



**Universitat de les
Illes Balears**

Facultat de ciències

Memòria del Treball de Fi de Grau

Efectes de la cafeïna sobre la resposta inflamatòria induïda per l'exercici: actualització dels coneixements

Francina Jaume i Lliteras

Grau de Bioquímica

Any acadèmic 2013-14

DNI de l'alumne: 41570075J

Treball tutelat per Pedro Tauler Riera

Departament de Biologia Fonamental i Ciències de la Salut



S'autoritza la Universitat a incloure el meu treball en el Repositori Institucional per a la seva consulta en accés obert i difusió en línia, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació

Paraules clau del treball:

Exercici, resposta inflamatòria, cafeïna.

Índex

I. Resum/Abstract.....	4
II. Introducció.....	5
III. Mecanisme d'actuació de la cafeïna.....	7
IV. Resposta inflamatòria en l'exercici.....	11
V. Cafeïna com immuno-modulador.....	17
VI. Efectes de la cafeïna sobre la resposta inflamatòria durant l'activitat física.....	20
VII. Possibles conseqüències dels canvis induïts per la cafeïna en la resposta immunitària a l'exercici.....	26
VIII. Conclusions.....	27
IX. Bibliografia.....	28

I. Resum

Degut a que es troba en diferents productes de consum habitual, a més de pels seus coneguts efectes estimulants, la cafeïna és un compost molt consumit. Des del punt de vista esportiu la cafeïna és un dels pocs ajuts ergogènics permesos amb efectes positius ben contrastats. A més, es sap que la cafeïna pot influir sobre diferents teixits i sistemes de l'organisme actuant com a antagonista de l'adenosina i incrementant els nivells d'hormones com les catecolamines. Aquest treball de revisió es centra en els efectes de la cafeïna sobre diferents elements del sistema immunitari i, concretament, sobre la resposta inflamatòria a l'exercici. L'activitat física provoca una resposta de fase aguda similar a la induïda per una infecció i caracteritza, entre altres, per la mobilització de cèl·lules del sistema immunitari i per l'alliberació de citocines. S'ha comprovat que tant el sistema immunitari com el múscul, actors essencials en la resposta inflamatòria a l'exercici, són teixits diana de la cafeïna. Per tant, serà interessant veure com la cafeïna pot afectar a la resposta inflamatòria a l'exercici. Els estudis existents demostren que la cafeïna provoca un augment de la resposta dels elements antiinflamatoris, el que podria millorar la recuperació després de l'exercici, sobre tot a nivell muscular, i de la IL-6, que podria contribuir a millorar, a més, la disponibilitat energètica. De totes formes, degut a la varietat de mecanismes i teixits implicats, són necessaris més estudis per elucidar completament els efectes de la cafeïna sobre la resposta a l'exercici.

Abstract

Caffeine is a highly consumed compound because it is present in several products widely consumed and because its well-known stimulating effects. Regarding exercise, caffeine is one of the few effective ergogenic aids. In addition, caffeine can exert its influences over several tissues acting as antagonist of adenosine and also increasing, among others, catecholamine levels. This review is focused on the effects of caffeine on several components of the immune system and, in particular, on the inflammatory response to exercise. Physical activity induces an acute phase response similar to that induced by an infection. This acute phase response is characterized, among others, by the mobilization of immune cells and cytokine release. It has been demonstrated that both the immune system and the muscle, essential players in the inflammatory response to exercise, are target tissues of caffeine. Therefore, it will be interesting to determine whether caffeine could influence the inflammatory response to exercise. Existing studies show that caffeine causes an increase in the response of anti-inflammatory elements, which could improve the recovery post-exercise, especially at the muscle level, and of IL-6, which could also contribute to improving energy substrates availability. However, due to variety of mechanisms and tissues involved, further studies are necessary to fully elucidate the effects of caffeine on the response to exercise.

II. Introducció

La cafeïna és un compost mundialment conegut, sobretot pels efectes estimulants que exerceix sobre l'organisme. La seva història es remunta al segle XV quan va ser trobada per primera vegada en la llavor del cafè. Aquest és el producte que conté la quantitat més alta de cafeïna. A partir de l'arbust anomenat "*Cafeto*" es varen aconseguir aquestes llavors, característiques per provocar efectes estimulants quan són ingerides, tret que sempre ha estat atribuït a la cafeïna. Des d'aquest moment la cafeïna ha estat usada, en diferents formes, en àmbits tan diferents com el social, l'esportiu i el de la medicina.

Degut a la seva presència en molts de productes (cafè, te, xocolata, begudes refrescants, suplementes dietètics, etc.) [2] la cafeïna és probablement el producte farmacològic més consumit a nivell mundial, fet al que contribueixen també els escassos efectes adversos que produeix. De fet, si ens fixem exclusivament en el cafè, a Espanya les darreres estadístiques indiquen que el 63% dels espanyols majors de 15 anys consumeixen al menys una tassa de cafè al dia, amb un consum promig de 3,6 tasses per dia entre setmana i de 2,7 tasses per dia els caps de setmana, el que es tradueix en un consum setmanal estimat de més de 535 milions de tasses de cafè (dades de l'informe "*Café & Té: Hábitos de Consumo de Café en España*", 2012).

La cafeïna és un compost que forma part de la família de les metilxantines (composts alcaloides) [3]. És una substància psicoactiva que actua en l'organisme com a estimulants del sistema nerviós central, augmentant la vigília i provoca, en l'aspecte físic, un augment de la resistència a l'exercici i una disminució de la sensació d'esgotament [4]. Com a conseqüència d'aquests efectes ergogènics, els esportistes han consumit habitualment cafeïna. De fet, des de principis del segle XX s'han fet estudis científics que mostren els efectes ergogènics de la cafeïna. En aquest sentit, l'any 1907 *Rivers i Webber* [5] varen publicar el primer estudi realitzat amb un disseny adequat (utilitzant un grup placebo) sobre els efectes ergogènics de la cafeïna [5][6]. El que es va veure en aquest primer estudi va ser que un suplement de 500 mg de cafeïna incrementava el rendiment dels esportistes. A partir d'aquest primer, s'han realitzat multitud d'estudis centrats en determinar els possibles efectes ergogènics de la cafeïna, les dosis necessàries, el seu mecanisme d'acció i els diferents tipus d'exercici en els que s'observen els efectes ergogènics. Alguns d'aquests aspectes, principalment el mecanisme final de l'acció ergogènica, continuen sense estar totalment clarificats, encara que avui en dia s'accepta que l'únic mecanisme que realment intervé, és l'estimulació del sistema nerviós central.

Des del punt de vista de la legislació esportiva, el consum de cafeïna pels esportistes ha estat prohibit en diferents períodes. Fins fa pocs anys, la cafeïna era considerada com a substància dopant i prohibida pel Comitè Olímpic Internacional. El seu consum estava restringit [7], de forma que concentracions de cafeïna superiors a 12 mg/L a orina es consideraven com a control de dopatge positiu. L'any 2004 però, es va decidir excloure la cafeïna de la llista de productes dopants per diferents motius. Entre aquests es consideren els escassos efectes adversos que provoca el seu consum (un dels criteris per considerar substància dopant era els efectes nocius per a la salut que provocava la substància), el fet que es trobi distribuïda en molts de productes alimentaris de consum molt habitual, les diferències significatives entre individus en la seva metabolització, i també el fet de que les dosis amb efectes ergogènics generaven nivells a orina inferiors al límit de 12 mg/L que estaven per davall els límits de detecció dels mètodes aplicats. Va ser llavors quan els esportistes varen incrementar el seu interès per la cafeïna, i probablement el seu consum, a més de que va augmentar de forma significativa el nombre de productes per esportistes que la contenien com begudes energètiques, gels, etc. En qualsevol cas es continua fent el seguiment del consum de cafeïna ja que es troba en la llista de substàncies a controlar de l'Agència Mundial Antidopatge, el que vol dir que en qualsevol moment, si es detecta un abús del seu consum, podria ser inclosa de nou a la llista de substàncies prohibides.

Des del punt de vista del rendiment esportiu, el resultat més consistent és que la cafeïna exerceix l'efecte ergogènic màxim en exercicis d'una durada de 30-60 minuts [6]. Aquesta observació ha provocat que es proposés que majoritàriament la cafeïna fa els efectes ergogènics màxims en exercicis de intensitat submàxima, en els quals la combinació de durada i intensitat no comprometen les reserves energètiques, concretament els nivells de glucogen. En qualsevol cas, alguns autors indiquen que la cafeïna també millora el rendiment en exercicis d'alta intensitat i curta durada.

Per unificar al màxim les condicions, els estudis científics utilitzen dosis de cafeïna referides al pes corporal. Pel que fa a les dosis estudiades, aquestes solen trobar-se entre els 2 i 9 mg per Kg de pes corporal. En general, quan es parla d'estudis que fan referència a una activitat física que no impliqui una extenuació molt ràpida, es va comprovar en un primer estudi que dosis de 2,1 mg per Kg de pes ja produïen efectes ergogènics. En aquest mateix estudi, es va veure que dosis de 3,2 i 4,5 mg/Kg de pes produeixen uns efectes ergogènics superiors. El grup d'investigadors de *Graham et al* [6], ha realitzat experiments on s'ha observat que els efectes produïts per una dosi de cafeïna de 6 mg/Kg eren superiors als efectes que s'observaven utilitzant dosis inferiors, però dosis de 9 mg/Kg no provocaven efectes ergogènics addicionals. Per això, es suggereix que les dosis de cafeïna més

indicades per produir efectes ergogènics estan entre 3 i 6 mg/Kg de pes corporal [6]. De fet, la majoria dels estudis científics actuals utilitzen la dosi de 6 mg/kg de pes corporal.

En quan a la farmacocinètica, s'ha observat que una hora després de la ingesta de la cafeïna els nivells a plasma ja estan en els valors màxims, mantenint-se en valors superiors al 90% dels màxims durant unes quatre hores. Per tant, en general, quan es volen aconseguir els efectes ergogènics de la cafeïna es recomana la seva ingesta una hora abans de començar l'exercici. En qualsevol cas, la cafeïna pot arribar a estar present a l'organisme fins a 9-11 hores després de la seva ingesta, ja que es metabolitzada molt lentament [6].

