma vez ao dia ou em competições com provas de classificação sendo disputadas poucas horas antes do evento principal [8, 13].

Nesse sentido, algumas substâncias do café, como cafeína, ácido cafeico e cafestol, têm mostrado resultados positivos no metabolismo da glicose e são promissoras em relação à recuperação de glicogênio pós-treino [14]. No entanto, nenhum estudo foi realizado até o momento para avaliar o possível efeito do consumo de café adicionado aos carboidratos na recuperação do glicogênio muscular.

A seleção de alimentos ou bebidas ricas em CHO para compor uma boa refeição pós-exercício deve considerar outros objetivos nutricionais relacionados à recuperação, como hidratação e síntese de proteínas musculares [8]. Nesse aspecto, o leite aparece como uma boa opção, pois além do potencial de reidratação devido à

presença de água e minerais, também contém carboidratos e proteínas de alta digestibilidade e valor biológico, respectivamente [15]. No Brasil, o consumo de leite é frequentemente associado ao café filtrado [16].

Baseado nos efeitos do café sobre a sensibilidade à insulina e metabolismo da glicose, além da lacuna existente em relação aos possíveis benefícios do consumo de café após o exercício, este estudo teve como objetivo investigar o efeito do consumo de café, acompanhado pelas quantidades recomendadas de fontes de carboidratos e proteínas, na recuperação do glicogênio muscular de atletas após exercício extenuante de ciclismo. Nossa hipótese foi de que o consumo de café com leite adoçado e uma refeição sólida favorece a captação de glicose e a deposição de glicogênio muscular pós-treino, quando comparado ao consumo de leite adoçado com uma refeição sólida. O projeto foi denominado CaféEx – Café e Exercício físico.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 METABOLISMO DE CARBOIDRATOS

2.1.1 Glicose

No processo de digestão, depois de serem absorvidos no intestino, os carboidratos deixam o epitélio intestinal em direção aos capilares, sendo conduzidos pela corrente sanguínea até o fígado e depois aos músculos e outros tecidos. A glicose entra nos hepatócitos através do transportador de glicose tipo 2 (GLUT-2), permanentemente posicionado na membrana plasmática dessas células. Nas células musculares, a glicose é captada da corrente sanguínea através do GLUT-4, que está localizado em vesículas intracelulares que se deslocam para a membrana em resposta à sinalização da insulina, à liberação de cálcio na contração muscular ou à intensa depleção do glicogênio muscular [17].

Dentro dos hepatócitos a glicose é fosforilada, formando glicose 6-fosfato (G6P). Outros monossacarídeos, como galactose e frutose, também são convertidos em G6P por reações enzimáticas para continuidade das vias metabólicas dos carboidratos. A G6P pode seguir alguns caminhos no fígado. Uma opção é ser defosforilada pela glicose 6-fosfatase e liberada na corrente sanguínea como glicose livre para manter a glicemia constante e disponível para outros tecidos, inclusive os músculos [18].

O metabolismo nas células musculares é especializado em gerar ATP como fonte imediata de energia para contração. Os músculos podem utilizar como fonte de energia os ácidos graxos livres, corpos cetônicos ou a glicose, a depender da intensidade do exercício físico e disponibilidade do combustível. Em músculos em repouso a fonte primária de energia são os ácidos graxos. Eles são oxidados a acetil-CoA e no ciclo do ácido cítrico são oxidados a CO₂. A transferência de elétrons para O₂ fornece energia para síntese de ATP. A musculatura moderadamente ativa também usa glicose sanguínea proveniente do fígado, além da G6P resultante da mobilização de glicogênio muscular em treinos com intensidade entre 50 e 90% do VO_{2máx} [19]. A glicose é convertida a piruvato e em seguida acetil-CoA no processo da glicólise, seguindo também para o ciclo do ácido cítrico e fosforilação oxidativa [17].

Os músculos em atividade muito intensa têm a demanda por ATP tão grande que o fluxo sanguíneo não é capaz de fornecer O₂ suficiente para o metabolismo aeróbico. Nestas condições o glicogênio muscular é degradado pela fermentação e gera lactato. O metabolismo anaeróbico da glicose responde mais rapidamente à demanda por ATP, apesar de ser menos eficiente em quantidade de energia gerada. Com o final da atividade extenuante o O₂ captado é utilizado na fosforilação oxidativa no fígado. O ATP produzido é utilizado na gliconeogênese, também no fígado, com o lactato dos músculos como precursor para glicose. Esta glicose resultante da gliconeogênese retorna aos músculos para repor o glicogênio depletado. Este processo é chamado *ciclo de Cori*. Outra fonte de glicose idealmente disponível após exercícios intensos é aquela adquirida pela dieta, com quantidades adequadas de macronutrientes para proporcionar a recuperação do glicogênio em maior ou menor tempo, a depender da necessidade do indivíduo [20].

2.1.2 Insulina

No organismo em condições normais de saúde existe um ajuste constante para manter a glicose sanguínea em valores próximos a 4,5 mmol/L ou 80 mg/dL. Este ajuste envolve diversos hormônios, como glucagon, epinefrina, norepinefrina, cortisol e o principal, a insulina. Valores normais de insulina em indivíduos saudáveis em jejum estão abaixo de 5 μ UI/mL [21]. Os principais órgãos envolvidos neste processo são fígado, músculos e tecido adiposo. Sempre que ocorre aumento da glicemia após consumo de alimentos fonte de carboidrato, a sinalização pela insulina aumenta a captação de glicose por estes tecidos, convertendo-a em glicogênio e triacilgliceróis [22].

O hormônio insulina é uma proteína com duas cadeias polipeptídicas. É um hormônio do tipo endócrino, produzido inicialmente como pró-insulina e armazenado em grânulos secretores nas células β do pâncreas. Em resposta ao estímulo de aumento da glicemia ocorre conversão a insulina ativa e liberação para transporte pelo sangue até os sítios de ação. A insulina se liga a seu receptor e inicia uma sinalização que promove uma cascata de reações. O *receptor ativo de insulina (INS-R)* é uma proteína transmembrânica que tem duas subunidades α externas à célula, onde se liga a insulina e ativa as duas subunidades β no interior da célula. As proteínas fosforiladas em seguida na cascata são o *substrato do receptor de insulina-1 (IRS-1)*, *fosfoinosítideo 3-quinase (PI-3K)*, *fosfatidilinositol* (convertido de *PIP₂* a *PIP₃*), e *proteína quinase B (PKB ou Akt)* [22].

Akt então estimula a movimentação do transportador de glicose GLUT-4 nas células do tecido muscular. O GLUT-4 deixa as vesículas internas e é translocado para a membrana plasmática, permitindo a captação de glicose da corrente sanguínea, o que aumenta o substrato disponível para a síntese de glicogênio. Uma vez dentro das células a glicose é convertida em G6P e glicogênio. O outro efeito da insulina na síntese de glicogênio também acontece por meio da Akt fosforilada a partir da cascata de sinalização. Akt fosforila e inativa a *glicogênio sintase quinase 3 (GSK3)*. A GSK3 é a enzima que fosforila e inativa a glicogênio sintase (GS), enzima responsável pela polimerização das moléculas de glicogênio muscular e hepático. Portanto, um dos efeitos da insulina como hormônio anabólico na síntese de

glicogênio é aumentar a captação de glicose pelas células musculares, e o outro é inativar a enzima GSK3 [23] (Figura 1).

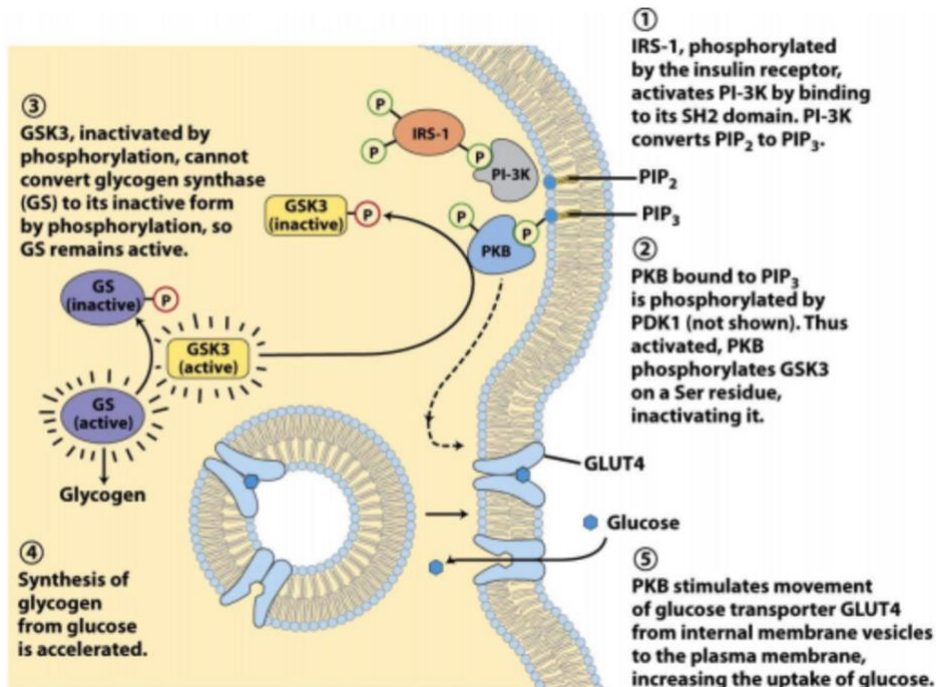


Figura 1 Mecanismo de ação da insulina na célula muscular após ativação do receptor ativo de insulina (INS-R). São fosforilados IRS-1, PI-3K, PIP₂, PKB (ou Akt). Akt promove translocação do GLUT-4 para membrana e permite a entrada de glicose na célula, além de inativar GSK3, mantendo ativa a GS. Fonte: Lehninger Principles of Biochemistry, 2008 [23].

Durante os exercícios de resistência ocorre redução na liberação de insulina e aumento da liberação de seus hormônios antagônicos, glucagon, epinefrina e norepinefrina, responsáveis pela glicogenólise e liberação de glicose hepática para geração de energia nos músculos. Porém, quanto maior o nível de treinamento dos atletas, menor é o impacto do exercício na variação destes hormônios, pois o treino regular promove uma economia metabólica que se reflete na atenuação da resposta neuroendócrina ao exercício [24].

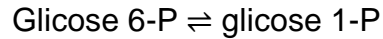
2.1.3 Glicogênio muscular

O glicogênio é o polissacarídeo de maior importância para reserva de energia sob a forma de carboidrato nas células animais. Ele é um homopolissacarídeo, ou seja, contém apenas um tipo de monossacarídeo em sua estrutura: a glicose. É uma longa cadeia de resíduos de D-glicose conectadas por ligações ($\alpha 1 \rightarrow 4$). A cada 8 a 12 resíduos, há uma ramificação com ligação ($\alpha 1 \rightarrow 6$), fazendo com que a molécula de glicogênio seja altamente ramificada e compacta [25]. O glicogênio está presente sob a forma de grânulos e é muito abundante no fígado, onde constitui até 10% do peso úmido do órgão, além do músculo esquelético, representando 1 a 2% do peso úmido muscular [18]. O peso molecular do glicogênio chega a muitos milhões, porém não existe um número certo pois a sua síntese é feita pela enzima que catalisa a polimerização e não há limite no processo de acordo com o tamanho da cadeia. A partícula elementar do glicogênio, β -partícula, tem aproximadamente 21nm de diâmetro e contém até 55 mil resíduos de glicose com 2 mil terminações não redutoras. Estas partículas se unem em 20 a 40 unidades e formam grânulos abundantes durante a recuperação [26].

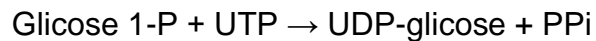
Os grânulos de glicogênio também contêm as enzimas responsáveis pela sua polimerização (*glicogênio sintase*) e hidrólise (*glicogênio fosforilase*), fortemente ligadas a eles. Cada ramificação da molécula de glicogênio termina com uma unidade de monossacarídeo não redutora. Quando é necessário usar o glicogênio como fonte de energia as unidades de glicose são removidas destas terminações não redutoras [26].

O glicogênio muscular está disponível para fornecer energia rápida tanto para o metabolismo aeróbico quanto anaeróbico. Ele pode ser consumido em apenas 1 h durante exercícios de alta intensidade ($> 70\% \text{VO}_{2\text{máx}}$) quando não há fornecimento de CHO exógeno [27]. Já o glicogênio hepático garante uma reserva de carboidrato para situações em que a glicose dietética não está disponível, por exemplo entre as refeições e durante o jejum noturno, e tem duração de 12 a 24 h [25]. Há indícios de que o glicogênio hepático é poupado em atletas treinados durante exercícios de alta intensidade, em comparação com indivíduos saudáveis não treinados; uma economia metabólica advinda do treinamento regular em alta intensidade [18].

Para iniciar a síntese de glicogênio a glicose 6-fosfato (G6P) disponível nas células musculares precisa ser convertida a glicose 1-fosfato (G1P) por ação da enzima *fosfoglucomutase*:



O processo de polimerização de hexoses, como a formação de glicogênio a partir de glicose, requer a presença de um nucleotídeo de açúcar. A G1P é então convertida a UDP-glicose por ação da enzima *UDP-glicose pirofosforilase*:



A enzima glicogênio sintase (GS) catalisa a formação de glicogênio a partir de UDP-glicose. Ela transfere o resíduo de glicose da molécula de UDP-glicose para uma molécula de glicogênio já existente com pelo menos quatro resíduos de glicose. Esta transferência é feita em uma terminação não redutora da ramificação do glicogênio, formando uma nova ligação ($\alpha 1 \rightarrow 4$).

A GS não é capaz de estabelecer as ligações ($\alpha 1 \rightarrow 6$) presentes nos pontos de ramificação da molécula de glicogênio. Estas ligações são feitas pela enzima ramificadora de glicogênio, chamada amilo (1 \rightarrow 4) para (1 \rightarrow 6) transglicosilase, ou simplesmente *glicosil-(4 \rightarrow 6)-transferase*. Esta enzima transfere um fragmento de seis ou sete resíduos de glicose de uma ramificação que contém pelo menos 11 resíduos para um resíduo mais interno na molécula, formando uma nova ramificação. Desta forma a GS pode seguir adicionando resíduos de glicose com ligações ($\alpha 1 \rightarrow 4$). O efeito das ramificações na molécula de glicogênio é torná-la mais solúvel e aumentar o número de terminações não redutoras, onde podem agir as enzimas responsáveis por sua síntese e degradação.

A GS somente promove a ligação de unidades de glicose a uma molécula de glicogênio pré-existente. A síntese inicial de uma nova molécula de glicogênio é feita a partir de uma proteína chamada *glicogenina*, na qual se ligam as novas cadeias, e que também é a enzima transferase catalisadora deste processo. O primeiro passo é a transferência de um resíduo de glicose de uma UDP-glicose para a *glicogenina*. Ela é a responsável pela adição do monossacarídeo até um total de sete unidades, quando a GS assume a função de alongar a molécula. A *glicogenina* permanece ligada covalentemente à única terminação redutora da molécula de glicogênio, formando o centro da β -partícula [25] (Figura 2).

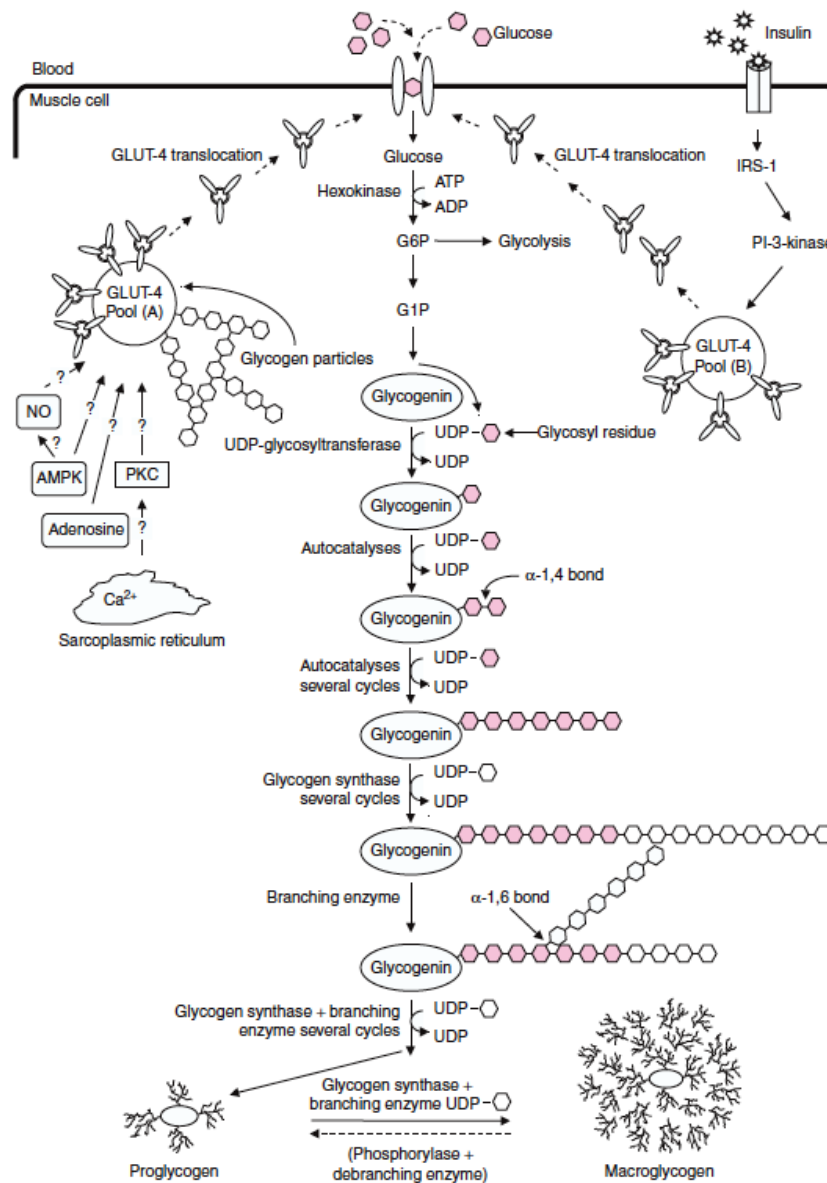


Figura 2 Síntese do glicogênio muscular. Fonte: Jentjens & Jeukendrup, 2003 [26]

A síntese e recuperação do glicogênio muscular ocorre em duas fases distintas: uma imediata, independente de insulina, com altas taxas de acumulação de glicogênio, seguida da fase tardia, dependente de insulina, com menores taxas de síntese [26, 28, 29]. A duração destas fases é descrita de maneiras diferentes. A primeira pode variar de 0 – 4 h e a segunda fase pode variar de 1 – 48 h [8, 26]. A velocidade da taxa de síntese do glicogênio pode depender da atividade da GS. Essa enzima forma dois precursores da molécula final de glicogênio: proglicogênio e macroglicogênio. O proglicogênio é mais sensível à presença de carboidratos, sendo produzido na primeira fase de recuperação. Por outro lado, a síntese de

macroglucogênio é mais lenta e contínua, e pode perdurar por até 48h após o exercício [30]. A concentração de glicogênio muscular parece ser o maior regulador da GS, acima da concentração de insulina ou da contração muscular [31].

2.2 ESPORTES DE RESISTÊNCIA

No mundo dos esportes existem inúmeras modalidades. Entre elas estão os esportes de resistência (do inglês *endurance*) como a corrida (maratonas), a natação (maratonas aquáticas), o ciclismo, o triatlo e alguns esportes de aventura. Estas são modalidades nas quais os atletas são expostos a sessões de treinamento e competições com predominância de longa duração.

Nesse cenário, apesar da grande variação existente entre as diferentes modalidades, os volumes de treino usualmente ficam entre 6 a 12 h por semana, com duração por sessão de treino entre 30 e 120 minutos em modalidades como a corrida e natação; ou de 25 a 30 h por semana, com treinos de 1 a 6 h no caso de ciclismo e triatlo [32].

O triatlo é composto por três modalidades e é disputado em seis formatos distintos: *short* (750 m de natação, 20 km de ciclismo e 5 km de corrida); *olímpico* (1500 m de natação, 40 km de ciclismo e 10 km de corrida); *longa distância* (dobro ou triplo do olímpico); *mixed relay* (300 m de natação, 8 km de ciclismo e 2 km de corrida); *meio-ironman* ou *70.3* (1,9 km de natação, 90 km de ciclismo e 21 km de corrida); e o mais popular, *Iron Man* (3,8 km de natação, 180 km de ciclismo e 42 km de corrida) [33].

Atualmente no Brasil o triatlo é praticado por mais de um milhão de pessoas, principalmente atletas amadores com objetivo de melhorar a saúde e qualidade de vida, manter o bom condicionamento físico, e também como forma de lazer e interação social [33]. Com a prática de três modalidades esportivas simultaneamente, os atletas de triatlo podem se beneficiar com estratégias que visam a rápida recuperação do glicogênio muscular, uma vez que executam dois ou mais treinos diariamente.

2.2.1 Características e fisiologia do ciclismo

Além de ser uma das três modalidades esportivas que compõem o triatlo, o ciclismo também é um esporte com predominância de resistência com quatro possíveis modalidades: *BMX* ou *bicicross*, *pista*, *mountain bike* ou *MTB*, e *estrada* (modalidade que faz parte do triatlo) [34].

