

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
MESTRADO EM NUTRIÇÃO

**EFEITO DO ENXÁGUE BUCAL DE CAFEÍNA ISOLADA OU COMBINADA
COM CARBOIDRATO EM TESTES SUBMÁXIMOS ATÉ A EXAUSTÃO.**

ALAN DE ALBUQUERQUE MELO

MACEIÓ-2016

ALAN DE ALBUQUERQUE MELO

**EFEITO DO ENXÁGUE BUCAL DE CAFEÍNA ISOLADA OU
COMBINADA COM CARBOIDRATO EM TESTES SUBMÁXIMOS
ATÉ A EXAUSTÃO.**

Dissertação apresentada à Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Alagoas como requisito à obtenção do título de Mestre em Nutrição.

Orientador(a): **Prof. Dr. Gustavo Gomes de Araujo.**
Faculdade de Nutrição
Universidade Federal de Alagoas

MACEIÓ-2016

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central

Bibliotecário Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

M528e Melo, Alan de Albuquerque.
 Efeito do enxágüe bucal de cafeína isolada ou combinada com
 carboidrato em testes submáximos até exaustão / Alan de Albuquerque
 Melo. – 2017.
 79 f. : il.

Orientador: Gustavo Gomes de Araujo.
Dissertação (Mestrado em Nutrição) – Universidade Federal de Alagoas.
Faculdade de Nutrição. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. Maceió,
2016.

Inclui bibliografia.

1. Suplementação alimentar. 2. Combinação de carboidrato e cafeína.
3. Atividade física – Desempenho. 4. Sistema nervoso central. I. Título.

CDU: 612.39:796

RESUMO

Ao longo dos anos, diversos centros de pesquisa tem se dedicado a investigar estratégias que promovam melhorias no desempenho, sejam por meio de modelos de treinamento físico e/ou orientação nutricional. Dentre as intervenções nutricionais destacam-se os estudos referentes aos carboidratos (CHO) e à cafeína (CAF). Os benefícios promovidos pela utilização dos CHO tornam-se evidentes em diversos tipos de testes, que vão desde ensaios com intensidade constante, até simulações de provas contra-relógio. Além dos tipos de testes, a intensidade também não parece ser um fator limitante para os efeitos do CHO, à medida que seus benefícios também são documentados em testes intermitentes, de curta, média e longa duração. Assim como os CHO, os possíveis efeitos provenientes da utilização da CAF também vêm sendo extensivamente investigados. Seus efeitos também são observados em diversos tipos de testes, sejam de baixa ou alta intensidade. Porém os efeitos oriundos da combinação de cafeína mais carboidratos (CAF+CHO) e seus possíveis mecanismos de ação carecem de maior elucidação. Portanto, os objetivos da presente dissertação foram: 1º) revisar os principais estudos que investigaram os efeitos da combinação CAF+CHO sobre os exercícios; 2º) analisar se o enxague com CAF pode melhorar o desempenho em sujeitos que realizem testes submáximos e 3º) observar se a cafeína pode potencializar os efeitos do enxague com CHO agindo de forma combinada. Na análise dos artigos de revisão, observou-se que a maioria dos estudos apontam para uma melhora de desempenho através da combinação CAF+CHO, entretanto, os possíveis mecanismos capazes de promover estes resultados ainda não estão totalmente esclarecidos. No artigo de resultados, o enxágue com CAF foi mais eficiente do que o enxágue com placebo, porém a combinação CAF+CHO não potencializou os efeitos isolados de CHO ou CAF.

PALAVRAS-CHAVE: Desempenho. Sistema Nervoso Central. Suplementação Alimentar.

ABSTRACT

Over the years, several research centers have been dedicated to investigate strategies to promote improvements in performance, whether through models of physical training and / or nutritional counseling. Among nutritional interventions stand out studies related to carbohydrate (CHO) and caffeine (CAF). The benefits provided by the use of CHO become evident in various types of tests, ranging from trials with a constant intensity, to simulation tests against time. In addition to the types of tests, the intensity does not appear to be a limiting factor for the effects of CHO, as their benefits are well documented in intermittent tests, short, medium and long term. As well as CHO, possible effects from the use of the CAF have also been extensively investigated. Its effects are also observed in various types of tests, whether of low or high intensity. But the effects from the combination of carbohydrates plus caffeine (CAF + CHO) and possible mechanisms of action require further elucidation. Therefore, these dissertation objectives were: 1°) review the main studies that investigated the effects of combination CAF + CHO over the years; 2°) Analyze whether the rinse with CAF can improve performance in subjects who perform submaximal tests and 3°) see if caffeine can enhance the effects of rinsing with CHO acting in combination. In the analysis of review articles, it was observed that most studies show a performance improvement by combining CAF + CHO, however, possible mechanisms to promote these results are not yet fully clarified. In the results article, rinsing with CAF was more effective than the placebo rinse, but the CHO + CAF combination did not potentiate the effects isolated CHO or CAF.

KEYWORDS: Performance. Central Nervous System. Supplementary Feeding.

LISTA DE FIGURAS

	Página
Artigo: artigo de resultados	
Figura 1 – Tempo de exaustão entre as condições.....	55
Figura 2 – Sinal mioelétrico retofemoral.....	57
Figura 3 – Sinal mioelétrico vastolateral.....	57
Figura 4 – Atividade muscular total.....	58

LISTA DE TABELAS

2º Artigo: artigo de resultados

Tabela 1 –	Desempenho entre as condições.....	56
Tabela 2 –	Valores de percepção subjetiva de esforço.....	58
Tabela 3 –	Valores de frequência cardíaca.....	59

Lista de abreviaturas

CAF - cafeína

CHO – carboidrato

CAF+CHO – cafeína mais carboidrato

PLA – placebo

SNC – sistema nervoso central

PSE – percepção subjetiva de esforço

EMG - eletromiografia

RMS – root mean square

T_{lim} – tempo limite

VO_{2máx} – consumo máximo de oxigênio

W_{máx} – potência máxima

VL – vasto lateral

RF – reto femoral

pH – potencial hidrogênico

AMPc – adenosina monofosfato cíclica

SGLT-1 – transportador de glicose sódio dependente 1

GLUT-2 – transportador de glicose 2

GLUT-4 – transportador de glicose 4

AKT – proteína quinase B

GS – glicogênio sintase

GSK – glicogênio sintase quinase

CAMK – cálcio calmodulina

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	9
2. COLETÂNEA DE ARTIGOS.....	12
2.1. 1º artigo: artigo de revisão	
Efeito da utilização combinada de carboidrato e cafeína sobre o desempenho físico humano: revisão sistemática.....	13
2.2. 2º artigo: artigo de resultados	
Efeito do enxágue bucal de cafeína isolada ou combinada com carboidrato em testes submáximos até a exaustão.....	44
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	69
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71

A melhora de desempenho obtida por meio da suplementação oral de cafeína (CAF) demonstra-se eficaz em diversas formas de administração, e seus benefícios abrangem estudos que envolvem esforços de moderada e alta intensidade (COSTILL, DALSKY e FINK, 1978; COX *et al.*, 2002; BEAVEN *et al.*, 2013). Um dos possíveis mecanismos de ação da CAF refere-se ao fato da substância poder atuar sobre o sistema nervoso central, provocando o aumento da motivação e da excitabilidade neuromuscular, resultando em uma menor percepção de esforço (COSTILL, DALSKY e FINK, 1978; FREDHOLM, 1985; DAVIS *et al.*, 2003). Complementando estes mecanismos, recentemente Beaven *et al.* (2013) realizaram o primeiro estudo que investigou os efeitos do enxágue com CAF, os autores acreditavam que possíveis receptores sensíveis a CAF na cavidade oral poderiam permitir que o enxágue com CAF ativasse regiões no córtex associadas ao controle motor e motivação. Como resultado do experimento, os pesquisadores observaram que o enxágue com CAF produziu efeitos positivos nas primeiras séries de um protocolo de exercícios de alta intensidade (neste caso, *sprints* repetidos). No mesmo artigo, os pesquisadores combinaram o enxágue de CAF ao enxágue com carboidratos (CHO) (CAF+CHO) e descobriram, que a combinação CAF+CHO no enxágue pode potencializar os efeitos do enxágue isolado de CHO.

Em paralelo aos estudos envolvendo a suplementação de CAF, diversos pesquisadores vêm se dedicando ao estudo dos CHO e sua contribuição para o melhora do desempenho físico (BERGSTROM *et al.* 1967; DESBROW *et al.*, 2004; CORREIA-OLIVEIRA *et al.*, 2013). Os possíveis mecanismos responsáveis pelo melhor desempenho físico decorrente do uso do CHO (ingestão ou enxágue) parecem relacionar-se com às respostas de natureza periférica, como por

exemplo, aumentos na taxa de oxidação de CHO e/ou manutenção da glicose sanguínea ao longo do exercício (SHERMAN *et al.*, 1991; ANGUS *et al.*, 2000; OSTERBERG *et al.*, 2008; HULTON e JEUKENDRUP, 2009) e também com respostas de natureza central, como por exemplo, maior atividade cerebral em regiões relacionadas ao controle motor e recompensa (CHAMBERS, BRIDGE e JONES, 2009).

Diante do exposto, parece razoável a tentativa de descobrir se a combinação destes dois substratos poderia resultar em desempenhos físicos ainda melhores e neste sentido, diversos estudos foram realizados com este objetivo (KOVACS, STEGEN e BROUNS, 1998; YEO *et al.*, 2005; HULSTON e JEUKENDRUP, 2008; GANT, ALI e FOSKETT, 2010; CONGER *et al.*, 2011; BEAVEN *et al.*, 2013), porém as grandes variações entre as metodologias, as manipulações dos substratos e os diferentes resultados encontrados podem dificultar a interpretação dos dados quando os mesmos são compilados.

Mediante as informações supracitadas, os principais objetivos desta dissertação foram: 1) tentar esclarecer as possíveis divergências de resultados e possíveis mecanismos de ação provenientes da combinação de cafeína e carboidratos (CAF+CHO) através de uma revisão sistemática de literatura e; 2) investigar os possíveis efeitos da utilização do enxágue de CAF e CAF+CHO sobre o desempenho em testes de carga constante até a exaustão.

1º artigo: artigo de revisão

Melo, AA; de Araujo, GG. EFEITO DA UTILIZAÇÃO COMBINADA DE CARBOIDRATO E CAFEÍNA SOBRE O DESEMPENHO FÍSICO HUMANO: REVISÃO SISTEMÁTICA.

Revista pretendida: Revista Brasileira de Ciência e Movimento.

RESUMO

Os benefícios promovidos pela utilização de carboidratos (CHO) tornam-se evidentes em diversos estudos, que vão desde ensaios com exercícios de intensidade constante, até simulações de provas contra-relógio. Além disto, os benefícios promovidos pelos CHO são demonstrados em diferentes intensidades e em diferentes protocolos. Da mesma forma, os efeitos provenientes da utilização de cafeína (CAF) também foram extensivamente investigados ao longo dos anos e, assim como os CHO, seus benefícios são demonstrados em estudos que adotam intensidades e protocolos de exercícios distintos. Por ambas substâncias apresentarem efeitos satisfatórios, pesquisas relacionadas à combinação destes dois substratos tornam-se cada vez mais frequentes na literatura, porém, a variação entre os resultados destes estudos tornam os resultados ainda inconsistentes. Portanto, o objetivo do presente estudo foi investigar os efeitos da combinação de CAF e CHO (CAF+CHO), bem como seus possíveis mecanismos de ação. Para tal, uma revisão sistemática de literatura foi realizada utilizando a base de dados eletrônicas PubMed e dezoito artigos foram selecionados como aptos a participarem da presente revisão. Os efeitos da combinação CAF+CHO (ingestão ou enxágue) foram mais evidentes em protocolos de curta e/ou intermitente duração quando comparados a testes contínuos e com duração prolongada. Possivelmente, estes benefícios ocorrem devido a maiores taxas de absorção de CHO exógeno, todavia, os efeitos advindos da combinação CAF+CHO carecem de maiores esclarecimentos, por existirem diferenças metodológicas entre os desenhos experimentais e também entre as formas de administração dos substratos.

PALAVRAS-CHAVE: Cafeína. Carboidrato. Desempenho. Suplementação Alimentar.

ABSTRACT

The benefits provided by the use of carbohydrates (CHO) become evident in several studies, ranging from trials with a constant intensity, to simulation tests against time. The benefits promoted by the CHO are demonstrated in different intensities and different protocols. Likewise, the possible effects arising from the use of caffeine (CAF) have also been extensively investigated. As well as the CHO, the benefits achieved by the use of CAF were demonstrated in several studies and protocols with different intensities. For these reasons, studies investigating combination of these substrates become increasingly frequent. Therefore, the aim of this study was to investigate the effects of combination of CAF and CHO (CAF + CHO), as well as its possible mechanisms of action. A systematic review was conducted in PubMed electronic database. Eighteen articles were selected as suitable part of this review. The effects of CHO + CAF combination were more pronounced in short protocols and / or intermittent than in continuous tests with prolonged duration. These benefits may be due to higher rates of exogenous CHO absorption. However, the effects resulting from the combination of CAF + CHO require further elucidation in view of a great methodological diversity among experimental designs, and between the administration forms of substrates.

KEYWORDS: Caffeine. Carbohydrate. Performance. Supplementary Feeding.

INTRODUÇÃO

Do ponto de vista do desempenho, existe um número considerável de evidências que indicam que tanto a utilização de cafeína (CAF) (COSTIL *et al.*, 1978; ANSELME *et al.*, 1992; DOHERTY *et al.*, 1998; COX *et al.*, 2002; WILES *et al.*, 2006; SCHNEIKER *et al.*, 2006; LANE *et al.*, 2013; BEAVEN *et al.*, 2013; BOTTOMS *et al.*, 2014) quanto a utilização de carboidratos (CHO) podem promover melhoras ao desempenho (BERGSTROM *et al.*, 1967; NEUFER *et al.*, 1987; SHERMAN *et al.*, 1989; BELOW *et al.*, 1995; BALL *et al.*, 1995; MADSEN *et al.*, 1996; CARTER *et al.*, 2003; OSTERBERG *et al.*, 2008; HULSTON e JEUKENDRUP 2009).

Um dos mecanismos responsáveis pela melhora de desempenho frente à utilização de CHO parece estar relacionado às respostas de natureza periférica, uma vez que, a melhora do desempenho pode ser causada pela manutenção de uma alta taxa de oxidação de CHO e também pela manutenção da glicemia (COGGAN e COYLE, 1989; ANGUS *et al.*, 2000; OSTERBERG *et al.*, 2008; HULTON e JEUKENDRUP, 2009).

Alternativamente a este mecanismo, os benefícios dos CHO podem estar relacionados ao sistema nervoso central (SNC) (CARTER, JEUKENDRUP e JONES, 2004b; CHAMBERS *et al.*, 2009). Os estudos demonstraram que a utilização de CHO sem ingestão, com um breve período de enxágue, pode melhorar o desempenho em exercícios com aproximadamente uma hora de duração, através de maior atividade no cérebro em regiões associadas à recompensa e ao controle motor (CARTER, JEUKENDRUP e JONES, 2004b;

CHAMBERS, BRIDGE e JONES, 2009; POTTIER *et al.*, 2010; ROLLO *et al.*, 2010).

Assim como os CHO, os possíveis benefícios provenientes da utilização de CAF também estão sendo extensivamente investigados ao longo dos anos (COSTILL, DALSKY e FINK, 1978; COX *et al.*, 2002; DOHERTY e SMITH, 2005; SCHNEIKER *et al.*, 2006; BEAVEN *et al.*, 2013; SILVA-CAVALCANTE *et al.*, 2013; LANE *et al.*, 2013). Mesmo com variações consideráveis entre as concentrações utilizadas nos estudos, os referidos efeitos da CAF são observados em diversos protocolos de exercício, com resultados positivos em baixa, moderada e em alta intensidade (COSTILL, DALSKY e FINK, 1978; COX *et al.*, 2002; SCHNEIKER *et al.*, 2006; BEAVEN *et al.*, 2013).