S'atribueixen diferents efectes fisiològics a la cafeïna. El més destacat, i al qual avui en dia s'atribueix l'efecte ergogènic, és l'estimulació del sistema nerviós central on provoca sobretot, una disminució de la sensació de fatiga [6]. A més, s'han trobat altres efectes, alguns dels quals deriven de l'augment de la concentració plasmàtica de catecolamines induïda per la cafeïna. Així s'ha vist que la cafeïna provoca augment de la vigília, augment de l'estat d'alerta, increment de la freqüència cardíaca, disminució del temps de reacció a un estímul i mobilització de les reserves d'àcids grassos.

Encara que no es consideren massa importants, excepte en casos puntuals de intolerància, la cafeïna pot provocar alguns efectes negatius per l'organisme. Entre ells destaquen l'augment de l'acidesa gàstrica, la disminució d'absorció intestinal de ferro i l'augment de la probabilitat de deshidratació en èpoques de calor degut al seu efecte diürètic [6]. A més, degut al fet que és un estimulants pot provocar nerviosisme, insomni i ansietat. Però, per una altra part, els consumidors habituals de cafeïna, si la deixen de ingerir poden experimentar, entre d'altres efectes, migranyes i fatiga [6].

S'ha indicat que la cafeïna pot influir sobre pràcticament tots els teixits de l'organisme, entre ells el sistema immunitari. De fet alguns autors han suggerit que la cafeïna exerceix un efecte antiinflamatori. Aquest treball de revisió es centra en els efectes de la cafeïna sobre diferents elements del sistema immunitari i, concretament, sobre la resposta inflamatòria a l'exercici.

III. Mecanismes d'actuació de la cafeïna

Els mecanismes fisiològics d'actuació de la cafeïna que s'han pogut comprovar i que són viables a concentracions fisiològiques de cafeïna, impliquen l'activitat de la cafeïna com a antagonista dels receptors d'adenosina, modificant els nivells del segon missatger monofosfat

d'adenosina cíclic (AMPc), que està implicat en multitud de processos fisiològics. De fet, s'ha suggerit que utilitzant les dosis i els suplementos habituals, la cafeïna exerceix molt majoritàriament els seus efectes a través de l'antagonisme dels receptors d'adenosina [6][8]. Tot i això s'han proposat altres mecanismes d'actuació de la cafeïna, com a través de la inhibició dels enzims fosfodiesterases, el que també modificaria els nivells d'AMPc, actuant sobre els canals de calci, o una acció indirecta augmentant els nivells d'hormones com l'adrenalina i cortisol.

L'adenosina és un nucleòsid purínic format per una molècula d'adenina unida a una molècula de ribosa. Aquesta adenosina juga un paper important en la bioquímica i fisiologia de l'organisme, participant en multitud de processos a l'organisme. L'adenosina exerceix el seu efecte principal al sistema nerviós central on duu a terme, entre d'altres funcions, la modulació de l'alliberament de neurotransmissors, a més de la plasticitat sinàptica, l'acció de neuroprotecció en condicions de falta d'oxigen (hipòxia). L'adenosina també és important a l'organisme pels seus efectes característics de vasoconstricció i vasodilatació d'artèries, a més d'exercir un efecte important sobre la funcionalitat de certs elements del sistema immunitari [9].

L'adenosina es sintetitza tant de forma intracel·lular com extracel·lular a partir del metabolisme de l'adenosina trifosfat (ATP), essent el seu precursor més immediat la 5'-adenosina monofosfat (5'-AMP). Per una altra part, l'adenosina es metabolitza, per acció de l'adenosina desaminasa, a inosina. En el cas de ser sintetitzada de forma intracel·lular, l'adenosina és alliberada a l'exterior per medi de transportadors bidireccionals passius que transportaran l'adenosina a través de la membrana plasmàtica per l'acció d'un gradient de concentració. Després de ser alliberada a l'espai extracel·lular, o després de ser sintetitzada a nivell extracel·lular, l'adenosina difon fins a cèl·lules pròximes on s'unirà de forma específica a certes estructures extracel·lulars que la reconeixen i que constitueixen els receptors d'adenosina [10]. Es coneixen quatre tipus de receptors d'adenosina: A1, A2a, A2b i A3 [11]. Tots els receptors d'adenosina estan lligats a l'enzim adenilat ciclasa i, per tant, poden modificar les concentracions d'AMPc [12]. Els receptors es troben en gairebé la totalitat dels teixits de l'organisme; de fet, els podem trobar en teixits tant diversos com el cervell, els adipòcits, el múscul esquelètic o les cèl·lules del sistema immunitari [6][8].

Els quatre tipus de receptors presenten una estructura molt similar i pertanyen a la família dels receptors acoblats a proteïnes G (GPCR) [10]. Els quatre receptors d'adenosina presenten una estructura que inclou set α -hèlix transmembrana amb l'extrem amino-terminal dirigit cap a l'exterior cel·lular d'una α -hèlix transmembrana unida a un domini amino-terminal. Serà aquest extrem amino-terminal, conjuntament amb altres petits dominis extracel·lulars situats entre les α -hèlix, el punt on s'unirà l'adenosina. Per altra banda, l'extrem carboxi-terminal presenta diversos residus de serina i

treonina que seran diana per la fosforilació de les proteïnes quinases que permetran la dessensibilització d'aquests receptors. Aquest extrem carboxi-terminal permet, per altra banda, l'acoblament amb la família de proteïnes G [9]. D'aquesta manera, els receptors A1 i A3 es troben units a la família de proteïnes Gi o bé Go, mentre que els receptors A2 es troben units a Gs [13]. Per aquest motiu, respecte de les concentracions d'AMPc, els efectes que provoca l'adenosina quan s'uneix als receptors A1 o A3 i quan s'uneix al receptor A2 són contraris, ja que quan s'uneix als receptors A1 o A3 s'inhibeix la producció d'AMPc, mentre que quan s'uneix al receptor A2 s'activa la producció d'AMPc [9].

Pel que fa a l'activació dels receptors, l'A1, que provoca la inhibició de l'adenilat ciclasa, es troba lligat a varies vies que inclouen les proteïnes quinases C (PKC), a més de la via de la fosfoinosítid 3 quinasa (PI3K) i la de la proteïna quinasa activada per mitogen (MAPK). El receptor A1 és el majoritari del múscul i, a més, es localitza en les neurones de l'escorça, en l'hipocamp i en el cerebel. En els astròcits, oligodendròcits i micròglia es troben en les regions sinàptiques modulant l'alliberació de neurotransmissors [9]. A través de l'activació d'aquest receptor es produeix l'obertura dels canals de K^+ al mateix temps que s'inhibeixen els canals de Ca^{2+} , on d'aquesta forma es durà a terme la senyalització neuronal que serà la que permetrà exercir les funcions de determinades molècules a través d'aquest receptor.

El receptor A2a es considera que és el majoritari de les cèl·lules del sistema immunitari. A més, aquest tipus de receptor es troba situat a les espines dendrítiques i a les regions post-sinàptiques dels ganglis basals. A l'activitat del receptor A2A d'adenosina hi participen les proteïnes Gs, que activen l'adenilat ciclasa, augmentant, tal com s'ha comentat prèviament, la concentració d'AMPc [14]. Aquests receptors realitzen la seva funció a través de dues vies principals, o bé a través de la via de la proteïna quinasa A-ciclasa dependent d'AMPc, o bé a través d'unes proteïnes intercanviadores activades per AMPc (EPAC) [11, 13]. El receptor A2b es localitza en baixes concentracions en cèl·lules del sistema immunitari, cèl·lules neuronals i glials [9]. Com els A2a, els receptors A2b activen l'adenilat ciclasa, augmentant els nivells de AMPc.

Finalment, els receptors A3 es troben localitzats en concentracions baixes en l'hipocamp del còrtex, el cerebel i el cos estriat de les neurones, astròcits i micròglia [9]. Aquest tipus de receptor provoca la inhibició de l'adenilat ciclasa i activa la fosfolipasa C (PLC). Cal dir que aquest receptor, quan s'uneix a l'adenosina pot influir sobre diferents tipus de vies metabòliques [13].

Pel que fa a la constant de dissociació dels receptors d'adenosina, tal com es pot veure a la Taula 1, el que té una major afinitat per l'adenosina és el receptor A1, mentre que el de major

afinitat per la cafeïna és el receptor A2a. En els dos casos, el receptor de menor afinitat és el A3. De fet, el seu alt valor de Kd, al menys en comparació amb els altres tres receptors, fa que es consideri que no té afinitat per la cafeïna i, per tant, no participi dels efectes d'aquesta. La distinció entre A2a i A2b fa referència a que, com es pot comprovar a la taula, els primers tenen alta afinitat mentre que els segons tenen baixa afinitat pels agonistes.

Taula 1. Constants de dissociació (Kd) dels receptors d'adenosina per l'adenosina i la cafeïna

Receptor adenosina	Kd adenosina (μM)	Kd cafeïna (μM)
A1	0,07	12
A2a	0,150	2,4
A2b	5,1	13
A3	6,5	80

*Dades obtingudes de Fredholm et al. 1999 [8].

Les concentracions extracel·lulars d'adenosina que es troben en un individu normal, en estat basal són, aproximadament, 1 μM . En canvi, en individus en un estat de sèpsia (en presència o no d'isquèmia i d'hipòxia) es troben concentracions plasmàtiques d'adenosina d'entre 4 i 10 μM , i en individus amb estrès cel·lular es troben en concentracions d'adenosina de 100 μM . Per una altra part, s'ha de considerar que la suplementació habitual de cafeïna de 6 mg/kg de pes provoca una pujada dels nivells de cafeïna en plasma fins a una concentració aproximada de 35-50 μM , el que estaria per damunt de la Kd dels tres receptors sobre els que es considera que actua la cafeïna. De fet, s'han dut a terme estudis que han constatat que dosis baixes de cafeïna (per exemple les corresponents a la ingesta habitual de cafè en els espanyols que consumeixen al menys una tassa de cafè al dia i que s'ha comentat al principi) ja permeten que la cafeïna interaccioni amb els receptors d'adenosina A1 i A2, exercint els seus efectes.