As provas mais comuns de ciclismo de estrada têm duração que varia entre 1 – 5 h, enquanto as provas que ocorrem em etapas podem durar vários dias consecutivos. Provas tradicionais como *Giro d'Italia*, *Tour de France* e *Vuelta a España* exigem atletas preparados para competir com altas cargas por até 3 semanas seguidas e um total de 90 dias [35, 36].

Algumas medidas normalmente obtidas no contexto da fisiologia do exercício são importantes para o entendimento das necessidades dos atletas em condições de treinamento, de competições e também em exercícios executados em ambiente laboratorial. Entre elas o volume máximo de oxigênio ($VO_{2máx}$) captado pelo atleta durante um teste incremental máximo destaca-se como importante medida que expressa a disponibilidade de oxigênio para ser oxidado pelas vias energéticas aeróbicas para produção de ATP.

Esta medida pode ser apresentada de forma absoluta (L/min) e relativa (mL de O_2 /kg/min), na qual expressa a maior capacidade cardiopulmonar central e periférica individual de consumir oxigênio em condição máxima de esforço físico. Portanto, quanto maior o seu valor, maior será a capacidade do atleta de sustentar um exercício em alta intensidade utilizando o metabolismo aeróbico como principal fonte de energia. [35]. Há evidência de que atletas de ciclismo profissionais podem alcançar valores de $VO_{2máx}$ próximos a 80 mL/kg/min [37]. Por outro lado, quanto menor o valor do $VO_{2máx}$ individual mais rapidamente o atleta tende a utilizar a glicólise anaeróbica como fonte principal de energia, provocando acúmulo de lactato no tecido muscular, especialmente no músculo vasto lateral [35]. Além disso, atletas em alto nível de treinamento têm maior eficiência na utilização do lactato na gliconeogênese para manutenção da glicemia e reposição do glicogênio muscular [38]. Valores percentuais do $VO_{2máx}$ são utilizados como medida relativa de intensidade dos exercícios. Por exemplo, um treino executado a 50% do $VO_{2máx}$ é considerado moderado, enquanto 90% do $VO_{2máx}$ é considerado um treino muito intenso [39].

No contexto da fisiologia do exercício outra medida importante é o valor da potência máxima obtida durante um teste incremental máximo. A potência máxima (W_{\max}) ou pico de potência (PPO, do inglês *Peak Power Output*) é a máxima carga em watts (W) sustentada no cicloergômetro durante 1 a 3 minutos em um teste com carga incremental até a exaustão do atleta e existe forte correlação entre o PPO obtido em um teste e a capacidade de performance em provas de ciclismo [40]. A fadiga muscular é definida como a incapacidade de manter a potência para continuar o exercício e o movimento repetitivo do ciclismo resulta em fadiga dos músculos glúteo máximo e vasto lateral, levando o atleta a interromper o treino [35, 41]. O PPO é uma medida absoluta de intensidade dos exercícios [42].

2.2.1.1 Teste incremental cardiopulmonar

O teste de esforço máximo cardiopulmonar é um método utilizado para determinação do $VO_{2\max}$, da frequência cardíaca máxima, da potência registrada nos limiares anaeróbico e de compensação respiratória, bem como no pico do esforço [40]. Ele deve ser conduzido por profissional capacitado e, no caso do ciclismo, é realizado em cicloergômetro, o qual está acoplado a um programa analítico, um sistema de análise de gases e um eletrocardiógrafo que de forma integrada fornecem instantaneamente informações acerca das respostas fisiológicas durante todo o teste incremental. Como procedimento de teste o atleta deve manter uma rotação constante nos pedais inicialmente combinada de 60 rpm, na sequência se começa o exercício com carga inicial mínima, que é incrementada a cada minuto, até finalização por fadiga voluntária do atleta. A duração do teste é de cerca de 8 a 12 minutos e o último minuto completo de execução do exercício é considerado para obtenção do $VO_{2\max}$ e do PPO.

O $VO_{2\max}$ e o PPO têm sido utilizados há décadas como preditores do nível de treinamento dos atletas de resistência e da sua capacidade de competir em exercícios prolongados [42, 43]. Nesse contexto, sabe-se que há alta correlação positiva entre essas duas grandezas no ciclismo, independente do sexo, idade, massa corporal ou estatura dos atletas, mostrando que o valor do PPO é capaz de prever a variação do

$VO_{2\text{máx}}$ durante o teste incremental cardiopulmonar, além de ser um bom preditor do desempenho de atletas [40].

Além dos valores de $VO_{2\text{máx}}$ e PPO o teste incremental cardiopulmonar também possibilita ao atleta conhecer os tempos, as potências e os valores de frequência cardíaca correspondentes ao seu limiar anaeróbio e ao seu ponto de compensação respiratória, duas medidas úteis e importantes no planejamento dos treinamentos e competições (Figura 3).

O limiar anaeróbico corresponde ao ponto do exercício ou teste incremental em que ocorre redução na utilização do metabolismo aeróbico na geração de energia (glicólise aeróbica e oxidação de lipídeos) e aumento na utilização do metabolismo anaeróbico (glicólise anaeróbica) [44] com consequente aumento do gasto calórico proveniente de carboidratos. Após ultrapassar o limiar anaeróbico no teste incremental o atleta atinge o ponto de compensação respiratória, que corresponde ao momento do exercício em que o metabolismo anaeróbico se torna predominante na geração de energia. A partir deste ponto passa a ocorrer uma perturbação metabólica caracterizada por fadiga e maior acúmulo de lactato e íons H^+ na musculatura, o que reduz sua eficiência na geração de movimento e continuação do exercício. O exercício acima do ponto de compensação respiratória é considerado muito intenso e em geral leva o atleta à exaustão em alguns minutos [45].

O conhecimento das medidas fornecidas pelo teste incremental cardiopulmonar é um benefício importante para os atletas, uma vez que possibilita o planejamento individualizado dos treinos, de acordo com as demandas apontadas pelo resultado do teste. Um atleta que possui baixo limiar anaeróbico, por exemplo, tende a utilizar pouco o metabolismo aeróbico e a oxidação de lipídeos como fonte de energia, lançando mão dos estoques de glicogênio muscular para manutenção do exercício. Por outro lado, se um atleta demora mais tempo para alcançar o ponto de compensação respiratória, significa que ele consegue sustentar o exercício por mais tempo, apesar da carga incremental, utilizando predominantemente o metabolismo aeróbico ou oxidativo [39]. A segunda possibilidade é mais vantajosa, uma vez que permite ao atleta poupar o glicogênio muscular para ser utilizado na arrancada final, quando é necessário aumentar a intensidade para finalizar o exercício. Portanto, pode ser o objetivo do treinamento prescrito para os atletas que são predominantemente glicolíticos.

A medida da frequência cardíaca correspondente a cada um destes limiares e pontos do teste é utilizada pelos treinadores e atletas na prescrição do exercício, uma vez que é a grandeza mais facilmente monitorada em situações de vida livre, fora do laboratório.

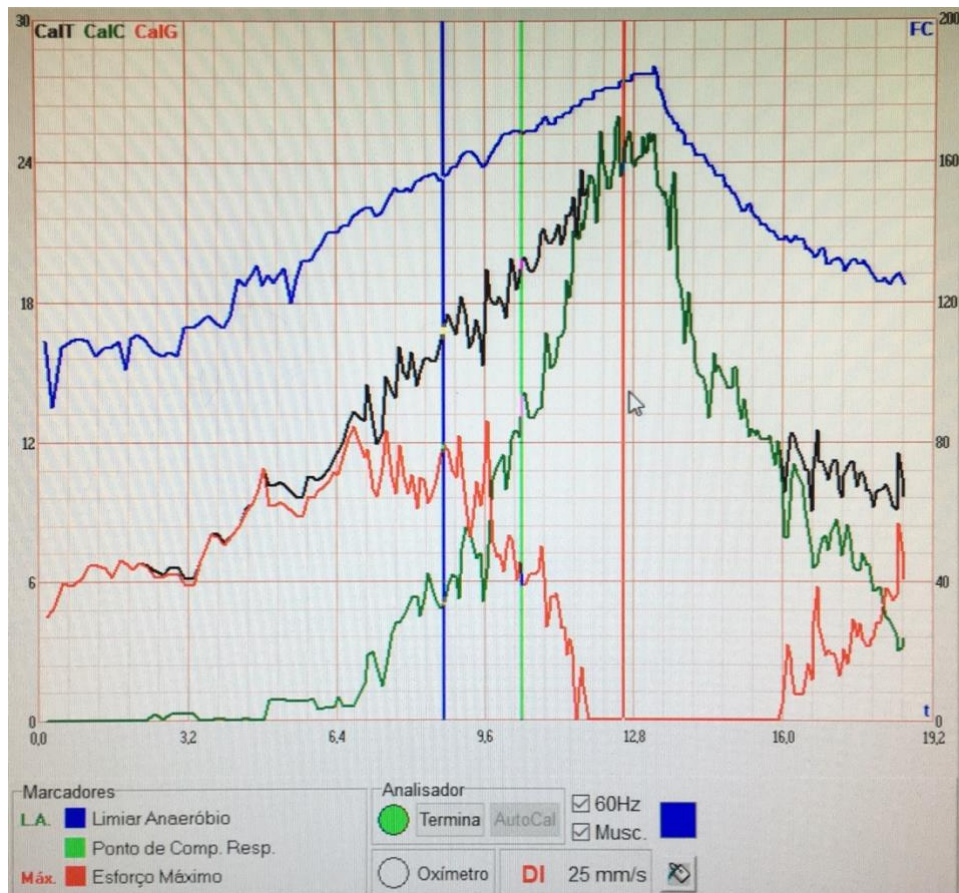


Figura 3. Gráfico ilustrativo dos registros metabólicos durante o teste incremental cardiopulmonar máximo em um voluntário. A gravação dos registros foi realizada e apresentada pelo programa ErgoPC Elite (Micromed, Brasília – DF, Brasil). A linha vertical azul indica o limiar anaeróbico. A linha vertical verde indica o ponto de compensação respiratória. A linha vertical vermelha indica o ponto de esforço máximo, em que o voluntário alcançou o $VO_{2\text{máx}}$ e o PPO. Ao longo do tempo (eixo x), a linha azul é a frequência cardíaca (FC). A linha preta indica o gasto calórico total (CaIT). A linha verde indica as calorias gastas predominantemente a partir de carboidratos (CaIC) e a linha vermelha indica as calorias gastas predominantemente a partir de gorduras (CaIG). Brasília - DF, 2018.

2.2.2 Importância do glicogênio muscular durante o exercício

O melhor desempenho dos atletas de resistência está relacionado a maiores níveis de glicogênio muscular no início dos treinos e competições, além das estratégias utilizadas para poupar estes estoques de CHO durante o exercício e otimizar sua recuperação após os eventos [46]. Atletas competitivos treinam em volumes e intensidades muito altos. Neste caso, treinos e competições com até 3 h de duração são dependentes das fontes de carboidratos (glicose sanguínea, glicogênio muscular e glicogênio hepático) para sustentar altas taxas de produção de energia nos músculos [8]. A fadiga durante exercícios prolongados, por exemplo, é frequentemente associada à depleção do glicogênio muscular [26].

As reservas de glicogênio muscular variam muito entre os indivíduos e são determinadas principalmente pelo nível de treinamento e consumo individual de carboidratos, como mostraram os primeiros trabalhos desenvolvidos nesta área na década de 1960, com a utilização da metodologia de biópsias musculares [47, 48]. Estas reservas podem ser estrategicamente manipuladas para promover resultados positivos em relação à melhor adaptação aos treinos e otimização do desempenho [49]. O próprio treinamento resistido regular eleva o acúmulo de glicogênio muscular na recuperação e no repouso [50]; e o fornecimento adequado de CHO ao longo do dia e principalmente após os treinos garante máxima reserva de glicogênio [17].

2.2.3 Recuperação do glicogênio muscular pós-exercício

Muitos atletas treinam mais de uma vez ao dia e algumas competições têm provas de classificação poucas horas antes das provas principais (provas sucessivas no mesmo dia). Apesar das reservas de glicogênio muscular não se recuperarem completamente em poucas horas, é interessante que os atletas sigam recomendações nutricionais para maximizar a taxa de síntese de glicogênio muscular nas primeiras horas pós-exercício [26].

A síntese de glicogênio muscular é uma prioridade metabólica do organismo durante a fase de recuperação pós-exercício [18]. As estratégias para aumento da concentração de glicogênio muscular durante a fase de preparação para competições estão bem definidas e a questão da necessidade de rápida síntese de glicogênio entre treinos ou competições com menor intervalo tem sido o foco de pesquisas atualmente. As recomendações apontam para a necessidade de 1 – 1,2 g de carboidratos por kg de peso corporal por hora nas primeiras quatro horas de recuperação, sob a forma líquida ou sólida, com índice glicêmico moderado a alto, começando imediatamente após o fim do exercício [8, 11–13, 51, 52]. Sabe-se que quando há possibilidade de adição de proteínas à refeição pós-treino a quantidade de carboidratos pode ser reduzida e a combinação dos dois macronutrientes promove a recuperação desejada (~0,8 g de carboidrato/kg/h e ~0,3 g de proteínas/kg/h) [51].

A fase inicial da síntese de glicogênio – com duração de até 4 h – começa com o transporte de glicose para a célula muscular, sendo facilitada pela translocação de GLUT-4 para a membrana das células induzida pela contração muscular e liberação de íons Ca^{2+} , independente da ação da insulina [26, 53]. No período pós-exercício imediato a depleção de glicogênio é um forte incentivo para sua própria síntese [54]. Por isso, mesmo sem o consumo adequado de carboidratos, pode ocorrer uma pequena síntese de 1 – 2 mmol/kg de peso seco por hora, por meio da gliconeogênese e ciclo de Cori, utilizando o lactato como precursor da glicose [8]. Este processo só ocorre quando a concentração de glicogênio muscular pós-exercício está abaixo de 128 – 150mmol/kg de peso seco [26]. Porém, a ingestão de carboidratos no pós-exercício é o determinante mais importante da síntese de glicogênio, com as maiores taxas de síntese sendo observadas quando grandes quantidades de CHO são consumidas imediatamente após o exercício e continuamente no decorrer da primeira fase da recuperação [55].

Durante a fase tardia da recuperação – com duração de 1 a 48 h – o consumo de CHO deve atender às necessidades para os treinos ou competições, com o total ingerido sendo mais importante que o tipo, forma e padrão [8]. A depender do grau da depleção do glicogênio e da quantidade de carboidrato fornecido no pós-exercício a recuperação completa pode acontecer em até 24 h ou se estender até 48 h [56]. O papel dos macronutrientes, especialmente do CHO, na recuperação do glicogênio muscular está bem estabelecido e consolidado. As diretrizes são bem divulgadas a

fim de permitir que profissionais e atletas conheçam as recomendações para otimizar este processo [8, 11, 26]. O desafio que se apresenta aos pesquisadores atualmente é a investigação de outros compostos que podem, juntamente com os macronutrientes, aumentar as taxas de síntese de glicogênio muscular no pós-exercício. O café e seus componentes estão entre estes objetos de investigação.

2.3 CAFÉ NA RECUPERAÇÃO PÓS-EXERCÍCIO

2.3.1 Café

A principal espécie de café comercializada e consumida no mundo é o *Coffea arabica*, o conhecido café Arábica, com 70% do mercado mundial. A principal forma de preparo do café é a filtração com água quente e a proporção utilizada no preparo varia entre 8 a 20g de café em pó para cada 100mL de água. Além disso, o tempo de extração e o tamanho das partículas de café também variam, o que provoca diferentes resultados na bebida final em termos de sabor e composição [57].

2.3.2 Compostos bioativos

Os compostos bioativos presentes no café são do tipo fenólicos e os principais são os ácidos clorogênicos, taninos, lignanas, antocianinas e diterpenos [58].

Os ácidos clorogênicos são importantes na determinação do sabor e qualidade do café, além de sua capacidade antioxidante [57]. Estão relacionados também à redução de glicose sanguínea e aumento do transporte de glicose para o tecido muscular [59]. O ácido cafeico é um metabólito de ácidos clorogênicos e eles possuem ação semelhante, relacionada à captação muscular de glicose independente de insulina, principalmente pela ativação do metabólito AMPK (proteína quinase ativada pelo AMP) [60].

Os diterpenos presentes no café, como o cafestol, são associados tanto a efeitos desejáveis, como proteção contra doenças crônicas degenerativas e ação anticarcinogênica, antioxidante, anti-inflamatória e de proteção contra toxinas, quanto a efeitos indesejáveis, como aumento do colesterol sérico no café preparado sem filtro de papel ou tecido [61, 62].

Entre os componentes do café também se destaca o composto mais estudado, a cafeína. Seus efeitos estão relacionados ao aumento do estado de alerta mental e redução da fadiga [63]. No esporte os efeitos do seu consumo em doses moderadas (~3-6 mg/kg) antes e durante o exercício estão relacionados a redução na percepção de esforço [3, 64], da fadiga e da dor associadas ao exercício [2, 65]. Também foi demonstrado efeito da ingestão de cafeína na redução da percepção de dor muscular nas pernas após evento de ciclismo de longa duração [66]. Por outro lado, o consumo agudo de cafeína já foi associado à redução da sensibilidade à insulina em uma meta-análise com ensaios clínicos [67].

2.3.3 Café e metabolismo do glicogênio

O conhecimento sobre a importância do fornecimento adequado de carboidratos para síntese de glicogênio muscular durante a recuperação pós-exercício já está estabelecido [10]. Porém, além desta medida consolidada, já foi demonstrado que o consumo de cafeína com CHO após o exercício melhorou a capacidade de corrida intervalada de alta intensidade subsequente em comparação com a ingestão de CHO sozinho, sugerindo uma alta taxa de síntese de glicogênio muscular pós-exercício [68]. Além disso, a utilização de cafeína com CHO após o exercício promoveu aumento nos níveis de glicose, fosforilação de proteína quinase dependente de Ca^{2+} /calmodulina (CaMK), e especificamente, nas taxas de síntese de glicogênio e acumulação de glicogênio após o exercício [28].

Outros estudos também avaliaram o efeito de componentes do café em marcadores do metabolismo de glicogênio muscular. Em um experimento, após a injeção intravenosa de cafeína em ratos, foi observado aumento da proteína quinase ativada por adenosina monofosfato (AMPK) e a fosforilação de acetil-CoA carboxilase

(ACC), além de maior transporte de glicose [69]. Em estudos *in vitro*, a cafeína também aumentou a fosforilação de AMPK e ACC, aumentando a atividade de transporte de glicose e reduzindo o estado de energia nas células musculares de ratos [69, 70]. Cafestol e ácido cafeico aumentaram a secreção de insulina em células beta de ratos e a absorção de glicose nas células musculares humanas [71]. O ácido cafeico também aumentou a fosforilação de AMPK e ACC, reduzindo o estado de energia e aumentando a absorção de glicose em células musculares de ratos [60].

Os resultados destes experimentos apresentam os pressupostos de que o café pode ser uma opção a ser utilizada na recuperação do glicogênio muscular pós-exercício, além de sua usual utilização antes dos exercícios; e a revisão sistemática publicada por nosso grupo em 2018 congregou o conhecimento a esse respeito [14] (Apêndice A).

2.4 LEITE E SACAROSE NA RECUPERAÇÃO PÓS-EXERCÍCIO

A busca por alimentos que atendam a demanda de fornecimento de macronutrientes em boa proporção para recuperação após treinos e competições é crescente e o leite é uma das opções que se destaca, compondo refeições pós-treino satisfatórias [15, 72]. Além do potencial de reidratação devido à presença de água e sais minerais, o leite também contém carboidratos e proteínas de alto valor biológico. O perfil proteico do leite é composto por todos os aminoácidos essenciais, dividindo-se em 80% caseína e 20% proteína do soro do leite [73].

A fim de alcançar a proporção ideal de carboidratos e proteínas para recuperação do glicogênio muscular pós-treino (1,2 g de carboidratos : 0,3 g de proteínas/h) [52], o leite precisa ser adicionado de uma dose extra de carboidratos, pois o teor destes dois macronutrientes é praticamente igual na bebida *in natura* [74]. Uma forma popular, com boa aceitação e comprovadamente eficiente de ajustar a proporção de carboidratos e proteínas é adicionar achocolatado ao leite. Estudos já demonstraram que a sacarose adicionada ao leite, pura ou na forma de achocolatado, influencia positivamente a recuperação de glicogênio muscular [75–77].

O carboidrato do leite é a lactose, formada pelos monossacarídeos galactose e glicose. A sacarose é formada pelos monossacarídeos frutose e glicose. A galactose e a frutose são transportadas do epitélio intestinal e metabolizadas no fígado. Neste órgão, sofrem ação enzimática e são convertidas a glicose 6-fosfato, que pode entrar na via da glicólise ou formar glicogênio [20]. Portanto, a galactose e a frutose são utilizadas para repor o glicogênio hepático, poupando a glicose dietética para ser utilizada na recuperação do glicogênio muscular [18].

3 HIPÓTESE

Com base nas evidências sobre os efeitos do café na sensibilidade à insulina e no metabolismo da glicose, e na lacuna existente em relação aos possíveis benefícios do consumo de café após o exercício, neste estudo nosso grupo testou a hipótese de que o consumo de café com leite adoçado (Café+leite) e uma refeição sólida favorece a captação de glicose pelos músculos e a deposição de glicogênio muscular no período pós-treino, quando comparado ao consumo de leite adoçado (Leite) com uma refeição sólida.

