

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA, FISIOTERAPIA E DANÇA  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM EDUCAÇÃO FÍSICA - BACHARELADO

**EFEITOS DA AÇÃO DA CAFEÍNA SOBRE O DESEMPENHO DE CORREDORES  
DE ENDURANCE TREINADOS**

RODRIGO QUEVEDO

Porto Alegre, 2024

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA, FISIOTERAPIA E DANÇA  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM EDUCAÇÃO FÍSICA - BACHARELADO

EFEITOS DA AÇÃO DA CAFEÍNA SOBRE O DESEMPENHO DE CORREDORES DE  
ENDURANCE TREINADOS

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado como requisito para obtenção  
do diploma do curso de Educação Física  
(Bacharelado) da Escola de Educação  
Física, Fisioterapia e Dança (ESEFID) da  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
(UFRGS).

Orientador: Dr. Alvaro Reischak de Oliveira

Porto Alegre, 2024

## ABSTRACT

Endurance sports are characterized by requiring long periods of training and competition. They are typically defined as resistance to fatigue during intense physical activity of short duration or even during prolonged submaximal exercise. The intensity used can be moderate to high, between 75% and 85% of maximum oxygen consumption ( $VO_2Max$ ) or maximum heart rate. Exercise in this intensity range places a high demand on the body for energy. Caffeine (CAF) is the most popular psychoactive natural alkaloid in existence. It is not considered a drug, but rather a drug with a stimulating effect mainly on the central nervous system. It is a competitive antagonist of adenosine receptors, reducing their negative regulation and neurological activity. The objective of this work was to compare the effect of the action of CAF compared to placebo (PLA) on the performance of aerobic endurance athletes trained from a 5000 m test on an athletic track, through a randomized, crossover and double-blind trial. 13 male runners aged 30.4 ( $\pm 6.8$  years); body mass of 68.7 ( $\pm 7.2$  kg); height 173.6 ( $\pm 4.8$  cm); and  $VO_2Max$  of 58.74 ( $\pm 4.61$  ml.kg<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>) constituted the sample. The comparison between the times of the track tests with the use of CAF or PLA was carried out using a dependent t-test. The data were organized and analyzed using the SPSS statistical package (Statistical Package for Social Sciences, version 25.0, IBM, United States). Values of  $p < 0.05$  were considered statistically significant. No significant differences were found between acute supplementation of 4 mg.kg<sup>-1</sup> of CAF compared to PLA ( $p = 0.64$ ) in athletes trained in aerobic endurance running for performance in the total running time of 5000 m on the track (1184.31  $\pm$  70.29 s; CI 1141.82 – 1226.78; and 1210.31  $\pm$  57.77s; CI 1175 – 1245.22 s respectively.  $P = 0.677$ ;  $\eta^2P 0.031$ ). Field studies, on the track for example, are rare, and there is a need for more studies in this format that could provide more information about the effects of CAP in these conditions. The sample of 13 trained

men is one of the limitations of this study. In future studies with a larger sample, it may provide different answers (or not) to those presented here. Environmental conditions can also be a limiter. Subjecting athletes to the same weather conditions can be a major research challenge.

## RESUMO

Os esportes de resistência são caracterizados por exigir longos períodos de treinamento e competição. São tipicamente definidos como resistência à fadiga durante atividade física intensa de curta duração ou mesmo durante exercício submáximo prolongado. A intensidade utilizada pode ser moderada a alta, entre 75% e 85% do consumo máximo de oxigênio ( $VO_2Max$ ) ou da frequência cardíaca máxima. O exercício nesta faixa de intensidade exige uma alta demanda de energia do corpo. A cafeína (CAF) é o alcaloide natural psicoativo mais popular que existe. Não é considerado um fármaco, mas sim uma droga com efeito estimulante principalmente do sistema nervoso central. É um antagonista competitivo dos receptores de adenosina, reduzindo sua regulação negativa e atividade neurológica. O objetivo deste trabalho foi comparar o efeito da ação da CAF comparado a placebo (PLA) no desempenho de atletas de resistência aeróbica treinados a partir de um teste de 5000 m em pista atlética, por meio de um ensaio randomizado, cruzado e duplo-cego. 13 corredores homens com idade de 30,4 ( $\pm 6,8$  anos); massa corporal de 68,7 ( $\pm 7,2$  kg); altura de 173,6 ( $\pm 4,8$  cm); e  $VO_2Max$  de 58,74 ( $\pm 4,61$  ml.kg<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>) constituíram a amostra. A comparação entre os tempos dos testes de pista com o uso de CAF ou PLA, foi realizada a partir de um teste t dependente. Os dados foram organizados e analisados utilizando o pacote estatístico SPSS (*Statistical Package for Social Sciences, version 25.0, IBM, United States*). Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos. Não foram encontradas diferenças significativas entre a suplementação aguda de 4 mg.kg<sup>-1</sup> de CAF comparado ao PLA ( $p = 0,64$ ) em atletas treinados em corrida de resistência aeróbica para o desempenho no tempo total de corrida de 5000 m rasos em pista (1184,31  $\pm$  70,29 s; IC de 1141,82 – 1226,78; e 1210,31  $\pm$  57,77 s; IC 1175 – 1245,22 s respectivamente;  $p = 0,677$ ;  $\eta^2_P$  de 0,031). São raros os estudos de campo, em pista

por exemplo, havendo uma necessidade de mais estudo neste formato que possam dar maiores informações sobre os efeitos da CAP nestas condições. A amostra de 13 homens treinados é uma das limitações deste estudo. Em futuros estudos com uma amostra maior, pode dar respostas diferentes (ou não) das apresentadas aqui. As condições ambientais também podem ser um limitador. Submeter os atletas as mesmas condições de clima pode ser um desafio grande à pesquisa.

## SUMÁRIO

<b>1. APRESENTAÇÃO</b>	<b>8</b>
<b>2. INTRODUÇÃO</b>	<b>13</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>16</b>
3.1. Participantes	16
3.2. Ensaio e randomização	17
3.3. Protocolo	18
3.3.1. Desenho experimental	18
3.3.2. Coleta de saliva e genotipagem	19
3.3.3. Suplementação de cafeína e placebo	19
3.4. Composição Corporal	19
3.5. Consumo máximo de oxigênio – VO <sub>2</sub> Máx	20
3.6. Índice de Bulbo Úmido – Termômetro de Globo - IBUTG	21
3.7. Análise estatística	22
<b>4. RESULTADOS</b>	<b>24</b>
4.1. Teste de 5000 m rasos	24
4.2. Estresse térmico (IBUTG)	25
<b>5. DISCUSSÃO</b>	<b>27</b>

<b>6. CONCLUSÃO</b>	<b>33</b>
<b>7. AGRADECIMENTOS</b>	<b>34</b>
<b>8. REFERÊNCIAS</b>	<b>36</b>
<b>9. TABELAS</b>	<b>42</b>
<b>10. FIGURAS</b>	<b>44</b>
<b>11. ANEXO</b>	<b>49</b>

## 1. APRESENTAÇÃO

Os dados deste estudo foram extraídos da tese de doutorado intitulada “Efeitos da ação da cafeína sobre o desempenho de corredores metabolizadores rápidos e lentos: um ensaio randomizado”. A ideia de utilizar parte dos dados no Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) partiu do professor Alvaro Reischak de Oliveira, que me orientou durante o período de desenvolvimento da tese pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências do Movimento Humano (PPGCMH/UFRGS). A graduação em Educação Física (2016/0 a 2023/2) coincidiu com o período do doutorado (2018 a 2023). Ao longo desse período, tivemos a Pandemia de COVID-19, que inviabilizou a progressão e desenvolvimento do projeto. A coleta de dados só teve início após a reabertura da Universidade para atividades presenciais. Para encaminhar o projeto de pesquisa ao Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS (CEP), foram necessárias uma série de modificações relativas à segurança sanitária dos pesquisadores envolvidos e dos participantes, além de que as coletas e análises de materiais biológicos deveriam seguir todo um protocolo de armazenamento e tratamento. Foram 4 meses de espera desde o primeiro envio até que o CEP desse a liberação para realização das coletas. Isso ocorreu faltando aproximadamente 14 meses para a finalização do prazo de entrega da tese e subsequente defesa. O período do doutorado coincidiu com o final da minha graduação em Educação Física, e por esse motivo seria mais prático e ágil fazer esse recorte do que desenvolver um novo projeto para o TCC. A escolha das variáveis escolhidas para este estudo, foram aquelas que tem relevância científica considerando as lacunas existentes na literatura.

Periódico sugerido para submissão deste artigo: *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. O texto manuscrito está nas normas da revista conforme anexo.

**ARTIGO****EFEITOS DA AÇÃO DA CAFEÍNA SOBRE O DESEMPENHO DE CORREDORES DE  
ENDURANCE TREINADOS**

Rodrigo Quevedo<sup>a</sup>, Rodrigo Leal de Menezes<sup>a</sup>, Alvaro Reischak de Oliveira<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil

E-mail para correspondência: [professorquevedo@gmail.com](mailto:professorquevedo@gmail.com)

**Resumo:** A riqueza de estudos envolvendo cafeína (CAF) e diferentes esportes é bastante ampla na literatura. A imensa maioria se concentra no público masculino; a maioria das intervenções é de contrarrelógio em ciclismo, e quando em corrida, é realizado em esteira em condições controladas de laboratório. Raros são os estudos em que a intervenção foi realizada em ambiente ecológico fora do laboratório, ou seja, em ambiente *outdoor* (pista ou evento esportivo). A partir disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da ação da CAF comparado a placebo (PLA) no desempenho de atletas de resistência aeróbica treinados a partir de dois testes de 5000 m em pista atlética. O desenho do estudo foi um ensaio randomizado, cruzado e duplo-cego, onde 13 corredores homens com idade de 30,4 ( $\pm$  6,8 anos); massa corporal de 68,7 ( $\pm$  7,2 kg); altura de 173,6 ( $\pm$  4,8 cm); e VO<sub>2</sub>Max de 58,74 ( $\pm$  4,61 ml.kg<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>) constituíram a amostra. Tanto a CAF quanto o PLA (composição contendo açúcar) foram administradas por cápsulas de mesma forma, tamanho e textura, com aproximadamente 250 mg (aproximadamente 4 mg.kg<sup>-1</sup> relativizadas pela massa corporal), por um avaliador não cegado. A comparação entre os tempos dos testes de pista com o uso de CAF ou PLA, foi realizada a partir de um teste t dependente. Os dados foram organizados e analisados utilizando o pacote estatístico SPSS (*Statistical Package for Social Sciences, version 25.0, IBM, United States*). Valores de p<0,05 foram considerados estatisticamente significativos. Não foram encontradas diferenças significativas entre a suplementação aguda de 4 mg.kg<sup>-1</sup> de CAF comparado ao PLA (p = 0,64) em atletas treinados em corrida de resistência aeróbica para o desempenho no tempo total de corrida de 5000m rasos em pista (1184,31  $\pm$  70,29 s; IC de 1141,82 – 1226,78; e 1210,31  $\pm$  57,77s; IC 1175 – 1245,22 s respectivamente. P = 0,677;  $\eta^2_P$  de 0,031). Em suma, a suplementação aguda de 4 mg.kg<sup>-1</sup> de CAF não apresentou o efeito ergogênico no teste de corrida de 5000 m rasos em pista, quando comparado ao PLA. São raros os estudos de campo, em pista por exemplo, havendo uma necessidade de

mais estudo neste formato que possam dar maiores informações sobre os efeitos da CAP nestas condições. Uma limitação neste estudo foi a amostra de apenas 13 homens treinados. Futuros estudos com amostras superiores podem dar respostas diferentes (ou não) das apresentadas aqui. As condições ambientais também podem ser um limitador. Submeter os atletas as mesmas condições de clima pode ser um desafio grande à pesquisa onde a intervenção é realizada no campo.