Per tant, la cafeïna, actuant com a antagonista de l'adenosina, podrà modificar els nivells d'AMPC, augmentant o disminuint els nivells d'AMPC d'una forma inversa al que faria l'adenosina. El fet de que els receptors d'adenosina provoquin efectes diferents sobre els nivells d'AMPC, fa que sigui necessari veure quin és el receptor d'adenosina majoritari en un teixit per saber quin serà l'efecte de la cafeïna sobre els nivells d'AMPC en aquell teixit.

Quan s'estudien els efectes de la cafeïna sobre els nivells d'AMPC, s'ha de considerar, a més, que la cafeïna és un inhibidor de la AMPC fosfodiesterasa, enzim que hidrolitza l'AMPC. Per tant, la cafeïna podria augmentar els nivells de AMPC, inhibint la seva hidròlisis [15]. Però es considera que les concentracions necessàries per a aquesta inhibició són molt superiors a les concentracions fisiològiques, inclús a les que es solen aconseguir amb les dosis de cafeïna comentades prèviament i utilitzades habitualment en els estudis sobre els seus efectes ergogènics [16]. Per tant, amb les concentracions circulants habituals de cafeïna, es pot considerar que aquesta actuaria molt majoritàriament com a antagonista dels receptors d'adenosina. En qualsevol cas, el fet de que hi hagi un gran nombre de isoformes de la PDE, cada una amb estructures i característiques diferents, fa impossible descartar totalment la seva participació [15].

La cafeïna, a més de modificar els nivells d'AMPC, i en relació al tema del present treball, pot exercir alguns dels seus efectes modificant el nivell de certes hormones. Així, s'ha comprovat com la cafeïna estimula l'alliberació de catecolamines, principalment adrenalina, y també de cortisol [17], hormones que contribuiran a alguns dels efectes de la cafeïna que es comentaran posteriorment. De fet, a més, existeix un efecte combinat, ja que s'ha de considerar que els receptors d'adrenalina β estan acoblats a proteïnes Gs, que activaran l'adenilat ciclase per formar AMPC. Això podria ser quantitativament important a teixits com el múscul, on hi trobam aquests receptors.

IV. Resposta inflamatòria a l'exercici

Durant la pràctica d'activitat física es genera una resposta immunitària de fase aguda similar a la que es desenvolupa front a un procés d'infecció. Com a part d'aquesta resposta de fase aguda, es produeix una resposta inflamatòria caracteritzada per una important alliberació de citocines i altres molècules pròpies del sistema immunitari i mobilització de leucòcits [18]. Les citocines són proteïnes de mida petita que juguen un paper molt important en la regulació de la resposta inflamatòria en resposta a un estímul patològic o d'estrès físic. Les citocines poden ser classificades en citocines antiinflamatòries o pro-inflamatòries depenent de la funció que realitzen a l'organisme però sobre tot dels efectes que provoquen.

L'exercici físic, especialment quan és intens i/o prolongat, provoca un canvi transitori en el nombre de leucòcits circulants [19]. Aquests canvis afecten principalment a neutròfils, limfòcits i monòcits. Així en els neutròfils s'observa un augment en dues fases, augmentant el seu nombre

durant l'exercici i, d'una forma més marcada, una vegada acabat el mateix (el que a vegades s'anomena neutrofilia retardada). En general es considera que el nombre de neutròfils augmenta de forma proporcional a la durada i la intensitat de l'exercici. En canvi el comportament del nombre de limfòcits és diferent ja que augmenta durant i després d'exercicis curts i intensos mentre que si es tracta d'exercicis prolongats s'observa, després de l'exercici, una important disminució del seu nombre, arribant a nombres inferiors als basals. Finalment, el nombre de monòcits no sol variar durant l'exercici però augmenta de forma significativa una vegada finalitzat el mateix. Es considera que les noves cèl·lules que apareixen a la circulació durant o després de l'exercici provenen del que s'anomena "pools marginals", com per exemple les mateixes parets dels vasos sanguinis, i de la medul·la òssia [20]. És important considerar que després de la mobilització d'aquestes cèl·lules, s'observa un augment de la interacció entre els leucòcits i les cèl·lules endotelials del teixit del múscul esquelètic, amb la conseqüent infiltració de leucòcits des del torrent sanguini cap al interstici muscular, en el que suposa un dels esdeveniments essencials de la resposta inflamatòria a l'exercici i que iniciarà el procés de reparació muscular [21]. De fet, s'ha observat que la depleció específica dels monòcits circulants provoca un empitjorament del procés de reparació i regeneració muscular [22].

S'ha proposat que la mobilització de cèl·lules del sistema immunitari reflexa alguns canvis hormonals que es produeixen durant l'exercici, especialment en relació a les catecolamines i al cortisol, hormones que habitualment augmenten en resposta a l'exercici [20]. Cal remarcar els efectes que produeixen les hormones sobre el sistema immunitari contribuint a modular la resposta immunitària associada a l'estrès que suposa l'exercici físic, especialment quan és intens i/o prolongat. La secreció d'hormones adrenals (cortisol i adrenalina) és estimulada durant la realització de l'activitat física com a conseqüència de l'estimulació de l'eix hipotàlem-pituïtari-adrenal i del sistema nerviós central simpàtic que es produeix durant l'exercici. L'augment de l'activitat del sistema nerviós central simpàtic estimularà l'alliberació de catecolamines (principalment adrenalina i, en menor quantitat, noradrenalina), a més d'estimular la secreció de cortisol. Les catecolamines (adrenalina i noradrenalina) són produïdes per la medul·la adrenal, i s'emmagatzemen al fetge fins que arriba l'hora de la seva utilització, aleshores són excitades.

Així, i en relació als efectes de les hormones sobre la mobilització de cèl·lules durant l'exercici, pareix que les catecolamines, adrenalina i noradrenalina, podrien ser responsables de l'augment del nombre de limfòcits durant l'exercici, mentre que el cortisol seria el responsable de la davallada del mateix nombre després de l'exercici. En el cas dels neutròfils pareix que catecolamines, cortisol, hormona de creixement, i fins i tot la IL-6, podrien contribuir al augment del nombre de neutròfils circulants. En concret, pareix que el cortisol seria el responsable de l'increment del nombre de

neutròfils una vegada finalitzat l'exercici [2]. Per tant, aquest podria ser un exemple de la via neuroendocrina que involucra les diferents funcions dels sistemes endocrí, nerviós i immunitari i els permet inter-comunicar-se. La presència de receptors endocrins i el contacte anatòmic entre els sistemes limfoide i nerviós permet una connexió real entre aquests sistemes.

La resposta de fase aguda que es produeix davant d'infeccions o situacions d'estrès es caracteritza per la participació, entre altres elements, d'un nombre elevat de proteïnes sintetitzades en el fetge, com la proteïna C reactiva (CRP), i citocines com TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-1ra, IL-12 i el receptors de TNF- α (TNF-R) i de la IL-1 (IL-1ra). Algunes d'aquestes citocines tenen com a funció facilitar el flux de limfòcits i neutròfils, entre d'altres cèl·lules del sistema immunitari, al torrent sanguini [1], participant del procés que s'acaba de descriure.

La resposta de fase aguda que es produeix en resposta a l'exercici físic segueix aquest mateix patró, amb algunes particularitats, tal com es pot observar a la Figura 1. En aquesta figura es comparen els canvis induïts per un procés de sèpsia (A) i per l'activitat física (B) en els nivells de citocines. Les primeres citocines que apareixen en el procés de sèpsia són les anomenades pro-inflamatòries, en aquest cas el TNF- α i la IL-1. Seguidament trobem en la cascada inflamatòria del sistema immunitari l'activació de la IL-6. Aquesta interleucina té gran importància en processos infecciosos ja que com es pot veure a la figura té un pic màxim de concentració. En ambdós casos, tant en la sèpsia com en l'exercici. A partir d'aquí és poden valorar alguns efectes diferents que s'observen en ambdós processos. Per una banda, s'observen els valors de TNF- α , el qual no apareix en la resposta inflamatòria en l'exercici físic. Per altra banda, veim que la IL-1 tampoc apareix en la resposta en l'activitat física.

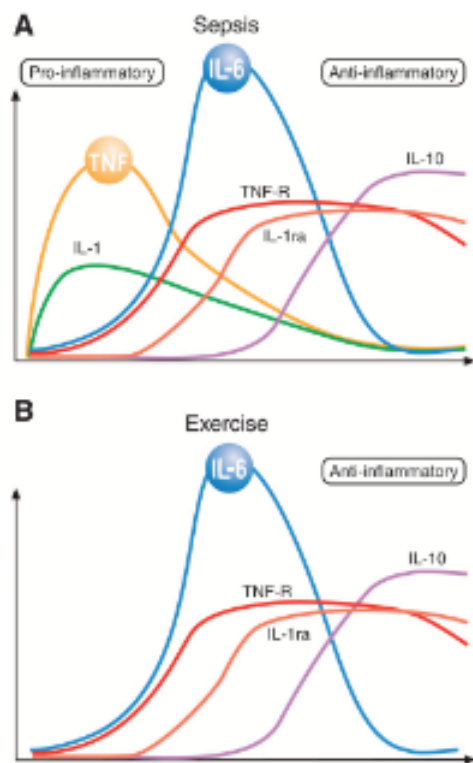


Figura 1. A) Cascada de senyalització en procés infecciós. B) cascada de senyalització en exercici físic. Extret de Petersen et al. [1].

En el procés de la cascada de citocines en la circulació sanguínia que s'origina com a resposta a l'exercici, s'ha comprovat que s'inicia amb la síntesi i alliberació de IL-6, aquesta és possiblement la interleucina més important, en la resposta inflamatòria induïda per l'exercici físic.