4 JUSTIFICATIVA

O café é uma das bebidas mais consumidas no Brasil. Adicionado de leite, tem alta aceitação e faz parte do hábito alimentar dos brasileiros. As bebidas com refeição sólida avaliadas neste experimento foram elaboradas a partir de ingredientes de fácil acesso e baixo custo. A forma de preparo simples e caseira a torna uma opção disponível e prática para os atletas. Destaca-se que o Brasil é o maior produtor mundial de café, porém não tem igual destaque nas pesquisas metabólicas com esta bebida tão apreciada pelos brasileiros. O estudo é inédito e não encontramos na busca bibliográfica qualquer publicação avaliando o consumo de café com leite no pós-treino de atletas de exercícios de resistência. Este estudo tem efetivo potencial de impacto científico e para o emprego do café com leite como bebida para recuperação no pós-exercício.

5 OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GERAL

Investigar os efeitos do café consumido após exercício físico sobre a deposição de glicogênio muscular.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Elaborar uma bebida à base de café para ser consumida por atletas no pós-treino de ciclismo;

Determinar as concentrações séricas de glicose e insulina na curva pós-prandial;

Calcular a área total abaixo da curva (TAUC) da resposta glicêmica e insulinêmica e comparar os resultados do experimento teste com o experimento controle;

Determinar as concentrações de glicogênio nos tecidos musculares antes e depois do consumo das bebidas e refeições teste e controle e comparar o acúmulo de glicogênio muscular após o período de recuperação entre os tratamentos;

CAPÍTULO 2

6 MÉTODOS

6.1 DELINEAMENTO

Este estudo foi um ensaio clínico, duplo cego, cruzado e randomizado com o objetivo de verificar o efeito de uma bebida teste com café, leite e açúcar (Café+leite) e de uma bebida controle com água, leite e açúcar (Leite), ambos acompanhados de um sanduiche, na recuperação do glicogênio muscular após treino extenuante de ciclismo. A ordem dos tratamentos foi determinada por aleatorização simples no primeiro experimento e a sequência seguida para os demais experimentos.

Na noite anterior ao dia de experimento os participantes realizaram um exercício em cicloergômetro até fadiga voluntária com objetivo de reduzir as reservas de glicogênio muscular. Em seguida realizaram uma refeição prescrita com baixo teor de carboidratos. No dia seguinte, em jejum, os participantes realizaram novamente um exercício em cicloergômetro até fadiga voluntária. Após este momento eles ficaram em repouso por 4 h, durante as quais receberam uma das duas opções de bebidas (Café+leite ou Leite) e uma refeição nos moldes de um desjejum. Amostras de sangue foram coletadas em intervalos regulares e biópsias musculares foram realizadas imediatamente após o exercício e no fim das 4 h de repouso para determinar o conteúdo de glicogênio muscular antes e após o período de recuperação.

A duração total de cada experimento foi de aproximadamente seis horas e o período de separação entre os testes foi de uma a duas semanas. A coleta de dados foi conduzida entre setembro de 2018 e junho de 2019.

6.2 PARTICIPANTES

6.2.1 Cálculo amostral

O tamanho amostral foi baseado na distribuição randomizada dos participantes da pesquisa em dois testes sequenciais: Café+leite ou Leite. O conteúdo de glicogênio muscular, em mmol/kg de matéria seca, foi considerado como variável principal e utilizado para fim do cálculo amostral com base nos resultados encontrados por Pedersen et al. (2008) [28]. Neste estudo a intervenção com CHO adicionado de cafeína após o exercício proporcionou uma recuperação maior do glicogênio muscular quando comparada ao consumo de CHO ($n = 7$; 313 ± 69 mmol/kg e 234 ± 50 mmol/kg, respectivamente). Foi utilizado o programa G Power versão 3.1.9.2 (Universidade de Düsseldorf, Alemanha) adotando poder estatístico de 95% e nível de significância de 5%, o que resultou em 11 participantes por grupo a serem selecionados para este estudo. Considerando a possibilidade de desistência de algum voluntário e a fim de evitar a necessidade de novo recrutamento para substituição, o tamanho amostral foi acrescido de 25%, totalizando 14 participantes a serem selecionados.

6.2.2 Critérios de inclusão

Participaram do estudo somente adultos do sexo masculino, triatletas ou ciclistas das modalidades mountain bike e estrada. Todos os participantes deveriam ter peso corporal estável (variação menor que 3kg nos últimos três meses), serem saudáveis e consumidores habituais de café e leite. Em relação ao nível de treinamento, todos os participantes deveriam ser no mínimo treinados recreacionais, segundo a classificação adaptada de Pauw et al. (2013). Ou seja, em um teste incremental cardiopulmonar em cicloergômetro, deveriam apresentar consumo máximo de oxigênio ($VO_{2máx}$) relativo de pelo menos 45 mL/kg/min e potência máxima de 280 watts (W). Além disso, era necessário ter um volume mínimo de quatro horas

e 60 km de treinos de ciclismo por semana, com ao menos um ano de experiência no esporte [78].

6.2.3 Critérios de exclusão

Foram excluídos os atletas que apresentassem consumo diário de cafeína superior a 500 mg, com qualquer condição médica ou lesão recente, os fumantes, usuários de drogas ilícitas e aqueles em tratamento medicamentoso. Além daqueles que relatassem qualquer alergia, intolerância ou desconforto com o consumo de café ou de leite e derivados. Os atletas que não concordassem com o explicitado pelo termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (Apêndice G) durante a entrevista também seriam excluídos.

6.3 DIVULGAÇÃO E PRÉ-SELEÇÃO

Inicialmente foi feito contato com diversos treinadores de equipes de ciclismo e triatlón de Brasília. Eles receberam todas as informações a respeito do projeto e um folder com informações básicas e dados de contato da pesquisadora responsável, a fim de encaminhar aos atletas. Além disso, uma clínica de nutrição esportiva da cidade e a própria equipe do projeto divulgaram o folder através das redes sociais.

A pesquisadora responsável detalhou as informações sobre o projeto por telefone a cada atleta que se interessou em participar. Ainda neste momento, foi feita uma pré-seleção com perguntas sobre alguns critérios de inclusão e exclusão. Os aprovados nesta etapa foram encaminhados à entrevista, triagem e testes preliminares, no Laboratório de Fisiologia do Exercício na Faculdade de Educação Física da Universidade de Brasília (FEF/UnB). Eles foram orientados a comparecer ao laboratório pela manhã trajando roupas confortáveis para pedalar em alta

intensidade e a consumirem o jejum de acordo com o hábito de pré-treino de cada um, exceto o consumo de café ou qualquer outro alimento estimulante.

6.4 TRIAGEM E TESTES PRELIMINARES

Os atletas foram recebidos no Laboratório de Fisiologia do Exercício e tiveram acesso ao TCLE (Apêndice G). Após leitura, os que concordaram em participar assinaram o termo e foi iniciada a entrevista e triagem.

A entrevista continha questões pessoais, como idade, endereço, atividade profissional e disponibilidade de horários; estilo de vida e saúde, como consumo de bebidas alcoólicas, fumo e outras drogas, alergias, intolerâncias alimentares, outros problemas de saúde e tratamento medicamentoso em curso; e características do esporte, como modalidade, frequência de treinos, tempo de experiência e competições previstas. Também foi aplicado um recordatório alimentar de 24 horas (R24h) e um questionário de frequência alimentar (QFA) quantitativo contendo alimentos fontes de cafeína (Apêndice B), adaptado de Watson et al. (2017) [79]. O R24h foi aplicado mais uma ou duas vezes por telefone com os atletas que participaram de todas as etapas do estudo, em dias não consecutivos, sendo dois dias durante a semana e um no final de semana. Eles também responderam se consumiam suplementos alimentares, o tipo e a frequência de consumo, com atenção especial à cafeína e suplementos que contêm cafeína. Os dados de consumo alimentar dos atletas foram analisados com a Plataforma CalcNut (<https://fs.unb.br/calcnut>) utilizando a Tabela de Composição Nutricional dos Alimentos Consumidos no Brasil [80].

Os atletas que preencheram os critérios de inclusão necessários na entrevista foram encaminhados para avaliação antropométrica. O peso e a estatura foram aferidos por avaliadores treinados, utilizando balança eletrônica digital do tipo plataforma com capacidade máxima de 150kg e precisão de 100g (Wiso, São José – SC, Brasil), e estadiômetro vertical milimetrado portátil com capacidade de medição de 115 cm a 210 cm e escala de 0,5 cm (Sanny, São Paulo – SP, Brasil). Para medida do peso, o atleta se posicionou em pé, no centro da balança, descalço e com roupas

leves. Para medir a estatura o estadiômetro foi posicionado em uma parede reta, sem rodapé e o atleta ficou de costas para o equipamento, descalço, com os calcanhares juntos, as costas retas e os braços estendidos ao lado do corpo [81]. Com os dados de peso e estatura foi calculado o índice de massa corporal (IMC) ($\text{peso [kg]}/\text{estatura [m]}^2$) para avaliação do estado nutricional dos atletas [82]. O percentual de gordura corporal (%GC) foi avaliado em outro momento (por meio de bioimpedância elétrica multifrequencial) e foi utilizado na classificação do estado nutricional dos participantes [83] juntamente com o IMC.

Neste mesmo dia, os atletas executaram um teste preliminar de esforço máximo cardiopulmonar com vistas na determinação do consumo máximo de oxigênio, frequência cardíaca máxima, potência registrada nos limiares anaeróbico e de compensação respiratória, bem como no pico do esforço [40] (Figura 4). O teste incremental cardiopulmonar foi conduzido por profissional de educação física experiente e realizado em cicloergômetro de frenagem mecânica BIOTEC 1800 (CEFISE Biotecnologia ME, SP, Brasi), com programa analítico ErgoPC Elite (Micromed, Brasília – DF, Brasil), sistema de análise de gases CORTEX/Metalyzer 3B (Micromed, Brasília – DF, Brasil) e eletrocardiógrafo (Micromed, Brasília – DF, Brasil). A sala tinha temperatura de 22°C controlada por ar condicionado. As variáveis cardiopulmonares como consumo máximo de oxigênio ($\text{VO}_{2\text{max}}$), produção de dióxido de carbono (VCO_2) e quociente respiratório (QR) foram medidas pelas trocas gasosas. Inicialmente o analisador de gases foi calibrado conforme as instruções do fabricante. O atleta foi posicionado no cicloergômetro, a altura do banco foi ajustada e foram dispostos a máscara e os eletrodos descartáveis no tronco, nos pontos do triângulo de Eitoven, após limpeza e tricotomia quando necessário. O participante foi orientado a permanecer sentado, manter o ritmo de respiração e não falar. Toda a comunicação foi feita por gestos padronizados. Então, foi iniciado o monitoramento com analisador do programa ErgoPC Elite, com aproximadamente 2 minutos para estabilização dos valores das variáveis metabólicas de repouso (consumo máximo de oxigênio, ventilação, fração expirada de O_2 e CO_2 e quociente respiratório). Em seguida realizou-se o registro de 2 minutos de repouso e aquecimento de 3 minutos com cadência de 90 rotações por minuto (rpm), velocidade de 21 a 25 km/h e carga de 1 kp (58,8 W) constantes. A seguir o teste de esforço máximo foi iniciado com carga inicial de 1 kp (50 W), cadência constante de 60 rpm e incrementos de 0,5 kp ao final

de cada minuto. O teste FOI ELABORADO PARA TER DURAÇÃO DE APROXIMADAMENTE 8-12 teve a duração de 8 a 12 minutos e o participante utilizou a Escala de Borg [84] para identificação da PERCEPÇÃO SUBJETIVA DE intensidade do esforço a cada minuto. Foram feitos estímulos verbais sempre que a cadência era reduzida. O último minuto completo de execução do exercício foi considerado para obtenção do VO_{2max} e do PPO, e foi seguido de recuperação por 5 minutos a 1kp com velocidade e cadência iguais ao aquecimento. Ao finalizar a etapa de recuperação a máscara e os eletrodos foram retirados, o estado geral do participante foi verificado e ele foi liberado.



Figura 4 Atleta em teste de esforço máximo incremental cardiopulmonar. Brasília - DF, 2019

Os participantes que atingiram as exigências dos critérios de inclusão relacionadas ao desempenho físico, ou seja, VO_{2max} relativo de pelo menos 45 mL/kg/min e PPO de pelo menos 280 W, foram encaminhados para o experimento. O valor de PPO alcançado neste teste foi utilizado como base para a prescrição dos exercícios de depleção do glicogênio muscular que os atletas executaram durante o

experimento. Todos os participantes foram orientados sobre alimentação, exercício físico, local e horários a comparecerem.

6.5 CONTROLE DA DIETA E ATIVIDADE FÍSICA

Todos os participantes receberam um folder com as orientações sobre alimentação e exercício físico nos dois dias anteriores ao início do experimento (Apêndice C). Neste folder foram instruídos a manterem a rotina de exercícios, sem mudar a intensidade média dos treinos ou começar alguma atividade nova. A alimentação habitual também deveria ser mantida, evitando o consumo de alimentos exóticos ou qualquer outro que pudesse causar algum desconforto gastrointestinal. A exceção foi a recomendação de excluir totalmente, por dois dias, bebidas alcoólicas e alimentos fontes de cafeína, como café, chá, chocolate, refrigerante, além de suplementos e medicamentos. Após a fase preparatória de depleção do glicogênio muscular, na tarde anterior ao dia de experimento, os participantes receberam uma prescrição dietética (Apêndice D) elaborada pelos nutricionistas do projeto, com opções de lanche e jantar com teor de macronutrientes controlado (total de 0,8 g/kg de peso corporal de CHO, 0,8 g/kg de peso de proteínas e 1,0 g/kg de peso de lipídeos), a serem consumidos neste dia até às 21h. No dia seguinte, deveriam comparecer ao laboratório às 7h em jejum. O consumo de água foi *ad libitum*. Os atletas foram informados que a mesma rotina de treinos e alimentação deveria ser repetida nos dias anteriores ao retorno para o segundo experimento.

6.6 EXPERIMENTO

6.6.1 Fase Preparatória

Foi utilizado um protocolo de exercício e intervenção dietética com objetivo de reduzir as reservas de glicogênio muscular dos atletas participantes. Na tarde anterior, aproximadamente 15 horas antes do início do experimento, os participantes compareceram ao Laboratório de Bioquímica da Nutrição no Núcleo de Nutrição da Universidade de Brasília (NNut/UnB) a fim de realizarem um exercício intervalado até a fadiga em cicloergômetro Ciclo CG-04 (Inbramed, Porto Alegre – RS, Brasil) com programa analítico ErgoControl (Inbramed, Porto Alegre – RS, Brasil). A carga utilizada neste exercício foi o PPO (W) obtido no teste incremental cardiopulmonar na FEF. Inicialmente, após ajuste da altura do banco e do atleta se posicionar confortavelmente no cicloergômetro, foi feito um processo de familiarização com o equipamento, as cargas, os comandos e estímulos verbais. Em seguida foi iniciado o protocolo com 5 minutos de aquecimento com uma carga correspondente a 20% da PPO, em uma cadência de 60 rpm. A seguir a carga foi aumentada para 90% PPO por 2 minutos, seguidos de 2 minutos de recuperação a 50% PPO. Este protocolo de ataque e recuperação foi mantido até que os participantes não fossem mais capazes de manter a cadência de 60 rpm por 15 segundos. Foram feitos dois estímulos verbais sempre que a cadência era reduzida. Neste momento a fase de ataque foi reduzida para 80% PPO por 2 minutos, com recuperação de 2 minutos a 50% PPO. Quando o atleta foi incapaz de manter a cadência prevista, a fase de ataque passou a 70% e em seguida, 60%, sempre com recuperação de 2 minutos a 50% PPO. Assim, quando os atletas não conseguiram mais completar os 2 minutos a 60% PPO o protocolo era terminado, com 5 minutos de desaceleração a 20% PPO [85].

A sala de procedimentos tinha temperatura de 20°C controlada por ar condicionado. Os participantes não receberam qualquer informação sobre as cargas utilizadas, o número de ciclos de ataque e recuperação e o tempo total de exercício. Eles puderam consumir água à vontade durante o protocolo. Os atletas receberam um

reforço nas instruções sobre a refeição prescrita e foram liberados para casa, retornando na manhã seguinte para a fase experimental.

6.6.2 Fase Experimental

O desenho do ensaio experimental está representado na Figura 5. Na manhã do experimento os voluntários compareceram ao Laboratório de Bioquímica da Nutrição às 7h em jejum de 10h. A glicemia capilar foi aferida com monitor Accu-Check Performa (Roche Diabetes Care, São Paulo – SP, Brasil) para verificar o nível de glicemia de jejum. No dia do primeiro experimento eles esvaziaram a bexiga e tiveram a composição corporal avaliada em bioimpedância elétrica multifrequencial InBody 720 Biospace (Ottoboni, Rio de Janeiro – RJ, Brasil). Foi sorteada a perna em que o procedimento da biópsia seria executado e a primeira coleta de sangue foi feita no braço oposto, por uma técnica em enfermagem treinada, utilizando agulha hipodérmica 21 G e tubo com ativador de coagulação e gel separador (Greiner Bio-One, São Paulo – SP, Brasil). Após 10 minutos de repouso sentados, os atletas foram encaminhados para o cicloergômetro a fim de iniciar o segundo protocolo de exercício. Durante todo o período de experimentação a sala de procedimentos tinha temperatura de 20°C controlada por ar condicionado.

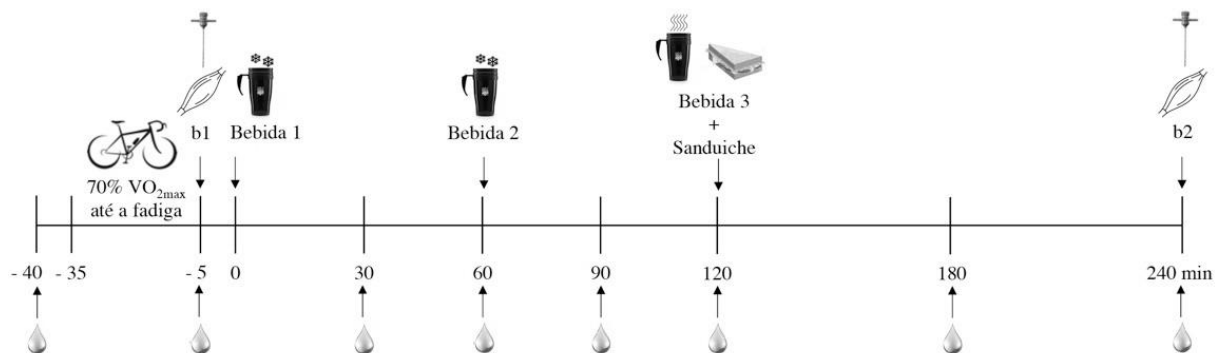


Figura 5 Desenho de um dia experimental na linha de tempo do Projeto CaféEx. Brasília - DF, 2019
Gota: coleta de sangue; bicicleta: exercício; b1: primeira biópsia; b2: segunda biópsia.

6.6.2.1 Exercício

O segundo protocolo de exercício do experimento foi conduzido com os participantes em jejum, com objetivo de garantir a depleção máxima do glicogênio muscular. O protocolo teve início com 5 minutos de aquecimento com carga de 20% PPO e cadência de 60 rpm, seguidos de um aumento na carga a 70% PPO até fadiga voluntária, constatada quando a cadência ficou mais de 15 segundos abaixo de 60 rpm, mesmo após dois estímulos verbais. Neste momento a carga foi reduzida a 20% PPO para 5 minutos de desaceleração. Durante este período eles consumiram água *ad libitum* e não foram informados sobre a carga e o tempo de execução do protocolo.

6.6.2.2 Recuperação

Após o exercício os atletas foram acomodados em uma maca e foi iniciado o período de recuperação de 4 horas. O médico responsável pelas biópsias musculares identificou a área do músculo vasto lateral onde a coleta seria feita e aplicou uma pomada anestésica à base de cloridrato de lidocaína na concentração de 20mg/g (Pharlab, Lagoa da Prata – MG, Brasil). A segunda coleta de sangue foi realizada com um escalpe 21 G com trava de segurança (Greiner Bio-One, São Paulo – SP, Brasil) posicionado no mesmo braço dos atletas onde foi feita a primeira coleta, sendo retirado somente ao final da recuperação, ou substituído em caso de obstrução. Ao final da coleta o escalpe foi infundido com solução salina estéril 0,9% (Equiplax, Aparecida de Goiânia – GO, Brasil) para mantê-lo desobstruído e estéril, um procedimento que foi executado após cada coleta de sangue subsequente. Em seguida procedeu-se a primeira biópsia (b1). Após o procedimento b1 o voluntário recebeu a primeira dose da bebida teste ou da bebida controle e este foi o tempo 0 da recuperação. A segunda dose da bebida teste foi fornecida no tempo 60 minutos e a terceira dose, nos moldes de um desjejum, no tempo 120 minutos. Ao final das 4 horas de recuperação procedeu-se a segunda biópsia (b2). As amostras de sangue foram coletadas a cada 30 minutos na primeira metade (0 min a 120 min) da recuperação e

a cada 60 minutos na segunda metade (121 min a 240 min) da recuperação (Figura 5). Os participantes foram acompanhados e monitorados durante todo o experimento pela pesquisadora responsável, além da profissional de enfermagem, do médico, do técnico do laboratório e dos membros da equipe responsáveis pelo preparo das refeições.