Um dos primeiros mecanismos altamente disseminados pela comunidade científica sobre os efeitos da CAF foi proposto por Costill, Dalshy e Fink (1978). Neste estudo os pesquisadores realizaram um teste com duração superior a 70 minutos e sugeriram que o possível efeito ergogênico da CAF consistiria na maior oxidação de gordura, devido aos menores valores na razão de troca respiratória no grupo CAF. Alternativamente, alguns autores acreditam que a CAF pode exercer efeitos positivos via sistema nervoso central, através da antagonização de receptores de adenosina o que pode acarretar uma redução da percepção subjetiva de esforço (PSE) (COSTILL, DALSKY E FINK, 1978; FREDHOLM, 1985; DAVIS *et al.*, 2003; COX *et al.*, 2002; DOHERTY E SMITH, 2005). Além da PSE, com o passar dos anos, mais estudos demonstraram outros possíveis mecanismos da CAF, como maior liberação de catecolaminas (COLLOMP *et al.*, 1991) e aumento da contribuição anaeróbia (SILVA-CAVALCANTE *et al.*, 2013).

Corroborando com os possíveis efeitos da ingestão de CAF sobre o sistema nervoso central, recentemente, estudos demonstraram que a utilização de CAF através do enxágue bucal pode melhorar a performance (BEAVEN *et al.*, 2013; SINCLAIR e BOTTOMS, 2014; BOTTOMS *et al.*, 2014). De fato, não sabe-se ao certo quais mecanismos mediam a relação entre o enxágue com CAF e a melhora de desempenho, entretanto, Beaven *et al.* (2013) demonstraram que o enxágue com CAF pode melhorar o desempenho em *sprints* repetidos, assim como Sinclair e Bottoms (2014) e Bottoms *et al.* (2014) também demonstraram os benefícios do enxágue de CAF em provas com 30 minutos de duração.

Por ambos substratos indicarem melhora de desempenho através de mecanismos distintos, seus efeitos combinados vem sendo investigados ao longo dos anos (SASAKI *et al.*, 1987; KOVACS, STEGEN e BROUNS, 1998; YEO *et al.*, 2005; BEAVEN *et al.*, 2013), todavia, as variações existentes entre os protocolos de exercícios aplicados, a forma de administração dos substratos e os resultados dos estudos, dificultam a compreensão dos possíveis benefícios gerados por esta combinação.

Sendo assim, a proposta da presente revisão sistemática de literatura foi realizar um levantamento bibliográfico, com o intuito de discutir os efeitos da combinação de CAF mais CHO (CAF+CHO), em diferentes tipos de exercícios, além de debater seus possíveis mecanismos de ação.

MÉTODOS

Os artigos selecionados na presente revisão foram acessados nas bases de dados PubMed, MEDLINE. Para o início das pesquisas, criou-se uma estratégia de busca onde as palavras-chave e filtros escolhidos foram “*caffeine AND carbohydrate AND (performance OR endurance OR exercise OR time trial OR sprints) AND ((Clinical Trial[ptyp] OR Randomized Controlled Trial[ptyp] OR Meta-Analysis[ptyp]) AND Humans[Mesh])*”.

O presente estudo incluiu artigos originais e artigos de revisão referentes à ligação entre a suplementação de CAF+CHO e exercício. Entretanto, foram excluídos os estudos que não utilizaram seres humanos como amostra.

As buscas realizadas foram concluídas em 14/04/2015, totalizando 127 artigos. Após a leitura dos títulos, foram selecionados 43 estudos; após a leitura dos resumos restaram 25 artigos, e deste segundo filtro, 16 títulos foram escolhidos para a discussão desta revisão, além disto, após uma procura adicional utilizando o termo “*caffeine and carbohydrate mouth wash*” mais um artigo não localizado anteriormente foi adicionado, totalizando 17 artigos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Efeitos da suplementação combinada de CAF+CHO, considerando as intensidades e os protocolos de exercício

Testes intermitentes.

A utilização de CAF+CHO vem ganhando espaço entre os testes intermitentes. O primeiro registro em nossa busca que avaliou a combinação CAF+CHO em testes intermitentes foi realizado por Stevenson, Hayes e Alison (2009). Os pesquisadores realizaram um protocolo de testes objetivando a simulação de um jogo de golfe. Neste protocolo os autores elaboraram uma série com 40 tacadas, variando entre cinco e dois metros. Os sujeitos (n=20) recrutados para o experimento tinham experiência mínima de seis anos e praticavam o esporte duas vezes por semana. A bebida contendo CAF+CHO foi composta por $1,6 \text{ mg.mL}^{-1}$ de CAF mais $6,4 \text{ g.mL}^{-1}$ de CHO e foi comparada com uma substância PLA sem calorias. As substâncias foram administradas imediatamente antes da aplicação dos testes, após um período de jejum noturno. Como resultado, os pesquisadores observaram que no trecho final do experimento os sujeitos melhoraram significativamente ($p < 0,05$) seu desempenho, tanto na eficiência de tacadas quanto na distância percorrida. Pelo fato dos sujeitos alcançarem uma maior eficiência nas tacadas, a distância percorrida foi reduzida e, segundo os autores, estes resultados são reflexos dos benefícios psicomotores proporcionados pela presença da CAF na bebida. Os autores também observaram que a melhora promovida pela CAF+CHO foi mais evidente nos

momentos finais do teste e argumentam que isto pode ter acontecido porque a bebida foi ofertada imediatamente antes do teste. Segundo os pesquisadores, provavelmente, a ingestão da bebida imediatamente antes do protocolo de exercício pode ter atrasado seu efeito por alguns minutos, devido ao tempo de metabolização da CAF.

Outro estudo que também verificou efeitos positivos da combinação de CAF+CHO foi publicado por Roberts *et al.* (2010). Estes autores simularam um teste com elementos de rugby (BURST) que continha quatro blocos de atividades e dentro de cada um destes blocos existiam seis sub-blocos. Neste protocolo, os oito sujeitos recrutados (praticantes de rugby) não realizaram apenas testes de desempenho físico (com intensidade variável), mas também de desempenho motor e ainda contavam com pequenos períodos de pausa intra e inter blocos. Os sujeitos ingeriram um total de, aproximadamente, 500 mL de uma das soluções: PLA (não calórico), CHO ($1,2 \text{ g.kg}^{-1}$) ou CAF+CHO (4 mg.kg^{-1} e $1,2 \text{ g.kg}^{-1}$, respectivamente) 70 minutos antes dos testes e, aproximadamente, mais 300 mL durante três intervalos contidos no protocolo.

Como resultado da intervenção, os sujeitos não obtiveram melhoras significativas de desempenho em CAF+CHO comparado aos grupos CHO e PLA ($p > 0,05$). Entretanto, o tempo mais rápido obtido pelo grupo CAF+CHO nos *sprints* de 15 metros podem resultar em um efeito prático de 2% comparado aos grupos CHO e PLA.

Os pesquisadores também demonstraram que a PSE e o desempenho de habilidades motoras foram significativamente melhores ($p < 0,05$) no grupo CAF+CHO comparado aos grupos CHO e PLA. Os autores não encontraram diferenças entre os grupos na produção de lactato, todavia, na avaliação da

glicose sanguínea os grupos CAF+CHO e CHO obtiveram maiores valores em relação ao PLA. Os autores concluíram que possivelmente estas melhoras possam ser decorrentes dos efeitos centrais da CAF.

No mesmo ano, e também utilizando um protocolo de simulação de esporte coletivo, Gant, Ali e Foskett (2010) contaram com 15 jogadores de futebol para a realização de dois protocolos de testes que foram aplicados combinadamente. O primeiro deles foi um teste de corrida intermitente (Loughborough Intermittent Shuttle Running Test – LIST) realizado seis vezes durante todo protocolo contendo entre as séries intervalos de quatro minutos de descanso. O segundo teste avaliou o comportamento técnico dos jogadores (Loughborough Soccer Passing Test – LSPT) e foi inserido nos intervalos existentes entre os seis blocos do primeiro teste (LIST). Quanto à ingestão de fluídos, o estudo contou com dois grupos, um com CAF+CHO ($160 \text{ mg.L}^{-1} + 60 \text{ g.L}^{-1}$, respectivamente) e outro com apenas CHO (60 g.L^{-1}). Nas duas condições (CAF+CHO e CHO) a ingestão da solução líquida foi de 8 mL.kg^{-1} em 60 minutos antes do teste, 3 mL.kg^{-1} imediatamente antes do início do teste e entre cada um dos seis blocos do LIST, totalizando uma ingestão aproximada de $3,7 \text{ mg.kg}^{-1}$ de CAF e $1,8 \text{ g.kg}^{-1}$ de CHO ao longo do protocolo.

Os resultados observados neste estudo nos informam que na condição CAF+CHO o desempenho físico é melhorado a partir do quarto bloco do teste LIST ($p < 0,05$) e esta melhora não prejudica o desempenho técnico dos sujeitos. Os autores afirmam que o estudo não foi capaz de avaliar os possíveis mecanismos responsáveis por estes resultados. Porém, os pesquisadores acreditam que, em parte, a melhora de desempenho ocorreu mediante aos efeitos centrais, pois, mesmo que a PSE não tenha sido diferente entre as condições, a

“relação prazer-desprazer” alcançou valores significativamente melhores nos três últimos blocos do protocolo com o uso da CAF+CHO ($p < 0,05$).

Ainda investigando exercícios relacionados aos esportes coletivos, Taylor *et al.* (2011) utilizaram dois testes para demonstrar os efeitos da co-ingestão de CAF+CHO na recuperação entre treinamentos. Primeiramente, um protocolo de depleção foi aplicado com o objetivo de reduzir os estoques de glicogênio muscular das fibras tipo I e tipo II. Após o primeiro teste, os sujeitos repousaram durante 4 horas e neste período ingeriram $1,2 \text{ g.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$ de CHO no grupo CHO e no grupo CAF+CHO $1,2 \text{ g.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$ de CHO mais 4 mg.kg^{-1} de CAF (imediatamente após o primeiro teste e 2 horas depois do mesmo). O estudo também contou com um grupo PLA que realizou a ingestão de água aromatizada em quantidades equivalentes aos grupos CHO e CAF+CHO.

O principal resultado do estudo demonstrou que os sujeitos que ingeriram CAF+CHO aumentaram sua capacidade de realização do exercício (LIST) comparado aos grupos CHO e PLA ($p < 0,05$). Além disto, em relação ao desconforto intestinal, os pesquisadores não encontraram diferenças entre os grupos CHO e CAF+CHO. Estes dados levaram os pesquisadores a concluir que, provavelmente, a ingestão de CAF+CHO promove um melhor desempenho na segunda sessão de testes, por um possível aumento na resíntese de glicogênio muscular (GM) e/ou por alterações provocadas pela CAF no sistema nervoso central.

Recentemente, Lee *et al.* (2014) aplicando um protocolo de exercício intervalado também investigaram os efeitos da combinação CAF+CHO. O protocolo compreendia dez blocos de exercício que continham cinco *sprints* e cada *sprint* possuía quatro segundos de duração. Além disto, entre cada bloco os

sujeitos tiveram dois minutos de descanso ativo e entre cada *sprint* existiram intervalos de 20 segundos (descanso passivo). Os pesquisadores recrutaram 12 sujeitos que participaram de quatro momentos diferentes, CAF+CHO (0,8 g.kg⁻¹ de CHO mais 6 mg.kg⁻¹), CHO (0,8 g.kg⁻¹), CAF (6 mg.kg⁻¹) e PLA (não calórico). Não ocorreu melhora de desempenho em nenhum indicador de performance, como por exemplo: pico de potência, média de potência e quantidade total de trabalho. Ao invés disto, os autores demonstraram aumento no índice de fadiga no grupo CAF+CHO. Os possíveis mecanismos que provocaram estes resultados não estão claros, entretanto, o tipo de protocolo escolhido para avaliar o desempenho físico pode ter falhado por submeter os sujeitos a um nível de estresse muito próximo do máximo.

Portanto, considerando as informações expressas nesta sessão do texto, observa-se que a combinação CAF+CHO pode promover benefícios ao desempenho em exercícios intermitentes, uma vez que quatro de cinco estudos indicaram melhora de *performance* ($p < 0,05$) comparando o grupo CAF+CHO aos grupos CHO (três estudos) ou PLA (um estudo). Todavia, mais pesquisas são necessárias para elucidar estes efeitos, verificar os possíveis reguladores deste processo e também comparar a combinação de CAF+CHO à ingestão isolada de CAF.

Testes com intensidade moderada

Após as presentes buscas, o primeiro estudo que verificou os efeitos da combinação CAF+CHO em testes de intensidade moderada, foi realizado por

Sazaki *et al.* (1987). Os autores demonstraram que a combinação de CAF+CHO (CAF = 420 mg e CHO = 90 g) não promoveu melhoras significativas ($p > 0,05$) quando comparada aos grupos CAF (420 mg) e CHO (90 g), todavia, os três ensaios foram significativamente melhores quando comparados ao grupo PLA ($p < 0,05$).

O protocolo de exercício deste estudo consistiu em duas partes distintas. No primeiro momento, os sujeitos realizaram um teste de carga constante, correndo durante 45 minutos em uma intensidade equivalente a 80 por cento (%) do $VO_{2máx}$, e após cinco minutos de descanso passivo, iniciou-se o segundo teste na mesma intensidade e até a exaustão (aproximadamente 50 minutos). Os sujeitos ingeriram as substâncias CAF+CHO, CHO, CAF ou PLA 60 minutos antes do teste de carga constante, imediatamente antes do teste de carga constante e 45 minutos após a segunda ingestão. Entretanto, a pesquisa não controlou nem orientou os sujeitos sobre o consumo de cafeína antes dos testes, e tal fato pode ser considerado um viés metodológico capaz de prejudicar a validade ecológica do estudo. Outro detalhe capaz de prejudicar o citado ensaio, refere-se ao limitado número de sujeitos (apenas cinco). Neste estudo (SASAKI *et al.*, 1987), quatro dos cinco sujeitos obtiveram seus melhores tempos na condição CAF+CHO, porém estes resultados não alcançaram significância estatística. Os autores ainda avaliaram a razão de troca respiratória (RER) e comparando o grupo CHO com o grupo CAF+CHO não foram observadas mudanças significativas ($p < 0,05$). Todavia, para os pesquisadores, o melhor desempenho do grupo CHO em relação ao grupo PLA pode ter ocorrido pela maior preservação do CHO endógeno durante o teste de carga constante, à medida que

a melhora do grupo CAF em relação ao grupo PLA pode ter ocorrido por maior oxidação de gordura no início do exercício de carga constante.

Com o mesmo objetivo, Kovacs, Stegen e Brouns (1998) recrutaram 15 sujeitos bem treinados e testaram doses diferentes de CAF à bebida carboidratada com eletrólitos (CHO). Os sujeitos realizaram jejum noturno, tiveram uma pequena refeição padronizada (~ 90 minutos antes do teste) e ingeriram uma das soluções aproximadamente 40 minutos antes do teste contra-relógio (~ 60 minutos). No estudo, verificou-se que os grupos que ingeriram CHO com 320 mg.L⁻¹ (4,5 mg.kg⁻¹) e 225 mg.L⁻¹ (2,1 mg.kg⁻¹) de CAF não foram diferentes entre si, contudo, estes grupos concluíram o teste contra-relógio significativamente mais rápido do que os grupos PLA e CHO ($p < 0,05$). Os possíveis mecanismos de ação que explicam os benefícios da CAF+CHO não puderam ser discutidos pelos autores, uma vez que parâmetros como a RER, PSE e cinética da glicose não foram investigados, mas possivelmente os resultados possam ser atribuídos, ao menos em parte, aos efeitos já conhecidos da CAF.