A partir d'aquesta citocina iniciadora s'estimulen el TNF-R i el IL-1ra, que són els primers elements en estar presents en el lloc de la inflamació, però no arriben a la circulació sanguínia fins després de la IL-6, però no augmenten els nivells de TNF- α i IL-1 que si ho feien en el procés de sèpsia [1]. De fet, s'ha demostrat que la IL-6 inhibeix la producció de TNF- α i IL-1 β . Concretament, en el cas del TNF- α s'ha provat que la IL-6 inhibeix la producció de TNF- α induïda per lipopolisacàrids (LPS) [23]. De fet, en estudis posteriors realitzats per *Starkie et al.* [1] s'ha vist com la IL-6 estimula l'alliberació de TNF-R, però no estimula l'alliberació de TNF- α ni IL-1 β [24]. En qualsevol cas, s'ha de remarcar que la IL-6 té característiques pro i antiinflamatòries. Quan la IL-6 es troba crònicament elevada, amb uns valors dues o tres vegades superiors als basals normals, produeix uns efectes pro-inflamatoris dins la situació coneguda com a inflamació sistèmica crònica de baixa intensitat. Però quan la IL-6 augmenta de forma temporal després d'un exercici agut, s'ha demostrat que produeix uns efectes clarament antiinflamatoris, ja que inhibeix l'aparició de les citocines pro-inflamatòries com el TNF- α i la IL-1 i, a més, estimula l'aparició de citocines antiinflamatòries com la IL-10, que és probablement la interleucina antiinflamatòria més important. Aquests motius han dut a suggerir que la resposta a l'exercici és globalment antiinflamatòria.

Per una altra part, la IL-6 influeix sobre el metabolisme energètic ja que estimula tant la lipòlisi com la glicogenòlisi, actuant, per tant, d'una manera molt similar a les hormones (ja que s'encarrega de mobilitzar substrat extracel·lular per abastir la demanda energètica en moments de realització d'activitat física). A més, s'ha demostrat que la IL-6 indueix la síntesi de cortisol, hormona essencial durant l'activitat física perllongada ja que contribueix al subministra de substrats energètics. El cortisol durant la pràctica d'exercici físic és pot veure estimulat per la IL-6 de dues formes: per l'activació de la glàndula pituitària anterior amb la conseqüent producció d'ACTH, o pot ésser produït directament per una estimulació de les glàndules adrenals per la IL-6 [25]. Per tot això, alguns investigadors han suggerit que la IL-6 és el factor clau de la resposta de l'organisme davant l'activitat física.

En els últims anys s'han dut a terme estudis que han demostrat que la concentració d'ARNm de l'IL-6 s'incrementa en el teixit muscular esquelètic en resposta a la pròpia contracció muscular (encara que la magnitud de l'augment dependrà dels factors indicats prèviament). A partir d'aquests fets s'ha provat que la IL-6 s'expressa en les fibres musculars en contracció i que es alliberada des del múscul esquelètic durant l'exercici físic [26]. De fet, s'ha demostrat que durant l'activitat física el múscul és molt majoritàriament el productor d'aquesta interleucina i avui dia és un fet acceptat per la comunitat científica que el múscul en sí mateix, és un gran productor de moduladors inflamatoris en general, que aquests reben el nom de miosines [27]. Anteriorment, es suposava que la síntesi d'IL-

6 durant l'exercici es produïa en els monòcits, entre altres cèl·lules del sistema immunitari, però des de fa uns anys s'ha constatat que en moments d'activitat física el múscul és el seu màxim productor, i una petita quantitat d'aquesta és produïda pel teixit adipós i teixit cerebral [28]. Cal recordar que pràcticament tots els teixits de l'organisme tenen la capacitat per sintetitzar IL-6. És important considerar, que s'han observat nivells elevats del receptor d'IL-6 a plasma i a fibres musculars esquelètiques després de la finalització de l'exercici. La presència del receptor en el propi múscul ha fet que es proposés que la IL-6 actua com a factor autocrí, influint al propi múscul que la genera.

S'han identificat diferents mecanismes que poden provocar la síntesi de IL-6 induïda per la contracció muscular. L'alliberació o mobilització de Ca^{2+} en el teixit muscular durant la realització d'activitat física podria ser un dels factors essencials que induís la síntesi de IL-6, ja que s'ha comprovat que la IL-6 és sintetitzada pel múscul esquelètic a través d'una via dependent de Ca^{2+} . Durant la contracció muscular es produeix una alliberació de calci des del reticle endoplasmàtic, que pareix que és un dels esdeveniments més importants pel que fa a la regulació de l'expressió de les interleucines musculars [29]. A més, s'ha hipotetitzat en l'estudi de *Cora Weigert et al.* [29] que la ràpida activació de la quinasa dependent de AMP (AMPK) durant l'exercici, podria provocar l'augment de l'expressió de la IL-6 gràcies a la transducció de la senyal induïda per l'activació d'aquesta quinasa. A més, també s'ha indicat que l'estrès oxidatiu podria ser un estímul per la síntesi de IL-6 en el múscul, per medi de l'activació de factors de transcripció implicats en la via de síntesi de la IL-6.

En general, la magnitud amb que la IL-6 augmenta durant l'activitat física és proporcional a la durada i a la intensitat de l'exercici. En relació a aquesta observació, s'ha demostrat que el nivell de glucogen muscular és un dels determinants més importants en quan a la magnitud de la resposta de la IL-6 a s l'exercici. Així, s'ha vist que les concentracions de IL-6 augmenten de forma exponencial quan disminueixen les reserves de glucogen muscular. En aquest sentit, s'han fet estudis que evidencien que la ingesta d'hidrats de carboni, amb un efecte estalviador dels depòsits de glucogen, atenua els increments d'IL-6 circulant durant l'exercici. A la pràctica, s'ha demostrat que a baixes concentracions de glucogen muscular s'incrementa la quantitat d'ARNm de IL-6 [30]. Per tant, quan el contingut previ de glucogen muscular es més alt, o s'aporta un suplement d'hidrats de carboni durant l'exercici que provoqui un estalvi de glucogen, la producció de IL-6 és inferior. Per això, la IL-6 es considera com a un sensor energètic de l'organisme i es pot veure com la pròpia alimentació, o l'administració d'alguns suplementes, podria modificar la resposta de la IL-6 a l'exercici. La resposta de la IL-6 a l'exercici també pareix que depèn de la massa muscular de l'atleta, de la seva capacitat física així com de la seva forma física [1].

Respecte de la resposta de les interleucines a l'exercici, i en relació al que es pot veure a la Figura 1 cal destacar, a més del que ja s'ha comentat, l'augment de la IL-10 que es produeix d'una forma lleugerament retardada respecte al de la IL-6. La IL-10 s'ha comprovat que incrementa la seva concentració per estimulació del sistema immunitari durant la realització d'exercici. Però també s'ha comprovat que concentracions molt elevades de IL-6 estimulen la producció de IL-10, confirmant els efectes antiinflamatoris que s'han atribuït a la IL-6. Tal com s'ha indicat prèviament la IL-10 és una interleucina clarament antiinflamatòria, probablement la més important. Així, inhibeix la producció de IL-1 α , IL-1 β i TNF- α (citocines pro-inflamatòries). A més, també du a terme una inhibició de la síntesi d'altres citocines pro-inflamatòries sintetitzades en el múscul com la IL-8 [31], així com d'altres elements pro-inflamatoris sintetitzats en els monòcits i neutròfils [1, 32]. Aquests efectes inhibitoris es produeixen a nivell de la transcripció dels gens que codifiquen per aquests elements pro-antiinflamatoris [31]. Així, la IL-10 inhibeix la síntesi de IL-8 (citocina pro-inflamatòria) a través de la inestabilització de l'ARNm que codifica per la IL-8. D'aquesta manera, la IL-10 juntament amb IL-6 contribuirà a l'ambient antiinflamatori que es genera en resposta a l'exercici [18]. És important destacar que recentment s'ha vist que el propi múscul també produeix IL-10, i que aquesta producció muscular de IL-10 augmenta durant l'exercici [33].

Encara que no apareix en la Figura 1, cal reconèixer els efectes realitzats per la IL-12, ja que aquesta és una citocina que participa de forma important en la resposta immunitària. La IL-12 està constituïda per un heterodímer format per dues subunitats unides per un pont disulfur. Una de les subunitats té una massa de 35 KD (subunitat p35) i la segona té una massa de 40 KD (subunitat p40). Mentre que la IL-12 es considerada com a una citocina pro-inflamatòria que té com a funció principal la de modular la resposta del sistema immunitari, la subunitat lliure p40 es considerada com a antiinflamatòria, encara que exerceix els seus efectes de forma indirecta ja que actua inhibint la IL-12. D'aquesta manera la subunitat p40 pren gran importància en el mecanisme de regulació de la resposta immunitària aguda [34]. La concentració de la subunitat lliure p40 augmenta després de la realització d'activitat física aguda, arribant a valors màxims després d'un temps d'haver finalitzat l'exercici, que pot ser d'una hora [35]. Per contra, en general la IL-12 no es detecta en persones sanes ni abans ni després de l'exercici. L'augment de la subunitat p40 podria contribuir a la característica antiinflamatòria de la resposta a l'exercici. En referència a aquesta subunitat, és important considerar que la seva síntesi es estimulada per l'AMPc, tal com ja s'ha indicat per la IL-10.

A més, la mobilització de cèl·lules i de l'alliberació de citocines, hi ha altres elements del sistema immunitari que poden augmentar en resposta a l'exercici, especialment proteïnes de baix pes molecular. Probablement el més important d'aquests elements és la proteïna C reactiva (CRP),

classificada com a pro-inflamatòria. Aquesta proteïna es sintetitzada majoritàriament en el fetge i, en general, els nivells més alts de concentració plasmàtica de CRP es troben 24 hores després d'haver finalitzat una activitat física molt perllongada. Aquesta cinètica, ha dut a pensar que la seva síntesis i alliberació està induïda per algun dels elements del sistema immunitari que prèviament s'han alliberat.