6.6.2.3 Biópsia muscular

O período de 4 horas é considerado suficiente para observação da ressíntese de glicogênio muscular [86], por isso este foi o intervalo definido entre as duas biópsias (b1 e b2). No primeiro experimento as biópsias b1 e b2 foram feitas em uma perna definida por sorteio. No segundo experimento os procedimentos foram feitos na perna oposta. Todo o processo foi realizado de maneira asséptica e conduzido pelo médico da equipe, auxiliado pela pesquisadora responsável, ambos utilizando luvas estéreis. Todos os instrumentos utilizados eram estéreis, sendo descartados imediatamente após o uso ou higienizados e autoclavados para o próximo ensaio (Apêndice E).

O local exato da coleta da primeira biópsia (b1) foi escolhido como a porção mais volumosa do músculo vasto lateral com a perna contraída. Quando necessário a tricotomia da área da biópsia foi realizada com lâmina descartável. A pomada anestésica foi aplicada com o objetivo de reduzir a sensibilidade da pele e em seguida foi realizada assepsia e antisepsia do local com gaze embebida em solução degermante de clorexidina digluconato a 2% (Riohex, Rioquímica, São José do Rio Preto – SP, Brasil), seguida de gaze embebida em solução alcoólica de clorexidina digluconato a 0,5% (Riohex, Rioquímica, São José do Rio Preto – SP, Brasil). Um campo cirúrgico fenestrado foi posicionado em porção distal da coxa do participante e realizada anestesia intramuscular com cloridrato de lidocaína a 20mg/mL (Xylestesin, Cristália, Itabira – SP, Brasil). O participante foi orientado a relaxar para aguardar o efeito do anestésico e após um teste de sensibilidade doloroso com uma pinça, o médico fez uma incisão de aproximadamente 0,5 cm na pele e na fáscia do músculo utilizando lâmina de bisturi n°11. Foi realizada dissecação com pinça Kelly e a agulha de biópsia muscular Bergström (D.L. Micof, São Paulo – SP, Brasil) foi então

inserida através do orifício, com uma seringa de 60 mL acoplada para o sistema de sucção a vácuo. A auxiliar realizou uma sucção de 20 mL e um pedaço de tecido muscular foi puxado para o interior da cânula da agulha e cortado pelo médico com o trocarte do interior da agulha. Após rotações da cânula no orifício, foram feitas mais duas sucções e dois cortes. A agulha foi então retirada e o tecido coletado foi depositado em uma placa de petri com auxílio de um êmbolo passado no interior da cânula. O médico fez a sutura do orifício utilizando fio de nylon não absorvível 3-0 com agulha de 3 cm (Technofio, ACE, Goiânia – GO, Brasil). Transcorridas as 4 h de recuperação, todo o processo foi repetido na mesma perna do participante, porém a segunda biópsia (b2) foi feita a 5 cm distais da primeira. Ao fim do segundo procedimento os participantes foram orientados sobre os cuidados necessários e sobre o retorno para o experimento 2 (intervalo com período de 7 a 15 dias). Durante os dias após a biópsia os voluntários foram contatados por telefone ou mensagem para verificação da cicatrização, sintomas ou qualquer intercorrência. Eles retornaram para retirada do ponto e avaliação do médico com cinco a sete dias pós-biópsia.

6.6.2.4 Bebidas e refeição teste

Neste estudo os atletas participantes receberam as bebidas e refeições teste e controle divididas em três momentos em cada dia de experimento. Nos dois primeiros momentos (imediatamente após a biópsia muscular b1 e 60 minutos depois) eles receberam uma bebida do tipo frapê preparada com café, leite e açúcar (Café+leite), ou tipo milk-shake com água, leite e açúcar (Leite), a temperatura de 8-10° C. No terceiro momento (120 minutos após a biópsia b1) eles receberam um sanduiche composto por pão de forma, ovo, queijo cottage e sal, acompanhado de café com açúcar (Café+leite), a temperatura de 40 – 42 °C ou de água com açúcar (Leite), a temperatura de 30 – 35°C.

O planejamento e elaboração da bebida testada neste estudo foi baseado no teor de cafeína utilizado no estudo de Pedersen et al. (2008), que obteve resultados positivos em relação à recuperação do glicogênio muscular [28]. Também foram definidas as quantidades de carboidrato e proteína de alto valor biológico necessários

para a recuperação [52], que foram utilizadas tanto na bebida e refeição teste quanto no controle. Contendo ambos os experimentos o mesmo teor de macronutrientes, o que diferenciou o teste do controle foi a presença de café.

O ponto de partida para o preparo da dieta foi o teor de cafeína de 8mg/kg de peso do atleta [28]. Para os cálculos considerou-se um conteúdo de 1530 mg de cafeína a cada 100g de café em pó, obtido a partir de análise do Café Torrado e Moído Melitta® Tradicional, no Laboratório de Bioquímica Nutricional e de Alimentos, do Departamento de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro. A quantidade total de cafeína foi distribuída entre as três porções da refeição teste.

O preparo do café foi realizado pelo método de filtragem a 10% com água fervente em filtro de papel, considerando uma retenção de cafeína no filtro de 50% [87] e respeitando a proporção de 10g de pó para 100 mL de água. Em relação ao conteúdo de CHO e proteína, cada uma das duas porções da bebida e a refeição sólida continham 1,2g de CHO/kg de peso e 0,3g de proteínas/kg de peso, respeitando a proporção de 4:1 de carboidrato e proteína [52]. O conteúdo total fornecido durante a recuperação foi de 3,6g de CHO/kg e 0,9g de proteína/kg. Para alcançar estas quantidades de macronutrientes foram utilizados leite em pó desnatado (Leite em Pó Desnatado Instantâneo Piracanjuba) e açúcar cristal (Cristalçúcar União) para a bebida; e pão branco (Pão de Sanduiche Forma Seven Boys), ovo e queijo cottage (Queijo tipo Cottage Canto de Minas) para a refeição sólida. Os cálculos para elaboração das bebidas e sanduiche para um atleta de 70 kg e as fichas técnicas de preparo estão apresentados no Apêndice F. O volume das bebidas e o peso dos sanduiches foram registrados em planilhas em todos os dias de experimentos.

6.6.2.4.1 Cegamento dos participantes e pesquisadores

Foram utilizadas algumas estratégias para cegamento dos atletas quanto ao tipo de bebida que receberam. Inicialmente, eles foram informados de que haveria cinco possibilidades de bebidas: água com açúcar, café com leite e açúcar, leite com açúcar, café descafeinado com açúcar e café com açúcar. Eles seriam sorteados e receberiam duas destas opções nos experimentos 1 e 2. Porém, como mostrado

anteriormente, foram apenas duas opções de bebidas (Café+leite e Leite). Desta forma, mesmo que o participante identificasse a bebida do experimento 1 pelo sabor, não saberia qual bebida receberia no experimento 2. Além disso, foram utilizados copos opacos, com tampa e canudos pretos para servir as bebidas. Por fim, para mascarar o sabor, em todos os dias foi preparado café no laboratório, independente se no experimento do dia o voluntário receberia café ou não. A parte superior das tampas dos copos, sem contato com o conteúdo, foi embebida no café a fim de ficar com aroma da bebida. Deste modo, ao tomar a bebida que não continha café, o participante sentia o cheiro de café e poderia confundir os sabores. Somente os três pesquisadores que se revezaram no preparo das refeições tinham conhecimento do que foi ofertado ao voluntário. Os pesquisadores que ficaram em contato constante com os voluntários também foram cegados quanto ao tipo de bebida.

6.6.2.4.2 Aceitação das bebidas

Os voluntários preencheram um formulário de aceitação ao terminarem de consumir as duas primeiras bebidas (frapê ou milk-shake), nos tempos 0 e 60 minutos. Eles avaliaram o aroma, sabor e textura das bebidas em uma escala hedônica estruturada com 9 pontos: 1 não gostei extremamente, 2 não gostei muito, 3 não gostei moderadamente, 4 não gostei ligeiramente, 5 indiferente, 6 gostei ligeiramente, 7 gostei moderadamente, 8 gostei muito, 9 gostei extremamente.

6.7 ANÁLISES E VARIÁVEIS

6.7.1 Sangue

Em cada um dos oito tempos, foram coletados 10 mL de sangue, divididos em dois tubos com ativador de coagulação e gel separador (Greiner Bio-One, São Paulo

– SP, Brasil). As amostras permaneceram em repouso por 15 minutos e em seguida foram centrifugadas (4000 rpm, 4°C, 15 minutos). Um dos tubos de cada tempo foi mantido refrigerado a 2°C e ao final do experimento os oito tubos foram encaminhados em caixa térmica com gelo para o laboratório de análises clínicas responsável pelas dosagens bioquímicas. Foram determinados os níveis de glicose e insulina pelo método de quimioluminescência em soro. O segundo tubo centrifugado teve o conteúdo de soro dividido em alíquotas em microtubos do tipo eppendorf de 1,5 mL e armazenado a -80°C para controle e possível necessidade de repetição das análises.

As áreas totais abaixo da curva (TAUC) de resposta glicêmica e insulinêmica foram calculadas aplicando-se o método trapezoidal (FAO, 1998), utilizando o programa GraphPad Prism, versão 8 (GraphPad Software, Inc., USA).

6.7.2 Tecido muscular

As amostras de tecido muscular obtidas nas biópsias (Figura 6) foram pesadas em balança eletrônica de precisão TX223L (Shimadzu, Duisburgo – Alemanha) divididas em porções menores e livres de tecido adiposo e conectivo, e foram acondicionadas em tubos eppendorf identificados, resfriadas em nitrogênio líquido e armazenadas em freezer -80°C. A análise conduzida com as amostras de tecido foi a dosagem de glicogênio muscular.



Figura 6 Amostra de tecido muscular obtida através de biópsia. Projeto CaféEx, Brasília - DF, 2019

6.7.2.1 Glicogênio muscular

Para quantificação do glicogênio muscular nas amostras foi utilizada a metodologia descrita por Lo et al. (1970) [88].

Extração:

Foram pesados 35 a 50 mg de tecido muscular em tubo de vidro com rosca, e adicionados 500 μ L de solução 30% de hidróxido de potássio, saturada com sulfato de sódio, deixando o tecido completamente imerso para digestão. O tubo foi aquecido em banho-maria a 100 $^{\circ}$ C por 30 minutos, obtendo uma solução homogênea que em seguida foi resfriada em gelo por 10 minutos. Foi adicionado etanol 95% (1,2 vezes o volume de solução) e as amostras foram incubadas em gelo por 30 minutos para precipitação do glicogênio da digestão alcalina. Os tubos foram então centrifugados (840 x g por 30 minutos em temperatura ambiente) e o precipitado foi ressuscitado em 1 mL de água deionizada. Esta solução de glicogênio foi diluída em 5 vezes para

dosagem e a solução final foi dividida em triplicatas de 200 µL em tubos eppendorf de 2 mL.

Dosagem:

Na capela de fluxo laminar foram adicionados a cada tubo 200 µL de fenol 5% e 1 mL de ácido sulfúrico 98% (em forma de jato para garantir a homogeneização). As amostras foram submetidas a incubação em temperatura ambiente por 10 minutos e depois em banho-maria a 30°C por 20 minutos. O branco e o padrão foram preparados respectivamente com água deionizada e solução padrão de glicogênio em substituição à solução de ressuspensão das amostras. A absorbância foi determinada a 490 nm em espectrofotômetro (Libra, Biochrom, Cambrige, Inglaterra). A concentração final de glicogênio foi obtida com base em uma curva-padrão com faixa de concentração de 0 a 100 µg de glicogênio por mL de meio reacional. A equação da curva-padrão foi $y = 0,0547x + 0,0044$ ($r_2 = 0,9373$) e a unidade utilizada para expressar o resultado foi gramas por 100 g de peso úmido (wet weight) de tecido muscular ($g/100g\ ww^{-1}$). Para fins de comparação com dados disponíveis na literatura, a concentração de glicogênio muscular também foi apresentada em $mmol/kg\ dw^{-1}$ (milimoles por quilograma de peso seco) após conversão proposta por Areta & Hopkins (2018) [89].

6.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As características individuais e de desempenho nos testes preliminares estão apresentadas sob a forma de estatística descritiva para os participantes, utilizando média e desvio-padrão (DP). Esta etapa foi conduzida no programa Excel (Microsoft 365®).

Foi aplicada a análise do efeito de medidas repetidas usando o procedimento de modelos mistos (PROC MIXED), considerando o delineamento aleatorizado e cruzado (cross-over) do experimento. Foi utilizado o programa SAS/STAT® software (SAS on demand, SAS Institute Inc. Cary, NC, USA. [https://www.sas.com/en_us/software/on-demand-for-academics.html]).

O protocolo do modelo no PROC MIXED utilizou a opção de método de estimativa REML (máxima verossimilhança restrita) levando em consideração os

seguintes parâmetros como efeitos fixos: a sequência dos tratamentos que foi adotada para cada voluntário, os sujeitos, a ordem dos tratamentos e o tratamento em si. Cada sujeito seguiu uma sequência de Leite ou Café+leite em ordem definida aleatoriamente no primeiro experimento. A sequência e a ordem dos protocolos foram consideradas em todas as análises realizadas, devido à possível influência do protocolo experimental na depleção do glicogênio muscular e na posterior resposta aos tratamentos.

O teste de efeitos fixos foi aplicado para cada parâmetro e a estatística F resultante indicou quais parâmetros exerceram efeito sobre as variáveis dependentes analisadas. Os valores das médias dos mínimos quadrados e seu erro padrão (EP) do SAS PROC MIXED foram apresentados e comparados entre os tratamentos Leite e Café+leite para todas as variáveis, usando o teste *t de Student*, assumindo um nível de significância de 0,05.

Para avaliar o efeito dos tratamentos na síntese de glicogênio muscular foram comparados os conteúdos de glicogênio ao final do período de recuperação de 4 h entre Leite e Café+leite. Também foram comparadas as diferenças (Δ) nos conteúdos de glicogênio final (4 h) e inicial (0 h) entre Leite e Café+leite. Para estas análises o conteúdo de glicogênio inicial foi considerado como covariável. Portanto, o efeito dos tratamentos no acúmulo de glicogênio ao final da recuperação foi corrigido pelo conteúdo de glicogênio basal de cada participante.

As demais variáveis analisadas neste estudo com comparação entre os tratamentos foram: tempo total de exercício (min) para depleção do glicogênio muscular; ingestão de CHO, proteína e lipídeo (g/kg de peso) na noite anterior ao experimento; glicogênio ao final do exercício de depleção; glicemia e insulinemia de jejum; glicemia e insulinemia ao final do exercício de depleção; e área total abaixo da curva (TAUC) para glicose e insulina.

6.9 ASPECTOS ÉTICOS

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde (CEP/FS) da Universidade de Brasília (Anexo A). O estudo foi

conduzido de acordo com os princípios da Declaração de Helsinque e está cadastrado no Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos (ReBEC) sob número RBR-9nrxdf.

Todos os atletas que participaram do estudo concordaram com os termos do TCLE (Apêndice G) e deixaram seu consentimento assinado. Eles receberam todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa e o nome deles não foi divulgado, sendo mantido o mais rigoroso sigilo através da omissão total de quaisquer informações que permitissem identificá-los. Eles foram informados de que poderiam se recusar a responder qualquer questão que lhes trouxesse constrangimento, podendo desistir de participar da pesquisa em qualquer momento sem nenhum prejuízo. As despesas dos participantes com transporte e alimentação durante os dias e horários dos experimentos foram cobertas pelos pesquisadores, como parte do financiamento recebido para o estudo.

Em relação a possíveis incômodos específicos da biópsia, eles foram informados de que alguns indivíduos podem sentir dor localizada no período de aproximadamente 24 h após o procedimento. Tal sensação não deveria ser maior do que aquela devido à uma “pancada” na perna. Apesar de raras, as possíveis complicações foram relatadas e toda a equipe se colocou à disposição caso fosse necessária uma intervenção. Para evitá-las os atletas foram aconselhados a não realizar esforço físico por dois dias após o procedimento.

Em contrapartida à sua participação os voluntários tiveram acesso ao resultado do teste incremental cardiopulmonar, que determinou o consumo máximo de oxigênio, limiares ventilatórios, frequência cardíaca máxima e potência gerada nos respectivos limiares e no pico do esforço, todas medidas importantes no planejamento dos treinos. Além disso, eles também receberam a avaliação da composição corporal com bioimpedância elétrica multifrequencial e dos exames bioquímicos de glicose e insulina. Qualquer desvio nutricional identificado durante o estudo foi informado aos participantes e eles foram orientados pela pesquisadora responsável.

7 FINANCIAMENTO

7.1 PROJETO

Este projeto contou com financiamento da Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAPDF), edital 03/2016 – Demanda Espontânea sob processo número 9709.56.28417.07042016. A vigência é de 22/12/2016 a 15/09/2020. Além disso, recebeu financiamento do Programa de Apoio à Pesquisa (PROAP/CAPES), edital DPG/UnB 04/2018.

7.2 BOLSAS

A doutoranda Laís Loureiro foi bolsista da FAPDF (Edital ProMD 2016) entre março de 2016 e abril de 2017; e da CAPES entre maio de 2017 e janeiro de 2020. O projeto também foi contemplado com duas bolsas de Iniciação Científica PROIC UnB em 2016-2017 e 2017-2018.

CAPÍTULO 3

8 RESULTADOS

8.1 SELEÇÃO E CARACTERÍSTICAS DOS PARTICIPANTES

Quatorze atletas adultos do sexo masculino completaram os dois ensaios experimentais sem nenhuma desistência. Dois deles apresentaram sintomas gastrointestinais após consumir as bebidas e refeições, como desconforto abdominal e diarreia, e portanto foram excluídos. Um atleta foi excluído das análises devido ao sobrepeso diagnosticada pelo IMC e %GC, além de hiperinsulinemia de jejum em um dos dias de experimento. Não houve qualquer complicação decorrente do procedimento da biópsia muscular e das coletas de sangue. A Figura 7 apresenta o fluxograma do recrutamento e participação dos voluntários e a Tabela 1 apresenta as características basais dos 11 participantes incluídos nas análises.

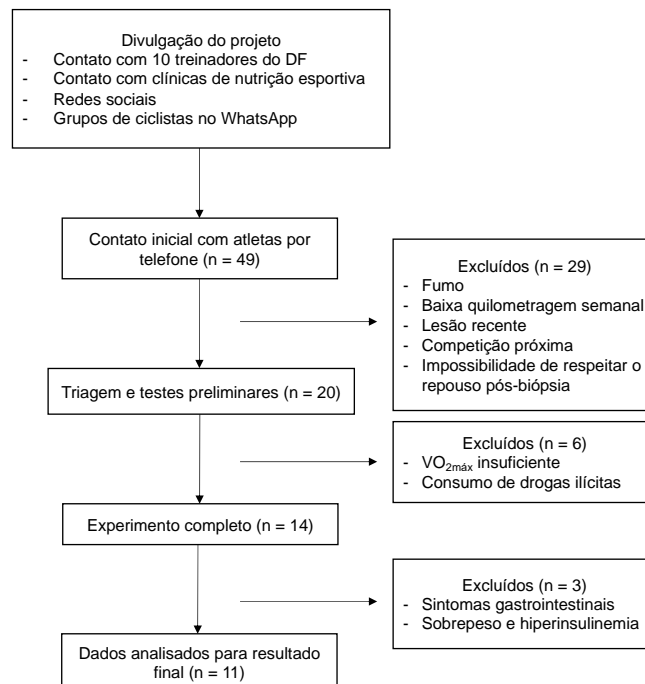


Figura 7 Fluxograma de recrutamento e participação dos voluntários. Projeto CaféEx, Brasília - DF,

Tabela 1 Características dos atletas participantes no início do estudo. Projeto
CaféEx, Brasília - DF, 2019

Variável	Média	DP	Mín - Máx
Idade (anos)	39	6	30 – 49
Peso corporal (kg)	75,7	7,6	62,3 – 89,1
IMC (kg/m ²)	24,0	2,3	21,1 – 27,6
Gordura corporal (%)	16,3	5,4	7,3 – 22,8
VO _{2máx} (mL/kg/min)	59,97	8,28	51,52 – 77,00
Pico de potência (W)	346	39	294 – 411
Horas de treino/sem	8,7	3	5 – 15
Quilometragem/sem	255	109	80 – 500
Anos de experiência no esporte	4,2	3	1 – 10
Consumo de cafeína (mg/dia)	296	111	85 – 458

IMC: Índice de massa corporal; VO_{2máx}: volume máximo de oxigênio; W: watts; sem: semana.; DP: Desvio Padrão

Entre os participantes dois eram triatletas (18,2%), cinco eram ciclistas da modalidade *mountain bike* (45,5%) e quatro eram ciclistas da modalidade estrada (36,3%). De acordo com os dados de IMC oito atletas eram eutróficos (72,7%) e três estavam com sobrepeso (27,3%) [82]. O %GC de quatro atletas (36,3%) estava abaixo da média e de sete atletas (63,7%) estava acima da média. Nenhum atleta tinha o %GC acima de 25%, que indica risco associado a obesidade [83], e todos estavam com peso estável nos últimos 3 meses. Todos eram consumidores habituais de café e leite e o consumo individual diário de cafeína não ultrapassou o limite de 500mg. A análise dos dados de consumo alimentar está apresentada na Tabela 2.