**Palavras-chave:** cafeína, desempenho, corrida em pista, *endurance*

## 2. INTRODUÇÃO

Nas últimas duas décadas, os esportes de resistência aeróbica, principalmente as corridas de longa distância, têm ganhado grande popularidade. Um número cada vez maior de pessoas está participando de competições de longa distância, especialmente meia maratona, maratona, triatlo e trilhas. Esses esportes exigem uma quantidade considerável de tempo dedicado ao treinamento e às competições, com atletas amadores levando de 2 horas a até 17 horas para completar provas de meia maratona e IRONMAN, respectivamente (JEUKENDRUP, 2011). Para ANDERSON (2013), resistir a fadiga é o mais importante preditor de desempenho. Ou seja, é a capacidade de sustentar uma velocidade ou ritmo de alta qualidade, ou uma fração do consumo máximo de oxigênio ( $VO_2Máx$ ), ou ainda uma porcentagem específica da velocidade máxima de corrida por um longo período sem que ocorra uma queda no ritmo ou intensidade.

Nesse contexto, a intensidade aplicada, varia de moderada a alta, correspondendo a cerca de 75% a 85% do  $VO_2Máx$  ou 78% a 88% da frequência cardíaca máxima ( $FCMáx$ ) (SYLTA, TØNNESEN E SEITER, 2014). Realizar atividades físicas nessa faixa de intensidade demanda uma grande quantidade de energia do organismo, resultando em aumento da temperatura corporal, desidratação elevada, esgotamento das reservas energéticas e perda considerável de eletrólitos. Além disso, há um alto estresse muscular que pode levar a danos nos tecidos, fadiga, câibras e outros efeitos fisiológicos. Também ocorre uma diminuição na capacidade motora e um impacto psicológico significativo (LAURSEN et al., 2005).

Uma estratégia para a melhoria do desempenho esportivo é a utilização de recursos ergogênicos nutricionais ou farmacológicos. Seja no meio competitivo ou recreacional, com frequência se observa o uso da CAF, considerado o alcaloide psicoativo mais consumido do planeta (WICKHAM e SPRIET, 2018; WANG et al.,

2023). A CAF, quimicamente chamada de 1,3,7 trimetilxantina, é conhecida por sua capacidade de induzir a vigília e restaurar o estado de alerta, agindo como um estimulante do sistema nervoso central (SNC) (VOLK e CREIGHTON, 2013; NEHLIG, 2018; GUEST et al., 2021; WANG et al., 2023). É interessante observar que a CAF não é considerada um fármaco. É comercializada de forma livre justamente por apresentar baixíssima capacidade de induzir seu consumidor à dependência. A CAF é encontrada em muitos produtos que são de fácil acesso e que diariamente são consumidos pela população, tanto pelo seu baixo custo como pela facilidade de acesso (MELLO et al., 2007; HECKMAN, WEIL e MEJIA, 2010; LOPES, 2015; NEHLIG, 2018; GUEST et al., 2021). A CAF é absorvida de forma rápida e eficiente pelo trato gastrointestinal logo após a sua administração/ingestão com praticamente 100% de biodisponibilidade. Por ser uma substância tanto lipossolúvel quanto hidrossolúvel, ela se move/desloca através das membranas celulares com a mesma eficiência e facilidade em que é absorvida e assim passa a circular por vários tecidos e órgãos do corpo (ALTIMARI et al., 2006; GOLDSTEIN et al., 2010), como no SNC (principalmente), tecido muscular esquelético, no músculo cardíaco, na função renal, na musculatura lisa dos brônquios e no trato gastrointestinal (DÂMASO, 2001 apud ALTERMANN et al., 2005). No estudo de VOLK e CREIGHTON (2013), após atravessar a barreira hematoencefálica, a CAF promove o aumento de vários neurotransmissores essenciais que são críticos para suas ações fisiológicas.

No entanto, a grande maioria dos ensaios laboratoriais encontrou e reforçou essas evidências em testes com ciclismo a partir do consumo agudo de CAF comparado a PLA (GLAISTER; GISSANE, 2018; SOUTHWARD, RUTHERFURDMARKWICK e ALI, 2018; MIELGO-AYUSO et al., 2019;). WANG et al. (2023) apresentam uma meta-análise demonstrando que o consumo agudo de CAF, comparados com um ensaio PLA, tem efeitos positivos em protocolos de corrida, com

foco no desempenho dos corredores até a exaustão. Segundo FERGUSON, HARNISH E CHASE (2021) não existem estudos descritivos de eventos de ciclismo em pista, ou mesmo em competições. Os estudos são todos em cicloergômetros, eventualmente na bicicleta dos próprios participantes, e em ambientes laboratoriais controlados. Isso também vale para estudos com corrida, que reforçam essas evidências do efeito ergogênico partir do consumo agudo de CAF (GLAISTER; GISSANE, 2018; SOUTHWARD, RUTHERFURD-MARKWICK e ALI, 2018; MIELGO-AYUSO et al., 2019;). Nos estudos com corrida, a grande maioria dos protocolos envolve um de contrarrelógio, onde o tempo é a principal variável de desempenho analisada. São raros os trabalhos onde o teste é realizado no campo, pista ou evento esportivo (O'ROURKE et al., 2008; CHURCH et al., 2015). Variáveis como consumo de oxigênio em carga fixa, taxa de troca respiratória, percepção subjetiva de esforço e frequência cardíaca em geral são variáveis avaliadas junto com desempenho por tempo (BELL e MCLELLAN, 2003; BLACK, WADDELL e GONGLACH, 2015; GONÇALVES et al., 2017). E muito dos estudos avalia parâmetros bioquímicos, como lactato, perfil lipídico e glicêmico, cortisol, entre outros (BELL e MCLELLAN, 2003; FERNÁNDEZ-ELÍAS et al., 2015; GONÇALVES et al., 2017).

Com base nestes pressupostos, o objetivo deste trabalho foi analisar a influência da ação da CAF em corredores do sexo masculino treinados em corrida de resistência aeróbica. Nossa hipótese é que uma dose de  $4 \text{ mg.kg}^{-1}$  de CAF, promoverá o efeito ergogênico sugerido quando comparado a um ensaio placebo, em dois testes de corrida de 5000 m rasos em pista atlética.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. PARTICIPANTES

A amostra foi composta por 13 homens especializados em corrida de resistência aeróbica, incluindo corredores de asfalto, trilha e triatletas, com idade média de  $30,4 \pm 6,8$  anos; massa de  $68,7 \pm 7,3$  kg; altura de  $173,6 \pm 4,8$  cm;  $VO_2Máx$  de  $58,74 \pm 4,6$   $ml.kg^{-1}.min^{-1}$ ;  $vVO_2Máx$  de  $19,2 \pm 0,98$   $km.h^{-1}$ ;  $FCMáx$  de  $176 \pm 16$  bpm; PSE de  $17 \pm 1,1$ . (tabela 1). Todos os participantes eram atletas com uma rotina de treinamento de pelo menos quatro sessões por semana e possuíam no mínimo dois anos de experiência em competições. Na primeira visita (V1), os atletas foram entrevistados sobre seus hábitos alimentares e rotina de treinamento, e todas essas informações foram registradas na anamnese. Todos os participantes atenderam aos critérios de inclusão e deram seu consentimento após a leitura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para participar deste ensaio. O estudo recebeu aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (CEP/UFRGS), sob o parecer de número 5.593.931. As condutas éticas respeitaram a Resolução N°466 de 12 de dezembro de 2012 do Conselho Nacional de Saúde (CNS), que aprova as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos. A seleção dos participantes (amostra) foi do tipo aleatória e intencional.

Os critérios de elegibilidade para participar do estudo foram: 1) homens com idade entre 20 e 45 anos; 2) ter rotina regular de treinamento de três a quatro vezes por semana; 3) ser praticante de corrida de resistência aeróbica a pelo menos 2 anos; 4) ter participado de eventos esportivos de corrida de resistência; 5) e ter marca recente nos 10km (corrida de rua ou pista) em até 45 minutos. Um folheto contendo informações padronizadas sobre o estudo foi divulgado nas redes sociais e enviado por e-mail aos diretores de assessorias esportivas e clubes. O cálculo amostral inicial para este estudo foi realizado no *software G\*Power* versão 3.1.9.7 (FAUL et al., 2007). Para um tamanho

de efeito de 0,24, alfa de 5% e um poder estatístico de 85%, considerando 4 grupos de análise chegamos a uma amostra de 60 participantes (15 participantes por grupo).

### **3.2. ENSAIO E RANDOMIZAÇÃO**

Para este estudo foi adotado um ensaio randomizado, cruzado e duplo-cego. A randomização da suplementação, seja com CAF ou PLA, ocorreu por meio de um computador, em blocos, utilizando um site especializado (randomization.com). Para garantir a integridade do ensaio, apenas um avaliador foi encarregado da aplicação tanto da CAF quanto do PLA nos voluntários. Foi assegurado que nem os voluntários, ou mesmo os pesquisadores responsáveis pela coleta de dados, tivessem conhecimento sobre qual substância, CAF ou PLA, estava sendo administrada aos participantes. As suplementações eram ofertadas aos participantes uma hora antes de iniciar os testes. A lista dos mesmos e seus códigos alfanuméricos foram gerados no momento da genotipagem. A codificação da suplementação foi realizada por um avaliador externo à pesquisa, que estava ciente dos códigos correspondentes a cada sujeito e se este havia consumido CAF ou PLA.

No período de 24 horas que antecedeu os testes, os participantes foram orientados, durante a entrevista, a evitar a ingestão de CAF em qualquer forma, bem como a abster-se do consumo de bebidas alcoólicas, da prática de exercícios extenuantes e do uso de substâncias que pudessem influenciar nos resultados dos testes.

### 3.3. PROTOCOLO

#### 3.3.1. DESENHO EXPERIMENTAL

Cada participante passou por um total de 3 visitas. Na V1 (fig. 1), os atletas foram conduzidos até o Laboratório de Pesquisa do Exercício da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (LAPEX/UFRGS), e lá foram conduzidas as seguintes etapas: 1) anamnese sobre as condições atléticas e de saúde; 2) explicações detalhadas sobre o estudo; 3) leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE); 4) coleta de saliva para genotipagem e posterior determinação do tipo de metabolizador; 5) avaliação antropométrica por avaliador credenciado; 6) teste incremental para determinação do consumo máximo de oxigênio ( $VO_2Máx$ ), frequência cardíaca (FC) a cada 30 segundo e percepção subjetiva de esforço (PSE) pela escala de BORG (1987). Para determinar o  $VO_2Máx$  pelo teste incremental, foram registrados no sistema *Omnia Cosmed* o nome completo dos participantes, data de nascimento/idade, massa corporal em quilos (kg) e altura em centímetros (cm).

Na Visita 2 (V2) e Visita 3 (V3) (fig. 2), os atletas chegavam no LAPEX/UFRGS sempre 1 hora e 30 minutos antes de iniciar os testes, quando eram conduzidos até o Laboratório de Fisiologia e Bioquímica. Imediatamente foi oferecido um dos dois tipos de suplementos, CAF ou PLA. Transcorrido 50 minutos, o atleta era conduzido até a pista atlética onde foram realizados os testes de corrida de 5000m rasos na pista atlética (12 voltas de 400m + 200m) para avaliar o desempenho de corrida. Os participantes foram fortemente recomendados a correrem na melhor intensidade possível, ou seja, em tempo de prova ou tempo *run*. Não foi permitido aos participantes ligarem seus relógios durante o teste, para que não houvesse influência a partir do controle da corrida pelo ritmo ou *pace*. Durante os testes de corrida foram coletadas as seguintes variáveis: 1) percepção subjetiva de esforço a cada 1000 m; 2) tempo

percorrido a cada 1000 m; 3) tempo total do teste de corrida; e 4) as temperaturas a partir do medidor de estresse térmico.