En resum, la resposta inflamatòria que es genera front a la pràctica d'activitat física aguda implica, en primer lloc, un augment de IL-6 circulant que es mantindrà durant la pràctica de l'exercici, fins hores després de la finalització d'aquesta activitat. Després de la IL-6, es produirà un increment en els nivells plasmàtics de, TNF-R, IL-1ra, IL-10 i la subunitat p40, totes elles amb característiques antiinflamatòries. Finalment, es pot produir un augment de la CRP quan es tracti d'un exercici molt perllongat.

V. *Cafeïna com a agent immuno-modulador*

L'AMPc és un segon missatger amb propietats immuno-moduladores, el que implica que modificacions en els nivells d'AMPc influiran sobre la resposta inflamatòria [10]. Diferents estudis han demostrat que l'AMPc influeix sobre la síntesis de citocines. Així, la cafeïna, modificant les concentracions de AMPc, sigui per via directa o a través de la major alliberació d'adrenalina, podria modificar l'estat inflamatori de l'organisme. Per exemple, un augment d'AMPc afavoriria el caràcter antiinflamatori de la cafeïna ja que activa la via de la proteïna quinasa depenent d'AMPc (PKA) que, per una banda, promourà la inhibició de la producció de factors pro-inflamatoris com puguin ser el TNF- α i la IL-12, entre d'altres. I, per altra banda, l'activació d'aquesta via promourà l'estimulació de factors antiinflamatoris com la IL-10 i altres elements sintetitzats per cèl·lules mononuclears, a més de l'expressió de factors de transcripció per IL-4 i IL-3 [10]. S'ha comprovat també, que l'augment de la concentració d'AMPc inhibeix la proliferació de limfòcits i neutròfils circulants [36]. Tots aquests efectes suposen una prova de la capacitat immuno-moduladora de la cafeïna per medi de la modificació dels nivells d'AMPc [10]. En qualsevol cas, s'ha de recordar que degut als diferents efectes generats pels diferents receptors d'adenosina, s'hauria de veure quin és l'efecte de la cafeïna sobre cada teixit a estudiar o, alternativament, l'efecte sistèmic per medi dels nivells circulants de les citocines i altres elements.

Per tant, si la cafeïna modifica els nivells d'AMPc, i l'AMPc modula la síntesi de molts de

composts que participen en la resposta inflamatòria, es podria esperar que la ingesta d'un suplement de cafeïna modifiqués l'estat inflamatori de l'organisme o la resposta inflamatòria produïda davant estímuls com l'activitat física [37].

Els efectes immuno-moduladors de la cafeïna s'han estudiat majoritàriament en experiments *in vitro*. Aquests estudis s'han centrat tant en els efectes sobre els elements de la resposta immunitària innata com en els efectes sobre elements de la resposta adaptativa. De fet, s'han estudiat els efectes sobre paràmetres tant diferents com la producció de citocines per part de cèl·lules del sistema immunitari, la producció d'anticossos i, fins i tot, la massa d'alguns teixits relacionats amb el sistema immunitari. S'ha de considerar que en la majoria dels experiments realitzats *in vitro* s'utilitzen concentracions de cafeïna de 100 μM i superiors, que són valors que no tenen valor fisiològic ja que és pràcticament impossible aconseguir aquestes concentracions circulants de cafeïna amb el consum de productes com el cafè, però inclús també amb suplementacions amb quantitats de 6 mg de cafeïna per kg de pes. De fet, la utilització d'aquestes dosis en estudis *in vitro* pot ser la causa que ha duit a alguns autors a proposar que els efectes de la cafeïna sobre el sistema immunitari, que aquests autors han qualificat com a antiinflamatoris, eren produïts per la inhibició de la AMPc-PDE [13]. Però tal com ja s'ha comentat prèviament, es creu que *in vivo* és pràcticament impossible que les concentracions de cafeïna inhibeixin la AMPc-PDE, ja que no es poden aconseguir aquestes altes concentracions circulants de cafeïna. A més, aquesta afirmació es va fer en un moment en el qual es creia que les citocines eren produïdes exclusivament per les cèl·lules del sistema immunitari, cosa que avui en dia es sap que no és certa, tal com s'ha comentat i es tornarà indicar posteriorment.

En la Taula 2 es mostren els detalls més importants d'alguns d'aquests estudis. Les mostres de sang utilitzades, o algunes poblacions cel·lulars purificades a partir d'elles, han estat estimulades amb diferents antígens i en presència de cafeïna. Per tant, en aquest cas s'estudia l'efecte de la cafeïna sobre la producció de citocines estimulada per un antigen, a més de la cafeïna. Aquest suposa un dels dissenys d'estudi més habituals en aquest camp d'estudi. És essencial considera que en tots els casos que es mostren a la Taula 2 les concentracions de cafeïna utilitzades superen els valor fisiològics habituals. Per tant, encara que són interessants a l'hora d'establir alguns dels mecanismes implicats (influència de la cafeïna modificant, probablement, els nivells d'AMPc), els resultats no es poden extrapolar al nivell fisiològic humà.

Taula 2. Efectes de la cafeïna sobre la producció de citocines *in vitro* induïda per diferents estímuls

Citocina	Cèl·lules/Teixit	Estímul	Efecte	Referència
IL-1β	Sanguini	<i>S.Pneumoniae</i>	---	Van Furth et al.,1995 [38]
TNF-α	Sanguini	<i>S.Pneumoniae</i>	Disminueix	Van Furth et al.,1995 [21]
	Mastòcits (rata)	Anti-DNP IgE i DNP-HSA	Disminueix	Shin et al., 2000 [39]
	Sanguini	LPS	Disminueix	Horrigan et al., 2004 [10]
	Monòcits	CEA-AGE	---	Meiners et al.,2004 [40]
	Cèl·lules esplànquiques (ratolí)	Con A	Disminueix	Ritter et al.,2005 [41]
IL-10	Sanguini	<i>S.Pneumoniae</i>	Disminueix	Van Furth et al.,1995 [21]
IL-2	Clon de cèl·lules Th1 (ratolí)	PCC o SEB	Disminueix	Rosenthal et al.,1992 [42]
	Cèl·lules esplèniques (ratolí)	Con A	Disminueix	Ritter et al.,2005 [24]
IL-4	Clon de cèl·lules Th2 (ratolí)	Conalbumina o SEB	Disminueix	Rosenthal et al.,1992 [25]
IL-5	Sanguini	Con A	Disminueix	Horrigan et al., 2004 [10]
IFN-γ	Sanguini	Con A	Disminueix	Horrigan et al., 2004 [10]
	Cèl·lules esplèniques (ratolí)	Con A	Disminueix	Ritter et al.,2005 [24]

Quan no s'indica vol dir que és teixit humà. *CEA-AGE: Productes de glicosilació avançada d'albumina d'ou de gallina; Con A: concanavalina A; DNP: dinitrofenil; HAS: albumina sèrica humana; PCC: citocrom C de colom; SEB: enterotoxina d'estafilococs.

S'ha descartat en primer lloc, que concentracions de cafeïna afegides al medi de cultiu produeixin efectes visibles sobre la producció de IL-1 β [38] per part del conjunt de cèl·lules immunitàries i de TNF- α per part dels monòcits [40]. Per altra banda, es pot observar que la concentració de les altres citocines de les mostres disminueixen en presència de cafeïna. Així, la producció de TNF- α per part del conjunt de cèl·lules immunitàries [10], de mastòcits [39] i de cèl·lules esplànquiques [41] sí que disminueix en presència de cafeïna, a diferència del comentat prèviament. Pel que fa a la producció d' IL-2 [24][42], IL-4 [25] i IL-5 [10] per part de diferents tipus cel·lulars, es pot observar com es produeix una disminució generalitzada. Pel que fa al IFN- γ , tant en cèl·lules esplèniques com en cèl·lules sanguínies circulants, es veuen disminuïts els seus valors en presència de cafeïna [10][24]. Un dels principals efectes del IFN- γ es activar els macròfags, que promourien la inflamació tissular [10]. Totes les citocines comentades fins ara són pro-inflamatòries. Per tant, fins a aquest punt podria parèixer que la cafeïna genera en el conjunt de cèl·lules sanguínies un efecte antiinflamatori, tal com s'ha indicat [13]. D'aquí que s'hagués plantejat que la cafeïna

exerceix un efecte antiinflamatori, al menys en condicions *in vitro*. Però quan s'observa la producció d' IL-10 es veu que també disminueix amb la cafeïna [21], el que fa pensar que inclús en aquestes condicions *in vitro* l'efecte de la cafeïna no és exclusivament antiinflamatori. En el cas de la IL-10, que és probablement el més interessant, si considerem els receptors d'adenosina majoritaris en les cèl·lules del sistema immunitari la disminució de la producció de IL-10 és un resultat lògic, ja que els receptors presents a aquestes cèl·lules, en presència de cafeïna, inhibiran la síntesis d'AMPc i, per tant, de IL-10. Només la utilització de concentracions de cafeïna que inhibissin l'AMPc-PDE justificaria un augment d'AMPc i, per tant, de IL-10. Això és precisament el que es va veure en un altre grup d'experiències *in vitro*, que varen dur a determinar que la cafeïna exercia efectes antiinflamatoris per medi de la inhibició de la AMPc-PDE, però utilitzant una concentració de cafeïna 100 μM . A diferència dels estudis inclosos en la Taula 2, en aquest nou grup d'estudis s'utilitzaven, com a controls, antagonistes o inhibidors de l'AMPc, per assegurar que els efectes observats eren deguts a l'augment de les concentracions d'aquest compost. Així, per exemple, es va veure com la cafeïna augmentava els nivells d'AMPc en monòcits estimulats amb LPS de forma paral·lela a una disminució de la producció de TNF- α [43]. Aquesta inhibició de la síntesis de TNF- α era revertida quan s'afegia Rp-8-Br-cAMPS, un antagonista de l'AMPc.