Tabela 2 Média da ingestão diária de energia e macronutrientes dos atletas participantes durante o estudo. Projeto CaféEx, Brasília - DF, 2019

	Média	DP	Mín - Máx
Energia (kcal)	2823	530	2161 – 4137
CHO (%)	49,5	6,7	38,5 – 55,5
LIP (%)	32,8	6,0	22,7 – 43,0
PTN (%)	17,7	2,6	12,3 – 21,5
CHO (g/kg)	4,3	0,7	3,0 – 5,3
LIP (g/kg)	1,3	0,3	0,7 – 2,0
PTN (g/kg)	1,6	0,2	1,2 – 2,0

kcal: quilocalorias; CHO: carboidratos; PTN: proteínas; LIP: lipídeos; DP: Desvio Padrão

8.2 INTERVENÇÃO DIETÉTICA E EXERCÍCIO PARA DEPLEÇÃO DO GLICOGÊNIO MUSCULAR

A ingestão de macronutrientes no jantar e o tempo total de exercício para depleção do glicogênio muscular não diferiram estatisticamente entre os dois dias do experimento (Tabela 3), mostrando que os atletas seguiram igualmente os protocolos de dieta e exercício para esgotar o glicogênio muscular em ambos os ensaios.

Tabela 3. Tempo total de exercício e ingestão de macronutrientes no jantar para depleção do glicogênio muscular nos dois experimentos. Projeto CaféEx, Brasília - DF, 2019

	Leite	Café+leite	p valor
Tempo total de exercício (min)	116 ± 12,15	114 ± 12,15	0,74
CHO (g/kg)	0,67 ± 0,05	0,62 ± 0,05	0,19
PTN (g/kg)	0,75 ± 0,07	0,80 ± 0,07	0,45
LIP (g/kg)	0,46 ± 0,07	0,50 ± 0,07	0,38

Dados apresentados são médias ± EP. min: minutos; CHO: carboidratos; PTN: proteínas; LIP: lipídeos.

8.3 BEBIDAS

Os 11 participantes compareceram duas vezes ao laboratório e em cada ocasião receberam três doses de bebidas com ou sem café em sua composição, totalizando 66 doses fornecidas e consumidas neste experimento.

A Tabela 4 apresenta o volume e o peso médios das bebidas e do sanduiche consumidos durante a recuperação. O maior volume consumido em uma única dose foi de 635 mL, para o atleta com maior massa corporal, e o menor volume foi de 165 mL para o atleta com menor massa corporal.

Tabela 4 Volume e quantidade total das refeições fornecidas durante o período de recuperação. Projeto CaféEx, Brasília - DF, 2019

	Média	DP	Mín - Máx
Bebida 1 e 2 (mL)	530	54	375 – 635
Bebida 3 (mL)	275	46	165 – 375
Sanduiche (g)	175	12	160 – 200

Bebida 1 e 2: Café com leite e açúcar ou leite e açúcar; Bebida 3: café com açúcar ou água com açúcar; Sanduiche: Pão de forma branco, ovo cozido, sal e queijo cottage; DP: Desvio Padrão.

8.3.1 Cegamento dos participantes

A fim de verificar a eficácia do processo de cegamento, os participantes foram questionados sobre o tipo de bebida que acabaram de consumir em cada um dos três momentos e tinham que escolher uma das cinco opções apresentadas. Nos dias em que consumiram as bebidas com café o índice de acerto foi de 31% e nos dias em que as bebidas não continham café o índice foi de 15%.

8.3.2 Aceitação das bebidas

O teste de aceitação com escala hedônica de 1 a 9 revelou boa aceitação das duas bebidas, frapê (Café+leite) e milk-shake (Leite). Nenhum participante pontuou as bebidas com notas abaixo de 5, que indicam “não gostou” no teste de aceitação. O frapê Café+leite recebeu nota máxima 9 (gostei extremamente) de cinco participantes (45,5%), nota 8 (gostei muito) de cinco participantes (45,5%) e apenas um participante (9%) pontuou com nota 5 (indiferente). O milk-shake Leite recebeu nota 9 de três participantes (27,25%), nota 8 de cinco participantes (45,5%) e nota 7 (gostei moderadamente) de três participantes (27,25%).

8.4 RESPOSTA GLICÊMICA E INSULINÊMICA

A glicemia e a insulinemia de jejum não diferiram estatisticamente entre os dois dias de experimentos [83,47 ± 1,93 vs. 83,50 ± 1,93 mg/dL de glicose para Leite e Café+leite, respectivamente (p = 0,98; IC95% = -3,18; 3,11); 3,78 ± 0,55 vs. 3,91 ± 0,55 µUI/mL de insulina para Leite e Café+leite, respectivamente (p = 0,84; IC95% = -1,44; 1,19)]. Nenhum participante apresentou quadro de hipoglicemia (glicose < 70mg/dL) após o exercício de depleção do glicogênio [21] e os valores de glicose e

insulina após o exercício também não diferiram entre os dois dias de experimento [89,73 \pm 4,08 vs. 89,78 \pm 4,08 mg/dL de glicose para Leite e Café+leite, respectivamente ($p = 0,98$; IC95% = -3,79; 3,69); 7,76 \pm 1,82 vs. 8,95 \pm 1,82 μ UI/mL de insulina para Leite e Café+leite, respectivamente ($p = 0,35$; IC95% = -3,76; 1,38)].

A análise da área total abaixo da curva (TAUC) mostra que o consumo de Café+leite resultou em resposta glicêmica e insulinêmica estatisticamente maiores comparadas ao consumo de Leite (Figura 8). A TAUC de glicose média com o tratamento Leite foi de 22331 mg x min/dL e com o tratamento Café+leite foi de 23593 mg x min/dL, uma diferença estimada de 1262 mg x min/dL ou 5,6% a mais no Café+leite ($p = 0,02$; IC95% = -2298,09; -225,91). Em relação à resposta insulinêmica, a TAUC de insulina média com Leite foi de 8089,07 μ UI x min/mL e com Café+leite foi de 11653 μ UI x min/mL, uma diferença estimada de 3564,05 μ UI x min/mL ou 44% a mais no Café+leite ($p = 0,03$; IC95% = -6749,36; -378,74).

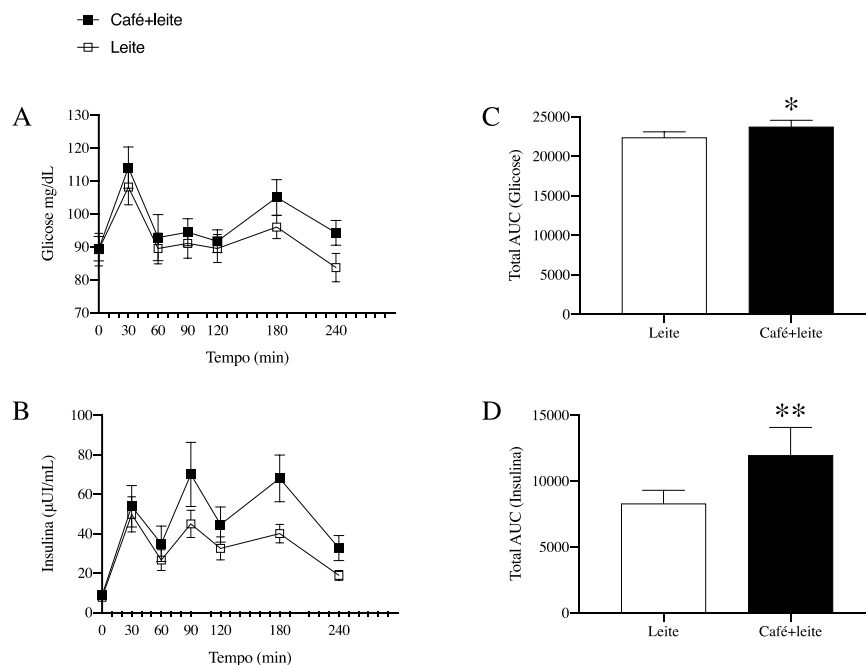


Figura 8 (A) Curva glicêmica na recuperação durante 4 horas (240min); (B) Curva insulinêmica na recuperação durante 4 horas (240min); (C) Médias dos mínimos quadrados + EP da TAUC para glicose; (D) Médias dos mínimos quadrados + EP da TAUC para insulina. Em cada experimento os indivíduos pedalarão até fadiga voluntária (70% $VO_{2máx}$) e consumiram aleatoriamente leite e uma refeição sólida (Leite) ou café com leite e uma refeição sólida (Café+leite) nos momentos 0, 60 e 120 minutos. *Diferença significativa vs. Leite na TAUC para glicose ($p = 0,02$); **Diferença significativa vs. Leite na TAUC para insulina ($p = 0,03$). Método de modelos mistos, Proc Mixed (SAS studio). Projeto CaféEx, Brasília - DF, 2019

8.5 GLICOGÊNIO MUSCULAR

Ao final do exercício executado na manhã do experimento nenhuma diferença foi observada nos níveis de glicogênio muscular entre os dois ensaios (0 h; $p = 0,48$) (Tabela 5). Após 4 h de recuperação, o tratamento Café+leite resultou em níveis de glicogênio muscular 40% maiores em comparação ao tratamento Leite, com diferença de $0,25 \text{ g}/100\text{g ww}^{-1}$ entre os tratamentos (4 h; $p = 0,01$). Conseqüentemente as diferenças nos conteúdos final (4 h) e inicial (0 h) mostraram um acúmulo de glicogênio estatisticamente maior com tratamento Café+leite (Δ ; $p = 0,01$). (Figura 9). A seqüência e a ordem dos tratamentos não tiveram efeito sobre os resultados observados.

Tabela 5 Valores de glicogênio obtidos no tecido muscular dos atletas nos dois dias de experimento, apresentados em $\text{g}/100\text{g ww}^{-1}$ e $\text{mmol}/\text{kg dw}^{-1}$. Projeto CaféEx, Brasília - DF, 2019

Glicogênio	Leite		Café+leite		p valor*	IC95%*
	$\text{g}/100\text{g ww}^{-1}$	$\text{mmol}/\text{kg dw}^{-1}$	$\text{g}/100\text{g ww}^{-1}$	$\text{mmol}/\text{kg dw}^{-1}$		
Inicial (0 h)	$0,43 \pm 0,10$	$103,85 \pm 24,15$	$0,50 \pm 0,10$	$120,75 \pm 24,15$	0,48	-0,26; 0,13
Final (4 h)	$0,63 \pm 0,07$	$152,15 \pm 16,91$	$0,89 \pm 0,07$	$214,94 \pm 16,91$	0,01	-0,44; -0,06
Δ	$0,17 \pm 0,07$	$41,06 \pm 16,91$	$0,42 \pm 0,07$	$101,43 \pm 16,91$	0,01	-0,44; -0,06

*comparação entre os tratamentos considerando valores em $\text{g}/100\text{g ww}^{-1}$. Os dados são apresentados em médias dos mínimos quadrados \pm EP. Método de modelos mistos, Proc Mixed (SAS studio).

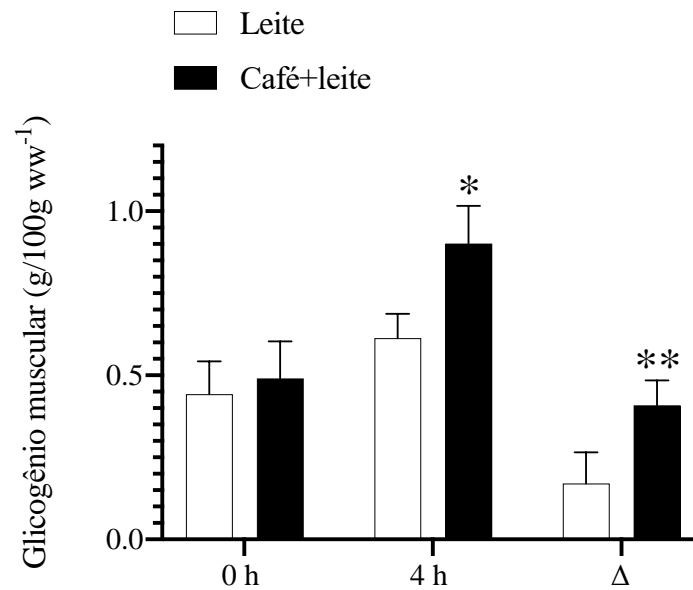


Figura 9 Glicogênio muscular imediatamente após o exercício em cicloergômetro até fadiga voluntária (70% $VO_{2máx}$) (0 h), ao final de 4 h de recuperação e a diferença entre 0h e 4h (Δ). Durante a recuperação os indivíduos consumiram aleatoriamente leite e uma refeição sólida (Leite) ou café com leite e uma refeição sólida (Café+leite). Leite vs. Café+leite 0h ($p = 0,48$); *Diferença significativa vs. Leite 4h ($p = 0,01$); **Diferença significativa vs. Leite Δ ($p = 0,01$). Os dados são apresentados em médias dos mínimos quadrados + EP. Método de modelos mistos, Proc Mixed (SAS studio). Projeto CaféEx, Brasília - DF, 2019

9 DISCUSSÃO

A hipótese investigada neste estudo foi confirmada, uma vez que o consumo de café (Café+leite) aumentou o acúmulo de glicogênio muscular e a área total abaixo da curva (TAUC) da resposta glicêmica e insulinêmica durante o período de recuperação de 4 h em comparação com o controle (Leite).

9.1 GLICOGÊNIO MUSCULAR

O conteúdo de glicogênio muscular ao final do exercício, obtido pela análise do tecido da primeira biópsia (b1), mostrou que os atletas iniciaram o período de recuperação de 4 h com os níveis de glicogênio reduzidos e em situação similar nos dois dias de experimento (Leite $0,43 \pm 0,10$ g/100g ww⁻¹; Café+leite $0,50 \pm 0,10$ g/100g ww⁻¹; $p = 0,48$). Ao final, com a segunda biópsia (b2), comprovou-se maior concentração de glicogênio muscular quando o café foi consumido (Leite $0,63 \pm 0,07$ g/100g ww⁻¹; Café+leite $0,89 \pm 0,07$ g/100g ww⁻¹; $p = 0,01$).

A diferença observada entre os dois tratamentos neste experimento tem um significado prático importante para a nutrição nos esportes de resistência. O tratamento Leite proporcionou uma recuperação de $0,17 \pm 0,07$ g/100g ww⁻¹ ou $41,06 \pm 16,91$ mmol/kg dw⁻¹, enquanto o tratamento Café+leite proporcionou uma recuperação de $0,42 \pm 0,07$ g/100g ww⁻¹ ou $101,43 \pm 16,91$ mmol/kg dw⁻¹. Uma meta-análise conduzida em 2018 com estudos que avaliaram glicogênio muscular através de biópsias observou uma média de glicogênio em atletas em repouso de 484 ± 144 mmol/kg dw⁻¹ [89]. Considerando este valor, a recuperação com o tratamento Leite foi de 8,5%, enquanto com o tratamento Café+leite foi de 21% do valor médio de repouso.

Existe grande variabilidade nos valores de glicogênio obtidos em diferentes estudos conduzidos com biópsias musculares. Esta variabilidade está relacionada a disponibilidade de CHO, nível de treinamento dos participantes que compõem as amostras, tipo e intensidade do exercício executado, duração do período de recuperação [89].

O estudo de Pedersen et al. (2008), que obteve maior taxa de recuperação de glicogênio muscular com consumo de CHO com cafeína comparado ao consumo somente de CHO, obteve valores ~ 30% menores de glicogênio iniciais pós-exercício em comparação com nosso experimento (CHO 74 ± 55 e CHO+cafeína 76 ± 21 mmol/kg dw⁻¹ vs. Leite $103,85 \pm 24,15$ e Café+leite $120,75 \pm 24,15$ mmol/kg dw⁻¹). Os dois estudos tiveram procedimentos pré-experimentais semelhantes, como duas sessões de exercícios e prescrição dietética com baixo teor de CHO para depleção do glicogênio muscular, além do mesmo nível médio de treinamento dos atletas (VO_{2max} e PPO). Apesar disso, a depleção parece ter sido maior no estudo de Pedersen et al. (2008) [28].

Em contrapartida, os valores finais de glicogênio (4 h) no estudo de Pedersen et al. (2008) superaram os observados no nosso estudo em ~ 33% (CHO 234 ± 50 e CHO+cafeína 313 ± 69 mmol/kg dw⁻¹ vs. Leite $152,15 \pm 16,91$ e Café+leite $214,94 \pm 16,91$ mmol/kg dw⁻¹). Neste aspecto, algumas diferenças metodológicas podem explicar estes valores. Nosso protocolo forneceu um total de 3,6g de CHO/kg e 0,9g de PTN/kg, divididos em três porções durante 4 h de recuperação, sendo a última porção no tempo 120 minutos. O protocolo de Pedersen et al. (2008) forneceu 4g de CHO/kg divididos em quatro porções durante o mesmo período, sendo a última porção fornecida no tempo 180 minutos. Uma porção a mais de suplementação pode ter contribuído para a manutenção do estímulo para ressíntese de glicogênio durante toda a primeira fase de recuperação. Além disso, sabe-se que um grande estímulo para recuperação do glicogênio é a própria depleção provocada pelo exercício [54]. Portanto, os valores basais de glicogênio ~ 30% menores do estudo de Pedersen et al. (2008) e um aporte maior de CHO podem explicar os valores superiores ao final da recuperação, em comparação ao nosso estudo.

O estudo de Beelen et al. (2012) também avaliou o efeito do consumo de CHO com e sem cafeína na recuperação do glicogênio muscular e não obteve diferença significativa entre os tratamentos [90]. Algumas diferenças metodológicas importantes podem explicar o resultado. O protocolo de depleção do glicogênio foi conduzido no mesmo dia do experimento, com os atletas em jejum noturno. Com isso, os valores basais de glicogênio após o exercício (CHO 172 ± 40 e CHO+cafeína 138 ± 22 mmol/kg dw⁻¹) foram superiores aos observados em nosso protocolo, que teve início na noite anterior e foi continuado na manhã do experimento. Quando a concentração

de glicogênio muscular pós-exercício está abaixo de 128-150 mmol/kg dw⁻¹ pode ocorrer até mesmo uma recuperação nas primeiras horas independente do estímulo da insulina [26]. Os altos valores basais resultantes do protocolo de Beelen et al. (2012) podem indicar que não houve depleção suficiente para observar alguma diferença entre os tratamentos.

Em relação ao tempo de tratamento, Beelen et al. (2012) avaliaram o glicogênio muscular antes e após 6 h de recuperação pós-exercício. A primeira fase de recuperação do glicogênio muscular pode durar até 4 h, é mais sensível à presença de CHO e nela ocorrem as maiores taxas de ressíntese com a formação de proglicogênio [8, 26]. Após essa primeira fase inicia-se a formação de macroglicogênio, que pode durar até 48 h, sendo mais lenta e contínua [30]. Ao adotar uma recuperação de 6 h, Beelen et al. (2012) podem ter ultrapassado o tempo no qual poderiam ser observados diferentes efeitos entre os tratamentos. Além disso, o propósito de se avaliar opções de tratamentos para o pós-exercício é garantir a recuperação do glicogênio em poucas horas, beneficiando atletas que treinam mais de uma vez ao dia ou em competições com mais de uma prova no mesmo dia [8, 13].

Não é claro o nível em que os diferentes tipos de testes físicos executados com os atletas de ciclismo influenciam os resultados das pesquisas [35]. Em se tratando de um desenho experimental cruzado, em que cada indivíduo é o seu próprio controle, qualquer tipo de interferência do método é minimizada. No experimento do CaféEx a nossa principal preocupação foi garantir a máxima depleção do glicogênio muscular. Para tanto, os atletas executaram dois blocos de exercício com intensidade moderada a alta – um à tarde e um na manhã seguinte – e entre eles, consumiram refeições prescritas por nutricionistas, com baixo teor de CHO, somente à noite. Pela manhã o exercício foi executado em jejum. Com este protocolo foi possível garantir uma redução nos níveis de glicogênio muscular, propiciados pelo exercício e intervenção dietética [27]; e dos níveis de glicogênio hepático, devido ao jejum [18].

O glicogênio hepático depletado é uma característica de estudos laboratoriais com atletas que muitas vezes não corresponde à realidade de treinamento em vida livre, uma vez que a prática esportiva de alta intensidade e longa duração em jejum é pouco vantajosa. Isto porque iniciar um exercício com baixas reservas de glicogênio endógeno pode impedir o alcance da intensidade desejada pelo atleta, reduzindo as adaptações relacionadas ao treinamento de resistência [91]. Porém, nos ensaios

clínicos o jejum é uma orientação necessária que visa a padronização interpessoal do estado de reserva de combustível, neste caso de CHO. Podemos inferir que após o consumo da primeira dose da bebida – Café+leite ou Leite – parte do suprimento de carboidratos foi direcionado para recuperação do glicogênio hepático. Uma vez que as bebidas fornecidas continham os três tipos de monossacarídeos, é provável que a galactose (do leite) e a frutose (do açúcar), metabolizadas no fígado ao deixarem o epitélio intestinal, tenham sido direcionadas para a recuperação hepática [18]. Este ponto é especialmente importante devido à alta depleção de glicogênio hepático a que foram submetidos os atletas. Esta mistura de diferentes tipos de monossacarídeos não promove necessariamente um aumento na taxa de recuperação do glicogênio muscular [86, 92, 93], porém viabiliza o consumo de grandes quantidades de CHO com maior tolerância gastrointestinal por parte dos atletas [93], o que indiretamente favorece a ressíntese de glicogênio nos músculos.

9.2 RESPOSTA GLICÊMICA E INSULINÊMICA

A análise da área total abaixo da curva (TAUC) mostrou que o consumo de Café+leite aumentou a resposta glicêmica ($p = 0,02$) e insulinêmica ($p = 0,03$) comparado ao consumo de Leite.