Em contraste aos achados anteriores, Jacobson *et al.* (2001) não encontraram resultados significativos ($p < 0,05$) após utilizarem a co-ingestão de CAF+CHO. Estes autores, adotaram um protocolo de exercício similar ao de Sasaki *et al.* (1987), recrutando 8 sujeitos (ciclistas e/ou triatletas) altamente treinados que realizaram um teste de carga constante (120 minutos a 63% da potência pico) e em seguida um teste contra-relógio (82,5% da potência pico). Sessenta minutos antes do teste de carga constante, os sujeitos ingeriram soluções contendo CHO (2,6 g.kg⁻¹), CAF+CHO (6 mg.kg⁻¹ + 2,6 g.kg⁻¹), gordura (FAT; 1,2 g.kg⁻¹) ou cafeína e gordura (CAF+FAT; 6 mg.kg⁻¹ + 1,2 g.kg⁻¹).

Diferentemente de Sazaki *et al.* (1987), Jacobson *et al.* (2001) orientaram os sujeitos de sua pesquisa a não ingerirem CAF a partir de 72 horas antes do teste, mesmo assim, os autores não encontraram diferença significativa entre os grupos CHO e CAF+CHO ($p > 0,05$). Além de não existir diferença significativa no desempenho, a RER não foi diferente entre eles. Todavia, com uma análise mais cautelosa, observa-se que no grupo CAF+CHO a PSE foi significativamente menor no teste de carga constante em comparação a CHO ($p < 0,05$), e apesar de não ser significativa, a diferença entre os grupos no teste contra-relógio, a média de tempo na condição CAF+CHO foi um pouco menor e esta melhora discreta pode estar relacionada com a PSE diminuída no final do teste de carga constante.

Ainda em 2001, um estudo realizado por Alford, Cox e Wescott (2001), demonstrou através de um grupo heterogêneo de sujeitos (cinco homens e cinco mulheres) que uma bebida energética de uso comercial (*Red Bull*® considerado como CAF+CHO) pode melhorar o desempenho em relação à água gaseificada ($p < 0,05$). O protocolo de exercício durou pouco mais de 15 minutos e a bebida foi oferecida aos sujeitos aproximadamente 30 minutos antes do teste. No entanto, os autores alertam que este resultado pode ter sido alcançado por uma combinação de CAF+CHO adicionados a outros compostos da bebida, tais como vitamina B12 e taurina, que podem promover melhoras no sentido de alerta e aumento da concentração.

Ao contrário do estudo anterior, Slivka *et al.* (2008), recrutaram nove ciclistas recreacionais e realizaram um estudo com protocolo de exercício mais longo. Para provocar um balanço energético negativo, os autores elaboraram um teste preliminar 24 horas antes do teste principal. O teste preliminar consistiu em

duas horas de duração (com uma carga de 50% da potência máxima - $W_{\text{máx}}$), além disto, dois dias antes do teste principal os sujeitos iniciaram uma dieta com baixos índices de CHO.

No teste principal, os sujeitos pedalarão duas horas com uma resistência a 50% $W_{\text{máx}}$ seguido por um teste contra-relógio de 20 quilômetros. A CAF nas situações CAF e CAF+CHO totalizou aproximadamente $5,3 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$ divididos em 200 mg no início do teste de carga constante e a cada 30 minutos do mesmo teste. O CHO nas condições CHO e CAF+CHO totalizaram $60 \text{ g.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$ e foram ofertados a cada 30 minutos do teste de carga constante. Os resultados da pesquisa demonstraram que a PSE, a RER e o desempenho não foram melhorados pela CAF+CHO, além disto, na situação CAF o nível de cortisol sanguíneo foi significativamente maior ($p < 0,05$) em relação às outras condições. Apesar de o estudo demonstrar que não ocorreu melhora significativa no tempo de realização do teste contra-relógio ($p > 0,05$), os autores consideraram que ocorreu melhora de desempenho no grupo CHO em relação ao grupo PLA, devido a uma maior média de potência registrada nos sujeitos que ingeriram CHO ($p < 0,05$). Todavia, tais diferenças na média de potência não foram observadas entre as outras condições testadas.

No mesmo ano, Hulston e Jeukendrup (2008) também utilizaram um protocolo de carga constante (105 minutos) seguido por um teste contra-relógio (~ 45 minutos) para avaliar os efeitos da combinação CAF+CHO. Entretanto, os pesquisadores não induziram os sujeitos a um balanço energético negativo. Neste estudo, dez ciclistas treinados ingeriram um total de 375 mg ($5,3 \text{ mg.kg}^{-1}$) de CAF e 75 g ($0,71 \text{ g.min}^{-1}$) de CHO, onde, as ingestões ocorreram no início do teste de carga constante ($5,5 \text{ mL.kg}^{-1}$) e a cada 15 minutos do mesmo (2 mL.kg^{-1}).

Os resultados deste estudo demonstraram que na condição CAF+CHO houve melhora significativa de desempenho no teste contra relógio ($p < 0,05$) comparado aos grupos CHO (4,6%) e PLA (9%). O grupo CAF+CHO também apresentou outras alterações significativas ($p < 0,05$) em variáveis como a PSE (apresentou menores valores em relação a CHO e PLA no teste de carga constante), na frequência cardíaca e na potência média (que foram maiores no grupo CAF+CHO em relação aos grupos CHO e PLA no teste contra relógio). Entretanto, a RER (durante o teste de carga constante) e a cinética de glicose (taxas de aparecimento/desaparecimento; nos testes de carga constante e contra-relógio) não foram diferentes entre os grupos CAF+CHO e CHO.

Apesar da semelhança inicial, os estudos de Hulston e Jeukendrup (2008) e o estudo de Slivka *et al.* (2008) diferiram-se por: 1) as características dos sujeitos (recreacionais vs treinados); 2) balanço energético negativo provocado pelo estudo de Slivka *et al.* (2008) e 3) a forma com que a solução CAF+CHO foi ingerida (sólida vs líquida). Além destes motivos, a PSE do grupo CAF+CHO foi menor ao final do teste de carga constante no segundo estudo (HULSTON e JEUKENDRUP, 2008) e este fato pode ter promovido, em parte, um melhor resultado no teste contra-relógio.

Assim como Sasaki *et al.* (1987) e Jacobson *et al.* (2001), Hulston e Jeukendrup (2008) não detectaram diferenças entre CHO e CAF+CHO em relação a RER. Contudo, estes dados da RER contrariaram achados de um estudo realizado anos antes (YEO *et al.*, 2005), que apenas avaliou alterações metabólicas durante um teste de carga constante (120 minutos de duração).

Neste estudo, os pesquisadores (YEO *et al.*, 2005) obtiveram como resultado maior RER no grupo CAF+CHO quando comparado ao grupo CHO.

Para essa divergência de resultados (RER), Hulston e Jeukendrup (2008) informaram que no seu estudo tanto a quantidade de CAF quanto a quantidade de CHO foram inferiores às concentrações utilizadas no estudo de Yeo *et al.* (2005) e que estas diferenças podem ter influenciado os resultados da RER.

Seguindo parte da metodologia proposta pelos estudos anteriores, Ivy *et al.* (2009), realizaram um estudo que comparou a utilização de CAF+CHO vs PLA, em um teste contra-relógio (uma hora de duração – JEUKENDRUP *et al.*, 1996). Nesta pesquisa, os autores recrutaram 12 ciclistas (seis homens e seis mulheres) habituados a realizar provas contra-relógio. Após um jejum noturno, os sujeitos ingeriram 500 mL de uma bebida energética (*RedBull®*) contendo aproximadamente $2,3 \text{ mg.kg}^{-1}$ de CAF e $0,7 \text{ g.kg}^{-1}$ de CHO 40 minutos antes do início do teste.

Os resultados demonstraram que a utilização de uma bebida energética cafeinada (CAF+CHO) é mais efetiva em um teste contra relógio quando comparada a um PLA não calórico ($p < 0,05$). Os pesquisadores observaram que esta diferença começou a surgir após a conclusão de 50% do teste e esta diferença coincidiu com a elevação do lactato sanguíneo. Além disto, mesmo aumentando a carga de trabalho e conseqüentemente reduzindo o tempo do teste a PSE não foi alterada entre os ensaios.

Tendo como objetivo avaliar se a combinação CAF+CHO promove benefícios ao desempenho em relação aos efeitos isolados dos CHO, Conger *et al.* (2011) realizaram uma revisão sistemática de literatura combinada a uma meta-análise.

Os resultados apresentados pelos autores indicam que 17 dos 21 estudos utilizados na pesquisa registraram melhora de desempenho de CAF+CHO em

relação a apenas CHO (0,4 % a 27,4 %). Os pesquisadores observaram que os mecanismos envolvidos neste processo não estão totalmente elucidados, uma vez que nem todos os estudos sobre CAF+CHO demonstram maior oxidação de CHO exógeno. Os autores sugeriram que mais estudos comparando CAF+CHO e CAF sejam elaborados, tendo em vista que a CAF pode ser efetiva tanto isolada quanto combinada aos CHO e poucos estudos dedicaram-se a comparar os efeitos e mecanismos da combinação CAF+CHO em relação a apenas CAF.

Alguns anos depois, Phillips *et al.* (2014) pesquisaram os possíveis efeitos da mesma bebida energética analisada por Ivy *et al.* (2009) (*RedBull®*). Os autores não observaram os mesmos resultados do estudo anterior. Neste estudo foram recrutados 11 ciclistas treinados para a realização de uma prova de 25 milhas (entre 60-70 minutos de duração). Os autores utilizaram 500 mL de três tipos de bebidas: primeiramente uma bebida energética (*RedBull®*) que continha aproximadamente $0,6 \text{ g.kg}^{-1}$ de CHO e $1,9 \text{ mg.kg}^{-1}$ de CAF; em segundo lugar uma bebida contendo apenas CAF+CHO (sabor cola, sem nenhuma informação nutricional divulgada) e por último uma substância PLA composta por água com gás e aromatizante não calórico, todas bebidas sendo ofertadas a aproximadamente 50 minutos antes do teste. O energético cafeinado (CAF+CHO) não promoveu melhoras no desempenho quando comparado à bebida PLA e com a bebida sabor cola que também continha CAF+CHO.

Os dados do estudo indicaram que uma bebida energética não tem a capacidade de melhorar o desempenho frente a outra bebida contendo CAF+CHO. Todavia, mais conclusões não podem ser discutidas devido ao desconhecimento da composição da bebida sabor cola (CAF+CHO).

Pela semelhança entre os estudos de Ivy *et al.* (2009) e Phillips *et al.* (2014) o esperado seria que ao menos em relação ao PLA o energético cafeinado expressasse diferença significativa ($p < 0,05$), porém, a diferença na concentração de CAF entre os estudos podem ter influenciado os desfechos das pesquisas. Além disto, observa-se que as concentrações de CAF usadas no segundo estudo são ainda menores quando comparada a outro estudo que contou com baixa ingestão líquida de CAF+CHO (COX *et al.*, 2002).

Sendo assim, não detectamos uniformidade entre os nove estudos discutidos que analisaram as diferenças entre a ingestão de CAF+CHO e CHO ou CAF+CHO e PLA. Apenas três estudos indicaram melhoras significativas ($p < 0,05$) do grupo CAF+CHO em relação ao grupo CHO e dois estudos entre CAF+CHO em relação ao PLA. Três estudos não demonstraram melhora entre a condição CAF+CHO e CHO e um estudo não demonstrou melhora de desempenho entre CAF+CHO e PLA. Divergências entre os protocolos de exercícios e nutricionais dificultam as análises, todavia, as diferenças entre CAF+CHO e PLA podem ser facilmente detectadas. Entretanto, estes resultados podem ser frutos do efeito de apenas um dos recursos ergogênicos da combinação (apenas CAF ou apenas CHO).

Teste envolvendo enxágue bucal de CAF+CHO.

Em 2013, Beaven *et al.* (2013) sugeriram uma nova forma de utilização de CAF+CHO como recurso ergogênico. Utilizando um protocolo de enxágue bucal, os pesquisadores demonstraram que esta combinação melhorou significativamente o pico de potência e a média de potência em *sprints* repetidos

quando comparados ao enxágue com CHO. Os autores acreditam que estes resultados ocorreram graças a uma possível capacidade da CAF otimizar os efeitos já conhecidos do enxágue com CHO. Todavia, este é o único estudo realizado utilizando enxágue bucal com CAF+CHO e novas pesquisas devem ser realizadas objetivando elucidar esta nova forma de utilização dos substratos.

Mecanismos de Ação da Ingestão Combinada de Cafeína com Carboidratos (CAF+CHO)

Os efeitos ergogênicos provenientes da combinação CAF+CHO parecem ser benéficos ao desempenho físico mesmo em diferentes intensidades de exercícios (KOVACS, STEGEN e BROUNS, 1998; YEO *et al.*, 2005; HULSTON e JEUKENDRUP, 2008; GANT, ALI e FOSKETT, 2010; CONGER *et al.*, 2011; BEAVEN *et al.*, 2013). Todavia, os mecanismos capazes de explicar tais efeitos não estão totalmente esclarecidos. Portanto, as pesquisas a seguir tentarão nortear nossa compreensão sobre quais são os possíveis mecanismos envolvidos na combinação destes dois substratos.

Um estudo realizado por, Yeo *et al.* (2005) com oito ciclistas treinados, demonstrou que a combinação CAF+CHO foi capaz de aumentar a oxidação exógena de CHO. Neste estudo, os sujeitos não abstiveram-se da ingestão habitual de CAF, entretanto, evitaram ingerir alimentos derivados de cana-de-açúcar e milho durante a semana que precedeu o teste. O estudo conteve três visitas em um modelo cross-over randomizado, e em cada visita os sujeitos realizaram um teste de carga constante com duração de 120 minutos em uma

intensidade correspondente a 55% da $W_{máx}$, sob as condições CHO, CAF+CHO e água.

No grupo CHO os sujeitos ingeriram uma solução com aproximadamente $0,65 \text{ g.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$ de CHO, na intervenção CAF+CHO a mesma concentração de CHO foi combinada a $5 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$ de CAF e na terceira intervenção utilizou-se apenas água. Neste estudo, os pesquisadores observaram que o grupo CAF+CHO apresentou uma taxa de oxidação de CHO exógeno maior do que o grupo CHO (26% maior nos últimos 30 minutos de exercício) e também maior presença de lactato sanguíneo na segunda metade do teste.

Os autores do estudo não obtiveram dados capazes de explicar o aumento da taxa de oxidação exógena de CHO, porém, utilizaram uma hipótese apresentada anos antes por Van Nieuwenhoven, Brummer e Brouns (2000). Para os autores supracitados, a CAF poderia provocar um aumento do transporte de glicose para o enterócito, por elevar a atividade do transportador de glicose sódio dependente 1 (SGLT-1) e/ou aumentar o transporte de glicose do enterócito para os capilares, através da elevação da atividade do transportador de glicose 2 (GLUT-2).

Para tentar justificar a hipótese proposta por Van Nieuwenhoven, Brummer e Brouns (2000), Yeo *et al.* (2005) sugeriram que, possivelmente, a CAF atua inibindo a ação da fosfodiesterase. Com a inibição da fosfodiesterase, a adenosina monofosfato cíclica (AMPc) poderia se manter mais ativa, tornando mais eficiente as ações do SGLT-1 presente no intestino delgado (enterócito). Os SGLT-1 são fundamentais para facilitar a entrada da glicose na corrente sanguínea em conjunto com o GLUT 2 e, uma vez mais ativos, os SGLT-1, possivelmente, promoveriam maior influxo de glicose para a corrente sanguínea.