### **3.3.2. COLETA DE SALIVA E GENOTIPAGEM (CYP1A2 - P450 - RS762551)**

Para a coleta de amostras salivares, utilizou-se um kit Orange-DNA (DNA Genotex, Inc. Ottawa, ON, Canada) destinado à coleta de DNA humano. A saliva foi combinada ao líquido estabilizador, e as amostras foram imediatamente encaminhadas ao Departamento de Genética da UFRGS para a determinação do perfil de metabolização de CAF por genotipagem.

### **3.3.3. SUPLEMENTAÇÃO DE CAFEÍNA E PLACEBO**

Para o presente estudo, optou-se por utilizar uma quantidade de 4 mg.kg<sup>-1</sup> de CAF, que foi considerada uma quantidade moderada (GUEST, et al. 2021). Tanto a CAF quanto o PLA foram administrados em cápsulas de 250 mg, ambas preparadas em uma farmácia de manipulação. As duas cápsulas de suplementos apresentavam textura, coloração e formato idênticas, impossibilitando a identificação tanto pelos participantes quanto pelos pesquisadores principais. Apenas um avaliador tinha conhecimento sobre o tipo de suplemento fornecido ao participante caracterizando e garantindo, desta forma, um estudo com cegamento, tanto para os pesquisadores quanto para os voluntários.

## **3.4. COMPOSIÇÃO CORPORAL**

Para a mensuração das dobras cutâneas, empregou-se um plicômetro (modelo Harpenden Científico, marca Cescorf, Porto Alegre, Brasil). Os diâmetros e comprimentos ósseos foram medidos com paquímetros e antropômetro (Cescorf, Porto Alegre, Brasil), enquanto os perímetros foram avaliados por meio de uma fita

antropométrica (Cescorf, Porto Alegre, Brasil). A massa corporal e estatura foram aferidas utilizando uma balança digital e um estadiômetro, respectivamente (modelo OS-180, marca Urano, RS/Brasil). As marcações dos pontos de coleta das dobras cutâneas e a técnica de medição seguiram os padrões estabelecidos pela *International Society for the Advancement of Kineanthropometry* (ISAK). A composição corporal foi calculada empregando o modelo fracionado de cinco componentes (KERR, 1998; ROSS, 1991) por um avaliador/colaborador experiente e devidamente credenciado.

### **3.5. CONSUMO MÁXIMO DE OXIGÊNIO - VO<sub>2</sub>MÁX**

Para a determinação do VO<sub>2</sub>Máx, foi realizado um teste de incremento de carga. Foi utilizado um sistema de ergoespirometria de circuito aberto, utilizando o modo de coleta a cada respiração (sistema *breath by breath*) da COSMED, modelo QUARK CPET, Itália. Antes do início do teste, o analisador de gases foi ligado com antecedência mínima de uma hora, seguido pela calibração manual dos gases (ambiente e composição gasosa de referência), e calibração da turbina/fluxímetro.

O teste incremental foi conduzido em uma esteira ergométrica modelo Reab 01, da marca INBRAMED (Porto Alegre, Brasil), seguindo um protocolo em escada. Os voluntários iniciaram o aquecimento a uma velocidade de 5 km.h<sup>-1</sup>, caminhando por 3 minutos. O aquecimento foi completado com uma corrida de mais 3 minutos a uma velocidade de 10 km.h<sup>-1</sup>. O teste começou com a mesma velocidade mencionada anteriormente a partir do 7<sup>o</sup> minuto, com um aumento progressivo de 1 km.h<sup>-1</sup> a cada estágio de um minuto.

Uma fita telemétrica (cinta cardíaca, modelo H10, marca POLAR) foi posicionada na região torácica dos voluntários para monitorar continuamente a frequência cardíaca (FC), coletada a cada 30 segundos, coincidindo com a metade de cada estágio e

durante a troca dos mesmos. A duração dos testes variou de 10 a 13 minutos entre os participantes.

O teste incremental seguiu as recomendações do *American College of Sports Medicine* (FERGUSON, 2014) e poderia ser interrompido quando os participantes atingissem pelo menos dois dos seguintes critérios em conjunto: A) platô no consumo de oxigênio; B) frequência cardíaca maior ou igual à predita para idade ( $FC_{Máx} = 220 - \text{idade}$  ou fórmula similar); C) valor da taxa de troca respiratória (RER) maior que 1,15; D) percepção subjetiva de esforço (PSE) maior que 17; ou o participante poderia interromper o teste de forma voluntária. Além desses critérios, o teste poderia ser interrompido pelo avaliador na observação de sinais de descoordenação motora que pudessem levar a uma possível queda e sinais evidentes de fadiga. O  $VO_2Máx$  foi considerado atingido quando os valores de  $VO_2$  atingiram um platô, com uma variação inferior a  $1,5 \text{ ml.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ , mesmo com incrementos subsequentes na intensidade do exercício. Caso o platô não fosse alcançado, foi considerado o  $VO_2$  de pico ( $VO_{2pico}$ ).

### **3.6. ÍNDICE DE BULBO ÚMIDO - TERMÔMETRO DE GLOBO - IBUTG**

As medidas de condições térmicas foram registradas utilizando um medidor de estresse térmico digital, modelo portátil TGD-200, da marca INSTRUTHERM. O equipamento foi posicionado próximo à pista atlética entre 30 e 40 minutos antes do início das coletas de dados. Para iniciar as leituras, era necessário aguardar 25 minutos após ligar o equipamento, período necessário para a estabilização dos sensores das sondas.

O equipamento consiste em três sensores que medem a temperatura de bulbo úmido natural (tbn), a temperatura de bulbo seco (tbs), e a temperatura do termômetro de globo (tg). A partir desses dados, é calculado o estresse térmico gerado pelo ambiente, utilizando a seguinte equação:

$IBUTG = 0,7 \times TBN + 0,1 \times TBS + 0,2 \times TG$ , onde:

TBN = temperatura de bulbo úmido natural;

TBS = temperatura de bulbo seco;

TG = temperatura de globo

### 3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para verificação da normalidade dos dados utilizamos o teste de Shapiro-Wilk. Os dados de caracterização da amostra estão expressos em média, desvio padrão e intervalo de confiança de (95%) para as variáveis contínuas e em valores absolutos (n).

A comparação entre os tempos dos testes de pista com o uso de CAF ou PLA foi realizada a partir de um teste t pareado. Equações de Estimativas Generalizadas (EEG) foram utilizadas para comparar as variáveis dependentes em função do fator quilômetro do teste de pista (1 km, 2 km, 3 km, 4 km e 5 km) e suplemento (CAF ou PLA), sendo os resultados apresentados como média, desvio padrão e intervalo de confiança (95%). Quando necessário, nós utilizamos teste *post-hoc* de Bonferroni para localizar as diferenças encontradas.

O “d” de Cohen foi adotado como tamanho de efeito para os testes t e recebem classificação qualitativa conforme proposto por COHEN (1992): pequeno, entre 0,2 e 0,5; médio, entre 0,5 e 0,8; e grande, acima de 0,8. Para as comparações a partir das EEG, adotamos como tamanho de efeito o eta quadrado parcial ( $\eta^2_P$ ), classificado como tamanho de efeito pequeno para valores entre 0,01 e 0,06; médio, entre 0,06 e 0,14; e grande, acima de 0,14 (COHEN, 1992).

Os dados foram organizados e analisados utilizando o pacote estatístico SPSS (*Statistical Package for Social Sciences, version 25.0, IBM, United States*). Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. TESTE DE 5000 m RASOS

A caracterização da amostra é apresentada na tabela 1. Dos 18 participantes elegíveis para o estudo, 13 concluíram os testes. Dois desistiram após a V1 sem qualquer explicação plausível, e três após a V2, por lesão muscular ou tendínea. Foi realizado cálculo amostral *a posteriori* indicando um  $n = 26$ , e correlação entre as medidas de tempo do teste de pista  $r = 0,68$ , nos deu um poder de 0,64.

A ingestão aguda de  $4 \text{ mg.kg}^{-1}$  de CAF não apresentou diferença significativa no tempo total de corrida de 5000 m em pista. Na condição CAF o tempo foi de  $1184,31 \pm 70,29 \text{ s}$ ; com IC de 1141,82 a 1226,78 s; enquanto na condição PLA o tempo foi de  $1210,31 \pm 57,77 \text{ s}$ ; com IC de 1175,39 a 1245,22 s;  $p = 0,677$  e  $\eta^2_P$  de 0,031 (fig. 3).

Ao considerar o tempo total do teste de corrida de 5000 m rasos conforme o tipo de metabolizador rápido ou lento, quando comparado ao tipo de condição, CAF ou PLA, não foram observadas diferenças significativas. O tempo de corrida dos metabolizadores rápidos/CAF, que foi de  $1229,4 \pm 49,38 \text{ s}$ , com IC de 1188,09 a 1270,66 s; em comparação com os metabolizadores rápidos/PLA, onde o tempo foi de  $1194,75 \pm 68,17 \text{ s}$ , com IC de 1137,75 a 1251,75 s;  $p = 0,094$ ;  $\eta^2_P$  de 0,088. A mesma lógica foi observada para os metabolizadores lentos/CAF, com tempo de  $1179,80 \pm 62,10 \text{ s}$ , com IC de 1102,69 a 1256,91; quando comparado com os metabolizadores lentos /PLA, com tempo de  $1167,6 \pm 78,26 \text{ s}$ , com IC de 1070,43 a 1264,77 s;  $p = 0,346$ ;  $\eta^2_P = 0,009$  (fig. 4).

Não foram identificadas diferenças significativas nos tempos do 5000 m rasos por quilômetro nas condições CAF e PLA (fig. 5). Observa-se uma pequena diferença na média de tempo do 1º quilômetro de  $228,23 \pm 16,34 \text{ s}$ ; com IC de 218,36 a 238,11 s; para o 2º quilômetro, que foi de  $233,69 \pm 13,86 \text{ s}$ ; com IC de 225,32 a 242,07 s;  $p = 0,008$  e  $\eta^2_P = 0,043$ . Da mesma forma, do 2º quilômetro para o 3º quilômetro, o tempo

médio foi de  $239,15 \pm 13,77$  s; com IC de 230,80 a 247,48 s;  $p = 0,023$  e  $\eta^2_P = 0,06$  (fig. 5).

Não foi encontrada diferença significativa quando é comparada a PSE dos participantes quilômetro a quilômetro nas condições CAF vs. PLA (KM 1:  $11,6 \pm 2,10$  vs.  $11,7 \pm 1,60$ ,  $p = 0,917$ ; KM 2:  $13,7 \pm 1,65$  vs.  $13,5 \pm 1,26$ ,  $p = 0,693$ ; KM 3:  $15,7 \pm 1,46$  vs.  $15,7 \pm 1,31$ ,  $p = 1$ ; KM 4:  $17,1 \pm 1,80$  vs.  $17,2 \pm 1,64$ ,  $p = 0,822$ ; KM 5:  $18,3 \pm 1,49$  vs.  $18,4 \pm 1,55$ ,  $p = 0,899$ ) (fig. 6).

Quando comparamos a diferença ( $\Delta t$  em segundos) do desempenho individual no tempo do teste de 5000 m rasos nas duas condições, CAF e PLA, foi observado que dos 13 participantes, oito obtiveram tempos mais rápidos após a suplementação aguda de CAF, enquanto cinco participantes não melhoraram seus desempenhos nos 5000 m (fig. 7).

Quando analisamos a performance pelo tipo de metabolizador, dos 8 participantes que obtiveram melhora no desempenho com a ingestão aguda de CAF, cinco eram metabolizadores rápidos e três eram metabolizadores lentos (5 A/A homozigotos e 3 A/C heterozigotos). Por outro lado, dos cinco participantes que não obtiveram melhora no desempenho de pista, três eram metabolizadores rápidos e dois eram metabolizadores lentos para CAF (3 A/A homozigotos e 2 A/C heterozigotos) (fig. 7).