O fornecimento de uma refeição rica em CHO de fontes mistas – glicose, frutose e galactose – favorece e acelera a captação intestinal dos monossacarídeos em comparação à glicose isolada, por utilizar diferentes transportadores nos enterócitos [94]. Por outro lado, o leite é rico em aminoácidos que promovem aumento da secreção de insulina, potencializando a captação de glicose pelo músculo [75]. Neste ponto as duas bebidas – Café+leite e Leite – são potencialmente iguais no propósito de elevar a disponibilidade de CHO para ressíntese de glicogênio. Portanto, o maior valor das curvas glicêmica e insulinêmica com Café+leite se deve ao que diferenciou as duas bebidas: a presença do café e seus efeitos no metabolismo dos CHO. Uma revisão sistemática conduzida em 2018 analisou estudos sobre os efeitos do consumo de café no metabolismo da glicose e concluiu que há aumento na área abaixo da curva (AUC) na resposta glicêmica nas primeiras horas após o consumo de

café cafeinado [4]. Além disso, uma meta-análise apontou uma redução na sensibilidade à insulina em indivíduos saudáveis após consumo agudo de cafeína [67]. Estes resultados apontam para o possível papel da cafeína como componente do café no aumento da AUC da glicose e insulina observada no nosso experimento.

Todos os resultados deste experimento relacionados ao efeito do consumo de café no metabolismo de carboidratos devem ser analisados sob a importante ação do exercício físico neste processo. O possível efeito do café, mais precisamente da cafeína, numa indução de resistência à insulina [67] não impediu o aumento significativo no acúmulo de glicogênio muscular após o período de recuperação. O exercício físico tem a capacidade de elevar a captação de glicose, especialmente na primeira fase da recuperação, devido à depleção do glicogênio muscular, maior liberação de íons Ca^{2+} pelas células musculares e consequente translocação de transportadores GLUT-4, tudo isto independentemente da insulina [26, 31]. Neste sentido, é importante destacar que o efeito observado na ressíntese de glicogênio é resultado de diversas ações simultâneas no metabolismo da glicose e que o exercício pode reduzir o efeito da cafeína na resistência à insulina [95].

O método utilizado para analisar o efeito dos tratamentos na resposta glicêmica e insulinêmica foi o cálculo da área total, que inclui toda a área abaixo da curva considerando zero como valor basal [96]. Optamos pelo cálculo da área total e não da área incremental – que considera somente os picos de resposta acima da glicemia e insulinemia basais – devido ao fato de que em alguns participantes nenhum pico superou os valores basais, durante todo o período de 4 h de recuperação. Nesses casos, o valor da AUC incremental foi zero e não respondeu sobre o efeito dos tratamentos nesses participantes. As concentrações de glicose e insulina após o exercício não diferiram estatisticamente entre Café+leite e Leite ($p = 0,98$ para glicose; $p = 0,35$ para insulina), portanto este valor não influenciou as respostas distintas com os dois tratamentos observadas nas TAUC.

O estudo de Beam et al. (2015) avaliou o efeito do consumo de CHO com e sem cafeína na resposta glicêmica e insulinêmica após 30 minutos de exercício a 60% do VO_{2max} [97]. Como resultado, não observaram diferença estatística na AUC da glicose e insulina entre os tratamentos. Neste experimento os atletas receberam uma única bebida com 75g de CHO com e sem 5 mg/kg de cafeína imediatamente após o fim do exercício, e a curva foi calculada com os valores de glicose e insulina até 120

minutos. Por outro lado, nosso experimento forneceu maior quantidade de macronutrientes e cafeína, além de acompanhar a recuperação por maior tempo (240 minutos). É possível que 2 h não seja um tempo suficiente para observar o efeito da cafeína na resposta glicêmica e insulinêmica pós-exercício. Além disso, é importante manter o aporte de macronutrientes durante as 4 h da primeira fase de recuperação [8].

9.3 CARACTERÍSTICAS DOS PARTICIPANTES

Os participantes eram triatletas e ciclistas das modalidades mountain bike e estrada. Apesar das diferenças no tipo de treinamento destes três esportes, da variação no tempo de experiência (1 a 10 anos) e horas semanais dedicadas ao treinamento (5 a 15 horas), o preparo físico dos atletas foi suficiente de acordo com os critérios de inclusão do estudo [78]. Além disso, todos foram capazes de executar as duas sessões de exercício de forma eficaz para redução das reservas do glicogênio muscular. O VO_{2max} é uma medida de capacidade cardiopulmonar dos atletas e o PPO correspondente é a medida de força, duas variáveis importantes na avaliação da capacidade física de atletas [40], além de terem sido o parâmetro para prescrição do exercício para o experimento. A seleção de atletas com bom nível de condicionamento e treinamento neste estudo torna possível a extrapolação dos resultados positivos para situações de vida real, considerando que atletas de alto rendimento são os que necessitam de rápida recuperação dos níveis de glicogênio muscular, devido à alta demanda de treinos.

Nenhum voluntário extrapolou o consumo máximo diário de cafeína de 500mg, mesmo relatando consumo habitual de café e outras fontes de cafeína, como chás, refrigerante, chocolates e bebidas energéticas. Este limite foi estabelecido com a finalidade de obter uma amostra mais homogênea em relação ao consumo de cafeína e evitar o recrutamento de indivíduos com alto consumo deste composto, o que poderia gerar um efeito diferenciado em relação aos baixo ou normo consumidores. O estudo de Pedersen et al. (2008) observou efeito positivo da combinação de cafeína e CHO na recuperação do glicogênio muscular [28]. Este resultado indica que esse

pode ser o componente responsável pelo efeito do café observado no nosso estudo, porém não é possível afirmar que seja o único. A revisão sistemática conduzida por nosso grupo reuniu estudos que relataram efeitos positivos do ácido cafeico e cafestol, além da própria cafeína na translocação de GLUT-4 e captação de glicose nas células musculares, na fosforilação e ativação de CaMK e AMPK e na secreção pancreática de insulina [14]. Para responder o questionamento sobre o (s) componente (s) responsável (eis) pelo efeito observado neste ensaio, é necessário conduzir um estudo comparando o efeito do café cafeinado e do descafeinado.

9.4 CEGAMENTO DOS ATLETAS QUANTO AO TIPO DE BEBIDA

Neste experimento optamos por investigar os efeitos de uma bebida teste preparada com alimentos comuns e não suplementos, na recuperação do glicogênio muscular. Apesar das vantagens desta escolha já enumeradas, existe a dificuldade de cegamento dos voluntários sobre os tratamentos, intrínseca ao desenho experimental, uma vez que as duas bebidas se diferenciam pela presença de café, o que torna aparência e sabor completamente diferentes. Mesmo não se tratando de um experimento com medida de desempenho, em que o cegamento seria crucial [98], houve grande esforço em não permitir a percepção do sabor das bebidas. Os voluntários foram questionados sobre a composição das bebidas que consumiram e o resultado mostrou que a maior parte não conseguiu identificar o sabor das bebidas (31% e 15% de acerto para Café+leite e Leite, respectivamente). Nosso interesse é explorar melhor esse aspecto do cegamento em um estudo específico. Para o propósito do que foi estabelecido para essa tese o cegamento adotado foi uma estratégia eficiente.

9.5 SINTOMAS GASTROINTESTINAIS DURANTE O EXPERIMENTO

Todos os atletas selecionados para participarem deste experimento afirmaram serem consumidores habituais de café e de leite, sem nenhum relato de alergia, intolerância e desconforto relacionado ao consumo de leite. Apesar disso, dois atletas apresentaram desconforto abdominal e diarreia. O cálculo da prescrição das bebidas considerou o peso corporal para obter o total de macronutrientes e cafeína que cada participante deveria receber nas três doses. Naturalmente, os atletas mais pesados receberam altos volumes de frapê ou milk-shake (até 635 mL em uma única dose), e conseqüentemente uma alta carga de lactose e sacarose. Apesar das evidências de que o consumo de CHO de fontes mistas reduz o desconforto gastrointestinal por acelerar o esvaziamento gástrico e a absorção dos monossacarídeos [99], alguns atletas que nunca haviam experimentado sintomas gastrointestinais resultantes do consumo de leite, apresentaram reação com esse alto conteúdo. Uma solução para este problema seria a utilização de leite com adição da lactase, que converte a lactose em glicose e galactose e facilita o processo digestivo quando esta enzima é o fator limitante [100]. Outra possibilidade considera o fato de que optamos neste estudo por fornecer altas doses de CHO (1,2g/kg/h) mesmo com o conteúdo de proteína disponível no leite (0,3g/kg/h). Para os casos em que o excesso de CHO consumido em uma única dose for um problema, é possível reduzir o conteúdo deste macronutriente para obter um total de 0,8 – 1,0g de CHO/kg/h, sem possível prejuízo na eficiência da recuperação do glicogênio [51]. Uma grande vantagem da receita da bebida elaborada neste experimento é justamente a possibilidade de facilmente controlar o teor de CHO aumentando ou reduzindo a quantidade de açúcar na preparação a depender da necessidade do atleta. Ademais, a exclusão dos participantes não afetou o poder estatístico da amostra selecionada, uma vez que aumentamos em 25% o número amostral calculado, prevendo possíveis perdas.

10 CONCLUSÃO

Este estudo confirmou a hipótese de que o consumo de café acompanhado de fontes de carboidrato e proteína, favorece a captação muscular de glicose e a deposição de glicogênio muscular no período pós-treino, quando comparado ao consumo de leite adoçado com a mesma refeição sólida. A adição de café a uma bebida com quantidades adequadas de carboidrato e proteína aumentou a área total abaixo da curva da resposta glicêmica e insulinêmica e o acúmulo de glicogênio muscular durante as 4 horas de recuperação após exercício extenuante.

Este é um estudo inédito e que obteve resultados positivos e expressivos para os atletas de ciclismo. O café com leite é uma bebida comum, tem boa aceitação, fácil preparo e baixo custo. A refeição sólida sob a forma de sanduíche, nos moldes de um desjejum fornecido aos atletas também foi elaborado com ingredientes simples e de fácil acesso. Estes fatores contribuem para que esta opção de refeição para recuperação pós-treino faça parte do cotidiano dos atletas que buscam eficiência na síntese de glicogênio muscular.

Estudos futuros poderão avaliar a reprodutibilidade dos resultados com desenhos experimentais similares. Novos desenhos, avaliando a diferença entre o efeito do café cafeinado e do descafeinado, poderão responder se a cafeína é o componente primordial responsável pelo efeito positivo do café na recuperação do glicogênio. Ademais, outras análises de proteínas do tecido muscular podem indicar os mecanismos pelos quais os componentes do café em conjunto com os nutrientes fornecidos do pós-exercício atuam na síntese de glicogênio.

REFERÊNCIAS

1. International Coffee Organization (2020) Coffee Market Report. London
2. Close G, Hamilton L, Philp A, Burke L, Morton J (2016) New Strategies in Sport Nutrition to Increase Exercise Performance. *Free Radic Biol Med*. doi: 10.1016/2016.01.016
3. Higgins S, Straight CR, Lewis RD (2016) The Effects of Pre-Exercise Caffeinated-Coffee Ingestion on Endurance Performance: An Evidence-Based Review. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 26:221–239
4. Reis CEG, Dórea JG, da Costa THM (2018) Effects of coffee consumption on glucose metabolism: A systematic review of clinical trials. *J Tradit Complement Med* 9:184–191
5. Cano-Marquina A, Tarín JJ, Cano A (2013) The impact of coffee on health. *Maturitas* 75:7–21
6. Natella F, Scaccini C (2012) Role of coffee in modulation of diabetes risk. *Nutr Rev* 70:207–217
7. Reis CEG, Paiva CLRDS, Amato AA, Lofrano-Porto A, Wassell S, Bluck LJC, Dórea JG, Da Costa THM (2018) Decaffeinated coffee improves insulin sensitivity in healthy men. *Br J Nutr* 119:1029–1038
8. Burke LM, Van Loon LJC, Hawley JA (2017) Postexercise muscle glycogen resynthesis in humans. *J Appl Physiol* 122:1055–1067
9. Arent SM, Cintineo HP, McFadden BA, Chandler AJ, Arent MA (2020) Nutrient Timing: A Garage Door of Opportunity? *Nutrients* 12:1948
10. Moore DR (2015) Nutrition to Support Recovery from Endurance Exercise. *Curr Sports Med Rep* 14:294–300
11. Academy of Nutrition and Dietetics (AND), Dietitians of Canada (DC), American College of Sports Medicine (ACSM) (2016) Nutrition and Athletic Performance. *Med Sci Sport Exerc* 48:543–568
12. Beelen M, Burke LM, Gibala MJ, van Loon L JC (2010) Nutritional Strategies to promote postexercise recovery. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 20:515–532
13. Betts JA, Williams C (2010) Short-term recovery from prolonged exercise: Exploring the potential for protein ingestion to accentuate the benefits of carbohydrate supplements. *Sport Med* 40:941–959

14. Loureiro LMR, Reis CEG, Da Costa THM (2018) Effects of coffee components on muscle glycogen recovery: A systematic review. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 28:284–293
15. Amiri M, Ghiasvand R, Kaviani M, Forbes SC, Salehi-Abargouei A (2019) Chocolate milk for recovery from exercise: a systematic review and meta-analysis of controlled clinical trials. *Eur J Clin Nutr* 73:835–849
16. Sousa AG, da Costa THM (2015) Usual coffee intake in Brazil: results from the National Dietary Survey 2008–9. *Br J Nutr* 113:1615–1620
17. Gomes MR, Guerra I, Tirapegui J (2012) Carboidratos e atividade física. In: Tirapegui J (ed) *Nutr. Metab. e Supl. na Atividade Física*, 2. ed. Atheneu, São Paulo, pp 29–39
18. Gonzalez JT, Fuchs CJ, Betts JA, van Loon LJC (2016) Liver glycogen metabolism during and after prolonged endurance-type exercise. *Am J Physiol Metab* 311:E543–E553
19. Pernow B, Saltin B (1971) Availability of substrates and capacity for prolonged heavy exercise in man. *J Appl Physiol* 31:416–422
20. Nelson DL, Cox MM (2008) Carbohydrates and glycobiology. In: Nelson DL, Cox MM (eds) *Lehninger's Princ. Biochem.*, 5. ed. W. H. Freeman and Company, New York, pp 235–270
21. Sociedade Brasileira de Diabetes (2020) Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2019-2020. Clannad Editora Científica
22. Oliveira ERL de, Capinelli AR (2012) Papel do exercício na secreção de insulina e no diabetes. In: Tirapegui J (ed) *Nutr. Metab. e Supl. na Atividade Física*, 2. ed. Atheneu, São Paulo, pp 261–273
23. Nelson DL, Cox MM (2008) Biosignaling. In: Nelson DL, Cox MM (eds) *Lehninger's Princ. Biochem.*, 5. ed. W. H. Freeman and Company, New York, pp 419–488
24. Coggan AR, Swanson SC, Mendenhall LA, Habash DL, Kien CL (1995) Effect of endurance training on hepatic glycogenolysis and gluconeogenesis during prolonged exercise in men. *Am J Physiol - Endocrinol Metab.* doi: 10.1152/ajpendo.1995.268.3.e375
25. Nelson DL, Cox MM (2008) Principles of metabolic regulation. In: Nelson DL, Cox MM (eds) *Lehninger's Princ. Biochem.*, 5. ed. W H. Freeman and

- Company, New York, pp 570–614
26. Jentjens R, Jeukendrup AE (2003) Determinants of Post-Exercise Glycogen Synthesis During Short-Term Recovery. *Sport Med* 33:117–144
 27. Stevenson EJ, Thelwall PE, Thomas K, Smith F, Brand-Miller J, Trenell MI (2009) Dietary glycemic index influences lipid oxidation but not muscle or liver glycogen oxidation during exercise. *Am J Physiol - Endocrinol Metab* 296:1140–1147
 28. Pedersen DJ, Lessard SJ, Coffey VG, Churchley EG, Wootton AM, Ng T, Watt MJ, Hawley JA (2008) High rates of muscle glycogen resynthesis after exhaustive exercise when carbohydrate is coingested with caffeine. *J Appl Physiol* 105:7–13
 29. Ivy JL (1991) Muscle glycogen synthesis before and after exercise. *Sport Med* 11:6–19
 30. Adamo KB, Tarnopolsky MA, Graham TE (1998) Dietary carbohydrate and postexercise synthesis of proglycogen and macroglycogen in human skeletal muscle. *Am J Physiol* 275:E229–E234
 31. Nielsen JN, Derave W, Kristiansen S, Ralston E, Ploug T, Richter EA (2001) Glycogen synthase localization and activity in rat skeletal muscle is strongly dependent on glycogen content. *J Physiol* 531:757–769
 32. Burke LM, Hawley JA, Jeukendrup A, Morton JP, Stellingwerff T, Maughan RJ (2018) Toward a common understanding of diet-exercise strategies to manipulate fuel availability for training and competition preparation in endurance sport. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 28:451–463
 33. Confederação Brasileira de Triathlon (2020) Triathlon. <http://www.cbtri.org.br>.
 34. Confederação Brasileira de Ciclismo (2020) Home | CBC - Confederação Brasileira de Ciclismo. <https://www.cbc.esp.br>.
 35. Faria EW, Parker DL, Faria IE (2005) The science of cycling: Physiology and training - Part 1. *Sport Med* 35:285–312
 36. Lucía A, Hoyos J, Santalla A, Earnest C, Chicharro JL (2003) Tour de France versus Vuelta a España: Which is harder? *Med Sci Sports Exerc* 35:872–878
 37. Fernandez-Garcia B, Perez-Landaluce J, Rodriguez-Alonso M, Terrados N (2000) Intensity of exercise during road race pro-cycling competition. *Med Sci Sport Exerc* 52:1002–1006

38. Donovan CM, Brooks GA (1983) Endurance training affects lactate clearance, not lactate production. *Am J Physiol Metab* 244:E83–E92
39. Rogero MM, César TB, Tirapegui J (2012) Lipídeos e atividade física. In: Tirapegui J (ed) *Nutr. Metab. e Supl. na Atividade Física*, 2. ed. Atheneu, São Paulo, pp 41–54
40. Hawley JA, Noakes TD (1992) Peak power output predicts maximal oxygen uptake and performance time in trained cyclists. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 65:79–83
41. Coyle EF, Coggan AR, Hopper MK, Walters TJ (1988) Determinants of endurance in well-trained cyclists. *J Appl Physiol* 64:2622–2630
42. Pinot J, Grappe F (2015) A six-year monitoring case study of a top-10 cycling Grand Tour finisher. *J Sports Sci* 33:907–914
43. Noakes TD (1988) Implications of exercise testing for prediction of athletic performance: a contemporary perspective. *Med Sci Sport Exerc* 20:319–330
44. Wasserman K, Hansen JE, Sue DY, Whipp BJ, Froelicher VF (1987) Principles of exercise testing and interpretation. *J Cardiopulm Rehabil* 7:189
45. Massini DA, Pessôa Filho DM, Caritá RAC, Denadai BS (2016) Resposta fisiológica e perceptual na velocidade crítica e ponto de compensação respiratória. *Rev Bras Med do Esporte* 22:439–444
46. Flynn S, Rosales A, Hailes W, Ruby B (2020) Males and females exhibit similar muscle glycogen recovery with varied recovery food sources. *Eur J Appl Physiol* 120:1131–1142
47. Bergström J, Hermansen L, Hultman E, Saltin B (1967) Diet, Muscle Glycogen and Physical Performance. *Acta Physiol Scand* 71:140–150
48. Bergström J, Hultman E (1966) Muscle Glycogen Synthesis after Exercise : an Enhancing Factor localized to the Muscle Cells in Man. *Nature* 210:309–310
49. Hawley JA, Schabort EJ, Noakes TD, Dennis SC (1997) Carbohydrate-loading and exercise performance. An update. *Sports Med* 24:73–81
50. Gonzalez JT, Fuchs CJ, Smith FE, Thelwall PE, Taylor R, Stevenson EJ, Trenell MI, Cermak NM, van Loon LJC (2015) Ingestion of glucose or sucrose prevents liver but not muscle glycogen depletion during prolonged endurance-type exercise in trained cyclists. *Am J Physiol - Endocrinol Metab* 309:E1032–E1039