VI. Efectes de la cafeïna sobre la resposta inflamatòria durant l'activitat física

No hi ha massa estudis centrats en investigar els efectes de la cafeïna sobre diferents elements de la resposta inflamatòria en l'exercici. Els pocs que existeixen, i que es comentaran a continuació, es podrien dividir en dos grups. Els primers es centren en estudiar l'efecte de la cafeïna sobre la resposta d'algunes citocines a l'exercici. Els segons es centre en estudiar els efectes de la cafeïna sobre algun aspecte de la funcionalitat de cèl·lules del sistema immunitari, com neutròfils i limfòcits, en resposta a l'exercici. En general, a més, tots els estudis inclouen l'efecte de la cafeïna sobre el nombre de cèl·lules circulants del sistema immunitari.

En un primer estudi es va veure com la cafeïna augmentava els nivells de IL-6 en resposta a l'exercici, juntament amb l'adrenalina, en una població de 12 homes [5]. Els participants en l'estudi presentaven, entre altres característiques, una edat mitjana d'uns 22 anys, una alçada de 178 cm, pes d'uns 70 kg i una $\text{VO}_2\text{màx}$ de 59,8 $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$. A més, tenien una ingesta mitja diària de cafeïna de 140 mg, el que podria suposar una ingesta equivalent a 2 cafès diaris. Després d'haver determinat

el seu $VO_2\text{màx}$ els participants varen realitzar el test físic principal de l'estudi que consistia en 120 minuts d'exercici en un cicloergòmetre a una intensitat corresponent al 65% de la capacitat màxima ($VO_2\text{màx}$) de cada individu. Aquest test es feia una hora després d'haver ingerit aleatòriament el suplement de 6 mg de cafeïna per kg de pes o el placebo (cada participant realitzava el test en les dues condicions, constituint, per tant, el seu propi control). En aquest estudi es varen obtenir mostres de sang abans de la realització de l'activitat física, just després d'haver finalitzat l'exercici, i una hora després d'haver finalitzat l'exercici. Es va obtenir el plasma i es varen determinar, entre altres paràmetres, les concentracions de cafeïna, els nivells de IL-6 i adrenalina, així com els canvis en el nombre de cèl·lules immunitàries circulants. Cal indicar, encara que no es consideraran dins aquesta discussió, que en aquest estudi també es varen suplementar altres grups de participants amb hidrats de carboni amb o sense la cafeïna.

En relació a la part de l'estudi referida només a la cafeïna, es va veure com la cafeïna provocava un augment de l'adrenalina significativament superior al que s'observava en el grup placebo. Pel que fa als nivells plasmàtics de IL-6 es va veure com tant immediatament després de l'exercici com una hora després, els nivells plasmàtics de IL-6 eren significativament superiors en el grup suplementat amb cafeïna. Per tant, els autors de l'estudi conclouien que la suplementació amb cafeïna provoca un major augment en els nivells de IL-6 en resposta a l'exercici descrit prèviament. A més, es pot veure com les concentracions plasmàtiques de IL-6 eren superiors després de la realització de l'activitat física que després de l'hora de recuperació.

En un altre estudi [32], es va dur a terme una experiència similar, utilitzant la mateixa dosis i protocol de suplementació de cafeïna però l'exercici que es duia a terme era una competició de 15 km corrent. A diferència del cas anterior, no hi havia una intensitat fixada i la durada de la prova per a cada participant podia ser diferent. Com en el cas anterior es varen agafar mostres de sang abans, just després i una hora després d'haver finalitzat la competició. En aquest cas s'obtenia el plasma però també s'aïllaven les cèl·lules mononuclears. Algunes de les característiques generals dels participants eren les següents: edat entre 35 i 45 anys, un índex de massa corporal entre 23 i 25 Kg/m^2 i un $VO_2\text{màx}$ entre 50 i 60 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{Kg}^{-1}$. A més de tenir tots ells un constant consum de cafeïna entre 114 i 131 mg/dia. La velocitat a la que varen completar la prova, expressada com el temps mig necessari per córrer un km, estava entre 4 i 5 min/Km, el que feia que el temps mig total per completar la prova fos un poc superior als 60 minuts. En aquest estudi la primera diferència entre els grups placebo i el suplementat era el valor de la freqüència cardíaca màxima, que era més elevat en el grup suplementat amb cafeïna (190 front a 170 batecs/min), mentre que la freqüència cardíaca mitjana durant la prova era també superior, encara que no significativament, en el grup

suplementat amb cafeïna (175 front a 160 batecs/min). D'aquesta forma es pot observar un augment de la freqüència cardíaca que s'ha atribuït al major augment dels nivells de adrenalina induïts per la cafeïna.

En quan els paràmetres circulants, la suplementació amb cafeïna va provocar concentracions plasmàtiques elevades de cafeïna en el grup suplementat, mentre que no es detectava en el grup placebo. Tal com feien pensar els valors superiors de freqüència cardíaca, la suplementació amb cafeïna va provocar augments superiors d'adrenalina després de l'exercici, fet que tal com s'ha anat indicant durant el treball podria modificar la resposta inflamatòria a l'exercici. Pel que respecta al cortisol plasmàtic, tendeix a incrementar la seva concentració després de la prova física, però sense diferències significatives entre el grup suplementat i el grup placebo. En aquest cas també es varen determinar els nivells d'AMPC tant a plasma com a cèl·lules mononuclears. Els nivells plasmàtics d'AMPC augmentaven de forma significativa després de la competició, mentre que els nivells a les cèl·lules mononuclears ho feien després de la recuperació. En qualsevol cas no es varen observar diferències entre grups, el que podria ser interpretat com a una manca d'efecte de la cafeïna en el cas de les cèl·lules mononuclears, o al fet de que la mesura del AMPC circulant reflexaria canvis produïts a teixits on la cafeïna podria provocar efectes contraris, tal com s'ha comentat prèviament, a més de tractar-se d'un compost essencialment intracel·lular.

En aquest estudi es varen determinar els nivells circulants i a les cèl·lules mononuclears de IL-6, IL-10 i la subunitat p40 de la IL-12. En el cas de la IL-6, i de forma similar al que s'ha vist en l'estudi anterior, els nivells després de l'exercici eren significativament superiors en el grup suplementat que en el grup placebo, si bé, en conjunt els augments observats en aquest estudi eren molt inferiors als observats a l'anterior. Pot ser que en aquest cas no s'hagin vist augments molt significatius de la IL-6, ja que els individus sobre els quals s'ha experimentat són atletes ben preparats físicament, la qual cosa implica que tenen un metabolisme més ben adaptat per dur a terme la pràctica d'activitat física i per això no depenen tant de les reserves de glucogen del múscul ja que, a més, es tractava d'un exercici més curt. El fet de no comprometre les reserves de glucogen implica un menor augment de IL-6 a circulació durant la realització d'exercici [26].

En els dos estudis comentats, el major augment de la IL-6 circulant en el grup suplementat amb cafeïna s'ha plantejat com el resultat d'una disminució en l'eliminació més que d'un augment en la producció. S'ha indicat que aquest major increment és degut a una disminució de l'eliminació de IL-6 per part del fetge i no a una major producció. Aquest efecte s'atribueix al major increment d'adrenalina induït per la suplementació amb cafeïna. En aquest sentit, els nivells superiors d'adrenalina en el grup suplementat disminuirien, a través de l'estimulació del receptor $\alpha 1$ -

adrenèrgic, la circulació esplàncica degut a la contracció del múscul vascular llis, amb la conseqüent vasoconstricció i una menor captació de IL-6 per part del fetge [9]. El fet de que també s'hagi observat que la suplementació amb cafeïna provoca nivells superiors de lactat [32], que també és captat i metabolitzat pel fetge, estaria en consonància amb aquesta disminució de la circulació esplàncica induïda per la cafeïna a través de l'adrenalina.

En aquest segon estudi també es va veure que la suplementació amb cafeïna provocava nivells superiors de IL-10 en resposta a l'exercici [32]. Aquest fet podria ser degut a diferents mecanismes. El primer mecanisme seria que com s'ha anat dient al llarg del treball la IL-6 estimula la producció de IL-10. Però en general, s'accepta que aquest efecte només és produït quan les concentracions de IL-6 són molt elevades. Per tant, es proposa com a mecanisme alternatiu per explicar aquest major increment l'augment en els nivells d'AMPc que induïrien la síntesi de IL-10. Però tal com s'ha comentat prèviament no es varen observar majors increments d'AMPc en el grup suplementat, ni en el plasma ni en les cèl·lules, ni tampoc una major producció de IL-10 en les cèl·lules mononuclears del grup suplementat. Els autors de l'estudi proposen que els nivells superiors de IL-10 en el grup suplementat i, en general, la IL-10 circulant, tenen el seu origen en el múscul. En aquest sentit els autors apunten que recentment s'ha vist que el múscul produeix IL-10 i que en resposta a l'exercici aquesta producció de IL-10 augmenta [33]. Addicionalment, en estudis previs es va veure com la cafeïna sí que produeix un augment d'AMPc en el múscul [44]. Per tant, seria possible, segons els autors, que la suplementació amb cafeïna provoqués una major síntesi de IL-10 en el múscul que es reflectís en els valors circulants. A més, es podria considerar també que en el múscul hi trobam els adrenoreceptors β que, en presència de nivells elevats d'adrenalina, podrien contribuir als nivells més elevats d'AMPc i, per tant, de IL-10. La IL-10 podria jugar un paper crucial en la resposta inflamatòria que es genera durant l'exercici [45-48] ja que aquesta interleucina el que fa és limitar la producció de factors pro-inflamatoris que es generen durant la resposta inflamatòria.

Al contrari del que passava amb la IL-6 i la IL-10, la subunitat p40 de la IL-12, encara que augmentava després de l'exercici, ho feia de forma similar en els dos grups. Aquest és un element sintetitzat exclusivament per les cèl·lules del sistema immunitari. Considerant que la seva síntesi és activada per l'AMPc, aquesta manca de diferències estaria d'acord amb els nivells similars trobats entre grups tant d'AMPc com de IL-10 a les cèl·lules mononuclears.