#### **4.2. ESTRESSE TÉRMICO (IBUTG)**

O Índice de Bulbo Úmido – Termômetro de Globo (IBUTG), é amplamente utilizado em situações atléticas (HUGHSON, STAUDT, MACKIE, 1983; FRANTZ, VELASCO, AMARAL, 2020), foi empregado como índice térmico para avaliar o risco de exposição ao calor (BUDD, 2008). A tabela 2 expressa os dados térmicos, em média e desvio padrão, dos testes de 5000 m rasos para os participantes nas duas condições,

CAF e PLA. Não foi encontrada diferença significativa nestes valores de temperatura do teste ( $28,6 \pm 2,3^{\circ}\text{C}$ ) e reteste ( $28,2 \pm 3,0^{\circ}\text{C}$ ;  $p = 0,56$ ) (fig. 8).

## 5. DISCUSSÃO

A literatura é bastante ampla quando se trata do uso da CAF como recurso ergogênico em esportes de resistência aeróbica (*endurance*), principalmente em ciclistas e corredores (SOUTHWARD, RUTHERFURD-MARKWICK, ALI, 2018; GLAISTER GISSANE, 2017), além de outros esportes como remo, natação, *ski cross country* e patinação no gelo. MAUGHAN et al. (2018) estabelecem um consenso indicando que a dosagem de CAF para promover efeitos ergogênicos pode variar entre 3-6 mg kg<sup>-1</sup> de CAF. Essa faixa de dosagem encontra respaldo em revisões sistemáticas de ALTERMANN et al. (2008), BURKE (2008), GANIO et al. (2009), RIBAS (2010), GRGIC et al. (2018) e SOUTHWARD et al. (2018), que observaram melhorias no desempenho com quantidades iguais ou superiores a 3 mg.kg<sup>-1</sup> de CAF. Doses usualmente empregadas variam até 6 mg.kg<sup>-1</sup> de CAF, enquanto doses próximas a 9 mg. kg<sup>-1</sup> de CAF não parecem conferir benefícios adicionais em relação às doses previamente citadas (WANG et al. 2023). Doses acima de 10 mg.kg<sup>-1</sup>, nem sempre resultam em melhorias no desempenho, e, em muitos casos, podem ocasionar efeitos adversos, como irritabilidade, mau humor, privação de sono, aumento da sudorese, entre outros.

O presente estudo teve como objetivo avaliar a influência da ação da CAF em atletas de corrida de resistência aeróbica ou *endurance* do sexo masculino treinados. Nossos principais desfechos demonstraram que a ingestão aguda de 4 mg.kg<sup>-1</sup> de CAF não apresentou diferença significativa aplicada 60 minutos antes no desempenho de uma corrida de 5000 m rasos.

Não foi observada diferença significativa no tempo total de do teste de 5000 m rasos em pista ( $p = 0,677$ ;  $\eta^2_P$  de 0,031) (fig. 3). O tempo total na condição CAF foi de  $1184,31 \pm 70,29$  s. Na condição PLA foi de  $1210,31 \pm 57,77$  s. Apesar de não haver

diferença e o tamanho de efeito ser pequeno, a média de desempenho do tempo total dos participantes foi melhor no teste de corrida de 5000 m após ingerir a CAF.

Esses resultados diferem do estudo de O'ROURKE et al (2008) que demonstra que  $5 \text{ mg.kg}^{-1}$  CAF tem um pequeno efeito ergogênico no desempenho de corrida de 5000 m rasos, e o resultado foi considerado significativo ( $p < 0,01$ ). A amostra foi composta de atletas experiente ( $n = 15$ ) e de corredores recreacionais ( $n = 15$ ). Dos 30 participantes, 27 melhoraram seu desempenho com a ingestão de CAF quando comparado ao PLA, onde o tempo foi  $1058 \pm 68$  s comparado ao tempo da CAF que foi de  $1047 \pm 69$  s. O grupo recreativo foi 20% mais lento, mesmo assim melhorou sua performance. Na condição PLA o tempo foi de  $1298 \pm 84$  s; quando comparado a CAF que foi de  $1286 \pm 86$  s). No estudo (CHURCH et al. 2015), que compara o efeito da CAF administrada pela ingestão de café turco e café descafeinado, este não encontrou diferença significativa no desempenho de contrarrelógio de 5 km de corrida em esteira ( $p = 0,192$ ). Doze dos 20 sujeitos da amostra obtiveram melhora no seu desempenho a partir da ingestão de café turco ( $1662 \pm 252$  s;  $p = 0,012$ ) quando comparado ao café descafeinado ( $1743 \pm 296$  s).

Os dois testes de corrida (V2 e V3) foram realizados no período da manhã entre sete horas e nove horas. Ambos ocorreram durante o verão, onde as temperaturas marcavam em média  $28^{\circ}\text{C}$  (temperatura do teste foi de  $28,6 \pm 2,3^{\circ}\text{C}$ ; e do reteste ( $28,2 \pm 3,0^{\circ}\text{C}$ ;  $p = 0,56$ ) e os participantes perderam quantidades significativas líquido por conta da sudorese provocada pelas temperaturas elevadas. Em exercício os mecanismos de termorregulação são acionados para controlar a temperatura corporal, entre eles ocorre o aumento da vasodilatação periférica e aumento da sudorese como forma de manter a temperatura interna estável.  $4 \text{ mg.kg}^{-1}$  de CAF é considerada uma dosagem moderada (GUEST et al., 2021) e suficiente para não promover um efeito termogênico nos participantes, mas sim o efeito ergogênico que se espera da CAF

(SUVI et al. 2017; PITCHFORD et al. 2014) e essas condições podem ter interferido no efeito ergogênico da CAF. No estudo de O'ROURKE et al. (2008), em nenhum momento é relatado o período dia (manhã ou tarde) ou as condições ecológicas ambientais (temperatura) ou o período do ano em que foram realizadas as corridas, dados importantes que permitiriam uma melhor comparação entre os estudos. O mesmo ocorre no estudo de BRIDGE e JONES (2006) que avaliou as condições ambientais dos dois testes de corrida de 8000 m em pista. Ambos os testes ocorreram em condições de baixa temperatura, entre 8°C e 10°C, bem diferentes das temperaturas do nosso estudo, e demonstrou que uma quantidade considerada baixa de CAF (3 mg.kg<sup>-1</sup>) teve efeito positivo da CAF em relação a condição PLA no teste de corrida em condições ambientes de baixa temperatura.

A análise do teste de 5000 m rasos por quilômetro, comparando CAF e PLA não apresentou diferença significativa. Porém observa-se uma pequena diferença na média de tempo do 1º quilômetro (228,23 ± 16,34 s;  $p = 0,008$ ;  $\eta^2_P = 0,043$ ) para o 2º quilômetro (233,69 ± 13,86 s), e da mesma forma para o 3º quilômetro, onde o tempo médio foi de 239,15 ± 13,77 s;  $p = 0,023$  e  $\eta^2_P = 0,06$  (fig. 5). Esse comportamento não é observado nos quilômetros seguintes, sugerindo mesmo que sem significância e com tamanhos de efeito pequenos, a CAF repercute numa melhora de tempo de corrida nos primeiros quilômetros do teste. À medida que o tempo passa, o ritmo/velocidade da corrida vai caindo a cada quilômetro. A hipótese levantada desta queda no rendimento nos dois quilômetros finais, pode ser comportamental, pois atletas bem treinados preferem fazer largadas fortes e sustentar em ritmos moderados para evitar maior desgaste, e desta forma não quebrar durante a etapa final e mais desgastante da prova.

O *timing* de administração da CAF antes do início do exercício (60 min) possivelmente seja um fator de influência neste resultado. No trato intestinal a CAF tem um pico sérico entre 30 e 60 minutos, e meia vida de 4 a 6 horas (BENOWITZ, 1990),

a administração 60 minutos antes do exercício (ALGRAIN et al. 2015; GUEST et al. 2018), é considerado o momento mais comum na grande maioria dos estudos, pois é o tempo após a ingestão da CAF onde os níveis plasmáticos atinjam os valores máximos (GRAHAN, 2001) e ocorra uma metabolização e/ou aceleração do efeito da CAF. Na nossa investigação, aparentemente o efeito da CAF teve duração reduzida na corrida de 5000 m. PATON, LOWE E IRVINE (2010) sugerem que a CAF tem melhor efeito ergogênico em prova mais longa, ou como relatado, “*onde há um maior acúmulo de fadiga*”, ou seja, exercícios ou provas que tenham um período mais longo de duração, onde o atleta execute a tarefa por um período longo, contínuo ou intermitente.

A fig. 6 expressa a resposta individual de cada participante e não apresenta diferença significativa, nem mesmo pelo tipo de metabolizador, isso sugere que cada um dos participantes tem uma resposta desempenho na corrida de 5000 m sob o efeito da CAF. Dos 13 participantes, oito (61,5%) obtiveram bom desempenho sob o efeito da CAF, enquanto cinco (38,5%) não conseguiram melhorar seu desempenho sob efeito da CAF. Entre os metabolizadores que obtiveram bom desempenho sob efeito da CAF, 5/8 são A/A (62,5%); e 3/8 são A/C (37,5%). Entre os metabolizadores não que obtiveram efeitos positivos da CAF no desempenho, 3/5 são A/A (60%); 2/5 são A/C (40%). Esse comportamento pode ser explicado em função do tamanho da amostra. Ao comparar esses resultados com os de CHURCH et al. (2015), observou que 12 (60%) dos 20 participantes melhoraram seu desempenho em uma corrida de 5000 m após ingerir café turco, sendo que 6 eram homens (50%) e 6 eram mulheres (50%). Entre os oito participantes que não melhoram seu desempenho, 4 eram homens (50%) e 4 eram mulheres (50%). Esses resultados são consistentes, semelhantes ao do nosso estudo. Não é possível fazer uma comparação entre metabolizadores, pois CHURCH et al. (2015) não caracterizou sua amostra por genotipagem. Chama atenção nos resultados apresentados na fig. 6 que 4 participantes obtiveram melhora o desempenho entre 60

segundos e 130 segundos. Três eram metabolizadores rápidos (A/A) e um metabolizador lento heterozigoto (A/C). Esses resultados sugerem que o efeito ergogênico da CAF está relacionado a resposta individual de cada participante.

Embora os nossos resultados não demonstrem significância estatística relevante, a CAF contribuiu para uma pequena melhora dos tempos de 5000 m rasos, mesmo que seja apenas no início do teste. SHEN et al. (2018) relatam a escassez de estudos com desenhos diferentes daquelas de um contrarrelógio controlado em laboratório ou testes até a exaustão. Mesmo quando o teste é realizado no campo (pista, prova etc.), recomenda que o(s) desenho(s) também sejam diferentes de um contrarrelógio. A vantagem de ensaios em laboratório é o controle da maioria das variáveis, como a carga de trabalho (velocidade, volume, wattagem etc.) e temperatura ambiente.

Finalmente, qualquer melhora, seja do ponto de vista fisiológico, metabólico, muscular ou mental, que possa promover repercussões no desempenho atlético, ou seja, melhorar no ritmo (*pace*), velocidades médias, wattagem etc. já é mais que suficiente para afetar a colocação em um pódio olímpico ou na vitória de uma prova importante. Segundo CHRISTENSEN et al. (2017), é necessário menos de 1% de mudança na velocidade média para que o resultado entre competidores possa ser diferente. Pegando de exemplo a prova de ciclismo de estrada das Olimpíadas do Rio 2016, a diferença entre os três primeiros medalhistas, a diferença foi de 0,01%, prova foi vencida pelo ciclista Belga *Greg Van Avermaet*, que ganhou escapado, disputando o 1º lugar com outros 4 ciclistas, ganhando a prova em um *sprint* de pouco mais de 100m. O desempenho em corridas de longa distância, resistência aeróbica ou *endurance*, depende da integração de múltiplos fatores fisiológicos e psicológicos, trabalhando em conjunto para regular a intensidade do exercício de forma que reduza o tempo gasto ou melhore o trabalho realizado (HETTINGA et al. 2017). O atleta de alto

rendimento no desejo (ou na angústia) de buscar o melhor resultado, vai lançar mão de recursos ergogênicos legais para atingir seu objetivo atlético. É multifatorial a melhora do desempenho e não pretendemos esgotar o assunto com esse artigo, mas abrir novos horizontes e perspectivas quando se trata de exercício de alto rendimento e desempenho a partir do uso da CAF como um recurso ergogênico.