51. Alghannam A, Gonzalez J, Betts J (2018) Restoration of Muscle Glycogen and Functional Capacity: Role of Post-Exercise Carbohydrate and Protein Co-Ingestion. *Nutrients* 10:253
52. Stellingweff T, Allanson B (2011) Nutrition for Middle-Distance and Speed-Endurance Training. In: Lanham-New SA, Stear SJ, Shirreffs SM, Collins AL (eds) *Sport Exerc. Nutr.*, 1. ed. Wiley-Blackwell, Oxford, pp 146–157
53. Thorell A, Hirshman MF, Nygren J, Jorfeldt L, Wojtaszewski JF, Dufresne SD, Horton ES, Ljungqvist O, Goodyear LJ (1999) Exercise and insulin cause GLUT-4 translocation in human skeletal muscle. *Am J Physiol* 277:E733-41
54. Zachwieja JJ, Costill DL, Pascoe DD, Robergs RA, Fink WJ (1991) Influence of muscle glycogen depletion on rate of resynthesis. *Med Sci Sports Exerc* 23:44–48
55. Coyle EF (1991) Timing and method of increased carbohydrate intake to cope with heavy training, competition and recovery. *J Sports Sci* 9:29–52
56. Casey A, Short AH, Hultman E, Greenhaff PL (1995) Glycogen resynthesis in human muscle fibre types following exercise-induced glycogen depletion. *J Physiol* 64:265–271
57. Farah A, Donangelo CM (2006) Phenolic compounds in coffee 1. *Brazilian J Plants Physiol* 18:23–36
58. Farah, A & Santos TF (2015) The coffee plant and beans: an introduction. In: Preendy VR (ed) *Coffee Heal. Dis. Prev.*, 1. ed. Elsevier, London, pp 5–10
59. Ong KW, Hsu A, Tan BKH (2012) Chlorogenic Acid Stimulates Glucose Transport in Skeletal Muscle via AMPK Activation: A Contributor to the Beneficial Effects of Coffee on Diabetes. *PLoS One* 7:e32718
60. Tsuda S, Egawa T, Ma X, Oshima R, Kurogi E, Hayashi T (2012) Coffee polyphenol caffeic acid but not chlorogenic acid increases 5'AMP-activated protein kinase and insulin-independent glucose transport in rat skeletal muscle. *J Nutr Biochem* 23:1403–1409
61. Wuerges KL (2015) Teores de diterpenos em bebidas de café com diferentes preparos. *Dissertação (Mestrado em Ciência do Alimentos) - Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, Universidade Estadual de Londrina*
62. Ranheim T, Halvorsen B (2005) Coffee consumption and human health -

- beneficial or detrimental? - Mechanisms for effects of coffee consumption on different risk factors for cardiovascular disease and type 2 diabetes mellitus. *Mol Nutr Food Res* 49:274–284
63. Harland BF (2000) Caffeine and nutrition. *Nutrition* 16:522–526
 64. Goldstein ER, Ziegenfuss T, Kalman D, et al (2010) International society of sports nutrition position stand: caffeine and performance. *J Int Soc Sports Nutr* 7:5
 65. Spriet LL (2014) Exercise and Sport Performance with Low Doses of Caffeine. *Sport Med* 44:175–184
 66. Caldwell AR, Tucker MA, Butts CL, et al (2017) Effect of Caffeine on Perceived Soreness and Functionality Following an Endurance Cycling Event. *J Strength Cond Res* 31:638–643
 67. Shi X, Xue W, Liang S, Zhao J, Zhang X (2016) Acute caffeine ingestion reduces insulin sensitivity in healthy subjects: a systematic review and meta-analysis. *Nutr J* 15:1–8
 68. Taylor C, Higham D, Close GL, Morton JP (2011) The Effect of Adding Caffeine to Postexercise Carbohydrate Feeding on Subsequent High-Intensity Interval-Running Capacity Compared With Carbohydrate Alone. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 21:410–416
 69. Egawa T, Hamada T, Ma X, Karaike K, Kameda N, Masuda S, Iwanaka N, Hayashi T (2011) Caffeine activates preferentially α 1-isoform of 5'AMP-activated protein kinase in rat skeletal muscle. *Acta Physiol* 201:227–238
 70. Egawa T, Hamada T, Kameda N, Karaike K, Ma X, Masuda S, Iwanaka N, Hayashi T (2009) Caffeine acutely activates 5'adenosine monophosphate-activated protein kinase and increases insulin-independent glucose transport in rat skeletal muscles. *Metabolism* 58:1609–1617
 71. Mellbye FB, Jeppesen PB, Hermansen K, Gregersen S (2015) Cafestol, a Bioactive Substance in Coffee, Stimulates Insulin Secretion and Increases Glucose Uptake in Muscle Cells: Studies in Vitro. *J Nat Prod* 78:2447–2451
 72. Alcantara JMA, Sanchez-Delgado G, Martinez-Tellez B, Labayen I, Ruiz JR (2019) Impact of cow's milk intake on exercise performance and recovery of muscle function: A systematic review. *J Int Soc Sports Nutr* 16:1–11
 73. Haug A, Høstmark AT, Harstad OM (2007) Bovine milk in human nutrition – a

- review. *Lipids Health Dis* 6:25
74. van Loon LJ, Saris WH, Kruijshoop M, Wagenmakers AJ (2000) Maximizing postexercise muscle glycogen synthesis : Carbohydrate supplementation and the application of amino acid or protein hydrolysate mixtures. *Am J Clin Nutr* 72:106–111
 75. Lunn WR, Pasiakos SM, Colletto MR, Karfonta KE, Carbone JW, Anderson JM, Rodriguez NR (2012) Chocolate milk and endurance exercise recovery: Protein balance, glycogen, and performance. *Med Sci Sports Exerc* 44:682–691
 76. Ferguson-Stegall L, McCleave EL, Ding Z, et al (2011) Postexercise Carbohydrate–Protein Supplementation Improves Subsequent Exercise Performance and Intracellular Signaling for Protein Synthesis. *J Strength Cond Res* 25:1210–1224
 77. Kammer L, Ding Z, Wang B, Hara D, Liao Y, Ivy JL (2009) Cereal and nonfat milk support muscle recovery following exercise. *J Int Soc Sports Nutr* 6:1–12
 78. Pauw K De, Roelands B, Cheung SS, de Geus B, Rietjens G, Meeusen R (2013) Guidelines to Classify Subject Groups in Sport-Science Research. *Int J Sports Physiol Perform* 8:111–122
 79. Watson EJ, Kohler M, Banks S, Coates AM (2017) Validation and reproducibility of an Australian caffeine food frequency questionnaire. *Int J Food Sci Nutr* 68:617–626
 80. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (2011) Tabela de Composição Nutricional dos Alimentos Consumidos no Brasil. In: *Pesqui. Orçamentos Fam. 2008-2009*. Rio de Janeiro, p 351
 81. Kamimura MA, Baxmann AC, Ramos LB, Cuppari L (2014) Avaliação Nutricional. In: Cuppari L, Schor N (eds) *Guia Nutr. clínica do adulto*, 3. ed. Manole, Barueri, SP, pp 111–149
 82. World Health Organization (WHO) (2000) *Obesity : preventing and managing the global epidemic : report of a WHO consultation*. Geneva
 83. Lohman TG (1992) *Advances in body composition assessment: current issues in exercise science series*. Human Kinetics, Champaign, IL
 84. Borg G (2000) *Escalas de Borg para a dor e o esforço percebido*, 1. ed. Manole, São Paulo

85. McInerney P, Lessard SJ, Burke LM, Coffey VG, Lo Giudice SL, Southgate RJ, Hawley JA (2005) Failure to repeatedly supercompensate muscle glycogen stores in highly trained men. *Med Sci Sports Exerc* 37:404–411
86. Fuchs CJ, Gonzalez JT, Beelen M, Cermak NM, Smith FE, Thelwall PE, Taylor R, Trenell MI, Stevenson EJ, Van Loon LJC (2016) Sucrose ingestion after exhaustive exercise accelerates liver, but not muscle glycogen repletion compared with glucose ingestion in trained athletes. *J Appl Physiol* 120:1328–1334
87. Farah A (2012) Coffee Constituents. In: Chu Y-F (ed) *Coffee Emerg. Heal. Eff. Dis. Prev.*, 1st ed. Blackwell Publishing Ltd, pp 22–58
88. Lo S, Russell JC, Taylor AW (1970) Determination of glycogen in small tissue samples. *J Appl Physiol* 28:234–236
89. Areta JL, Hopkins WG (2018) Skeletal Muscle Glycogen Content at Rest and During Endurance Exercise in Humans: A Meta-Analysis. *Sport Med* 48:2091–2102
90. Beelen M, Van Kranenburg J, Senden JM, Kuipers H, Van Loon LJC (2012) Impact of caffeine and protein on postexercise muscle glycogen synthesis. *Med Sci Sports Exerc* 44:692–700
91. Impey SG, Hearn MA, Hammond KM, Bartlett JD, Louis J, Close GL, Morton JP (2018) Fuel for the Work Required: A Theoretical Framework for Carbohydrate Periodization and the Glycogen Threshold Hypothesis. *Sport Med* 48:1031–1048
92. Trommelen J, Beelen M, Pinckaers PJM, Senden JM, Cermak NM, Van Loon LJC (2016) Fructose coingestion does not accelerate postexercise muscle glycogen repletion. *Med Sci Sports Exerc* 48:907–912
93. Wallis GA, Hulston CJ, Mann CH, Roper HP, Tipton KD, Jeukendrup AE (2008) Postexercise muscle glycogen synthesis with combined glucose and fructose ingestion. *Med Sci Sports Exerc* 40:1789–1794
94. Jeukendrup AE (2010) Carbohydrate and exercise performance: The role of multiple transportable carbohydrates. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 13:452–457
95. Thong FSL, Derave W, Kiens B, Graham TE, Urso B, Wojtaszewski JFP, Hansen BF, Richter EA (2002) Caffeine-Induced Impairment of Insulin Action

- but Not Insulin Signaling in Human Skeletal Muscle Is Reduced by Exercise. *Diabetes* 51:583–590
96. Brouns F, Bjorck I, Frayn KN, Gibbs AL, Lang V, Slama G, Wolever TMS (2005) Glycaemic index methodology. *Nutr Res Rev* June:145–171
 97. Beam JR, Gibson AL, Kerksick CM, Conn CA, White AC, Mermier CM (2015) Effect of post-exercise caffeine and green coffee bean extract consumption on blood glucose and insulin concentrations. *Nutrition* 31:292–297
 98. Saunders B, de Oliveira LF, da Silva RP, et al (2017) Placebo in sports nutrition: a proof-of-principle study involving caffeine supplementation. *Scand J Med Sci Sport* 27:1240–1247
 99. Décombaz J, Jentjens R, Ith M, Scheurer E, Buehler T, Jeukendrup A, Boesch C (2011) Fructose and galactose enhance postexercise human liver glycogen synthesis. *Med Sci Sports Exerc* 43:1964–1971
 100. De Oliveira EP, Burini RC, Jeukendrup A (2014) Gastrointestinal complaints during exercise: Prevalence, etiology, and nutritional recommendations. *Sport Med* 44:79–85
 101. Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Campinas (2015) Manual de Processos de Trabalho da Central de Materiais e Esterilização. Unicamp 256
 102. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação – NEPA (2011) Tabela brasileira de composição de alimentos, 4. ed rev. NEPA-UNICAMP, Campinas

APÊNDICES

APÊNDICE A – ARTIGO DE REVISÃO PUBLICADO NO PERIÓDICO INTERNATIONAL JOURNAL OF SPORT NUTRITION AND EXERCISE METABOLISM

International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism, 2018, 28, 284-293
<https://doi.org/10.1123/ijsem.2017-0342>
© 2018 Human Kinetics, Inc.

Human Kinetics 
SCHOLARLY REVIEW

Effects of Coffee Components on Muscle Glycogen Recovery: A Systematic Review

Laís Monteiro Rodrigues Loureiro, Caio Eduardo Gonçalves Reis, and Teresa Helena Macedo da Costa
Universidade de Brasília

Coffee is one of the most consumed beverages in the world, and it can improve insulin sensitivity, stimulating glucose uptake in skeletal muscle when adequate carbohydrate intake is observed. The aim of this review is to analyze the effects of coffee and coffee components on muscle glycogen metabolism. A literature search was conducted according to Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis, and seven studies were included, that explored the effects of coffee components on various substances and signaling proteins. In one of the studies with humans, caffeine was shown to increase glucose levels, Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase phosphorylation, glycogen resynthesis rates, and glycogen accumulation after exercise. After intravenous injection of caffeine in rats, caffeine increased adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) and acetyl-CoA carboxylase (ACC) phosphorylation, and glucose transport. In *in vitro* studies, caffeine raised AMPK and ACC phosphorylation, increasing glucose transport activity and reducing energy status in rat muscle cells. Cafestol and caffeic acid increased insulin secretion in rat beta cells and glucose uptake into human muscle cells. Caffeic acid also increased AMPK and ACC phosphorylation, reducing the energy status and increasing glucose uptake in rat muscle cells. Chlorogenic acid did not show any positive or negative effect. The findings from this review must be taken with caution due to the limited number of studies on the subject. In conclusion, various coffee components had a neutral or positive role in the metabolism of glucose and muscle glycogen, whereas no detrimental effect was described. Coffee beverages should be tested as an option for athletes' glycogen recovery.

Keywords: exercise, glucose, insulin, sports nutrition

Coffee is one of the most commonly consumed beverages in the world. This important, complex drink contains many bioactive substances (such as caffeine, chlorogenic acid, caffeic acid, diterpenes, and trigonelline) that exert antioxidant and anti-inflammatory effects (Dórea & Da Costa, 2005; Nuhu, 2014). Furthermore, it has been shown that consumption of low-to-moderate caffeine doses (~3–6 mg/kg) before or during exercise caused reduction in the perception of effort (Goldstein et al., 2010; Higgins et al., 2016), fatigue, and pain associated with exercise (Close et al., 2016; Spriet, 2014), besides some evidence of increasing fat use (Slivka et al., 2008). Therefore, these effects make coffee and caffeine widely consumed among active individuals to enhance performance in endurance (Higgins et al., 2016), high intensity (Mohr et al., 2011), and resistance (Richardson & Clarke, 2016) exercises.

After cessation of endurance exercise, muscle glycogen is typically restored to preexercise concentrations within 24 hr when sufficient amounts of high-glycemic-index carbohydrates (CHOs) (≥ 1.0 g/kg) are immediately ingested (Burke et al., 2016). However, for athletes involved in multiple training sessions or competitions on the same day, muscle glycogen stores need to be replenished rapidly during the recovery period (Williams & Rollo, 2015). The provision of adequate exogenous CHOs can increase muscle glycogen repletion during rest after glycogen-depleting exercise (Moore, 2015). In addition, it has been demonstrated

that coingestion of caffeine with CHOs after exercise improved subsequent high-intensity interval-running capacity compared with ingestion of CHOs alone. Taylor et al. (2011) speculated that this effect may be due to a high rate of postexercise muscle glycogen resynthesis (Taylor et al., 2011). Moreover, Pedersen et al. (2008) obtained higher rates of glycogen resynthesis in a real-life conditions experiment when athletes coingested caffeine and CHOs, compared with CHOs only (Pedersen et al., 2008).

There are some signaling proteins involved in the process of glycogen synthesis. Adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) is an enzyme responsible for the translocation of glucose transporter 4 (GLUT-4) to the cell membrane when activated by skeletal muscle contraction (Mu et al., 2001; Stapleton et al., 1996). AMPK appears in two isoforms AMPK α 1 and AMPK α 2 (Egawa, Hamada, et al., 2011). Ca²⁺-calmodulin-dependent protein kinase (CaMK), in turn, is an enzyme that activates AMPK (Abbott et al., 2009). Acetyl-CoA carboxylase (ACC) is a substrate of AMPK. It is not directly related to glycogen synthesis, but its enhanced phosphorylation and inactivation are indicative of an increase in AMPK activity (Egawa et al., 2009). Finally, protein kinase B (Akt), an enzyme expressed in skeletal muscle, leads to increased glycogen synthesis by targeting other kinases (Frame & Cohen, 2001).



Recent research has focused on nutritional interventions to optimize glucose uptake into cells and early postexercise muscle glycogen repletion (Fuchs et al., 2016; Trommelen et al., 2016). At the same time, studies on coffee consumption as an ergogenic aid to improve physical performance have increased in recent years (Clarke et al., 2017; Richardson & Clarke, 2016). Concerning the multiple coffee bioactive substances, such as caffeine, and their possible effects on glucose metabolism, along with the need for

Loureiro is with Health Sciences Postgraduate Program, Laboratório de Bioquímica da Nutrição, Universidade de Brasília, Brasília, Brasil. Reis and da Costa are with the Laboratório de Bioquímica da Nutrição, Dept. of Nutrition, Universidade de Brasília, Brasília, Brasil. Address author correspondence to Laís Monteiro Rodrigues Loureiro at laimonteiorp@hotmail.com.

APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO DE FREQUÊNCIA ALIMENTAR COM ALIMENTOS FONTES DE CAFEÍNA

QUESTIONÁRIO DE FREQUÊNCIA ALIMENTAR – CAFEÍNA		
Alimento	Frequência	Quantidade
	1x/dia 2x/dia 1x/semana 1x/mês Raramente, etc Especificar	gramas mililitros medidas caseiras Especificar
Energéticos		
Guaraná em pó		
Bebida com guaraná		
Coca-Cola		
Coca Diet		
Café expresso		
Café coado		
Café com leite		
Cappuccino		
Café instantâneo		
Chá gelado		
Chá preto		
Chá verde		
Leite com chocolate		
Chocolate ao leite		
Chocolate branco		
Chocolate amargo		
Doces com chocolate		

APÊNDICE C – FOLDER COM INSTRUÇÃO AOS PARTICIPANTES



PROJETO CAFÉEX

Orientações para os dias de depleção e teste no
Laboratório BioqNut

NOS 2 DIAS ANTERIORES AO EXPERIMENTO:

Você pode realizar exercícios físicos de forma habitual. Não mude a intensidade média do treino nem comece nenhuma atividade nova e diferente.

Você deve se abster de todas as fontes de cafeína (café, chá, chocolate, refrigerantes, suplementos, medicamentos)

Você deve se abster de bebidas alcoólicas.

Alimentação normal. Evitar alimentos muito exóticos, novos para você ou que possam causar desconforto gastrointestinal.

NOS DIAS DE EXPERIMENTO:

Comparecer ao laboratório de Bioquímica da Nutrição trajando roupas confortáveis para ciclismo de alta intensidade.

No dia do exercício de depleção do glicogênio (no fim do dia) se alimentar normalmente antes de ir ao laboratório no horário combinado.

Após o exercício de depleção do glicogênio (no fim do dia) seguir a prescrição fornecida e se alimentar somente até 21h.

No dia seguinte pela manhã comparecer ao laboratório em jejum às 7h (pode e deve beber água).

Levar meias e casaco caso sinta frio com ar condicionado, além de livro e/ou tablet para passar o tempo.

Após a biópsia você não poderá dirigir. Informar se alguém irá buscá-lo ou se precisa de alguém para conduzi-lo a sua residência.

APÊNDICE D – EXEMPLO DE PRESCRIÇÃO DIETÉTICA DE LANCHE E JANTAR APÓS A FASE PREPARATÓRIA

TIPO DE REFEIÇÃO 1 – REFEIÇÃO TRADICIONAL

OPÇÃO 1 – FILÉ DE FRANGO GRELHADO

ALIMENTO	QUANTIDADE EM GRAMAS	QUANTIDADE EM MEDIDAS CASEIRAS
Arroz branco cozido	70g	6 colheres de sopa
Filé de frango grelhado	100g	1 filé grande
Cenoura cozida picada	50g	3 colheres de sopa cheias
Tomate picado em cubos	50g	3 colheres de sopa cheias
Azeite	8g	1 colher de sopa
Água	À vontade	À vontade

OPÇÃO 2 – BIFE BOVINO GRELHADO

ALIMENTO	QUANTIDADE EM GRAMAS	QUANTIDADE EM MEDIDAS CASEIRAS
Arroz branco cozido	70g	6 colheres de sopa
Bife bovino grelhado	120g	1 bife bem grande
Cenoura cozida picada	50g	3 colheres de sopa cheias
Tomate picado em cubos	50g	3 colheres de sopa cheias
Azeite	8g	1 colher de sopa
Água	À vontade	À vontade

OPÇÃO 3 – OVOS MEXIDOS OU COZIDOS

ALIMENTO	QUANTIDADE EM GRAMAS	QUANTIDADE EM MEDIDAS CASEIRAS
Arroz branco cozido	70g	6 colheres de sopa
Clara de ovo mexida ou cozida	125g	5 claras
Gema de ovo mexida ou cozida	75g	3 gemas
Cenoura cozida picada	50g	3 colheres de sopa cheias
Tomate picado em cubos	50g	3 colheres de sopa cheias
Água	À vontade	À vontade

APÊNDICE E – HIGIENIZAÇÃO E ESTERILIZAÇÃO DOS INSTRUMENTOS UTILIZADOS NA BIÓPSIA MUSCULAR

- Enxaguar os instrumentos cirúrgicos em água potável e esfregar com uma escova de cerdas macias sob água com detergente neutro para remover o excesso de sangue e sujidade.
- Após este processo, enxaguar novamente em água potável.
- Imergir em solução enzimática diluída conforme instrução da embalagem.
- Os instrumentos devem permanecer abertos no molho ou desmontados conforme a particularidade de cada um, visando garantir a ação enzimática em todas as áreas do instrumento.
- Após quinze minutos, lavar novamente os instrumentos, friccionando com escova de cerdas macias, observando ranhuras, articulações, cavidades e concavidades.
- Enxaguar em água corrente e posteriormente em água destilada e água deionizada (milli-Q).
- A secagem dos instrumentos deve ser realizada utilizando estufa à 60 °C.
- No caso das agulhas de biópsia, além dos procedimentos realizados nos demais instrumentos, durante o processo de lavagem são realizados jatos de água na parte interna de forma a garantir a higienização completa do instrumento.
- As placas de vidro para pesagem dos tecidos devem ser imersas em solução de hipoclorito de sódio 1% e depois de trinta minutos são lavadas conforme os instrumentos cirúrgicos.
- Ao término do processo de lavagem, inspecionar todos os instrumentos garantindo a ausência de danos e ou sujidades.
- Após a secagem em estufa encaminhar todo o material para esterilização por autoclave, acondicionados em pacotes de papel grau cirúrgico.
- Higienizar os campos cirúrgicos igualmente em detergente neutro e solução enzimática.
- Deixar os campos cirúrgicos de molho por 60 minutos em solução de hipoclorito de sódio 0,02% ou Lysoform® conforme instrução do fabricante para reduzir a carga microbiana dos tecidos.
- Após este período enxaguar e levar à máquina de lavar em ciclo completo.
- Depois de higienizados os campos secos devem ser encaminhados para esterilização por autoclave em pacotes de papel grau cirúrgico.