Per tant, els resultats d'aquests estudis en relació a l'efecte de la cafeïna sobre la resposta a l'exercici de les citocines analitzades indicarien que la cafeïna provoca uns nivells superiors tant de IL-6 com de IL-10 en resposta a l'exercici, el que suposaria un augment de la part antiinflamatòria d'aquesta resposta.

Pel que fa a l'efecte de la cafeïna sobre el nombre de cèl·lules circulants del sistema immunitari, els estudis mostren, en general, que la cafeïna no modifica els canvis en el nombre de limfòcits, però provoca un major augment del nombre de neutròfils en resposta a l'exercici [5][28][42], encara que a vegades les diferències entre grups només es fan significatives després d'un cert temps d'haver acabat l'exercici [32]. Tal com s'ha comentat prèviament, aquest major increment es sol atribuir als nivells superiors de catecolamines, IL-6 i, després de l'exercici, cortisol induïts per la cafeïna. Per tant, seria un efecte indirecte que no es sap massa bé quina repercussió tindria, ja que s'hauria de valorar la funcionalitat d'aquests neutròfils.

Els neutròfils exerceixen la seva funció, al menys en part, produint i alliberant espècies reactives d'oxigen (ROS), en el procés generalment conegut com a "*oxidative burst*" i que es sol iniciar amb la producció de l'anió superòxid, i enzims antimicrobians, essent el seu objectiu eliminar, d'una forma no específica, tant els possibles microorganismes invasors com restes de teixits danyats. En general s'ha vist que aquesta funcionalitat dels neutròfils disminueix després de la realització d'un exercici físic intens i/o perllongat [49]. Per tant, un grup d'investigadors varen centrar els seus estudis en determinar els efectes de la cafeïna sobre algunes mesures de la funcionalitat dels neutròfils però també dels limfòcits.

En dos estudis molt similars, amb participants amb una edat mitjana de 23 anys, un pes de 73 kg i un $VO_2\text{màx}$ de $61,0 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$, es va suplementar amb cafeïna (6 mg/kg pes corporal), o placebo, abans de realitzar un exercici d'una hora al 70% $VO_2\text{màx}$ [7] o de dues hores al 65% $VO_2\text{màx}$ [7]. Es varen agafar mostres de sang abans i després de la prova i es va determinar, com a mesura més significativa, la producció de ROS per part dels neutròfils. Els resultats indicaven que la cafeïna atenuava la disminució en la producció de ROS observada en el grup placebo. Degut a que la cafeïna, tal com s'ha anat indicant, actua com a antagonista de l'adenosina [32], l'atenuació de la davallada en la producció de ROS es va atribuir a l'efecte de la cafeïna impedit l'ocupació i activació dels receptors A2A dels neutròfils. Aquesta explicació és plausible perquè s'ha indicat que la inhibició de la producció de ROS per part dels neutròfils, és modulada de forma predominant per aquests receptors A2A [50] i s'ha vist, en estudis *in vitro*, que l'adenosina inhibeix específicament la generació d'anió superòxid en neutròfils estimulats [51]. Però, per una altra part, en aquest mateix estudi, així com ja s'ha comentat per estudis anteriors, la suplementació amb cafeïna augmentava els nivells d'adrenalina en resposta a l'exercici. Això podria suposar una contradicció amb el mecanisme indicat prèviament perquè la disminució en la producció de ROS després de l'exercici s'ha atribuït als nivells augmentats d'adrenalina que, actuant via els receptors adrenèrgics β_2 , augmenten la producció d'AMPC, inhibint així la producció de ROS per part dels neutròfils [52]. Els autors conclouien que els

efectes de la cafeïna sobre la producció de ROS en els neutròfils són multifactorials i suposen el resultat d'una suma d'estímuls i inhibicions originades per la pròpia cafeïna. És important assenyalar que en un posterior estudi realitzat pel mateix grup [53], amb la mateixa dosi de cafeïna, però utilitzant un model d'exercici més extenuant que en els casos anteriors, (90 minuts al 70% VO₂max en un cicloergòmetre seguits d'un exercici equivalent a 30 minuts al 70% VO₂màx a completar en el menor temps possible) no es varen observar els efectes de la cafeïna atenuant la disminució en la producció de ROS observada en el grup placebo. En aquest cas, aquesta diferència essencial es va atribuir al fet de que l'augment de l'adrenalina era molt superior a l'observat en els casos anteriors, pel que pareix que l'efecte que produiria aquesta adrenalina, augmentant els nivells d'AMPc, és el predominant sobre la funcionalitat dels neutròfils.

En el cas dels limfòcits, pel gran nombre de subpoblacions existents i per la varietat de funcions que desenvolupen, la informació obtinguda en els pocs estudis realitzats no és tan clara. En un primer estudi [54], seguint un disseny similar al descrit en els estudis anteriors i amb un exercici de 90 minuts al 70% VO₂màx, es va veure com la dosi de cafeïna de 6 mg/kg de pes provocava que un major percentatge de limfòcits presentessin el marcador d'activació CD69 tant abans com després de l'exercici. Com en els casos anteriors, aquest efecte s'atribueix a modificacions en els nivells d'AMPc, tant sigui degut a l'acció de la cafeïna com a antagonista de l'adenosina, com per l'acció de l'adrenalina. En qualsevol cas, en general els limfòcits no juguen un paper tant relacionat amb l'exercici en si com els neutròfils (i la seva relació amb el dany i reparació musculars), i l'aplicabilitat d'aquests resultats s'hauria de veure més en relació a aspectes com la incidència de infeccions en el període posterior a la realització d'exercicis intensos i perllongats [19]. En un segon estudi, utilitzant el mateix disseny que en el cas anterior, es va plantejar quin seria realment l'efecte de la cafeïna combinat amb l'exercici sobre algunes propietats, com l'activació front a antígens, dels limfòcits T i NK [3]. El fet de que ambdós tipus cel·lulars de limfòcits (tant els T com els NK) formin part de la mateixa població feia pensar que presentessin la mateixa resposta, però es va comprovar que no era el cas. Els resultats demostraven que la cafeïna disminuïa l'estimulació dels limfòcits T però, per contra, augmentava la de les cèl·lules NK en resposta a antígens. Com s'ha comentat anteriorment en el cas dels neutròfils, i és igual en el cas dels limfòcits, els augments d'AMPc provocarien una certa desactivació del leucòcit en qüestió. L'efecte de la cafeïna augmentant els nivells d'adrenalina que, a la vegada, estimularien la formació d'AMPc via els receptors adrenèrgics β₂, explicaria perfectament els efectes observats en aquest estudi sobre els limfòcits T. En canvi, els autors suggereixen que l'activació de les cèl·lules NK serien produïts majoritàriament per l'acció de la cafeïna com a antagonista de l'adenosina augmentant els nivells d'AMPc, encara que no es clarifica el motiu que explicaria que la cafeïna exerceixi els seu efecte majoritari per dos mecanismes diferents en dues

subpoblacions cel·lulars similars.

VII. Possibles conseqüències dels canvis induïts per la cafeïna en la resposta immunitària a l'exercici

S'ha comprovat que l'estimulació de la IL-6 és veu augmentada durant l'exercici físic i més en presència de cafeïna, on aquesta IL-6 és troba produïda sobre tot pel múscul, i les concentracions més altes s'aprecien en moments de baixes reserves energètiques musculars. Tal com s'ha indicat prèviament, la disminució dels nivells de glucogen muscular estimula la síntesi de IL-6 en situacions de realització d'exercici físic i aquesta IL-6 estimula l'alliberació de substrats energètics (del fetge i del teixit adipós) que podran ser utilitzats pel múscul [26]. A més, s'ha verificat en estudis, que la IL-6 per sí mateixa, pot induir la captació de glucosa per part del múscul [18]. Per tant, es podria hipotetitzar que uns nivells superiors de IL-6 podrien contribuir a que el múscul tingués una millor disponibilitat energètica, tan sigui per una major quantitat de substrats com per una millor captació de glucosa. A més, el fet de que la IL-6 estimuli la producció de IL-10, encara que només sigui a concentracions elevades, podria ser beneficiós per la recuperació post-exercici, tal com s'ha indicat prèviament i es detallarà a continuació.

El procés de regeneració del teixit muscular post-exercici es produeix en dues etapes consecutives [55], ambdues igualment essencials però de característiques diferents. La primera té unes característiques pro-inflamatòries i es caracteritza per la presència de macròfags del tipus Th1, que són productors de citocines pro-inflamatòries. En aquesta primera fase, la producció de nova fibra muscular es troba inhibida i majoritàriament es produeix l'eliminació de restes de teixit danyat i es prepara al teixit per la segona fase. En general es considera que aquesta primera fase és "excessiva" i no selectiva. És a dir, elimina els teixits danyats d'una forma inespecífica que pot provocar un augment del dany en el teixit muscular veí, provocant, tot plegat, un dolor muscular que en general es coneix com a retardat ja que no apareix de forma immediata [56]. Posteriorment, la segona fase, que presenta característiques antiinflamatòries, està caracteritzada per la participació de macròfags de tipus Th2, productors de citocines antiinflamatòries. En aquesta segona fase no només es neutralitzen les senyals pro-inflamatòries que romanen en el lloc del dany, sinó que també s'indueix el procés de miogènesi i formació de noves fibres musculars que permetrà la regeneració del múscul.