## 6. CONCLUSÃO

Apesar da literatura ser bastante ampla quanto ao ergogenicidade da CAF (SOUTHWARD, RUTHERFURD-MARKWICK, ALI, 2018; GLAISTER, GISSANE, 2017), neste estudo a suplementação aguda de  $4 \text{ mg.kg}^{-1}$  de CAF não apresentou diferenças significativas no seu efeito ergogênico o tempo geral um teste de corrida de 5000 m rasos quando comparado a suplementação PLA. A possibilidade do efeito da CAF ter sido mascarado pelas temperaturas elevadas aos quais os participantes foram submetidos, parece perder força, pois mesmo os testes tendo sido realizados em um período do ano muito quente, os tempos por quilômetro, mesmo não sendo significativos, é possível verificar que a CAF tem efeito no desempenho dos 3 primeiros quilômetros, mas isso também pode ser uma estratégia dos participantes em função do nível de treinamento e experiências em provas. A resposta individual também se mostrou inconclusiva, possivelmente pelo tamanho da amostra que tira o poder estatístico das análises. Finalmente, a diferença de tempo de um medalhista de ouro, para seus outros concorrentes possivelmente seja de menos de 1%, mas é esse menos de 1% que todo atleta de alto rendimento busca quando lança mão de um recurso ergogênico com a CAF para atingir o melhor desempenho possível.

## 7. AGRADECIMENTOS

Ao Prof. **Alvaro Reischak de Oliveira**, que numa conversa de bar, tomando café e comendo pão de queijo me “convidou” para participar do GEFEX. Eu sei lá de onde ele tirou que eu poderia contribuir. Deu nisso. **OBRIGADO PROFESSOR**, por toda orientação, por todas as puxadas de orelha, mas principalmente por acreditar e confiar que valia a pena, porque eu tive muitas dúvidas.

Ao meu co-orientador professor **Nelson Jurandi Rosa Fagundes**, que numa corrida sem nenhuma pretensão se ofereceu para me auxiliar com a genética da tese. E de um TCC que ele me convidou para ser banca, acabou saindo um artigo com quenianos e etiopes!

Aos amigos **Fábio Lanferdini, Francesco Boeno, César Moritz** e ao **Thiago Ramis**, que foram os caras que me convenceram a fazer esse (2º) doutorado.

Aos colegas que formaram a minha equipe de trabalho: **Rodrigo Leal, Gabriel Tossi, Raquel Bender, Cassiano Silva, Vítor Delavald, Emerson Fragoso e Samuel Munhoz**, sem vocês a mágica nunca aconteceria. Vocês seguram muitas encrencas. Agradeço de coração.

Aos professores **Nadia Cristina Valentin, Flávio Castro, Jerri Ribeiro, Giovani Cunha, Jeam Geremia, Thiago José Leonardi, Ronei Pinto, Maurício Krause, Janice Mazo, Leonardo Tartaruga e Ricardo Petersen**, professores que marcaram muito minha trajetória acadêmica na Educação Física dentro da ESEFID/UFRGS, pela competência, excelência e carinho.

Aos servidores do LAPEX: **Marli A. de Melo, Alex Fagundes, Luciano Wutke, Márcio Maldonado, Ricardo E. Santos e Cláudio Gonçalves**, que estavam sempre dispostos a me ajudar a entender o quão complexo é o LAPEX.

Não poderia deixar de agradecer a **professora Clarice Rocha, aos professores Eurico Wilhelm, Jeam Geremia e Thiago Leonardi**, que durante 5 anos foram meus

supervisores no estágio como extensionista na Prestação de Serviços do LAPEX. Eu aprendi muito com cada um de vocês.

Agradecimento *in memoriam* ao servidor **Luiz Pinto Ribeiro** (onde quer que tu estejas agora), pela amizade e pelas resenhas todos os dias de manhã com nosso amigo **Anderson Osório**.

A amigo e colega de barra (2016/1) **Rodrigo Leal**. Teu sobrenome fala muito (ou quase tudo) de ti. Grande **Amigo** que a ciência me presenteou. “Nesta reta final da tese e deste TCC, tu foste incansável me ajudando nas análises finais, montando os gráficos e criticando o manuscrito com muito critério e clareza. Muito obrigado Xará!

Gostaria de mencionar meus dois filhos **Davi e Bernardo**... foi por vocês que eu me sacrifiquei tanto, só que a recompensa que eu queria era outra: mais convívio com vocês dois juntos, o que não veio a acontecer. Não me arrependo absolutamente de nada. Amo vocês dois cada vez mais!

Agradecer ao meu amigo de longa data **Cleimar Rodrigo Tomazelli**, colega de assessoria (em nome de toda a **Companhia dos Cavalos**), que sempre me incentivou, apoiou e muito conversou comigo sobre ciência aplicada. FORZA E BOA PROVA!

E finalmente a minha esposa, **Adriana Wolf Friedrich**, que quando escrevia e finalizava esse manuscrito, ela cuidava de uma menina que nasceu prematura de 35 semana, a nossa princesinha **Betina**, Eu não saberia por onde começar a te agradecer e descrever tudo que tu já fizeste por mim em tão pouco tempo. TE AMO!!

## 8. REFERÊNCIAS

ANDERSON, O. Running Science. 595p. 2013

ALTERMANN, A. M., C. S. DIAS, M. V. LUIZ, F. NAVARRO. A influência da cafeína como recurso ergogênico no exercício físico: sua ação e efeitos colaterais. Revista Brasileira de Nutrição Esportiva, São Paulo, v. 2, n. 10, p. 225-239, Julho/Agosto, 2008.

ALTIMARI, L. R., J. MELO, M. TRINDADE, et al. Efeito ergogênico da cafeína na performance e, m exercícios de média e longa duração. Revista Portuguesa de Ciências do Desporto. Vol. 5, nº 1 [87–101]. 2005.

ALTIMARI, L. R., A. C. MORAES, J. TIRAPGUI, R. L. M. MOREAU. Cafeína e *performance* em exercícios anaeróbios. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas/*Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. vol. 42, n. 1, jan./mar., 2006.

BELL, D.; T. M. MCLELLAN. Effect of Repeated Caffeine Ingestion on Repeated Exhaustive Exercise Endurance. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 2003. Doi: 10.1249/01.MSS.0000079071.92647.F2.

BENOWITZ, N. L. Clinical pharmacology of caffeine. *Annu Rev Med* 1990; 41:277–288.

BUDD, G. M. Wet-bulb globe temperature (WBGT) – its history and its limitations. *Journal of Science and Medicine in sport*. 11, 20-32. 2008.

BLACK, C. D.; D. E. WADDELL; A. R. GONGLACH. Caffeine's Ergogenic Effects on Cycling: Neuromuscular and Perceptual Factors. *MEDICINE & SCIENCE IN SPORTS & EXERCISE*. 2014. Doi: 10.1249/MSS.0000000000000513.

BURKE, L. M. Caffeine and Performance. *Appl. Phys. Nutr. Metab.* 33. 1319-1334. 2008.

CHURCH, D. D. et al. The effect of an acute ingestion of Turkish coffee on reaction time and time trial performance. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* (2015) 12:37 Doi 10.1186/s12970-015-0098-3.

COHEN, J. A power primer. *Psychological Bulletin*, 112, 155-159. 1992. Doi: 10.1037/0033-2909.112.1.155.

CORNELIS, M. C.; A. EL-SOHEMY; E. K. KABAGAMBE; H. CAMPOS. Coffee, CYP1A2 Genotype, and Risk of Myocardial Infarction. *JAMMA*. Vol 295, No 10, March. 2006.

CHRISTENSEN P. M.; SHIRAI Y, RITZ C; NORDSBORG NB. Caffeine and bicarbonate for speed. A meta-analysis of legal supplements potential for improving intense endurance exercise performance. *Front Physiol.* 2017; 8:240.

FERNÁNDEZ-ELÍAS, V. E. et al. Ingestion of a Moderately High Caffeine Dose Before Exercise Increases Postexercise Energy Expenditure. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 25, 46 -53 <http://dx.doi.org/10.1123/ijsnem.2014-0037> . 2015.

FERGUSON, B. ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription 9th Ed. 2014. *J Can Chiropr Assoc.* Sep, 58(3): 328, 2014. <https://doi.org/10.1186/s40798-021-00310-0>

FERGUSON, H. A.; C. HARNISH; J.G CHASE. Using Field Based Data to Model Sprint Track Cycling Performance. *Sports Medicine.* 7:20. 2021.

FRANTZ, D. M.; D. V. VELASCO; F. G. AMARAL. Ergonomia no esporte: as condições térmicas ideais para a prática de esgrima. XX Congresso Brasileiro de Ergonomia. 2020.

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

GANIO, M. S., J. F. KLAU, D. J. CASA, L. E. ARMSTRONG, C. M. MARESH. Effect of caffeine on sport-specific endurance performance: a systematic review. *J Strength Cond Res*. 23(1): 315-24, 2009.

GLAISTER, M.; C. GISSANE. Caffeine and Physiological Responses to Submaximal Exercise: A Meta-Analysis. *International Journal of Sports Physiology and Performance*. August, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1123/ijsp.2017-0312>

GOLDSTEIN, E. R. T. ZIEGENFUSS, D. KALMAN, et al. International society of sports nutrition position stand: caffeine and performance. *J Int Soc Sports Nutr*. 7(1): 1-15, 2010.

GRAHAM, T. E. Caffeine, Coffee and Ephedrine: Impact on Exercise Performance and Metabolism. *Can. J. Appl. Physiol*. 26 (Suppl.): S 1 03-S 1 19, 2001.

GRGIC, J. Are There Non-Responders to the Ergogenic Effects of Caffeine Ingestion on Exercise Performance? *Nutrients*. 10, 1736. P. 1-5, 2018.

GUEST, N. et al. International society of sports nutrition position stand: caffeine and exercise performance. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* (2021) 18:1. <https://doi.org/10.1186/s12970-020-00383-4>

HECKMAN, M.A., J. WEIL, E. G. de MEJIA. Caffeine (1, 3, 7-trimethylxanthine) in foods: a comprehensive review on consumption, functionality, safety, and regulatory matters. *J Food Sci.* 75(3): Pp 77-87, 2010.

HETTINGA, F. J. et al. Editorial: Regulation of Endurance Performance: New Frontiers. *Frontiers in physiology.* published: 21 September 2017. doi: 10.3389/fphys.2017.00727.

HUGHSON, R. L.; L. A. STAUDT, J. M. MACKIE, Monitoring Road Racing in the Heat. *The Physician and Sports Medicine.* Vo. 11. N. 5. 1983.

ISAK. International Society for the Advancement of Kinanthropometry International Society for the Advancement of Kinanthropometry (ISAK). International standards for anthropometric assessment: A manual for teaching materials for accreditation. 2nd. Ed., 2006.

JEUKENDRUP, A. E. Nutrition for endurance sports: Marathon, triathlon, and road cycling. *Journal of Sports Sciences.* V 29, N sup 1, p. 91-99, 2011.

KERR, D. A. An anthropometric method for fractionation of skin, adipose, bone, muscle and residual tissue masses in males and females age 6 to 77 years. 1988.