Todavia, muita cautela é necessária ao considerarmos a esta hipótese, pois, a relação AMPc/SGLT-1 foi observada apenas em estudos com roedores e sem a suplementação de CAF (STUMPEL, SCHOLTKA e JUNGERMANN, 1997; STUMPEL *et al.*, 2001).

Outra proposta de mecanismo que justificaria a combinação de CAF+CHO foi exposta por Pedersen *et al.* (2008). Estes pesquisadores submeteram sete ciclistas/triatletas treinados a realizarem um teste de exaustão voluntária máxima (70% do pico do volume de oxigênio). Os sujeitos do estudo ingeriram um total de $8\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de CAF (metade imediatamente após o teste e metade duas horas após) e $4\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ de CHO (durante 5, 60, 120, 180 minutos após o teste de exaustão voluntária máxima) e pós a aplicação deste protocolo, os resultados obtidos revelam que a combinação de CAF+CHO resultam em maior recuperação de glicogênio muscular após 4 horas de realização do teste.

Os autores analisaram alguns marcadores bioquímicos que indicariam o processo pelo qual ocorreu o aumento do glicogênio muscular na condição CAF+CHO. A proteína quinase B (AKT), por exemplo, apresentou-se significativamente superior ($p < 0,05$) no grupo CAF+CHO 4 horas após o teste em relação ao grupo CHO. A AKT pode sinalizar maior transporte de glicose no tecido muscular devido a sua capacidade de fosforilação da glicogênio sintase kinase (GSK) (ROSA *et al.*, 2006). A fosforilação da GSK poderia aumentar a ação da enzima glicogênio sintase (GS), que por sua vez, é responsável por promover a combinação da glicose a uma molécula pré-existente de glicogênio, através da enzima UDP-glicose.

Outro marcador que demonstrou aumento durante o repouso foi a cálcio calmodulina (CAMK), que na condição CAF+CHO, após quatro horas de

descanso, aumentou significativamente no grupo CAF+CHO em relação ao grupo CHO ($p < 0,05$). Este resultado não permite que os pesquisadores extrapolarem que a CAMK é responsável pela maior síntese de GM, todavia, alguns estudos mostram que tanto a AKT quanto a CAMK podem exercer papéis importantes na translocação do transportador de glicose 4 (GLUT-4), independente de insulina, promovendo posterior transporte de glicose para o interior da célula muscular (LEHNEN *et al.*, 2012).

Complementando o escopo de possíveis mecanismos advindos da combinação CAF+CHO, Beaven *et al.* (2013) demonstraram em seus experimentos que em *sprints* repetidos o enxágue de uma solução composta por CAF+CHO produziu média e pico de potência maiores do que o enxágue isolado de CHO, indicando que a CAF pode otimizar os efeitos já conhecidos do enxágue isolado de CHO (CARTER, JEUKENDRUP e JONES, 2004b).

Os mecanismos responsáveis pelo resultado desta combinação ainda não estão claros, entretanto, os autores acreditam que a adição de CAF aos CHO pode potencializar os efeitos já conhecidos do enxágue isolado de CHO, onde os CHO podem ativar receptores na cavidade oral que são capazes de aumentar a ativação de regiões ligadas ao cortex-motor e recompensa, promovendo melhoras de desempenho (CARTER, JEUKENDRUP e JONES, 2004b; CHAMBERS, BRIDGE e JONES, 2009; POTTIER *et al.*, 2010).

Sendo assim, nesta sessão, observa-se que os mecanismos relacionados às maiores taxas de oxidação de CHO não estão totalmente esclarecidos e que tanto o mecanismo de maior síntese de glicogênio muscular como o de enxágue bucal carecem de maiores investigações devido à escassez de estudos apontando tais efeitos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização combinada de CAF+CHO pode promover melhora de desempenho tanto em provas de intensidade moderada quanto e em protocolos de exercícios intermitentes. A presente revisão abordou os possíveis mecanismos de ação que comprovem os efeitos combinados de CAF e CHO, que vão desde estimulação via sistema nervoso central até maior capacidade de sintetizar glicogênio muscular. Além disto, nenhum estudo com protocolo de intensidade moderada foi capaz de mostrar que a combinação CAF+CHO é eficiente unicamente por mecanismos centrais. Portanto, mais estudos são necessários para investigar os possíveis mecanismos centrais da combinação CAF+CHO em testes com intensidade moderada, bem como consolidar os outros mecanismos já identificados em outros estudos.

REFERÊNCIAS

ALFORD, C.; COX, H.; WESCOTT, R. The effects of red bull energy drink on human performance and mood. **Amino acids**, v. 21, p. 139–150, 2001.

ANGUS, D. J. et al. Effect of carbohydrate or carbohydrate plus medium-chain triglyceride ingestion on cycling time trial performance. **Journal of applied physiology**, v. 88, p. 113–119, 2000.

BEAVEN, C. M. et al. Effects of caffeine and carbohydrate mouth rinses on repeated sprint performance. **Applied physiology, nutrition, and metabolism**, v. 38, n. 6, p. 633–7, 2013.

BERGSTROM, J. et al. Diet, muscle glycogen and physical performance. **Acta physiologica Scandanavica**, v. 71, p. 140–150, 1967.

BOTTOMS, L. et al. The effect of caffeine mouth rinse on self-paced cycling performance. **Comparative Exercise Physiology**, v. 10, n. 4, p. 239–245, 2014.

CARTER, J. M.; JEUKENDRUP, A. E.; JONES, D. A. The effect of carbohydrate mouth rinse on 1-h cycle time trial performance. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 36, n. 12, p. 2107–2111, 2004b.

CHAMBERS, E. S.; BRIDGE, M. W.; JONES, D. A. Carbohydrate sensing in the human mouth: effects on exercise performance and brain activity. **The Journal of physiology**, v. 587, n. Pt 8, p. 1779–94, 2009.

COGGAN, ANDREW R.; COYLE, EDWARD F. Metabolism and performance following carbohydrate ingestion late in exercise. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 21, n. 1, p. 59–65, 1989.

COLLOMP, K. et al. Effects of Caffeine Ingestion on Performance and Anaerobic Metabolism during the Wingate Test. **International Journal of sports medicine**, v. 12, n. 5, p. 439 – 443, 1991.

CONGER, S. A. et al. Does caffeine added to carbohydrate provide additional ergogenic benefit for endurance? **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 21, n. 1, p. 71–84, 2011.

CORREIA-OLIVEIRA, C. R. et al. Strategies of dietary carbohydrate manipulation and their effects on performance in cycling time trials. **Sports medicine**, v. 43, n. 8, p. 707–719, 2013.

COSTILL, D. L.; DALSKY, G. P.; FINK, W. J. Effects of caffeine ingestion on metabolism and exercise performance. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 10, n. 3, p. 155–158, 1978.

COX, G. R. et al. Effect of different protocols of caffeine intake on metabolism and endurance performance. **Journal of applied physiology**, v. 93, p. 990–999, 2002.

DAVIS, J. M. et al. Central nervous system effects of caffeine and adenosine on fatigue. **American Journal of Physiology, Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 284, n. 2, p. 399–404, 2003.

DESBROW, B. et al. Carbohydrate-electrolyte feedings and 1 h time trial cycling performance. **International journal of sport nutrition and exercise metabolism**, v. 14, p. 541–549, 2004.

DOERING, T. M. et al. The Effect of a Caffeinated Mouth-Rinse on Endurance Cycling Time-Trial Performance. **International journal of sport nutrition and exercise metabolism**, v. 24, p. 90–97, 2014.

DOHERTY, M. The effects of caffeine on the maximal accumulated oxygen deficit and short-term running performance. **International journal of sport nutrition**, v. 8, p. 95–104, 1998.

DOHERTY, M.; SMITH, P. M. Effects of caffeine ingestion on exercise testing: a meta-analysis. **International Journal of Sport Nutrition & Exercise Metabolism**, v. 14, n. 6, p. 626–646, 2005.

FREDHOLM, B. B. Experiments On the mechanism of action of theophylline and caffeine. **Acta medica Scandinavica**, v. 217, n. 2, p. 149–153, 1985.

GANT, N.; ALI, A.; FOSKETT, A. The influence of caffeine and carbohydrate coingestion on simulated soccer performance. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 20, n. 3, p. 191–197, 2010.

HULSTON, C. J.; JEUKENDRUP, A. E. Substrate metabolism and exercise

performance with caffeine and carbohydrate intake. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 40, n. 12, p. 2096–2104, 2008.

HULSTON, C. J.; JEUKENDRUP, A. E. No Placebo Effect From Carbohydrate Intake During Prolonged Exercise. **International Journal of Sport Nutrition and exercise metabolism**, v. 19, p. 275–284, 2009.

IVY, J. L. et al. Improved cycling time-trial performance after ingestion of a caffeine energy drink. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 19, n. 1, p. 61–78, 2009.

JACOBSON, T. L. et al. Effect of caffeine co-ingested with carbohydrate or fat on metabolism and performance in endurance-trained men. **Experimental physiology**, v. 86, n. 1, p. 137–144, 2001.

JENTJENS, R. L. P. G. et al. Effects of pre-exercise ingestion of differing amounts of carbohydrate on subsequent metabolism and cycling performance. **European journal of applied physiology**, v. 88, p. 444–452, 2003.

JEUKENDRUP, A. et al. A new validated endurance performance test. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 28, p. 266–270, 1996.

KOVACS, E. M.; STEGEN JHCH; BROUNS, F. Effect of caffeinated drinks on substrate metabolism, caffeine excretion, and performance. **Journal of applied physiology**, v. 85, n. 2, p. 709–715, 1998.

LANE, S. C. et al. Caffeine ingestion and cycling power output in a low or normal muscle glycogen state. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 45, n. 8, p. 1577–1584, 2013.

LEE, C. L. et al. Co-ingestion of caffeine and carbohydrate after meal does not improve performance at high-intensity intermittent sprints with short recovery times. **European Journal of Applied Physiology**, v. 114, n. 7, p. 1533–1543, 2014.

LEHNEN, A. M. et al. Changes in the GLUT4 Expression by Acute Exercise, Exercise Training and Detraining in Experimental Models. **Journal of Diabetes & Metabolism**, v. S10, n. 002, 2012.

LIMA-SILVA, A. E. et al. Effect of carbohydrate availability on time to exhaustion in

exercise performed at two different intensities. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 42, p. 404–412, 2009.

OSTERBERG, K. L.; ZACHWIEJA, J. J.; SMITH, J. W. Carbohydrate and carbohydrate + protein for cycling time-trial performance. **Journal of sports sciences**, v. 26, n. 3, p. 227–233, 2008.

PEDERSEN, D. J. et al. High rates of muscle glycogen resynthesis after exhaustive exercise when carbohydrate is coingested with caffeine. **Journal of applied physiology**, v. 105, n. 1, p. 7–13, 2008.

PHILLIPS, M. D. et al. preexercise energy drink consumption does not improve endurance cycling performance but increases lactate, monocyte, and interleukin-6 response. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 28, n. 5, p. 1443–1453, 2014.

POTTIER, A. et al. Mouth rinse but not ingestion of a carbohydrate solution improves 1-h cycle time trial performance. **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**, v. 20, p. 105–111, 2010.

ROBERTS, S. P. et al. Effects of carbohydrate and caffeine ingestion on performance during a rugby union simulation protocol. **Journal of sports sciences**, v. 28, n. 8, p. 833–842, 2010.

ROLLO, I. et al. Influence of mouth rinsing a carbohydrate solution on 1-h running performance. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 42, n. 4, p. 798–804, 2010.

ROSAS, M. et al. IL-5-mediated eosinophil survival requires inhibition of GSK-3 and correlates with beta-catenin relocalization. **Journal of leukocyte biology**, v. 80, p. 186–195, 2006.

SASAKI, H. et al. Effect of sucrose and caffeine ingestion on performance of prolonged strenuous running. **International Journal of sports medicine**, v. 8, p. 261–265, 1987.

SASAKI, H.; TAKAOKA, I.; T ISHIKO. Effect of sucrose or caffeine ingestion on running performance and biochemical responses to endurance running. **International Journal of sports medicine**, v. 8, p. 203–207, 1987.

SCHNEIKER, K. T. et al. Effects of caffeine on prolonged intermittent-sprint ability in team-sport athletes. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 38, n. 3, p. 578–585, 2006.

SHERMAN, W. M.; PEDEN, M. C.; WRIGHT, D. A. Carbohydrate feedings 1 h before exercise improves cycling performance. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 54, p. 866–870, 1991.

SILVA-CAVALCANTE, M. D. et al. Caffeine increases anaerobic work and restores cycling performance following a protocol designed to lower endogenous carbohydrate availability. **PloS one**, v. 8, n. 8, 2013.

SIMMONDS, M. J.; MINAHAN, C. L.; SABAPATHY, S. Caffeine improves supramaximal cycling but not the rate of anaerobic energy release. **European Journal of Applied Physiology**, v. 109, p. 287–295, 2010.

SINCLAIR, J.; BOTTOMS, L. The effects of carbohydrate and caffeine mouth rinsing on arm crank time-trial performance. **Journal of sports research**, v. 1, n. 2, p. 34–44, 2014.

SLIVKA, D. et al. Caffeine and carbohydrate supplementation during exercise when in negative energy balance: effects on performance, metabolism, and salivary cortisol. **Applied physiology, nutrition, and metabolism**, v.33, p.1079-1085, 2008.

STEVENSON, E. J.; HAYES, P. R.; ALLISON, S. J. The effect of a carbohydrate-caffeine sports drink on simulated golf performance. **Applied physiology, nutrition, and metabolism**, v. 34, n. 4, p. 681–688, 2009.

STÜMPEL, F. et al. Normal kinetics of intestinal glucose absorption in the absence of GLUT2: evidence for a transport pathway requiring glucose phosphorylation and transfer into the endoplasmic reticulum. **PNAS**, v. 98, n. 20, p. 11330–11335, 2001.

STÜMPEL, F.; SCHOLTKA, B.; JUNGERMANN, K. A new role for enteric glucagon-37: Acute stimulation of glucose absorption in rat small intestine. **FEBS Letters**, v. 410, p. 515–519, 1997.

TAYLOR, C. et al. The effect of adding caffeine to postexercise carbohydrate feeding on subsequent high-intensity interval-running capacity compared with carbohydrate alone. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise**

Metabolism, v. 21, n. 5, p. 410–416, 2011.

VAN NIEUWENHOVEN, M. A.; BRUMMER, R. M.; BROUNS, F. Gastrointestinal function during exercise: comparison of water, sports drink, and sports drink with caffeine. **Journal of applied physiology**, v. 89, n. 3, p. 1079–1085, 2000.

WELSH, R. S. et al. Carbohydrates and physical/mental performance during intermittent exercise to fatigue. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 34, n. 4, p. 723–731, 2002.

YEO, S. E. et al. Caffeine increases exogenous carbohydrate oxidation during exercise. **Journal of applied physiology**, v. 99, n. 3, p. 844–850, 2005.

2º artigo (Projeto de Pesquisa):

Melo, AA; Bastos-Silva, VS; Moura FA; Bini RR; Lima-Silva AE e de Araujo, GG. Isolated or combined caffeine and carbohydrate mouth rinse on performance and muscle activity during cycling.

Revista pretendida: Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports.