Fonte: Manual de Processos de Trabalho da Central de Materiais e Esterilização. Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Campinas (2015) [101].

APÊNDICE F – CÁLCULO PARA ELABORAÇÃO E FICHAS TÉCNICAS DE PREPARO DAS BEBIDAS E REFEIÇÃO SÓLIDA

Quadro 1. Cálculos para elaboração das bebidas e refeição (3 doses)

<i>Peso do atleta: 70 kg</i>			
Nutriente	Recomendação (por kg de peso)	Quantidade total	Quantidade por porção
Cafeína (mg)	8,0	560	~ 186
Carboidrato (g)	3,6	252	84
Proteína (g)	0,9	63	21

Quadro 2. Fichas técnicas de preparo das bebidas

<i>Nome da preparação: Frapê de Café (Bebida Teste; Café+leite) – 1 porção</i>		
Ingredientes	Quantidade	Unidade
Café Torrado e Moído Melitta Tradicional	25	gramas
Leite em Pó Desnatado Instantâneo Piracanjuba	60	gramas
Açúcar Cristalçúcar União	54	gramas
Água Mineral (filtração do café)	300	mililitros
Água Mineral (preparo do frapê)	200	mililitros
Modo de Preparo		
<i>Pré-preparo (dia anterior):</i>		
<ol style="list-style-type: none"> 1- Pesar café torrado e moído e medir volume de água (300 mL); 2- Aquecer a água por 4 minutos em micro-ondas ao ponto de fervura (aproximadamente 90°C); 3- Coar o café em filtro de papel; 4- Porcionar o café coado em forma de cubos de gelo e levar ao congelador por 12h 		
<i>Preparo:</i>		
<ol style="list-style-type: none"> 1- Bater em liquidificador o leite em pó (60 g), o açúcar (54 g) e a água (200 mL) por 30 segundos; 		

<p>2- Adicionar todas as pedras de gelo de café ao liquidificador e bater por mais 2 minutos;</p> <p>3- Servir em copo opaco e com canudo escuro</p>		
Valor Nutricional		
Rendimento ~ 500 mL		
VET = 424 kcal		
	Quantidade	Quantidade (por kg de peso)
Cafeína (mg)	190	2,7
Carboidrato (g)	85	1,2
Proteína (g)	21	0,3
<i>Nome da preparação: Milk-shake (Bebida Controle; Leite) – 1 porção</i>		
Ingredientes	Quantidade	Unidade
Leite em Pó Desnatado Instantâneo Piracanjuba	60	gramas
Açúcar Cristalçúcar União	54	gramas
Água Mineral (gelo)	250	mililitros
Água Mineral (preparo do frapê)	200	mililitros
Modo de Preparo		
<i>Pré-preparo (dia anterior):</i>		
<p>1- Medir volume de água (250 mL);</p> <p>2- Porcionar a água em forma de cubos de gelo e levar ao congelador por 12h</p>		
<i>Preparo:</i>		
<p>1- Bater em liquidificador o leite em pó (60 g), o açúcar (54 g) e a água (200 mL) por 30 segundos;</p> <p>2- Adicionar todas as pedras de gelo ao liquidificador e bater por mais 2 minutos;</p> <p>3- Servir em copo opaco e com canudo escuro</p>		
Valor Nutricional		
Rendimento ~ 500 mL		
VET = 424 kcal		

	Quantidade	Quantidade (por kg de peso)
Cafeína (mg)	-	-
Carboidrato (g)	85	1,2
Proteína (g)	21	0,3

Nota: toda informação nutricional para os cálculos foi obtida nos rótulos dos produtos utilizados

Quadro 3. Fichas técnicas de preparo das refeições sólidas

<i>Nome da preparação: Sanduiche com Café (Refeição Teste) – 1 porção</i>		
Ingredientes	Quantidade	Unidade
Café Torrado e Moído Melitta Tradicional	25	gramas
Água Mineral (filtração do café)	300	mililitros
Açúcar Cristalçúcar União	35	gramas
Pão de Sanduiche Forma Seven Boys	100 (4)	gramas (fatias)
Ovo de galinha cozido	50 (1)	gramas (unidade)
Queijo tipo Cottage Canto de Minas	40	gramas
Sal iodado Cisne	1	grama
Modo de Preparo		
<p><i>Café:</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1- Pesar café torrado e moído e medir volume de água (300 mL); 2- Aquecer a água por 4 minutos em micro-ondas ao ponto de fervura (aproximadamente 90°C); 3- Coar o café em filtro de papel; 4- Misturar o açúcar; 5- Servir em copo opaco e com canudo escuro (colocar a tarja com aviso de que a bebida pode estar quente) <p><i>Sanduiche:</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1- Pesar todos os ingredientes (se necessário, dividir as fatias de pão); 2- Em um recipiente, amassar o ovo cozido com um garfo, misturar o queijo cottage e o sal, formando uma pasta; 3- Rechear as fatias de pão com a pasta de queijo e ovo; 		

4- Servir em prato forrado com guardanapo para captar as migalhas		
Valor Nutricional		
Rendimento: 2 sanduiches + 250 mL de café		
VET = 484 kcal		
	Quantidade	Quantidade (por kg de peso)
Cafeína (mg)	190	2,7
Carboidrato (g)	85	1,2
Proteína (g)	21,5	0,3
Lipídeos (g)	6,5	0,09
Fibras (g)	2,4	0,03
Sódio (mg)	900	12,8
<i>Nome da preparação: Sanduiche com Água (Refeição Controle) – 1 porção</i>		
Ingredientes	Quantidade	Unidade
Água Mineral	250	mililitros
Açúcar Cristalçúcar União	35	gramas
Pão de Sanduiche Forma Seven Boys	100 (4)	gramas (fatias)
Ovo de galinha cozido	50 (1)	gramas (unidade)
Queijo tipo Cottage Canto de Minas	40	gramas
Sal iodado Cisne	1	grama
Modo de Preparo		
<i>Água com açúcar:</i>		
<ol style="list-style-type: none"> 1- Medir volume de água (250 mL); 2- Misturar o açúcar; 3- Servir em copo opaco e com canudo escuro (colocar a tarja com aviso de que a bebida pode estar quente) 		
<i>Sanduiche:</i>		
<ol style="list-style-type: none"> 4- Pesar todos os ingredientes (se necessário, dividir as fatias de pão); 5- Em um recipiente, amassar o ovo cozido com um garfo, misturar o queijo cottage e o sal, formando uma pasta; 		

6- Recheiar as fatias de pão com a pasta de queijo e ovo;		
7- Servir em prato forrado com guardanapo para captar as migalhas		
Valor Nutricional		
Rendimento: 2 sanduiches + 250 mL de água		
VET = 484 kcal		
	Quantidade	Quantidade (por kg de peso)
Cafeína (mg)	-	-
Carboidrato (g)	85 g	1,2 g
Proteína (g)	21,5 g	0,3 g
Lipídeos (g)	6,5 g	0,09 g
Fibras (g)	2,4 g	0,03 g
Sódio (mg)	900	12,8

Nota: Informação nutricional dos alimentos para os cálculos foi obtida nos rótulos dos produtos utilizados; o teor cafeína foi determinada em amostra do café utilizado; a informação nutricional do ovo foi obtida a partir da Tabela brasileira de composição de alimentos – TACO [102].

APÊNDICE G – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE

Você está sendo convidado a participar do projeto: **Efeito do café com leite nas vias de utilização glicídica e recuperação do glicogênio muscular no pós-treino de ciclismo**. Este projeto faz parte do doutorado da aluna Laís Monteiro Rodrigues Loureiro, da Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

O nosso objetivo é: Investigar os efeitos do café com leite adoçado consumido após exercício físico intenso sobre o metabolismo da glicose, enzimas glicogênicas e deposição de glicogênio muscular.

Você receberá todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa e lhe asseguramos que seu nome não aparecerá, sendo mantido o mais rigoroso sigilo através da omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo.

Os resultados obtidos no estudo serão úteis para o entendimento do mecanismo envolvido na recuperação do glicogênio muscular e como o café contribui na utilização do açúcar presente nos alimentos. Estaremos fornecendo as bebidas que serão formuladas para atender o período de pós-treino. Todo o protocolo será realizado nos Laboratórios da Universidade de Brasília que são equipados para executar os procedimentos propostos.

Sua presença será requerida em seis situações: dois dias de testes preliminares (de acordo com sua disponibilidade) e em quatro dias para dois experimentos. Nos testes preliminares sua presença será requerida uma primeira vez, pela manhã e em jejum, para avaliação inicial de triagem, antecedentes, avaliação de consumo alimentar, medidas de peso, altura, composição corporal por bioimpedância elétrica multifrequencial, avaliação médica, exame de sangue e avaliação de capacidade física por teste de esforço em bicicleta específica para este fim. No segundo dia de testes preliminares será realizado o teste incremental cardiopulmonar no Laboratório de Fisiologia do Exercício da Faculdade de Educação Física (FEF/UnB), com vistas na determinação do consumo máximo de oxigênio, limiares ventilatórios e potência gerada nos respectivos limiares e no pico do esforço.

Em cada um dos dois experimentos sua presença será requerida em um dia à noite, para realizar atividade intensa de ciclismo com objetivo de depleção do glicogênio muscular. No dia seguinte, pela manhã e em jejum, você deverá realizar novamente uma atividade intensa de ciclismo, receberá a bebida teste e um café da manhã, e ficará em recuperação por 5h no laboratório. Em cada um dos dois experimentos serão realizadas 9 (nove) coletas de sangue nos tempos -70, 0 (fim da atividade física), 30, 60, 90, 120, 180, 240 e 300 minutos, além de 2 (duas) coletas de tecido muscular (biópsia muscular) durante o período de recuperação (pós-exercício intenso). O intervalo entre os dois experimentos será de uma a duas semanas.

Um cateter será posicionado no seu braço e ficará durante todo o experimento para coleta das amostras de sangue. Este procedimento pode gerar dor e edema local, a depender de sua sensibilidade, mas é comum que o desconforto seja mínimo. A cada coleta 6mL de sangue serão retirados. A biópsia será conduzida por profissional qualificado (médico) utilizando procedimentos seguros e todo o material individual e estéril. No estudo está planejado o total de quatro biopsias, duas em cada um dos dias de

experimento (ao fim do exercício e ao fim da recuperação). Nessas biópsias serão extraídas pequenas porções (aproximadamente 100mg - tamanho aproximado de dois grãos de arroz cozidos) da parte mais volumosa do músculo vasto lateral, localizado na parte anterior da coxa. A identificação da porção mais volumosa do músculo será feita por meio da visualização da área durante uma contração voluntária da perna, e o procedimento de biópsia será realizado da seguinte forma: você deverá se deitar na maca, mantendo a musculatura relaxada. Inicialmente, na maca, será identificada a área muscular de interesse, esta terá seus pelos removidos com o uso de lâmina descartável individual e limpa com gazes molhadas em antisséptico cirúrgico, por indivíduo trajando luvas esterilizadas. Após, um campo cirúrgico será colocado sobre a sua perna. O médico responsável (trajando luvas esterilizadas) fará anestesia do local com a utilização de xilocaína a 1%, administrando-a com seringa e agulha hipodérmica descartável e estéril de forma subcutânea (sob a pele). Durante este procedimento, você poderá, de acordo com o seu grau de sensibilidade, sentir um breve desconforto, parecido com uma sensação de calor local, devido à ação do anestésico. Uma vez anestesiado o local e após o exercício, será feita então a incisão para se obter a amostra de tecido muscular. Para tal, o médico responsável utilizará uma fina e pequena lâmina de bisturi (nº11), esterilizada, individual e descartável e fará uma incisão de aproximadamente 0,5 cm de extensão. A incisão cortará a pele e a fáscia (tecido que recobre o músculo) do músculo a ser biopsiado. Você não deverá sentir qualquer dor durante a realização deste procedimento, uma vez que não há terminações nervosas sensitivas à dor na fáscia muscular ou no próprio músculo. Feita a incisão, você será instruído a relaxar a musculatura. A agulha de biópsia (agulha especialmente desenvolvida para extrair pequenas amostras de músculo), esterilizada e de uso individual, será então inserida pelo médico responsável através do orifício da incisão. Seguida de uma pequena sucção, gerada na extremidade superior externa da agulha por uma seringa de 60 mL, um pequeno pedaço de músculo é puxado para o interior da agulha e cortado para ser então removido juntamente com a agulha. Durante este procedimento, o qual deve durar ao redor de 15 segundos, você deverá sentir apenas uma pequena pressão da agulha, e não dor. Frequentemente os participantes reportam ausência de qualquer sensação de desconforto. Você será sempre informado da sequência dos procedimentos, e após a retirada da agulha, será aplicada pressão, com ataduras de gaze esterilizadas, sobre o ponto de incisão para prevenir sangramento (usualmente não se observa qualquer sangramento). A incisão será então fechada com linha cirúrgica esterilizada e coberta com uma pequena atadura para proteção local. Uma faixa de crepe será enrolada em sua coxa, sobre a região da incisão, aplicando pressão contínua, a fim de evitar formação de edema local. Você será instruído a manter a bandagem por 24 horas e a manter a incisão limpa e seca pelo mesmo período. Estes procedimentos diminuem a possibilidade de sangramento e dor posteriores. No local da incisão poderá ficar uma pequena cicatriz na sua pele, que dependendo de características individuais, poderá desaparecer com o tempo. Alguns indivíduos podem sentir dor localizada no período de aproximadamente 24 horas após o procedimento. Tal sensação não deve ser maior do que aquela devido à realização de um exercício de musculação intenso. As complicações devido a este procedimento são raras, e se estendem a sangramento posterior e edema local, os quais devem ser tratados com aplicação breve de frio (gelo envolvido em saco e pano), compressão e elevação da perna. Tais complicações podem estender o período pelo qual o indivíduo sentirá dor, mas uma vez

que a região não apresenta grandes vasos sanguíneos ou nervos, é extremamente rara a ocorrência de complicações desta natureza. Um folheto com informações e instruções pós-biópsia será entregue a todos os voluntários ao término do procedimento.

Informamos que você pode se recusar a responder qualquer questão que lhe traga constrangimento, podendo desistir de participar da pesquisa em qualquer momento sem nenhum prejuízo.

Os resultados da pesquisa serão divulgados aqui na Universidade de Brasília podendo ser publicados posteriormente em revistas científicas internacionais. Os dados e materiais utilizados na pesquisa ficarão sobre a guarda da pesquisadora responsável, Laís Loureiro, e posteriormente ao fim de seu doutorado, ficarão sobre a guarda de sua orientadora, Dra Teresa da Costa.

Todas as suas despesas com transporte e alimentação durante os dias e horários dos experimentos serão cobertas pelos pesquisadores.

Se o você tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, por favor telefone para: Laís Loureiro (nutricionista) 61 XXXX-XX78 ou envie e-mail para laismonteirorp@hotmail.com; ou Dra Angélica Amato (médica): 61 XXXX-XX54. No laboratório do Núcleo de Nutrição, 3107-0092 ou Dra Teresa Helena Macedo da Costa 61-XXXX-XX97, no horário de 8 as 18 horas e por celular a qualquer hora.

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde (CEP/FS) da Universidade de Brasília. O CEP é composto por profissionais de diferentes áreas cuja função é defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do participante da pesquisa podem ser esclarecidos pelo telefone (61) 3107-1947 ou do e-mail cepfs@unb.br ou cepfsunb@gmail.com, horário de atendimento de 10:00hs às 12:00hs e de 13:30hs às 15:30hs, de segunda a sexta-feira. O CEP/FS se localiza na Faculdade de Ciências da Saúde, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Universidade de Brasília, Asa Norte.

Este documento foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o participante da pesquisa.

Nome e assinatura do participante

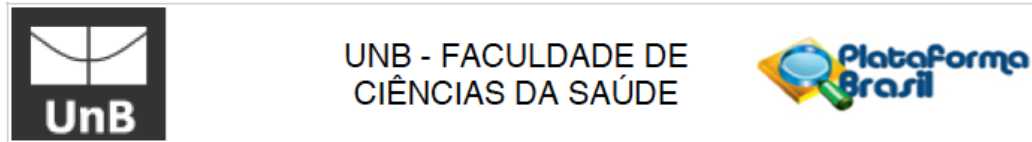
Pesquisador Responsável

Nome e assinatura

Brasília, ____ de _____ de _____

ANEXO

ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNB



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito do café com leite nas vias de utilização glicídica e recuperação do glicogênio muscular no pós-treino de ciclismo.

Pesquisador: Lais Loureiro

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 57059216.1.0000.0030

Instituição Proponente: FACULDADE DE SAÚDE - FS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.657.099

Apresentação do Projeto:

"Resumo

O café é uma das bebidas mais consumidas no mundo com evidências do efeito benéfico de seu consumo no metabolismo de glicose. O café, quando consumido antes do exercício físico, melhora o desempenho de resistência e reduz a percepção da fadiga. Substâncias presentes no café, quando consumidas após o exercício físico, podem ter um papel estimulador no metabolismo da glicose e consequentemente, na recuperação do glicogênio muscular. No Brasil o café é comumente consumido com leite. O leite, por sua vez, é um alimento rico em carboidratos e aminoácidos essenciais e seus benefícios na recuperação pós-treino já foram comprovados. Baseado nestas evidências, o objetivo deste projeto é investigar os efeitos do café com leite adoçado consumido após exercício físico intenso sobre o metabolismo da glicose, enzimas glicogênicas e deposição de glicogênio muscular. Para tanto, será desenvolvido um estudo clínico-laboratorial, cruzado e randomizado, com amostra de 11 ciclistas/triatletas treinados. O estudo será desenvolvido nos Laboratórios da Universidade de Brasília, Distrito Federal. Os indivíduos convidados serão randomizados em dois tratamentos: (1) café com leite e açúcar ou (2) água com leite e açúcar. Os atletas aprovados na triagem comparecerão ao laboratório para os testes preliminares: avaliação do consumo alimentar e determinação do VO₂MAX e pico de potência no

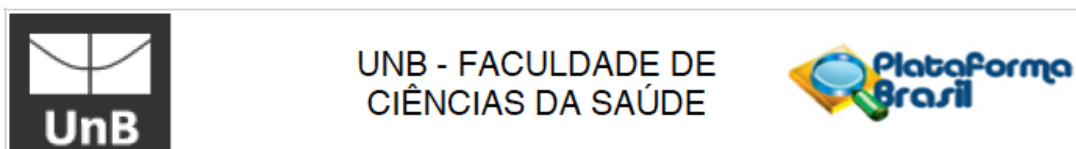
Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde - Campus Darcy Ribeiro

Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.910-900

UF: DF **Município:** BRASÍLIA

Telefone: (61)3107-1947

E-mail: cepfsunb@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.657.099

Declaração de Instituição e Infraestrutura	termoconcordancia_laisloureiro_FEF.doc	27/07/2016 11:25:17	Lais Loureiro	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_laisloureiro.docx	27/07/2016 11:24:21	Lais Loureiro	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_CEP_laisloureiro.docx	27/07/2016 11:24:02	Lais Loureiro	Aceito
Declaração de Pesquisadores	curriculumvitae_laisloureiro.pdf	14/06/2016 21:07:26	Lais Loureiro	Aceito
Declaração de Pesquisadores	lattes_teresacosta.pdf	14/06/2016 21:06:46	Lais Loureiro	Aceito
Declaração de Pesquisadores	lattes_ritadurigan.pdf	14/06/2016 21:06:28	Lais Loureiro	Aceito
Declaração de Pesquisadores	lattes_joaodurigan.pdf	14/06/2016 21:06:14	Lais Loureiro	Aceito
Declaração de Pesquisadores	lattes_guilhermemolina.pdf	14/06/2016 21:05:54	Lais Loureiro	Aceito
Declaração de Pesquisadores	lattes_caioreis.pdf	14/06/2016 21:05:28	Lais Loureiro	Aceito
Declaração de Pesquisadores	lattes_angelicaamorim.pdf	14/06/2016 21:04:55	Lais Loureiro	Aceito
Orçamento	orcamento_laisloureiro.doc	14/06/2016 20:58:16	Lais Loureiro	Aceito
Declaração de Pesquisadores	termoresponsabilidade_laisloureiro.doc	14/06/2016 20:57:50	Lais Loureiro	Aceito
Declaração de Pesquisadores	termoresponsabilidade_laisloureiro.pdf	14/06/2016 20:57:32	Lais Loureiro	Aceito
Declaração de Pesquisadores	encaminhamento_laisloureiro.doc	14/06/2016 20:56:34	Lais Loureiro	Aceito
Declaração de Pesquisadores	encaminhamento_laisloureiro.pdf	14/06/2016 20:56:22	Lais Loureiro	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	termoconcordancia_laisloureiro.doc	14/06/2016 20:55:34	Lais Loureiro	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	termoconcordancia_laisloureiro.pdf	14/06/2016 20:55:16	Lais Loureiro	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto_laisloureiro.pdf	14/06/2016 20:50:41	Lais Loureiro	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Faculdade de Ciências da Saúde - Campus Darcy Ribeiro
 Bairro: Asa Norte CEP: 70.910-900
 UF: DF Município: BRASÍLIA
 Telefone: (61)3107-1947 E-mail: cepfsunb@gmail.com