LAURSEN, P.B. et al. Relationship between laboratory-measured variables and heart rate during an ultra-endurance triathlon. *J Sports Sci.* 23(10): 1111-20 2005.

LOPES, P. R. N. R. Efeito ergogênico da ingestão de cafeína sobre variáveis bioquímicas e de desempenho anaeróbio. 2015. Dissertação (Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Educação Física) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa/MG.

MAUGHAN, R. J., L. M. BURKE, J. DVORAK et al. IOC consensus statement: dietary supplements and the high-performance athlete. *Br J Sports Med.* 52, 439-455, 2018.

MELLO, D.; D. K. KUNZLER; M. FARAH. A cafeína e seu efeito ergogênico. Revista Brasileira de Nutrição Esportiva, São Paulo, v. 1, n. 2, p. 30-37, Mar/Abr, 2007.

MIELGO-AYUSO, et al. Effect of Caffeine Supplementation on Sports Performance Based on Differences Between Sexes: A Systematic Review. *Nutrients*, 11, 2313. 2019. doi: 10.3390/nu11102313.

NEHLIG, A. Interindividual Differences in Caffeine Metabolism and Factors Driving

O'ROURKE, M. P. et al. Caffeine has a small effect on 5-km running performance of well-trained and recreational runners. *Journal of Science and Medicine in Sport* (2008) 11, 231—233. doi: 10.1016/j.jsams.2006.12.118.

PITCHFORD, N. W., et al. Effect of caffeine on cycling time-trial performance in the heat *J Sci Med Sport* (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsams.2013.07.004>.

PATON, C. D., T. LOWE, A. IRVINE. Caffeinated chewing gum increases repeated sprint performance and augments increases in testosterone in competitive cyclists. *Eur J Appl Physiol*. 2010 Dec;110(6):1243-50.

RIBAS, S. F. Cafeína no retardo da fadiga e melhora da performance. Revista Brasileira de Nutrição Esportiva. V. 5, n. 28, pp. 285-297, 2010.

ROSS, W. D.; M. T. MARFELL-JONES. Kinanthropometry. In. MacDougall JD, Wenger HA, Green HJ, editores. *Physiological testing of the high-performance*. Champaign, Illinois. 1991.

SANSEN, S.; J. K. YANO; R. L. REYNALD; Adaptations for the Oxidation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Exhibited by the Structure of Human P450 1A2\* et al. *J. Biol. Chem.*, 282: 14348-14355. 2007.

SARIS, W. H. et al. PASSCLAIM – Physical performance and fitness. *European Journal of Nutrition*. 42 (suppl. 1), pp. 50–95, 2003.

SHEN, J. et al. Establishing a relationship between the effect of caffeine and duration of endurance athletic time trial events: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Science and Medicine in Sport*. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jsams.2018.07.022> .

SOUTHWARD, K., K. J. RUTHERFURD-MARKWICK, A. ALI. The Effect on Acute Caffeine Ingestion on Endurance Performance: A systematic Review and Meta-Analysis. *Sports Med*. 48(8), pp. 1913-1928, 2018.

SUVI, S. et al. Effects of caffeine on endurance capacity and psychological state in young females and males exercising in the heat. *Appl. Physiol. Nutr. Metab*. 2017.

SYLTA, Ø.; E. TØNNESEN; S. SEILER. From Heart-Rate to Training Quantification: A Composition of 3 Methods of Training-Intensity Analysis. *International Journal of Sports Physiology and Performance*, 9. 100-107. 2014. <http://dx.doi.org/10.1123/IJSP.2013-0298>.

WANG, Z.; B. QIU; J. GAO; J. D. COSO. Effects of Caffeine Intake on Endurance Running Performance and Time to Exhaustion: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients* 2023, 15, 148. <https://doi.org/10.3390/nu15010148>

WICKHAM, K. A. and SPRIET, L. L. Administration of Caffeine in Alternate Forms. *Sports Med* 48 (Suppl 1):S79–S91 <https://doi.org/10.1007/s40279-017-0848-2> 2018.

VOLK, B. M. e B. C. CREIGHTON. An Overview on Caffeine. *Nutrition and Enhanced Sports Performance*, 487-495, 2013.

YANG, A.; A. A. PALMER; H. WITT. Genetics of caffeine consumption and responses to caffeine. *Psychopharmacology*, 211:245–257, 2010.

## 9. TABELAS

**Tabela 1.** Valores descritos em média e desvio ( $\pm$  DP) dos atletas participantes.

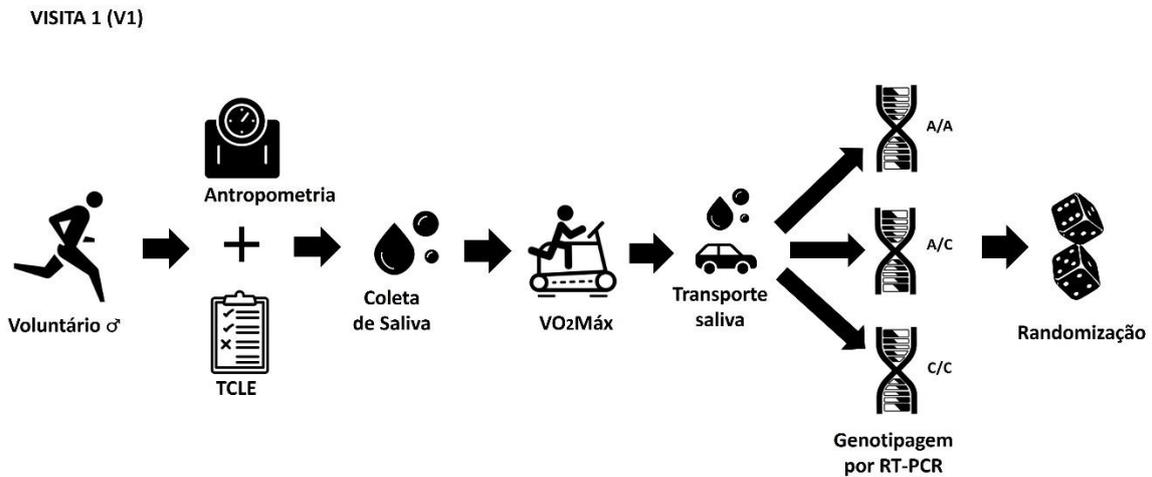
<b>CRITÉRIO</b>	<b>HOMENS (n = 13)</b>
IDADE (anos)	30,4 $\pm$ 6,8
MASSA (kg)	67,8 $\pm$ 7,5
ESTATURA (cm)	174,0 $\pm$ 4,9
MASSA MUSCULAR (kg)	34,5 $\pm$ 4,5
MASSA ADIPOSITA (kg)	16,2 $\pm$ 3,0
VO <sub>2</sub> MÁX (ml.kg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )	58,74 $\pm$ 4,6
vVO <sub>2</sub> MÁX (km.h <sup>-1</sup> )	19,15 $\pm$ 0,9
FCMÁX (bpm)	163 $\pm$ 51
PSE	17 $\pm$ 1
GENÓTIPO A/A	8,0 (61,53%)
GENÓTIPO A/C	5,0 (38,47%)
GENÓTIPO C/C	0,0 (0%)

Legenda. VO<sub>2</sub>Máx = consumo máximo de oxigênio; vVO<sub>2</sub> = velocidade crítica; FCMáx = frequência cardíaca máxima; PSEMáx = percepção subjetiva de esforço máximo; genótipo A/A = metabolizador rápido homocigoto; genótipo A/C = metabolizador lento heterocigoto; genótipo C/C = metabolizador lento homocigoto.

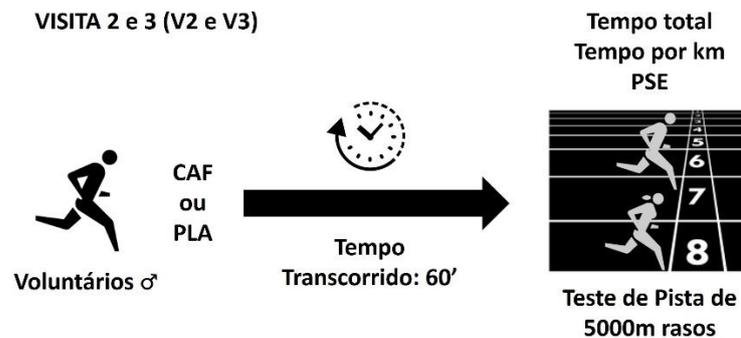
**Tabela 2.** Valores descritos em média e desvio padrão (DP). Temperaturas obtidas através do medidor de stress térmico durante os testes de pista de 5000 m rasos. Dados de termômetro de globo (TG)  $p = 0,48$ ; termômetro de bulbo seco (TGS)  $p = 0,70$ ; termômetro de bulbo úmido natural (TBU)  $p = 0,56$ ; índice de bulbo úmido – termômetro de globo (IBUTG)  $p = 0,56$ .

<b>PISTA PLACEBO (N = 13)</b>					<b>PISTA CAFEÍNA (N = 13)</b>				
ID	TG (°C)	TBS (°C)	TBU (°C)	IBTUG (°C)	ID	TG (°C)	TBS (°C)	TBU (°C)	IBTUG (°C)
1	33,3	27,8	26,7	28,1	1	35,7	29,2	27,1	29,0
2	35,7	29,2	27,1	29,0	2	33,3	27,8	26,7	28,1
3	34,7	27,6	24,1	26,6	3	35,8	28,1	24,6	27,2
4	37,2	29,9	27,3	29,5	4	30,1	25,7	22,3	24,2
5	36,8	29,2	27,9	29,8	5	38,8	33,4	29,2	31,5
6	31,2	26,8	21,9	24,3	6	32,1	29,1	24,9	26,8
7	39,1	28,1	26,6	29,3	7	31,2	26,8	21,9	24,3
8	35,1	27,2	25,9	27,9	8	34,7	27,2	24,1	26,5
9	33,9	29,2	27,6	29,0	9	36,5	31,5	28,6	30,5
10	34,1	28,1	26,9	28,5	10	33,3	27,8	26,7	28,1
11	35,7	29,2	27,1	29,0	11	37,4	27	23,2	26,4
12	41,2	35,6	32,1	34,3	12	42,4	35,8	33,3	35,4
13	37,4	27	23,2	26,4	13	35,0	28,7	26,1	28,1
<b>MÉDIA</b>	35,8	28,8	26,5	28,6	<b>MÉDIA</b>	35,1	29,1	26,1	28,2
<b>DP</b>	2,6	2,3	2,5	2,3	<b>DP</b>	3,3	2,9	3,1	3,0
<b>P =</b>	0,48	0,70	0,56	0,56					