RESUMO

Este estudo teve como objetivo investigar os efeitos do enxágue bucal de cafeína (CAF) e carboidratos (CHO) isolado ou combinado (CHO) no tempo até a exaustão e atividade eletromiográfica (EMG) no vastus lateral (VL) e reto femoral (RF) durante o exercício de intensidade moderada realizada em ciclo ergômetro. Doze participantes pedalarão a 80% da intensidade do exercício correspondente ao ponto de compensação respiratória (RCP). Como resultado, o tempo de exaustão foi aumentado ($p \leq 0,05$) na condição CAF + CHO, em comparação com CAF, CHO e PLA. O tempo de exaustão nas condições de CAF e CHO também foi aumentado em relação a PLA ($p \leq 0,05$). A porcentagem de atividade global de EMG (GEA) foi maior em CHO em comparação com PLA em VL ($p = 0,03$) no momento mais próximo da exaustão (100% do tempo total realizado). O GEA para músculo VL em CAF e CHO foi inferior ao PLA em 100% do tempo total, bem como as condições CHO e CAF + CHO foram menores do que PLA em 50% do tempo total. Estes resultados sugerem que enxaguar a boca com CAF ou CHO aumenta o desempenho do ciclismo. No entanto, há um benefício adicional combinando CAF e CHO bucal em comparação com CAF ou CHO sozinho. Parte desse efeito pode ser mediada por uma maior ativação de RF.

PALAVRAS-CHAVE: Eletromiografia. Bochecho. Performance. Ciclismo.

ABSTRACT

This study aimed to investigate the effects of isolated or combined caffeine (CAF) and carbohydrate (CHO) mouth rinse on time to exhaustion and electromyographic activity (EMG) in vastus lateralis (VL) and rectus femoris (RF) during moderate-intensity exercise performed in cycle ergometer. Twelve participants cycled at 80% of exercise intensity corresponding to respiratory compensation point (RCP). Time to exhaustion was increased ($p \leq 0.05$) in CAF + CHO condition, compared to CAF, CHO and PLA. Time to exhaustion in both CAF and CHO conditions were also increased than in PLA ($p \leq 0.05$). The percentage of Global EMG Activity (GEA) was higher in CHO compared to PLA in VL ($p = 0.03$) closest to exhaustion (100% of total time performed). The GEA for VL muscle in CAF and CHO were lower than PLA at 100% of total time, as well as the conditions CHO and CAF+CHO were lower than PLA at 50% of total time. These results suggest that rinsing the mouth with CAF or CHO increases cycling performance. However, there is an additional benefit combining CAF and CHO mouthwash compared to CAF or CHO alone. Part of this effect may be mediated by an increased RF activation.

KEYWORDS: Electromyography. Mouth Wash. Performance. Cycling.

INTRODUCTION

The ergogenic benefits promoted by carbohydrate (CHO) and caffeine (CAF) have been evidenced in several forms of exercises (e.g., constant load exercise or time-trials)¹⁻⁴. The improvement in performance induced by CHO intake was attributed to the maintenance of a high CHO oxidation rate and glycemic index^{5,6}, while the effect of CAF intake was associated with inhibition of adenosine receptors, reduced ratio of perceived exertion (RPE) and increased muscle activity, as measured by electromyography (EMG)^{2,7}. However, both supplements lead to side effects during exercise when metabolized, such as gastrointestinal discomforts, muscle pains, insomnia, anxiety and headache^{8,9}. Therefore, to avoid some of these negative consequences of CAF and CHO ingestion, mouth rinse has been tested as a new ergogenic strategy, since this method involves independent digestion and metabolization processes^{10,11}.

Several studies have shown that CHO rinsing improves performance in moderate-intensity exercises with approximately one hour duration, either in time-trials or time-to-exhaustion protocols¹¹⁻¹⁵. These studies suggested the presence of receptors in the oral cavity, which are sensitive to CHO and may promote changes in regions associated with motor control, visual perception, affective and reward processing in the central nervous system^{12,13,16,17}. These central alterations could be associated with reduced RPE and increased recruitment of motor units, especially close to exhaustion¹⁸. Similarly, the effects of mouth rinsing with CAF are also attributed to a possible afferent feedback mediated by receptors in the mouth¹⁹. Studies that used CAF rinses in exercises with 30 minutes of duration showed improved performance^{10,20,21}, however, unlike CHO, CAF mouth rinse has not yet been able to enhance performance in approximately one-hour

exercises ²². Furthermore, unlike CHO rinsing, no study has investigated CAF rinsing muscle activation. The measurement of muscle activation is important because CAF mouth rinsing can activate regions associated with attention ¹⁹ in order to exert a central role in the locomotive process ²³. CAF intake has already been shown to lead to increased muscle activation ^{7,24}. However, despite the consolidated effects of isolated CHO mouth rinse in exercises lasting up to one hour ¹¹ and the positive results of CAF mouth rinse in exercise lasting 30 minutes ^{21,25}, the effects of combined CAF with CHO (CAF + CHO) mouth rinse and its superiority to CHO, were only investigated in protocols of very high intensity ¹⁰. There are no studies that have evaluated exercises lasting approximately one hour.

Therefore, the aim of the present study was to compare the effects of isolated and combined CAF and CHO mouth rinse on time to exhaustion during a moderate-intensity and constant load cycling exercise. In addition, this study aimed to investigate the possible changes in RPE, heart rate (HR) and muscle activation among types of mouth rinse. The hypothesis of the present study was that the combination of CAF and CHO mouth rinse could potentiate the isolated effects of CHO, with possible increased in muscle activation without changes of RPE or HR. In addition, we also considered that CAF and CHO mouth rinse combined could improve performance in moderate intensity cycling exercise, when compared to PLA, with CHO isolated presenting higher muscle activation than PLA, at approximately at the end of the exercise.

METHODS

Participants

Twelve physically-active ²⁶ men (age: 22.0 ± 2.8 years, body mass: 68.2 ± 12.2 kg, height: 174.0 ± 8.1 cm, body mass index: 19.5 ± 2.9 kg/m², body fat: 11.2 ± 6.2 % and VO_{2max} : 38.5 ± 8.1 mL.kg⁻¹.min.⁻¹), without known injuries or diseases in the 6-months prior to the study and not smokers, volunteered for the study ²⁶. Participants were informed about the risks and benefits associated with the study, and signed a consent form before starting the experiments. In addition, the study procedures were conducted in accordance with the Declaration of Helsinki (2008) and approved by the local ethics committee (protocol number: 40062214.1.0000.5013).

Experimental Protocol

The study was conducted in a crossover and counterbalanced design and in no visit the subjects knew what condition was used. Five visits were performed with a minimum of 72 h and maximum of 96 h intervals. In the first session, anthropometric measurements (body mass, standing height, and body fat percentage) and a maximal incremental exercise trial to measure VO_{2max} and maximum power output corresponding to VO_{2max} were performed. During the following four visits, participants cycled at 80% of respiratory compensation point after washing their mouths with CHO, CAF, CHO + CAF or PLA. All tests were performed at the same time of the day, two hours after the last

meal, on a magnetic cycle ergometer (Ergo Fit 167, Ergo-Fit GmbH e Co., Pirmasens, Germany).

The participants were instructed refrain from vigorous physical activities, or to ingest caffeinated substances or alcoholic beverages approximately 48 hours before the tests. The performance during the trials was not revealed to the participants until all tests were completed.

Anthropometric Measurements

A Lange® adipometer with a scale of 0 to 60 mm, a resolution of 1 millimeter and a spring with a constant pressure of 10 g / millimeter² was used to measure the skin folds (pectoral, abdominal and thigh). The body density was calculated using Jackson and Pollock²⁷ equation and later converted to body fat percentage using the Siri equation²⁸.

Incremental Test

Participants adjusted the position of the cycle ergometer seat (vertically and horizontally). The individual positions were recorded and replicated in the subsequent sessions. After a 5-min warm-up at 30 W, the power output was increased 30 W.min⁻¹ until exhaustion or when participants were unable to maintain the pedal frequency between 60-70 revolutions per minute (rpm). HR was monitored during the entire trial using a heart rate monitor (Polar FT4 - Polar®, Kempele, Finland).

Throughout the protocol, breath-by-breath respiratory measurements of oxygen consumption (VO_2), carbon dioxide (VCO_2) and ventilation (VE) were obtained from an automatic gas exchange analyzer (Quark CPET, Cosmed, Roma, Italia) and the converted to 30-s bins. The analyzer was calibrated before each test using known concentrations of gases (16% air O_2 and 5% CO_2), and the turbine with a 3-L syringe. The trial was considered maximal when at least three of the following criteria was noted: plateau in VO_2 (increase $\leq 150\text{ml min}^{-1}$ or $2\text{ml kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$), respiratory exchange ratio (RER) ≥ 1.15 , HR $\geq 90\%$ predicted by age ($220 - \text{age}$) and RPE ≥ 18 ^{29,30}. Maximum aerobic power was considered as the maximum power achieved during the test and the respiratory compensation point was visually identified by three independent evaluators, separately, using the second break in the ventilation curve, an increase in VE-to-VCO_2 ratio, and the first drop point of the CO_2 fraction ³¹.

Moderate-Intensity Exercises

During the tests, the participants cycled at an individualized external resistance equivalent to 80% of the respiratory compensation point, maintaining a cadence of 60-70 rpm, and this variable was the only information provided from the cycle ergometer monitor. Participants were verbally encouraged to reach their maximal voluntary exhaustion. The test was stopped at a time when the participants could not maintain a rotation of at least 60 rpm after three consecutive warnings from the evaluator. At this moment, the trial was interrupted and time of exhaustion recorded. The time to exhaustion was considered the time elapsed from the start until the moment of trial interruption.

Mouth Rinse Protocol

The participants rinsed their mouths with PLA (25 mL of a pharmacy-manipulated solution composed of mint and non-caloric peppermint), CAF (25 mL of 1.2% of anhydrous caffeine concentration), CHO (25 mL of solution with 6.4% colorless and unflavored maltodextrin) or CAF + CHO (25 mL solution with 6.4% colorless and tasteless maltodextrin added to caffeine anhydrous with 1.2%). All supplements were custom made in pharmacy composed of mint and non-caloric mint essence). All mouth rinse were performed during 10 seconds and after that, were expelled in an appropriate container. Each solution was administered immediately before the beginning of exercise and every 15 minutes during the trial.

Rating of Perceived Effort and Heart Rate

The Rating of perceived effort (RPE) was recorded every five minutes, using the 15-point scale Borg's ³², and the values representing the moments 0% (immediately before of trial), 50% of trial, and 100% of time to exhaustion. HR was monitored during the entire trial using a heart rate monitor (Polar FT4 - Polar®, Kempele, Finland) and the same moments used for the RPE were used for HR analysis.

Electromyographic Signal Acquisition and Analysis (Global EMG Activity and Wavebands)

The acquisition of the EMG signal (EMG system Brazil - model 410c, São Paulo, Brazil - rejection rate in common mode >100 dB, 20x gain) was obtained by measuring the VL and RF muscles of the right thigh. Before the electrodes were placed, a tricotomy was performed followed by asepsis with alcohol swabs to reduce the impedance of the skin. After these procedures, an Ag / AgCl bipolar

surface electrode (AGCL - Hal, São Paulo, Brazil) was placed on the VL and RF muscles. The ground electrode was positioned in a neutral location (tibial tuberosity). The electrodes were fixed to the skin using adhesive tape (Micropore™ 3M, Campinas, SP, Brazil). The placement and location of the electrodes followed the recommendations of Hermens et al.³³. The sampling frequency for the acquisition of electromyographic signals was 2000 Hz per channel. Signal acquisition was performed for 2-min just after participants rinsed each solution. Signals were filtered using a second-order Butterworth band pass filter (cutoff frequency between 20-450 Hz). The average rectified value was then used as a measure for global EMG activity³⁴.

The unfiltered signals were prior used in a series of band-pass filters in order to assess the magnitude of low and high frequency components^{35,36}. Nine bands were determined using a fifth order Butterworth digital filter in order to separate the full signal in high (146.95-300.80 Hz) and low (26.95-75.75 Hz), each band was converted in Average Rectified Value (global EMG activity)³⁷.

The sum of the global EMG activity signal of the nine averaged frequency bands was computed as a measure of total activation for each muscle. The fifth, sixth, and seventh bands were averaged to compute the global EMG activity high frequency components of the signals, which would potentially represent the response of larger motor units³⁸. The first and the second bands were averaged to compute the global EMG activity from low frequency components of the signals, which would represent the response of smaller motor units³⁸.

Moreover, the data used in the present analysis represented the beginning (0%); mid (acquisition closer to 50%) and exhaustion (100%).

In addition, the global EMG activity in beginning moment (0%) was used only to normalize the variables related to muscular activation (global EMG activity and wave bands). The global EMG activity to VL in beginning moment (0%) normalized the wave bands and global EMG activity (50% and 100%) in VL muscle and the same procedure was adopted for the variables of the RF muscle.

Statistical analysis

The Kolmogorov-Smirnov test was used to verify the normality of data distribution. The data were tested for homogeneity using the Levene's test. Paired t-tests were used for comparisons of performance, muscle activity (wave bands and global EMG activity) and HR, between the following conditions: PLA and CAF; PLA and CHO; PLA and CAF + CHO; CAF and CHO; CAF and CAF + CHO and CHO and CAF + CHO. Statistical tests were performed using the SPSS software (version 13.0, Chicago, USA), adopting a significance level of $p \leq 0.05$. To reinforce the relevance of the performance results, we consider in addition to the p-value, a 15% improvement between the conditions (to consider that the results are clinically relevant) and effect size (ES) values equal to or greater than 0.80.

Justifying these criteria, when adopted the values of 15% improvement in performance, we aimed to compare our results with studies where both the CHO rinse and the CAF rinse were larger than the PLA^{12,21}. Moreover, the ES from 0.80 was adopted for the demonstration of large performance effects, where the thresholds for small, moderate and large effects were set at 0.20, 0.50 and 0.80, respectively³⁹.

RESULTS

The results for each condition were: CAF + CHO (103.6 ± 26.4 min), CAF (90.0 ± 21.6 min), CHO (95.8 ± 22.6 min) and PLA trials (73.5 ± 19.2 min) (Figure 1). The paired t-tests showed that the CAF + CHO mouth rinse was better compared to isolated CAF ($p = 0.01$; ES = 0.61); CHO ($p = 0.01$; ES = 0.55) and PLA ($p = 0.01$; ES = 1.11) conditions (Figure 1 and Table 1). In addition, the PLA group was lower than CAF ($p = 0.02$; ES = 0.70) and CHO ($p = 0.01$; ES = 0.74). However, no differences were found between CAF and CHO ($p = 0.60$; ES = 0.06) conditions (Figure 1 and Table 1).

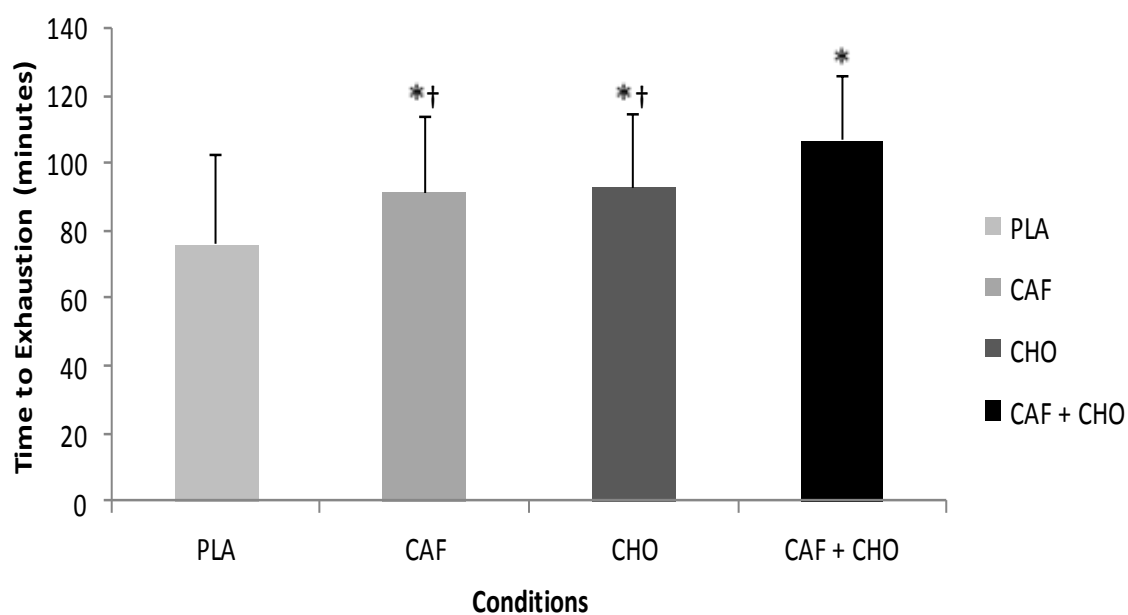


Figure 1 – Time to exhaustion for placebo (PLA), caffeine (CAF), carbohydrate (CHO) and caffeine + carbohydrate (CAF+CHO) mouth rinse. *, significantly different from PLA. †, significantly different from CAF + CHO.