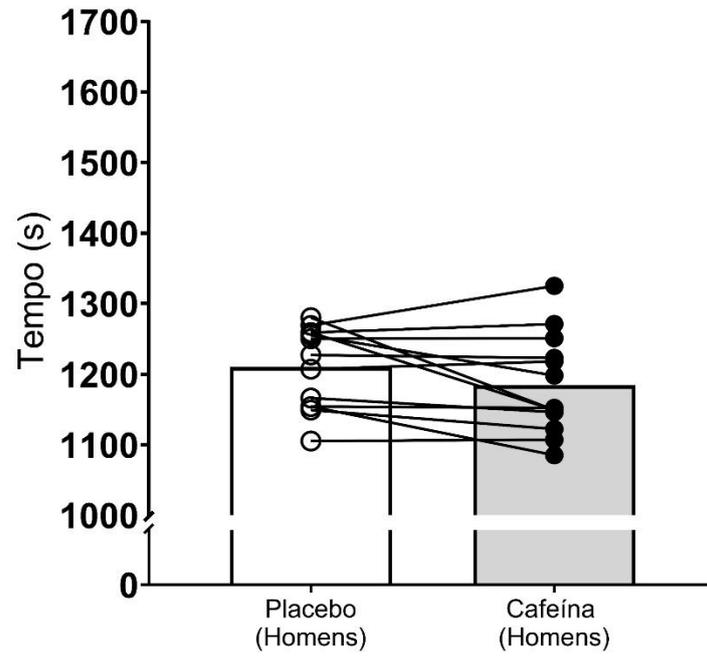
## FIGURAS



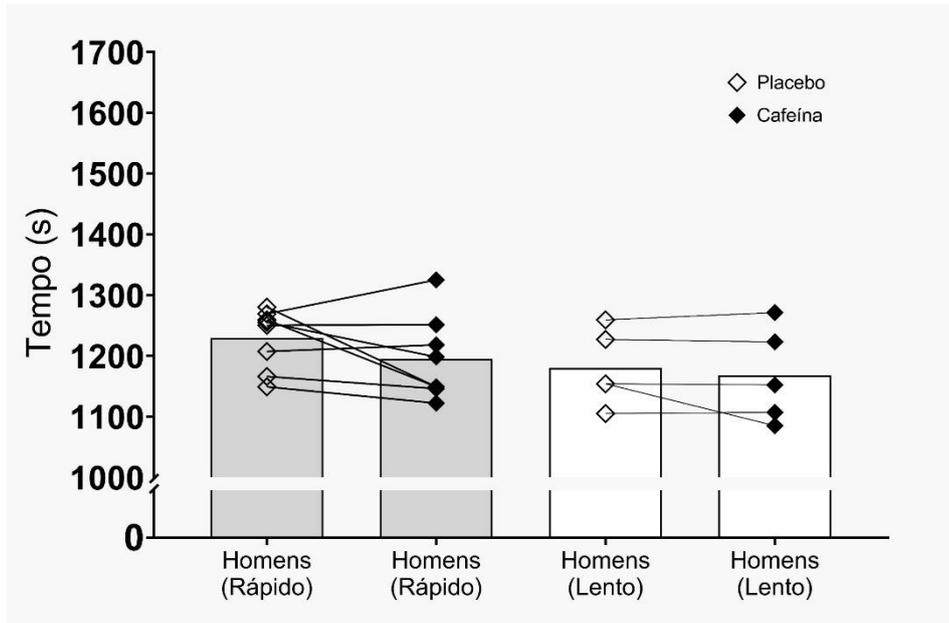
**Figura 1.** Visita 1 (V1). TCLE = Termo de Consentimento Livre e Esclarecido; VO<sub>2</sub>Máx = consumo máximo de oxigênio; genótipo A/A = metabolizador rápido homocigoto; genótipo A/C = metabolizador lento heterocigoto; genótipo C/C = metabolizador lento homocigoto. RT-PCR = reação em cadeia da polimerase em tempo real.



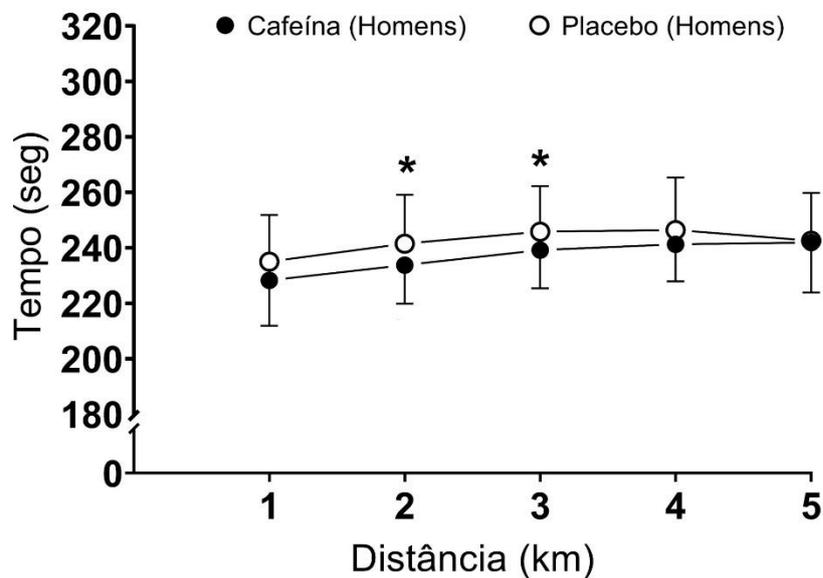
**Figura 2.** Visita 2 (V2) e Visita 3 (V3). CAF = cafeína; PLA = placebo; PSE = percepção subjetiva de esforço.



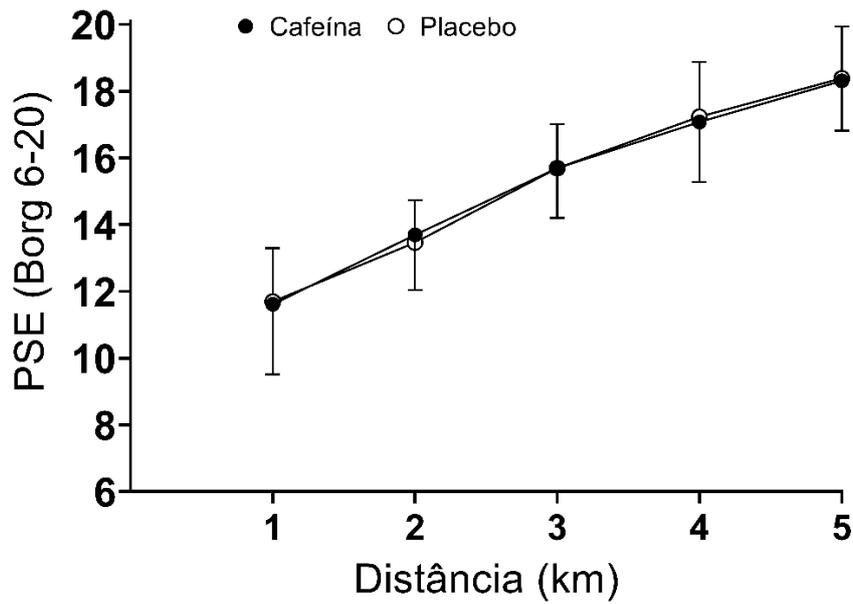
**Figura 3.** Os valores estão expressos em média ( $\pm$  DP). Teste de corrida 5000 m rasos na pista ( $p = 0,677$ ; e  $\eta^2_P = 0,031$ ) nas condições CAF e PLA para uma amostra de 13 corredores.



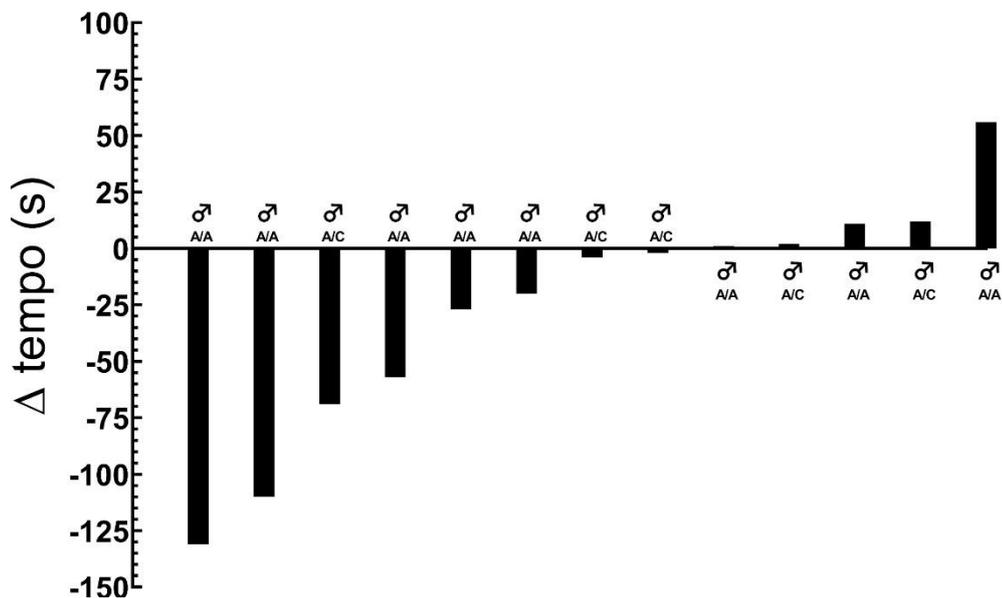
**Figura 4.** Tempo total de corrida de 5000 m rasos em pista. Tempo total comparando o tipo de metabolizador (rápido ou lento) e a condição (CAF ou PLA).  $P = 0,482$ ;  $\eta^2_P = 0,038$



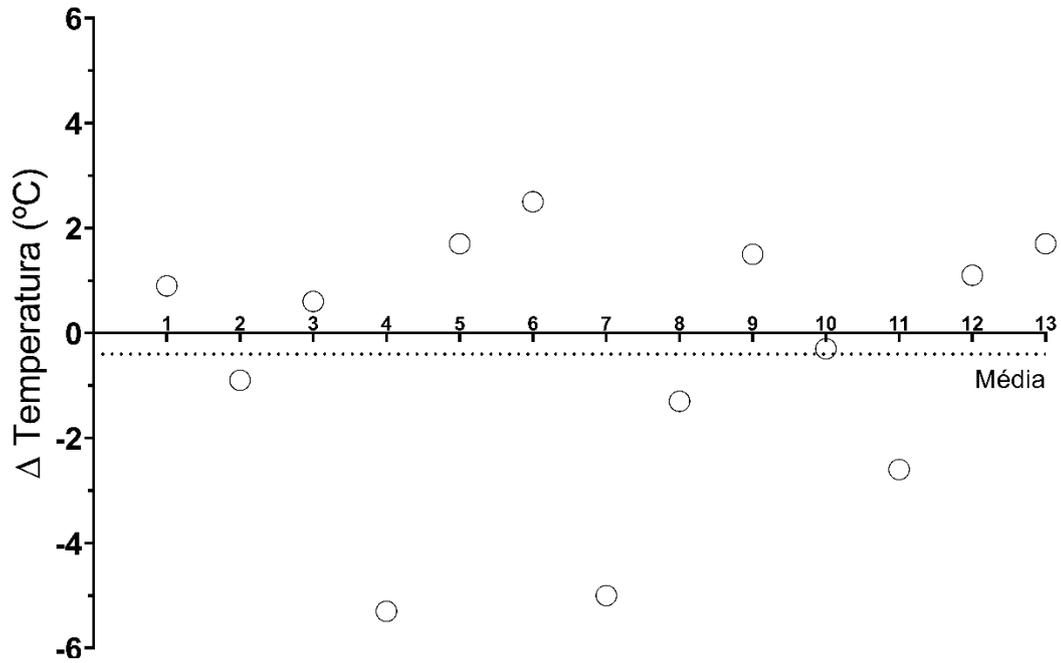
**Figura 5.** Tempo total do teste de pista por quilômetro. \* diferença significativa no 2º e 3º quilômetro sempre para o quilômetro anterior ( $P = 0,008$ ,  $\eta^2_P = 0,043$ ).



**Figura 6.** Percepção Subjetiva de Esforço (PSE) quilômetro a quilômetro nas condições CAF e PLA.



**Figura 7.** Resposta individual no teste de 5000 m rasos dos 13 participantes da amostra identificados pelo tipo de metabolizador para CAF. A/A = metabolizador rápido homozigoto; A/C = metabolizador lento heterozigoto.



**Figura 8.** Delta de variação das temperaturas de teste e reteste. Linha cheia representa o PLA; linha pontilhada representa a variação média de temperatura. Círculos representam a variação de temperatura para cada um dos 13 participante sob efeito da CAF.

## 11. ANEXO

### REVISTA SUGERIDA: *Applied Physiology, Nutrition and Metabolism*

#### Prepare your manuscript

##### Format and style

Manuscript text must:

- be in English or French
- be double-spaced
- be single-column
- include page numbers
- include continuous line numbers (before acceptance only)
- be 8.5 x 11 inches in page size (or ISO A4)
- follow this order: title page, abstract, keywords, body text (Introduction, Materials and methods, Results, Discussion), acknowledgements, references, tables, figure captions, figures, appendices

#### Abbreviations and acronyms

Define abbreviations and acronyms when they are first mentioned in the text.

#### Footnotes

In body text, try to avoid footnotes. If unavoidable, cite footnotes using superscript Arabic numbers <sup>(1,2,3)</sup>, in order of appearance (starting with the title page), and include the footnote at the bottom of the page on which it is cited. Do not include footnotes in the reference list.

In tables, cite footnotes using symbols (in the order \*, †, ‡, §, ||, ¶, #) or superscript lowercase italic letters (<sup>*a,b,c*</sup>).

#### Mathematical expressions

- Identify equations by calling out with numbers in parentheses placed flush with the left margin (for the *Canadian Journal of Physics*, place on the right).
- A letter or symbol should represent only one entity and be used consistently throughout the paper.
- Each variable (including those representing vectors, matrices, and tensors) must be clearly identified and defined in the text.
- Supply complex equations in an editable format by using LaTeX or a math editor (MathType).
- Supply simple, inline equations in Word, without using MathType. Insert symbols from Word's "Symbol" palette, using "normal text" or "Symbol" fonts only. Insert

symbols using MathType ONLY if they cannot be found in the “Symbol” palette under one of those two fonts.

## Reporting guidelines

Study reporting guidelines can help authors report their work transparently and accurately. We encourage their use. Up-to-date guidelines can be found at the [EQUATOR Network](#), where authors can [search](#) or [consult the GoodReports wizard](#) to identify which guideline(s) to use. A completed copy of the guideline checklist may be submitted with the manuscript as a Supplementary file.

## Spelling

Spelling should follow that of *Webster's Third New International Dictionary* or the *Oxford English Dictionary*. Authors are responsible for consistency in spelling.

## Statistical analyses

The assumptions and (or) the model underlying any statistical analysis should be clearly stated. Do not use symbols such as \* and \*\* to denote levels of significance unless accompanied by actual *p* values.

## Units of measure

Use SI units of measure ([Système international d'unités](#)). If non-SI units are used, at first mention, supply the equivalent in SI units in parentheses.

## Parts of the manuscript

Title page

### Title

Should be accurate, informative, and brief. Include keywords in the title to optimize search engine discovery.

### Author list

List all author names on the title page: check author order, spelling, capitalization, initials, and hyphens.

- Format names as: first name (or initial) middle name (or initial) last name (surname/family name).
- List affiliation(s) for each author that include: institution (department and university or organization), city, state or province, country. An author's affiliations should reflect where the research was conducted. If an author changes institution, the new affiliation can be listed in a footnote.

- Do not include academic degrees and professional titles.

**Authorship criteria:** We subscribe to the [ICMJE definition of authorship](#) in most cases. Any person listed as an author must meet each of these authorship criteria, and anyone who meets these authorship criteria must be listed as an author. Contributors who do not meet authorship criteria should be listed in the Acknowledgements section. Exceptions to our definition of authorship may exist for community-engaged research projects; please see our [Publishing Policy](#) for authorship and attribution options.

## Corresponding author

Clearly identify the corresponding author and their email address on the title page. The corresponding author is designated to receive post-publication queries from readers.

Note that authors may supply their ORCID iD on submission; these identifiers are not required on the title page itself.

## Abstract

Provide the abstract in the manuscript text file on page 2, after the title page. Authors must supply their abstract in English and/or French. (Note that CSP plans to accommodate author-provided abstract translations in other languages in the future.)

The abstract should be a single paragraph that summarizes the article. It helps readers decide whether to keep reading. Briefly describe the study rationale, objectives, methods, findings, and impact. Use keywords (and their plain-language synonyms) in the abstract to optimize search engine discovery. Do not include headings, reference citations, tables, figures, or acronyms.

## Keywords

List keywords after the abstract. Good keywords are common to your field and accurately describe your topic. Use keywords in the title, abstract, and manuscript text to optimize search engine discovery. (Consider what words you would enter in a search box to find your work online.)

## Graphical abstract

(Optional) Authors are encouraged to submit an illustration, diagram, equation, or other informative visual that explains the central message of the article and entices readers. The maximum allowable size is 40 mm (150 pixels) high by 85 mm (320 pixels) wide. Graphical abstracts appear online only.

## Plain language summaries

(Optional) At acceptance, authors are encouraged to submit a plain language summary of their article to increase the reach of their research. For guidelines and submission instructions, see [Writing a Plain Language Summary](#).

## Main body of the article

### Introduction

In 1–3 paragraphs, explain the study rationale and objective(s).

- What is the problem, and why is it important?
- What is known on the topic? Establish context: provide background, briefly review the key literature, and mention existing gaps or controversies in the field.
- What is the overall aim of the study? State your research question, hypotheses, and predictions.

### Materials and methods

Describe what you did (and how you did it) clearly and comprehensively enough for the study to be replicated.

- Include as appropriate the study design; primary and secondary outcome measures; computational, experimental, and statistical methods; materials; locations.
- Specify materials used (e.g., laboratory or field equipment, chemicals, biologic materials) and their sources (provide company name, city, and country in parentheses).

### Ethics approval

Information about Ethics Approvals should be reported in the Materials and methods section (usually the first paragraph).

For studies involving human participants:

- name the institutional ethics review committee that approved the study; and
- confirm that participants gave informed consent before participating in the study.

For studies involving animals:

- name the animal care review committee that approved the study;
- name the animal care guidelines that were followed (must be in line with the [Canadian Council on Animal Care guidelines](#) or the [Guide for the Care and Use of Laboratory Animals](#));
- confirm that research involving endangered species was conducted in accordance with all applicable laws; and
- if permits were required for fieldwork, supply the research permit and (or) license numbers.

For studies involving collection of specimens:

- confirm that research involving collection of specimens was conducted in accordance with all applicable laws, guidelines, regulations; and

- if permits were required for fieldwork, supply the research permit and (or) license numbers.

## Results

Report results that are directly relevant to your research question. Raw data and other observations may be submitted with the manuscript as Supplementary files or uploaded to a recognized data repository.

- Use subheadings, tables, and figures to organize and communicate your findings.
- Begin sections and (or) sentences with high-level observations, followed by statistical data.
- State the statistical tests used (if applicable), and when reporting numbers:
  - define the values provided (e.g., mean and standard deviation or standard error, median, and interquartile range), and
  - include the absolute value of  $N$  when describing frequencies (i.e., percentages, proportions, ratios).

## Discussion or Conclusion

Compare your findings with previously published work; include points of agreement and difference. Describe the limitations and main contributions of your work. Propose avenues of future study. Speculation should be clearly identified and based on observations related to the manuscript.

## Author statements

### Acknowledgements

(Optional) The names and contributions of institutions and people who contributed to the work but do not meet authorship criteria may be listed in the Acknowledgements section. This section should be written in the third person. Authors are responsible for ensuring that people named in the Acknowledgements agree to be named.

### Competing interests statement

Authors are responsible for disclosing all financial and non-financial relationships that might bias or be seen to bias their work. Supply a statement of competing interests during submission and on the article title page. Authors who are unsure what to list may wish to consult the [ICMJE form for disclosure of competing interests](#).

- If there is nothing to declare, the statement should read: “Competing interests: The authors declare there are no competing interests.”
- If there are competing interests to declare, specify authors by full name. Statements should take the form of “Competing interests: AUTHOR is an

employee and shareholder of COMPANY. AUTHOR has received speaker fees and travel honoraria from COMPANY.”

### Author contribution statement

Supply an author contribution statement, identifying authors by their initials and specifying contributions using the [Contributor Roles Taxonomy \(CRediT\)](#) roles as selected for each author in the peer-review system during submission.

### Community involvement statement

(Optional) For studies involving Indigenous communities or community-engaged research, authors may supply a community involvement statement that describes how the community was involved throughout the research process and how the study benefits the community. For guidelines on what to include in the statement and how to transparently report other features of the project in the article, refer to our [community-engaged research page](#).

### Funding statement

Supply a funding statement that lists what support the authors received to carry out the research.

- If the study was unfunded, state “Funding: The authors declare no specific funding for this work.”
- If the study received funding, include each funding agency name written out in full, followed by its grant or award number in parentheses. E.g., “Funding: This research was supported by FUNDING AGENCY NAME (grant No. ###).”

### Data availability statement

Supply a data availability statement that says whether any, all, or portions of the data underpinning the work are available to others.

- If data are available, specify how data can be accessed and under what conditions data can be reused. Supply repository name, persistent unique identifier (PID: DOI/compact identifier/accession number), and web link.
- If data are not available, explain why (e.g., describe the ethical, legal, or commercial restrictions).

For complete instructions, see [How to write a data availability statement](#).

## References

See journal-specific guidelines for information on preferred citation style. Note the following:

- **Unpublished reports, private communications, and submitted manuscripts** do not belong in the reference list. Include them as footnotes or parenthetically in the body text, e.g., (J. Jones, personal communication, 2010).
- **Books and articles that are in press** (accepted but not yet published) should be cited in text and included in the reference list.
- **Publicly available datasets** should be cited in text and included in the reference list (see [How to cite datasets](#)).

## Tables and Figures

In general:

- Cite each figure and table, and name them in order of first appearance in the text (Figure 1, Figure 2, Table 1, Figure 3, Table 2, etc.).
- Figures and tables should add information to the article, not duplicate results that are (or could be) explained briefly in the text.
- Figures and tables should be understandable without having to read the article. Any abbreviations or symbols used should be defined in the caption (figures) or in the Note (tables).

Table specifications:

- Supply tables in an editable format, i.e., Word (table function in DOC or DOCX) or Excel (spreadsheet in XLS or XLSX). Each data point should be in a separate cell.
- Provide a table caption (e.g., Table 1. Xxx).
- Footnotes should be designated by symbols (order: \*, †, ‡, §, ||, ¶, #) or superscript lowercase italic letters (*a,b,c*).
- Use a Note under the table for additional information.

Figure specifications:

See [How to prepare figures](#) for figure specifications and guidance.

- There are specific reporting requirements for [Western blots/immunoblots and gels](#).

A caption explains how to read a figure, independent of the article text. Follow the guidelines below:

- Terms, abbreviations, and symbols used must be defined and correspond with those in the text.
- List tools and settings used for image capture.
- Maps: captions must credit all sources used to produce the map: base map if used (e.g., [Google Map attribution guidelines](#)), and data plotted on the map (e.g.,

geological units and contacts, shape file data, boundary file data, data from other studies). List map projection (e.g., NAD83) and coordinate system (e.g., UTM) used, if applicable.

- Include a permission statement for figures adapted, modified, or republished from elsewhere. Upload a copy of your permission from the original copyright holder with your files, or send by email to the journal editorial office.

## Appendices

An appendix should be able to stand alone, as a separate, self-contained document. Figures, equations, and tables used in an appendix should be numbered sequentially but separately from those used in the main body of the paper, e.g., Fig. A1, eq. (A1), Table A1.

## Supplementary files

Supplementary files consist of extra tables, figures (maps), detailed calculations, and data sets produced by the authors as part of their research, but not essential for understanding or evaluating the manuscript.

- Number figures, equations, and tables in a supplementary file sequentially but separately from the numbering used in the manuscript (e.g., Fig. S1, eq. S1, Table S1).
- Cite supplementary files in the manuscript in a footnote.
- During submission, use the “Supplementary Material” file designation when uploading supplementary files.
- Supplementary files are not edited or converted and, therefore, will appear exactly as submitted.
- Supplementary files should be named by manuscript number followed by “suppla”, “supplb” etc. e.g., APNM-2019-0401suppla.

## Multimedia files

Authors may incorporate audio and video clips into their paper; these are published online, adding dimension to the paper. For submission guidelines and accepted formats, see technical specifications under [How to prepare a video abstract](#).