Table 1 – Average Time Difference (minutes and percentage), Paired T-Test and Effect Size values. *, significantly differences.

CONDITION	TIME DIFFERENCE (minutes and percentage)	T-TEST (P= VALUE)	EFFECT SIZE
CAF + CHO vs CAF	13.6 min / 13.6%	$p = 0,01^*$	0.61
CAF + CHO vs CHO	7.8 min / 7.8%	$p = 0,01^*$	0.55
CAF + CHO vs PLA	30.1 min / 29.1%	$p = 0,01^*$	1.11
CAF vs CHO	5.8 min / 6.1%	$p = 0,60$	0.06
CAF vs PLA	16.5 min / 18.4%	$p = 0,02^*$	0.70
CHO vs PLA	22.3 min / 23.3%	$p = 0,01^*$	0.74

In relation to muscle activity, the differences found in percentage of activation of RF muscle, that occurred at the mid of exercise (50%), in low frequency, were: a) PLA (43%) was greater than CAF (23%) ($p = 0.01$; ES = 0.08); b) PLA (43%) was greater than CHO (23%) ($p = 0.01$; ES = 0.32); and c) PLA (43%) was greater than CAF + CHO (22%) ($p = 0.01$; ES = 0.32) (Figure 2). Besides, differences were found in the VL muscle, at the mid of exercise (50%), in low frequency where PLA (44%) was greater than CAF (40%) ($p = 0.05$; ES = 0.61) (Figure 3).

In regards to the Global EMG activity, we found an increase in the time closest to exhaustion for RF muscle between CHO and PLA conditions ($p = 0.03$; ES = 0.82) (Figure 4). Moreover, we also found reductions in VL muscle activation between CHO and PLA ($p = 0.05$; ES = 0.52), CAF and PLA ($p = 0.03$; ES = 0.89) trials (Figure 4), as well as a reduction in CAF compared to the CAF + CHO group ($p = 0.05$; ES = 0.62) (Figure 4).

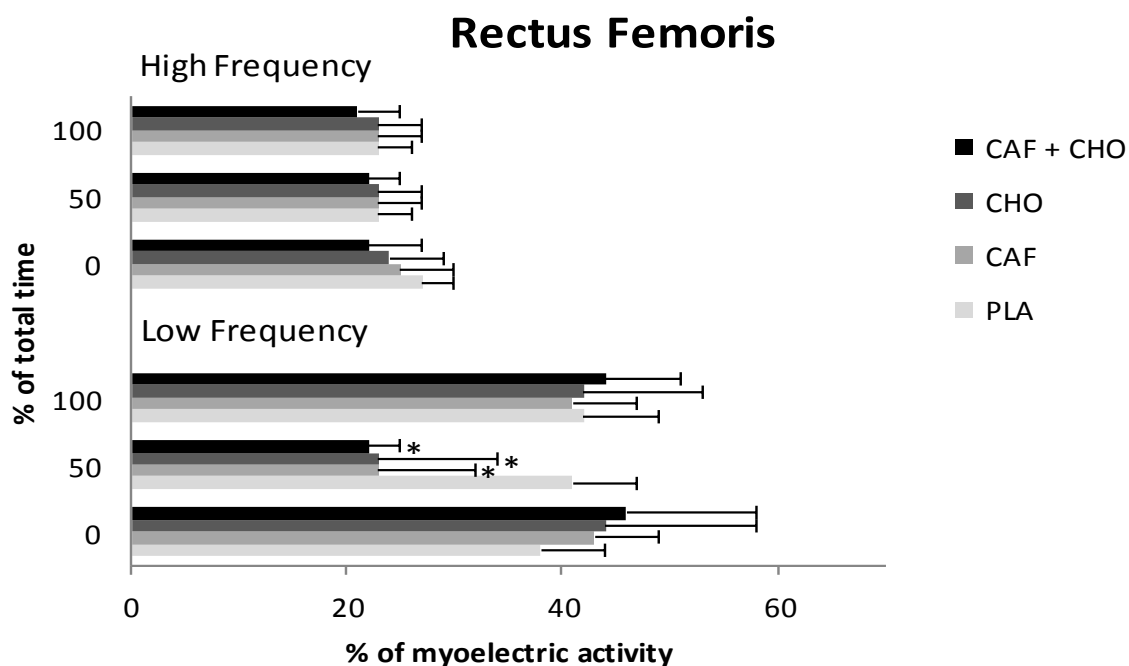


Figure 2 – Values of the myoelectric signs of the rectus femoris muscle in low and high frequencies (wavebands). *, significantly different from PLA.

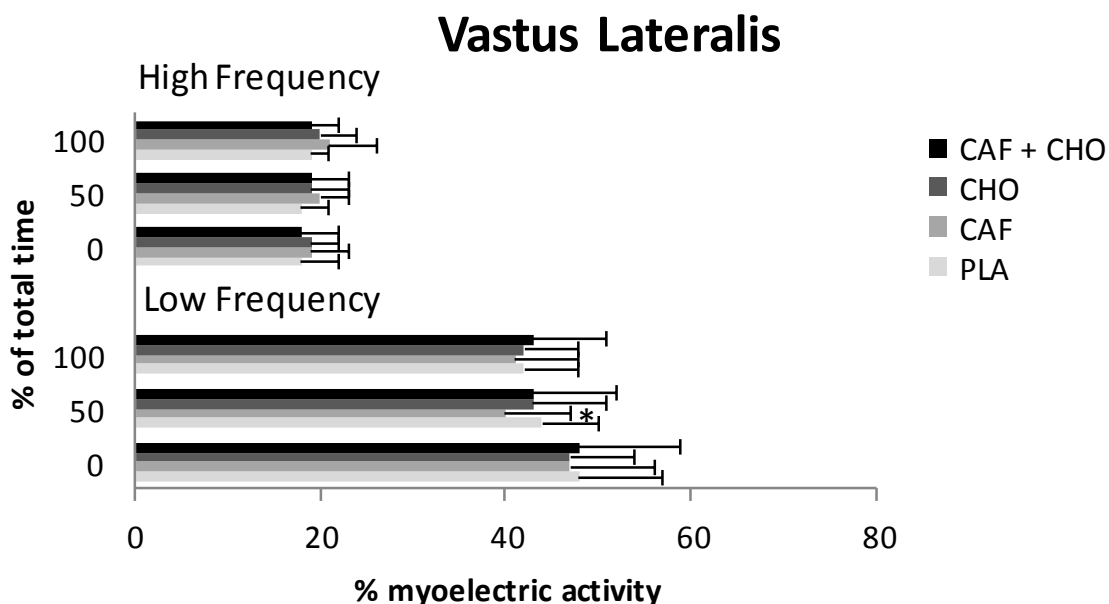


Figure 3 – Values of the myoelectric signs of the vastus lateralis muscle in low and high frequencies (wavebands). *, significantly different from PLA.

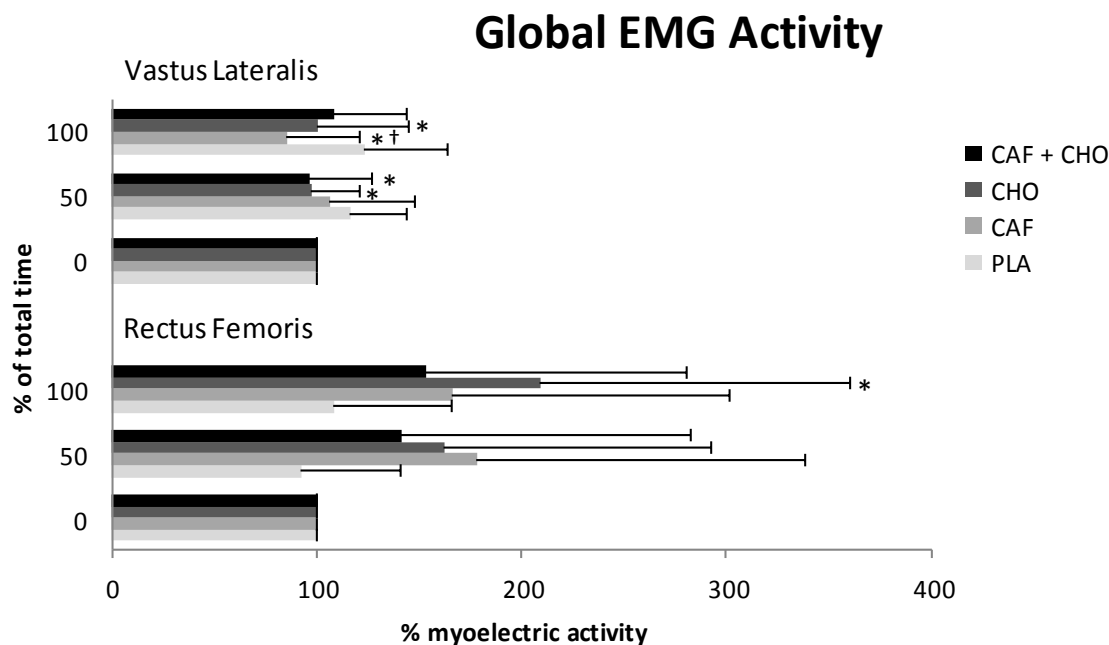


Figure 4 – Values of the EMG activity of the vastus lateralis and rectus femoris muscles. *, significantly different from PLA. †, significantly different from CAF + CHO.

Likewise, for RPE analysis, no differences were found between the solutions (Table 2).

TABLE 2 – Rating of Perceived Effort (RPE), values with mean and standard deviation. No significant differences were found among conditions.

Moments Conditions	0%	50%	100%
CAF+CHO	6.0 ± 0.2	14.6 ± 2.0	19.8 ± 0.6
CHO	6.2 ± 0.6	14.0 ± 2.8	19.8 ± 0.4
CAF	6.1 ± 0.3	15.3 ± 2.7	19.7 ± 0.8
PLA	6.3 ± 0.7	15.0 ± 2.2	18.3 ± 2.7

However, HR was lower at the 50% of the total time for CHO compared to the PLA ($p = 0.01$; $ES = 0.40$) and between CAF and CHO ($p = 0.05$; $ES = 0.44$). In addition, the CHO condition in the time of exhaustion was lower compared to PLA ($p = 0.01$; $ES = 0.33$), and also lower compared to CAF ($p = 0.04$; $ES = 0.26$) (Table 3).

TABLE 3 — Heart rate (beats per minute) values with mean and standard deviation. *, significant differences in relation to the PLA group (TESTED T-TEST). †, significant differences in relation to the CAF group (TESTED T-TEST).

Moments Conditions	0%	50%	100%
CAF+CHO	71.5 ± 13.2	138.2 ± 17.6	152.5 ± 15.8
CHO	69.5 ± 12.4	139.5 ± 17.2 *†	147.5 ± 15.3 *†
CAF	73.5 ± 11.3	144.5 ± 18.4	151.5 ± 15.1
PLA	72.5 ± 9.7	142.2 ± 27.1	153.5 ± 20.1

DISCUSSION

The main results found in the present study were: 1st) both CAF and CHO mouth rinse were equally able to increase the time to exhaustion compared to PLA mouth rinse; 2nd) the combination of CAF and CHO mouth rinse was able to provide further increases in time to exhaustion, when compared to CAF or CHO alone; 3rd) PLA condition, at the moment 50% of the time, presented higher values in relation to the CAF + CHO, CAF and CHO conditions in the low frequency for both muscles analyzed (RF and VL); 4th) PLA condition, at 50% and 100% of the time, presented higher values in relation to the CAF and CHO conditions in the variable global EMG activity in the VL muscle; 5th) The CHO condition, at the

moment 100% of the time, presented a superior value to the PLA group in the RF muscle in the global EMG activity.

Regarding improvements in performance promoted by the CHO mouth rinse, the present data confirm what several studies published previously about the effectiveness of CHO in exercises with a duration of approximately 60 minutes, ^{11-13,15}. Furthermore, the values presented by this condition also indicate a mean time difference larger than 15% and ES close to 0.80 (0.74), values that indicate important clinical relevance. The mechanisms that contribute to this effect are associated with possible receptors in the oral cavity capable to promote changes in central nervous system activity in regions associated with motor control activity and reward ^{13,16}.

With respect to performance, our study is the first to show that a combination of CAF + CHO mouth rinses was better than CHO, CAF and PLA mouth rinse during a prolonged effort. These results are similar to the findings obtained from a previous study performed at a very high intensity ¹⁰. In comparison to PLA, a combination of CAF + CHO led to excellent clinical relevance (time difference = 29.1% and ES = 1.11) and was the best condition in relation to the PLA from all tested. Regarding CAF and CHO solutions, despite the significant p values, this condition had moderate ES and a mean time difference of less than 15%, indicating a reduced clinical relevance when compared to the results obtained in relation to the PLA condition. The possible mechanisms responsible for these results have not been investigated yet, but we believe that CAF + CHO mouth rinse can optimize the activation of regions in the brain already, known to be activated in isolated CAF rinse and isolated CHO rinse, such as the orbitofrontal cortex ^{13,19}. However, we do not eliminate the possibility that a

combination of CAF + CHO mouth rinse could activate regions located in the brain that are not activated by CAF or CHO.

About CAF mouth rinse, the current study is the first to show that the CAF mouth rinse is significantly effective during exercise longer than 70 minutes when compared to PLA condition. This result, besides indicating good clinical relevance (18% time difference and ES 0.70), also reinforces previous studies that used exercises up to 30 minutes of duration ^{10,20,21}. Nevertheless our data contradicts the findings from Doering et al. ²² who evaluated the CAF rinse during a 60 minutes time-trial. Possibly, the methodological differences may justify the contrast between results, such as the difference between exercise protocols, the concentrations of the CAF solution (present study = 1.2% concentration; Doering et al. ²² = 0.14% concentration) and especially the time of CAF permanence in the oral cavity (once the participants in the study by Doering et al. ²² received 4.5ml kg⁻¹ of water about 50% of the time trial and in our study participants did not ingest water).

The possible mechanisms responsible for performance improvement in CAF mouth rinse have been associated with CAF afferent feedback through the mouth and brain, resulting in activation of areas located in the dorsolateral prefrontal cortex and orbitofrontal cortex, which are linked to attention and reward ¹⁹. Thus, these mechanisms may have influenced the maintenance of HR and RPE, at least in part, making the CAF values similar to PLA, mainly at moments 50 and 100% of the exercise, allowing the participants to spend more time performing the exercise in CAF condition.

Another variable investigated in the present study was the muscle activity measured by high and low frequency bands (wave band). In the PLA condition, the low frequency presented values significantly higher in relation to the other conditions at the moment 50% of the exercise (Figure 2 and 3). The higher recruitment of the low frequency components reflects a higher activity of type 1 fibers³⁵ and the more active contribution of these fibers in the PLA condition may have anticipated the time of exhaustion in this condition, as well as the lower muscular activity, in moments close to the exhaustion, can be one of the mechanisms responsible for the interruption of the exercise.

In addition, the global EMG activity changed throughout the test. For the RF muscle, the increase occurred between the CHO and PLA mouth rinse conditions (Figure 4), considering the closest moment of the exhaustion (100% moment). In this context, our data supports previous studies that suggest that CHO rinsing can activates regions in the brain associated with motor control¹³, increasing the motor potential evoked during isometric muscle contraction⁴⁰ and attenuating the reduction of neuromuscular fatigue during dynamic exercise¹⁷. Possibly, the increase in global EMG activity for RF occurred due higher levels of fatigue on the VL muscle. The VL may have been required at levels close to its maximum under all conditions, since this muscle is largely activated during cycling⁴¹. In this sense, the RF muscle would become one of the main muscles responsible for performance improvement in the CHO rinse group.

In terms of the global EMG activity, our data is, in part, contrary to the findings of Bastos-Silva et al.¹². These authors¹² demonstrated that CHO mouth rinse, compared to PLA, attenuated the reduction in neuromuscular fatigue in VL muscle, although our study revealed that muscle activation decreased for the VL

muscle compared to PLA (exhaustion, 100%). However, both studies demonstrated that CHO mouth rinse is able to increase muscle activity at the end of the exercise. The reason for this difference is not clear, but may be associated with either an ergonomic regulation or the duration of the test, since a difference between studies there of approximately 19 minutes (~95 minutes in our study and ~76 minutes in Bastos-Silva et al study) ¹² is observed.

Nevertheless, in VL muscle, the results of global EMG activity were associated to differences in the time to exhaustion. The CAF and CHO were lower values in the EMG compared to PLA ($p = 0.03$; $ES = 0.89$ and $p = 0.05$; $ES = 0.52$, respectively). In addition, CAF conditions (CAF and CAF + CHO) at no time demonstrated an increase in global EMG activity compared to PLA, being opposites to previous studies that used CAF intake ^{7,24}. We believe that, in both cases, the performance increased due the increase of subjects participants motivation and/or a greater contribution of other muscles of the lower limb involved in the pedaling action ⁴².

Furthermore, the CAF mouth rinse performance was lower than CAF + CHO. Based on this result, we believe that the presence of CHO in the CAF + CHO condition was able to activate areas in the brain associated with motor control and these areas may not be activated by the isolated CAF ¹³.

On the other hand, the RPE showed no difference between conditions, corroborating with others studies ^{10,13,15,21,25}. In addition, HR during the CHO trial in exhaustion time was lower than PLA and CAF conditions ($p = 0.01$ and $ES = 0.40$; $p = 0.05$ and $ES = 0.44$, respectively), contrary to the findings of other authors ¹³⁻¹⁵

However, no additional instrument was used to clarify these result, and further investigations are necessary to certify the existence or not of such effects.

Therefore, a combination of CAF + CHO mouth rinsing increased the exhaustion time in a constant loading test compared to PLA, CAF and CHO. In addition, CAF and CHO conditions were also higher than PLA. For the CAF condition, the performance improvement was accompanied by changes in wavelets and global EMG activity (lower than PLA and CAF + CHO in VL muscle), but the variables RPE, HR were not altered. In the CHO group, there was an improvement of performance compared to PLA accompanied by changes in the wavelets and global EMG activity (reduction in VL and increase in RF) and HR (reduction), but there were no changes in RPE. Our study was not able to evaluate the mechanisms responsible for the results of the CAF + CHO condition, besides not being able to elucidate the reasons why the HR was altered, and further studies should be conducted with the objective to investigate the possible responses for these results.

PERSPECTIVE

The current study gives to a better understanding of the ergogenic benefits of CAF and CHO independent of metabolism. To date, our results are the first to point out that the combined mouth rinse of CAF and CHO alone or combined are effectives in moderate-intensity exercise (~ 70 minutes). These results show an alternative to the athletes, coaches and population that wants to enjoy the benefits of CAF and CHO without the incidence of side effects from the ingestion^{8,9} and reducing the waiting time in relation to the action of these substances in the body.

REFERENCES

1. Bergtrom J, Hermansen L, Hultman E, Saltin B. Diet, Muscle Glycogen and Physical Performance. *Acta Physiol Scandnavia*. 1967;1967(71):140-150. doi:10.1111/j.1748-1716.1967.tb03720.x.
2. Costill DL, Dalsky GP, JFink W. Effects of affeine ingestion on metabolism and exercise performance. *Med Sci Sports*. 1978;10(0):155-158.
3. Lane SC, Areta JL, Bird SR, et al. Caffeine ingestion and cycling power output in a low or normal muscle glycogen state. *Med Sci Sports Exerc*. 2013;45(8):1577-1584. doi:10.1249/MSS.0b013e31828af183.
4. Krings BM, Rountree JA, McAllister MJ, et al. Effects of acute carbohydrate ingestion on anaerobic exercise performance. *J Int Soc Sports Nutr*. 2016;13:40. doi:10.1186/s12970-016-0152-9.
5. Coggan AR, Coyle EF. Metabolism and performance following carbohydrate ingestion late in exercise. *Med Sci Sport Exerc*. 1989;21(1):59-65. doi:10.1249/00005768-198902000-00011.
6. Hulston CJ, Jeukendrup AE. No Placebo Effect From Carbohydrate Intake During Prolonged Exercise. *Int J Sport Nutr*. 2009;44(0):275-284.
7. Kalmar JM, Cafarelli E. Effects of caffeine on neuromuscular function. *J Appl Physiol*. 1999;87(2):801-808. doi:10.1016/j.jns.2015.02.031.
8. Mora-Rodriguez R, Pallarés JG. Performance outcomes and unwanted side effects associated with energy drinks. *Nutr Rev*. 2014;72(S1):108-120. doi:10.1111/nure.12132.
9. de Oliveira EP, Burini RC. Carbohydrate-dependent, exercise-induced gastrointestinal distress. *Nutrients*. 2014;6(10):4191-4199. doi:10.3390/nu6104191.
10. Beaven CM, Maulder P, Pooley A, Kilduff L, Cook C. Effects of caffeine and carbohydrate mouth rinses on repeated sprint performance. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2013;38(6):633-637. doi:10.1139/apnm-2012-0333.
11. De Ataide e Silva T, Souza MEDCA de, De Amorim JF, Leandro CG, Lima-Silva AE. Can carbohydrate mouth rinse improve performance during exercise? A systematic review. *Nutrients*. 2013;6(1):1-10. doi:10.3390/nu6010001.
12. Bastos-Silva VJ, Melo A de A, Lima-Silva AE, Moura FA, Bertuzzi R, de Araujo GG. Carbohydrate mouth rinse maintains muscle electromyographic activity and increases time to exhaustion during moderate but not high-intensity cycling exercise. *Nutrients*. 2016;8(3):1-7. doi:10.3390/nu8030049.
13. Chambers ES, Bridge MW, Jones D a. Carbohydrate sensing in the human mouth: effects on exercise performance and brain activity. *J Physiol*. 2009;587(Pt 8):1779-1794. doi:10.1113/jphysiol.2008.164285.
14. Fares EJM, Kayser B. Carbohydrate mouth rinse effects on exercise

capacity in pre- and postprandial states. *J Nutr Metab.* 2011;2011:1-6. doi:10.1155/2011/385962.

15. Pottier A, Bouckaert J, Gilis W, Roels T, Derave W. Mouth rinse but not ingestion of a carbohydrate solution improves 1-h cycle time trial performance. *Scand J Med Sci Sport.* 2010;20(1):105-111. doi:10.1111/j.1600-0838.2008.00868.x.

16. Turner CE, Byblow WD, Stinear CM, Gant N. Carbohydrate in the mouth enhances activation of brain circuitry involved in motor performance and sensory perception. *Appetite.* 2014;80:212-219. doi:10.1016/j.appet.2014.05.020.

17. Jeffers R, Shave R, Ross E, Stevenson EJ, Goodall S. The effect of a carbohydrate mouth-rinse on neuromuscular fatigue following cycling exercise. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2015;40(6):557-564. doi:10.1139/apnm-2014-0393.

18. Ataide-Silva T, Ghiarone T, Bertuzzi R, Stathis CG, Leandro CG, Lima-Silva AE. CHO Mouth Rinse Ameliorates Neuromuscular Response with Lower Endogenous CHO Stores. *Med Sci Sports Exerc.* 2016;48(9):1810-1820. doi:10.1249/MSS.0000000000000973.

19. De Pauw K, Roelands B, Knaepen K, Polfliet M, Stiens J, Meeusen R. Effects of caffeine and maltodextrin mouth rinsing on P300, brain imaging and cognitive performance. *J Appl Physiol.* 2015;(7):jap.01050.2014. doi:10.1152/jappphysiol.01050.2014.

20. Kizzi J, Sum A, Houston FE, Hayes LD. Influence of a caffeine mouth rinse on sprint cycling following glycogen depletion. *Eur J Sport Sci.* 2016;1391(October):1-8. doi:10.1080/17461391.2016.1165739.

21. Bottoms L, Hurst H, Scriven A, et al. The effect of caffeine mouth rinse on self-paced cycling performance. *Comp Exerc Physiol.* 2014;10(4):239-245. doi:10.3920/CEP140015.

22. Doering TM, Fell JW, Leveritt MD, Desbrow B, Shing CM. The effect of a caffeinated mouth-rinse on endurance cycling time-trial performance. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2014;24(1):90-97. doi:10.1123/ijsnem.2013-0103.

23. Sheridan PL, Solomont J, Kowall N, Hausdorff JM. Influence of executive function on locomotor function: divided attention increases gait variability in Alzheimer's disease. *J Am Geriatr Soc.* 2003;51(11):1633-1637. doi:10.1046/j.1532-5415.2003.51516.x.

24. Plaskett CJ, Cafarelli E. Caffeine increases endurance and attenuates force sensation during submaximal isometric contractions. *J Appl Physiol.* 2001;91(4):1535-1544. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11568134>.

25. Sinclair J, Bottoms L. The effects of carbohydrate and caffeine mouth rinsing on arm crank time-trial performance. *J Sport Res.* 2014;1(2):34-44.

26. AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE. ACSM Position Stand : The Recommended Quantity and Quality of Exercise for Developing and Maintaining Cardiorespiratory and Muscular Fitness , and Flexibility in Healthy Adults. *Med Sci Sport Exerc.* 1998;30(6):975-991. doi:10.1097/00005768-

199806000-00032.

27. Jackson AS, Pollock ML. Generalized equations for predicting body density of men. *Br J Nutr.* 1978;40(3):497-504. doi:10.1079/BJN19780152.
28. Siri WE, Lukaski HC. Body composition from fluid spaces and density: Analysis of methods ... Prospective Overview. *Nutrition.* 1993;9(5):480-491. <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0027380785&partnerID=40>.
29. Taylor H, Henschel A, Buskirk E. Maximal Oxygen Make us ati Objective Cur&u-Respird tory Pefurmancel. *J Appl Physiol.* 1955;8(1):73-80. doi:10.1249/01.MSS.0000038974.76900.92.
30. Howley E t, Jr. david r B, Welch HG. Criteria for maximal oxygen uptake: review and commentary. *Med Sci Sports Exerc.* 1995;27(9):1292-1301.
31. Beaver WL, Wasserman K, Whipp BJ. A new method for detecting anaerobic threshold by gas exchange. *J Appl Physiol (Bethesda, Md 1985).* 1986;60(6):2020-2027. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3087938>.
32. Borg GA V. Psychophysical bases of perceived exertion. *Med Sci Sport Sport Exerc.* 1982;14(5):377-381.
33. Hermens HJ, Freriks B, Disselhorst-Klug C, Rau G. Development of recommendations for SEMG sensors and sensor placement procedures. *J Electromyogr Kinesiol.* 2000;10(5):361-374. doi:10.1016/S1050-6411(00)00027-4.
34. Chapman AR, Vicenzino B, Blanch P, Dowlan S, Hodges PW. Does cycling effect motor coordination of the leg during running in elite triathletes ? *J Sci Med Sport.* 2008;11(4):371-380. doi:10.1016/j.jsams.2007.02.008.
35. Piucco T, Bini R, Sakaguchi M, et al. Motor unit firing frequency of lower limb muscles during an incremental slide board skating test. *Sport Biomech.* 2017;3141(March):1-12. doi:10.1080/14763141.2016.1246600.
36. Quesada JIP, Sampaio LT, Bini RR, Rossato M, Vinicius C. Multifactorial cycling performance of Cyclists and Non-Cyclists and their effect on skin temperature. *J Therm Anal Calorim.* 2016;127(2):1479-1489. doi:10.1007/s10973-016-5971-z.
37. Neptune RR, Kautzt SA, Hull ML. THE EFFECT OF PEDALING RATE ON COORDINATION IN CYCLING. *J Biomech Biomech.* 1997;30(97):1051-1058.
38. Wakeling JM, Kaya M, Temple GK, Johnston IA, Herzog W. Determining patterns of motor recruitment during locomotion. *J Exp Biol.* 2002;205(Pt 3):359-369. doi:10.1007/S004210100508.
39. Cohen J. Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences. *Lawrence: Erlbaum.* 1988;(2° ed).
40. Gant N, Stinear CM, Byblow WD. Carbohydrate in the mouth immediately facilitates motor output. *Brain Res.* 2010;1350(April 2016):151-158. doi:10.1016/j.brainres.2010.04.004.

41. Bieuzen F, Lepers R, Vercruyssen F, Hausswirth C, Brisswalter J. Muscle activation during cycling at different cadences: Effect of maximal strength capacity. *J Electromyogr Kinesiol.* 2007;17(6):731-738. doi:10.1016/j.jelekin.2006.07.007.
42. Ryan MM, Gregor RJ. EMG profiles of lower extremity muscles during cycling at constant workload and cadence. *J Electromyogr Kinesiol.* 1992;2(2):69-80. doi:10.1016/1050-6411(92)90018-E.

No artigo de revisão observou-se que a ingestão de CAF+CHO pode promover melhora de desempenho seja em provas de alta ou moderada intensidades. Os possíveis mecanismos de ação decorrentes dos efeitos combinados de CAF+CHO, vão desde estimulação via sistema nervoso central através de enxágue bucal até maior capacidade de síntese do glicogênio muscular por intermédio do aumento na atividade de SLGT1 e GLUT2. No que concerne o artigo de resultados, dados revelam que o enxágue com CAF aumentou o tempo até a exaustão e a distância percorrida em um teste de carga constante sem alterar a PSE, FC ou EMG. Esta melhora possivelmente ocorreu devido a alterações no sistema nervoso central mediadas pela conexão da cafeína a receptores na cavidade oral. A combinação não demonstrou a capacidade de potencializar o desempenho quando comparada a CHO ou CAF, supostamente, pela incapacidade da CAF aumentar a atividade de áreas no córtex que normalmente já são ativadas pelo enxágue com CHO.

4 REFERÊNCIAS

ALFORD, C.; COX, H.; WESCOTT, R. The effects of red bull energy drink on human performance and mood. **Amino acids**, v. 21, p. 139–150, 2001.

AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE. ACSM Position Stand : The Recommended Quantity and Quality of Exercise for Developing and Maintaining Cardiorespiratory and Muscular Fitness , and Flexibility in Healthy Adults. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 30, n. 6, p. 975–991, 1998.

ATAIDE-SILVA, T. et al. CHO Mouth Rinse Ameliorates Neuromuscular Response with Lower Endogenous CHO Stores. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 48, n. 9, p. 1810–1820, 2016.

ANGUS, D. J. et al. Effect of carbohydrate or carbohydrate plus medium-chain triglyceride ingestion on cycling time trial performance. **Journal of applied physiology**, v. 88, p. 113–119, 2000.

BASTOS-SILVA, V. J. et al. Carbohydrate mouth rinse maintains muscle electromyographic activity and increases time to exhaustion during moderate but not high-intensity cycling exercise. **Nutrients**, v. 8, n. 3, p. 1–7, 2016.

BEAVEN, C. M. et al. Effects of caffeine and carbohydrate mouth rinses on repeated sprint performance. **Applied physiology, nutrition, and metabolism**, v. 38, n. 6, p. 633–7, 2013.

BEAVER, W. L.; WASSERMAN, K.; WHIPP, B. J. A new method for detecting anaerobic threshold by gas exchange. **Journal of Applied Physiology** (Bethesda, Md. : 1985), v. 60, n. 6, p. 2020–7, 1986.

BERGSTROM, J. et al. Diet, muscle glycogen and physical performance. **Acta physiologica Scandanavica**, v. 71, p. 140–150, 1967.

BIEUZEN, F. et al. Muscle activation during cycling at different cadences: Effect of maximal strength capacity. **Journal of Electromyography and Kinesiology**, v. 17, n. 6, p. 731–738, 2007.

BORG, G. A. V. Psychophysical bases of perceived exertion. **Medicine and Science in Sports**, v. 14, n. 5, p. 377–381, 1982.

BOTTOMS, L. et al. The effect of caffeine mouth rinse on self-paced cycling performance. **Comparative Exercise Physiology**, v. 10, n. 4, p. 239–245, 2014.

CARTER, J. M.; JEUKENDRUP, A. E.; JONES, D. A. The effect of carbohydrate mouth rinse on 1-h cycle time trial performance. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 36, n. 12, p. 2107–2111, 2004b.

CHAMBERS, E. S.; BRIDGE, M. W.; JONES, D. A. Carbohydrate sensing in the human mouth: effects on exercise performance and brain activity. **The Journal of physiology**, v. 587, n. Pt 8, p. 1779–94, 2009.

CHAPMAN, A. R. et al. Does cycling effect motor coordination of the leg during running in elite triathletes ? **Journal of Science and Medicine in Sport**, v. 11, n. 4, p. 371–380, 2008.

COGGAN, ANDREW R.; COYLE, EDWARD F. Metabolism and performance following carbohydrate ingestion late in exercise. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 21, n. 1, p. 59–65, 1989.

COHEN, J. Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences. **Lawrence: Erlbaum**, n. 2° ed, 1988.

COLLOMP, K. et al. Effects of Caffeine Ingestion on Performance and Anaerobic Metabolism during the Wingate Test. **International Journal of sports medicine**, v. 12, n. 5, p. 439 – 443, 1991.

CONGER, S. A. et al. Does caffeine added to carbohydrate provide additional ergogenic benefit for endurance? **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 21, n. 1, p. 71–84, 2011.

CORREIA-OLIVEIRA, C. R. et al. Strategies of dietary carbohydrate manipulation and their effects on performance in cycling time trials. **Sports medicine**, v. 43, n. 8, p. 707–719, 2013.

COSTILL, D. L.; DALSKY, G. P.; FINK, W. J. Effects of caffeine ingestion on metabolism and exercise performance. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 10, n. 3, p. 155–158, 1978.

COX, G. R. et al. Effect of different protocols of caffeine intake on metabolism and endurance performance. **Journal of applied physiology**, v. 93, p. 990–999, 2002.

DAVIS, J. M. et al. Central nervous system effects of caffeine and adenosine on fatigue. **American Journal of Physiology, Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 284, n. 2, p. 399–404, 2003.

DE ATAIDE E SILVA, T. et al. Can carbohydrate mouth rinse improve performance during exercise? A systematic review. **Nutrients**, v. 6, n. 1, p. 1–10, 2013.

DE OLIVEIRA, E. P.; BURINI, R. C. Carbohydrate-dependent, exercise-induced gastrointestinal distress. **Nutrients**, v. 6, n. 10, p. 4191–4199, 2014.

DE PAUW, K. et al. Effects of caffeine and maltodextrin mouth rinsing on P300, brain imaging and cognitive performance. **Journal of Applied Physiology**, n. 7, p. jap.01050.2014, 2015.

DESBROW, B. et al. Carbohydrate-electrolyte feedings and 1 h time trial cycling performance. **International journal of sport nutrition and exercise metabolism**, v. 14, p. 541–549, 2004.

DOERING, T. M. et al. The Effect of a Caffeinated Mouth-Rinse on Endurance Cycling Time-Trial Performance. **International journal of sport nutrition and exercise metabolism**, v. 24, p. 90–97, 2014.

DOHERTY, M. The effects of caffeine on the maximal accumulated oxygen deficit and short-term running performance. **International journal of sport nutrition**, v. 8, p. 95–104, 1998.

DOHERTY, M.; SMITH, P. M. Effects of caffeine ingestion on exercise testing: a meta-analysis. **International Journal of Sport Nutrition & Exercise Metabolism**, v. 14, n. 6, p. 626–646, 2005.

FARES, E. J. M.; KAYSER, B. Carbohydrate mouth rinse effects on exercise capacity in pre- and postprandial states. **Journal of Nutrition and Metabolism**, v. 2011, p. 1–6, 2011.

FREDHOLM, B. B. Experiments On the mechanism of action of theophylline and caffeine. **Acta medica Scandinavica**, v. 217, n. 2, p. 149–153, 1985.

GANT, N.; ALI, A.; FOSKETT, A. The influence of caffeine and carbohydrate coingestion on simulated soccer performance. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 20, n. 3, p. 191–197, 2010.

HERMENS, H. J. et al. Development of recommendations for SEMG sensors and sensor placement procedures. **Journal of Electromyography and Kinesiology**, v. 10, n. 5, p. 361–374, 2000.

HOWLEY, E. T; JR., DAVID R B.; WELCH, H. G. **Criteria for maximal oxygen uptake: review and commentary** *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 1995.

HULSTON, C. J.; JEUKENDRUP, A. E. Substrate metabolism and exercise performance with caffeine and carbohydrate intake. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 40, n. 12, p. 2096–2104, 2008.

HULSTON, C. J.; JEUKENDRUP, A. E. No Placebo Effect From Carbohydrate Intake During Prolonged Exercise. **International Journal of Sport Nutrition and exercise metabolism**, v. 19, p. 275–284, 2009.

IVY, J. L. et al. Improved cycling time-trial performance after ingestion of a caffeine energy drink. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 19, n. 1, p. 61–78, 2009.

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

JACOBSON, T. L. et al. Effect of caffeine co-ingested with carbohydrate or fat on metabolism and performance in endurance-trained men. **Experimental physiology**, v. 86, n. 1, p. 137–144, 2001.

JEFFERS, R. et al. The effect of a carbohydrate mouth-rinse on neuromuscular fatigue following cycling exercise. **Applied physiology, nutrition, and metabolism = Physiologie appliquée, nutrition et métabolisme**, v. 40, n. 6, p. 557–64, 2015.

JENTJENS, R. L. P. G. et al. Effects of pre-exercise ingestion of differing amounts of carbohydrate on subsequent metabolism and cycling performance. **European journal of applied physiology**, v. 88, p. 444–452, 2003.

JEUKENDRUP, A. et al. A new validated endurance performance test. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 28, p. 266–270, 1996.

KALMAR, J. M.; CAFARELLI, E. Effects of caffeine on neuromuscular function. **Journal of Applied Physiology**, v. 87, n. 2, p. 801–808, 1999.

KIZZI, J. et al. Influence of a caffeine mouth rinse on sprint cycling following glycogen depletion. **European Journal of Sport Science**, v. 1391, n. October, p. 1–8, 2016.

KOVACS, E. M.; STEGEN JHCH; BROUNS, F. Effect of caffeinated drinks on substrate metabolism, caffeine excretion, and performance. **Journal of applied physiology**, v. 85, n. 2, p. 709–715, 1998.

- KRINGS, B. M. et al. Effects of acute carbohydrate ingestion on anaerobic exercise performance. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 13, p. 40, 2016.
- LANE, S. C. et al. Caffeine ingestion and cycling power output in a low or normal muscle glycogen state. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 45, n. 8, p. 1577–1584, 2013.
- LEE, C. L. et al. Co-ingestion of caffeine and carbohydrate after meal does not improve performance at high-intensity intermittent sprints with short recovery times. **European Journal of Applied Physiology**, v. 114, n. 7, p. 1533–1543, 2014.
- LEHNEN, A. M. et al. Changes in the GLUT4 Expression by Acute Exercise, Exercise Training and Detraining in Experimental Models. **Journal of Diabetes & Metabolism**, v. S10, n. 002, 2012.
- LIMA-SILVA, A. E. et al. Effect of carbohydrate availability on time to exhaustion in exercise performed at two different intensities. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 42, p. 404–412, 2009.
- MORA-RODRIGUEZ, R.; PALLARÉS, J. G. Performance outcomes and unwanted side effects associated with energy drinks. **Nutrition Reviews**, v. 72, n. S1, p. 108–120, 2014.
- NEPTUNE, R. R.; KAUTZT, S. A.; HULL, M. L. THE EFFECT OF PEDALING RATE ON COORDINATION IN CYCLING. **Journal of Biomechanics Biomechanics**, v. 30, n. 97, p. 1051–1058, 1997.
- OSTERBERG, K. L.; ZACHWIEJA, J. J.; SMITH, J. W. Carbohydrate and carbohydrate + protein for cycling time-trial performance. **Journal of sports sciences**, v. 26, n. 3, p. 227–233, 2008.
- PEDERSEN, D. J. et al. High rates of muscle glycogen resynthesis after exhaustive exercise when carbohydrate is coingested with caffeine. **Journal of applied physiology**, v. 105, n. 1, p. 7–13, 2008.
- PHILLIPS, M. D. et al. preexercise energy drink consumption does not improve endurance cycling performance but increases lactate, monocyte, and interleukin-6 response. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 28, n. 5, p. 1443–1453, 2014.
- PIUCCO, T. et al. Motor unit firing frequency of lower limb muscles during an incremental slide board skating test. **Sports Biomechanics**, v. 3141, n. March, p. 1–12, 2017.

PLASKETT, C. J.; CAFARELLI, E. Caffeine increases endurance and attenuates force sensation during submaximal isometric contractions. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)**, v. 91, n. 4, p. 1535–44, 2001.

POTTIER, A. et al. Mouth rinse but not ingestion of a carbohydrate solution improves 1-h cycle time trial performance. **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**, v. 20, p. 105–111, 2010.

QUESADA, J. I. P. et al. Multifactorial cycling performance of Cyclists and Non-Cyclists and their effect on skin temperature. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 127, n. 2, p. 1479–1489, 2016.

ROBERTS, S. P. et al. Effects of carbohydrate and caffeine ingestion on performance during a rugby union simulation protocol. **Journal of sports sciences**, v. 28, n. 8, p. 833–842, 2010.

ROLLO, I. et al. Influence of mouth rinsing a carbohydrate solution on 1-h running performance. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 42, n. 4, p. 798–804, 2010.

ROSAS, M. et al. IL-5-mediated eosinophil survival requires inhibition of GSK-3 and correlates with beta-catenin relocalization. **Journal of leukocyte biology**, v. 80, p. 186–195, 2006.

RYAN, M. M.; GREGOR, R. J. EMG profiles of lower extremity muscles during cycling at constant workload and cadence. **Journal of Electromyography and Kinesiology**, v. 2, n. 2, p. 69–80, 1992.

SASAKI, H. et al. Effect of sucrose and caffeine ingestion on performance of prolonged strenuous running. **International Journal of sports medicine**, v. 8, p. 261–265, 1987.

SASAKI, H.; TAKAOKA, I.; T ISHIKO. Effect of sucrose or caffeine ingestion on running performance and biochemical responses to endurance running. **International Journal of sports medicine**, v. 8, p. 203–207, 1987.

SCHNEIKER, K. T. et al. Effects of caffeine on prolonged intermittent-sprint ability in team-sport athletes. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 38, n. 3, p. 578–585, 2006.

SHERIDAN, P. L. et al. Influence of executive function on locomotor function: divided attention increases gait variability in Alzheimer's disease. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 51, n. 11, p. 1633–1637, 2003.

SHERMAN, W. M.; PEDEN, M. C.; WRIGHT, D. A. Carbohydrate feedings 1 h before exercise improves cycling performance. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 54, p. 866–870, 1991.

SILVA-CAVALCANTE, M. D. et al. Caffeine increases anaerobic work and restores cycling performance following a protocol designed to lower endogenous carbohydrate availability. **PloS one**, v. 8, n. 8, 2013.

SIMMONDS, M. J.; MINAHAN, C. L.; SABAPATHY, S. Caffeine improves supramaximal cycling but not the rate of anaerobic energy release. **European Journal of Applied Physiology**, v. 109, p. 287–295, 2010.

SINCLAIR, J.; BOTTOMS, L. The effects of carbohydrate and caffeine mouth rinsing on arm crank time-trial performance. **Journal of sports research**, v. 1, n. 2, p. 34–44, 2014.

SIRI, W. E.; LUKASKI, H. C. Body composition from fluid spaces and density: Analysis of methods ... Prospective Overview. **Nutrition**, v. 9, n. 5, p. 480–491, 1993.

SLIVKA, D. et al. Caffeine and carbohydrate supplementation during exercise when in negative energy balance: effects on performance, metabolism, and salivary cortisol. **Applied physiology, nutrition, and metabolism**, v.33, p.1079-1085, 2008.

STEVENSON, E. J.; HAYES, P. R.; ALLISON, S. J. The effect of a carbohydrate-caffeine sports drink on simulated golf performance. **Applied physiology, nutrition, and metabolism**, v. 34, n. 4, p. 681–688, 2009.

STÜMPEL, F. et al. Normal kinetics of intestinal glucose absorption in the absence of GLUT2: evidence for a transport pathway requiring glucose phosphorylation and transfer into the endoplasmic reticulum. **PNAS**, v. 98, n. 20, p. 11330–11335, 2001.

STÜMPEL, F.; SCHOLTKA, B.; JUNGERMANN, K. A new role for enteric glucagon-37: Acute stimulation of glucose absorption in rat small intestine. **FEBS Letters**, v. 410, p. 515–519, 1997.

TAYLOR, H.; HENSCHER, A.; BUSKIRK, E. Maximal Oxygen Make us ati Objective Cur&u-Respiratory Pefurmancel. **Journal of Applied Physiology**, v. 8, n. 1, p. 73–80, 1955.

TAYLOR, C. et al. The effect of adding caffeine to postexercise carbohydrate feeding on subsequent high-intensity interval-running capacity compared with carbohydrate alone. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 21, n. 5, p. 410–416, 2011.

TURNER, C. E. et al. Carbohydrate in the mouth enhances activation of brain circuitry involved in motor performance and sensory perception. **Appetite**, v. 80, p. 212–219, 2014.

VAN NIEUWENHOVEN, M. A; BRUMMER, R. M.; BROUNS, F. Gastrointestinal function during exercise: comparison of water, sports drink, and sports drink with caffeine. **Journal of applied physiology**, v. 89, n. 3, p. 1079–1085, 2000.

WAKELING, J. M. et al. Determining patterns of motor recruitment during locomotion. **The Journal of experimental biology**, v. 205, n. Pt 3, p. 359–369, 2002.

WELSH, R. S. et al. Carbohydrates and physical/mental performance during intermittent exercise to fatigue. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 34, n. 4, p. 723–731, 2002.

YEO, S. E. et al. Caffeine increases exogenous carbohydrate oxidation during exercise. **Journal of applied physiology**, v. 99, n. 3, p. 844–850, 2005.