Pel que fa a la IL-10, s'ha comprovat en alguns estudis que durant la regeneració post-exercici del teixit muscular esquelètic cobra gran importància [57-61]. En aquest sentit, s'ha

demostrat que no només s'expressa IL-10 en el múscul esquelètic moments després de la realització d'exercici físic, sinó que també s'ha verificat que s'incrementa l'expressió de la proteïna IL-10 després de la realització d'aquesta activitat [33]. A més, s'ha comprovat com citocines antiinflamatòries estimulen la miogènesi, especialment en el cas de la IL-10 [62, 63]. De fet, s'ha comprovat que quan s'elimina la producció de IL-10, el procés de regeneració muscular es veu seriosament afectat i retardat [42]. En aquest sentit, pareix que la manca de IL-10 perllonga la resposta pro-inflamatòria característica de la primera fase de la resposta inflamatòria, d'aquesta manera es veu compromesa la fase de regeneració muscular pròpia de factors antiinflamatoris [62]. Entre altres motius, aquest efecte es deuria a que la IL-10 estimula el canvi de macròfags Th1 a Th2, limitant la fase pro-inflamatòria.

Tot i que s'ha vist que la resposta inflamatòria que es produeix a conseqüència del dany tissular és necessària per l'inici de la reparació muscular, l'elevada resposta inflamatòria que es produeix per un exercici extenuant, generador d'alts nivells de dany muscular o en individus no entrenats, podria provocar un major dany i dolor muscular, implicant d'aquesta manera, una disfuncionalitat més perllongada del teixit. Una vegada demostrat el paper essencial de la IL-10 en el procés de regeneració muscular, es podria pensar que si la cafeïna augmenta els nivells de IL-10, podria ser beneficiós per la regeneració del múscul, limitant la primera fase pro-inflamatòria i accelerant el procés de reparació, el que podria dur a una recuperació més ràpida de la funcionalitat normal del múscul afectat. Per tant, aquest podria ser un efecte beneficiós de la cafeïna, encara que els autors dels estudis indiquen que són necessàries més experiències de suplementació de cafeïna en exercicis que provoquin un major dany muscular que en els models d'exercici que s'han utilitzat fins ara.

VIII. Conclusions

Tot i el reduït nombre d'estudis realitzats en l'àmbit d'aquest treball, es podrien establir les següents conclusions:

- En relació a la resposta inflamatòria a l'exercici la cafeïna pot influir actuant com antagonista de l'adenosina i per medi de la modificació de la resposta de certes hormones, especialment l'adrenalina. Ambdós mecanismes poden provocar una modificació dels nivells d'AMPc.

- La suplementació amb cafeïna (6 mg/kg de pes corporal) provoca nivells superiors de IL-6 en resposta a l'exercici que s'atribueixen a una menor eliminació per la disminució de la circulació esplàncnica induïda pels nivells augmentats d'adrenalina.
- La suplementació amb cafeïna induïx nivells superiors de IL-10 en resposta a l'exercici, el que suposa un clar efecte antiinflamatori.
- La cafeïna podria contribuir a mantenir la funcionalitat dels neutròfils en resposta a l'exercici sempre que aquest no induïxi un augment d'adrenalina per damunt d'un cert llindar.
- Són necessaris més estudis per confirmar els efectes de la cafeïna, especialment sobre la IL-10, en proves més extenuants i generadores de més dany muscular, i veure quina repercussió podria tenir sobre la regeneració muscular després de l'exercici. A més s'hauria d'obtenir una descripció més completa, que inclogui més citocines i altres paràmetres, dels possibles efectes de la cafeïna sobre la resposta inflamatòria a l'exercici.

IX. Bibliografia

1. Petersen, A.M.W. and B.K. Pedersen, *The anti-inflammatory effect of exercise*. J Appl Physiol, 2005. 98: p. 1154–62.
2. Official statements by the American College of Sports Medicine, *Caffeine and Exercise Performance*. 2014; Disponible a: <http://www.acsm.org/docs/current-comments/caffeineandexercise.pdf>.
3. Fletcher, D.K. and N.C. Bishop, *Caffeine ingestion and antigen-stimulated human lymphocyte activation after prolonged cycling*. Scand J Med Sci Sports, 2012. 22(2): p. 249-58.
4. *Cafeïna para el tratamiento del dolor.pdf*. 2014; Disponible a: http://www.scielo.br/pdf/rba/v62n3/es_v62n3a11.pdf.
5. *The action of caffeine and the capacity for muscular work.pdf*. 1907; Disponible a: <http://jp.physoc.org/content/36/1/33.full.pdf>.
6. Graham, T.E., *Caffeine and exercise: metabolism, endurance and performance*. Sports Med, 2001. 31(11): p. 785-807.
7. Walker, G.J., et al., *Immunoendocrine response to cycling following ingestion of caffeine and carbohydrate*. Med Sci Sports Exerc, 2007. 39(9): p. 1554-60.
8. Fredholm, B.B., et al., *Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute to its widespread use*. Pharmacol Rev, 1999. 51(1): p. 83-133.

9. Sheth, S., et al., *Adenosine Receptors: Expression, Function and Regulation*. Int J Mol Sci, 2014. **15**(2): p. 2024-52.
10. Hasko, G. and B.N. Cronstein, *Adenosine: an endogenous regulator of innate immunity*. Trends Immunol, 2004. **25**(1): p. 33-9.
11. Csoka, B. and G. Hasko, *Adenosine, inflammation pathways and therapeutic challenges*, in *Joint Bone Spine*. 2011: France. p. 4-6.
12. Schulte, G. and B.B. Fredholm, *Signalling from adenosine receptors to mitogen-activated protein kinases*. Cell Signal, 2003. **15**(9): p. 813-27.
13. Fredholm, B.B., et al., *International Union of Pharmacology. XXV. Nomenclature and classification of adenosine receptors*. Pharmacol Rev, 2001. **53**(4): p. 527-52.
14. Cronstein, B.N., et al., *The adenosine/neutrophil paradox resolved: human neutrophils possess both A1 and A2 receptors that promote chemotaxis and inhibit O2 generation, respectively*. J Clin Invest, 1990. **85**(4): p. 1150-7.
15. Horrigan, L.A., J.P. Kelly, and T.J. Connor, *Immunomodulatory effects of caffeine: friend or foe?* Pharmacol Ther, 2006. **111**(3): p. 877-92.
16. Mandel, H.G., *Update on caffeine consumption, disposition and action*. Food Chem Toxicol, 2002. **40**(9): p. 1231-4.
17. *Coffee, Tea, Chocolate, and the Brain*. 2014.
18. Abramson, J.L. and V. Vaccarino, *Relationship between physical activity and inflammation among apparently healthy middle-aged and older US adults*. Arch Intern Med, 2002. **162**(11): p. 1286-92.
19. Pedersen, B.K. and L. Hoffman-Goetz, *Exercise and the immune system: regulation, integration, and adaptation*. Physiol Rev, 2000. **80**(3): p. 1055-81.
20. Kakanis, M.W., et al., *The open window of susceptibility to infection after acute exercise in healthy young male elite athletes*. Exerc Immunol Rev, 2010. **16**: p. 119-37.
21. Tidball, J.G., *Mechanisms of muscle injury, repair, and regeneration*. Compr Physiol, 2011. **1**(4): p. 2029-62.
22. Chazaud, B., *Macrophages: supportive cells for tissue repair and regeneration*. Immunobiology, 2014. **219**(3): p. 172-8.
23. Starkie, R., et al., *Exercise and IL-6 infusion inhibit endotoxin-induced TNF-alpha production in humans*. Faseb j, 2003. **17**(8): p. 884-6.
24. Starkie, R.L., et al., *Circulating monocytes are not the source of elevations in plasma IL-6 and TNF-alpha levels after prolonged running*. Am J Physiol Cell Physiol, 2001. **280**(4): p. C769-74.
25. Gleeson, M., *Immune function in sport and exercise*. J Appl Physiol (1985), 2007. **103**(2): p. 693-9.

26. Pedersen, B.K., et al., *Searching for the exercise factor: is IL-6 a candidate?* J Muscle Res Cell Motil, 2003. **24**(2-3): p. 113-9.
27. Pedersen, B.K. and M.A. Febbraio, *Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6.* Physiol Rev, 2008. **88**(4): p. 1379-406.
28. Pedersen, B.K. and C.P. Fischer, *Beneficial health effects of exercise--the role of IL-6 as a myokine.* Trends Pharmacol Sci, 2007. **28**(4): p. 152-6.
29. Weigert, C., et al., *Upregulation of IL-6 mRNA by IL-6 in skeletal muscle cells: role of IL-6 mRNA stabilization and Ca²⁺-dependent mechanisms.* Am J Physiol Cell Physiol, 2007. **293**(3): p. C1139-47.
30. Walsh, N.P., et al., *Position statement. Part one: Immune function and exercise.* Exerc Immunol Rev, 2011. **17**: p. 6-63.
31. Wang, P., et al., *Interleukin-10 inhibits interleukin-8 production in human neutrophils.* Blood, 1994. **83**(9): p. 2678-83.
32. Tauler, P., et al., *Effects of caffeine on the inflammatory response induced by a 15-km run competition.* Med Sci Sports Exerc, 2013. **45**(7): p. 1269-76.
33. Della Gatta, P.A., et al., *Effect of exercise training on skeletal muscle cytokine expression in the elderly.* Brain Behav Immun, 2014.
34. Peake, J.M., et al., *Plasma cytokine changes in relation to exercise intensity and muscle damage.* Eur J Appl Physiol, 2005. **95**(5-6): p. 514-21.
35. Elenkov, I.J., G.P. Chrousos, and R.L. Wilder, *Neuroendocrine regulation of IL-12 and TNF-alpha/IL-10 balance. Clinical implications.* Ann N Y Acad Sci, 2000. **917**: p. 94-105.
36. Cechella, J.L., et al., *Moderate swimming exercise and caffeine supplementation reduce the levels of inflammatory cytokines without causing oxidative stress in tissues of middle-aged rats.* Amino Acids, 2014. **46**(5): p. 1187-95.
37. Barcelos, R.P., et al., *Caffeine intake may modulate inflammation markers in trained rats.* Nutrients, 2014. **6**(4): p. 1678-90.
38. van Furth, A.M., et al., *Effect of xanthine derivatives and dexamethasone on Streptococcus pneumoniae-stimulated production of tumor necrosis factor alpha, interleukin-1 beta (IL-1 beta), and IL-10 by human leukocytes.* Clin Diagn Lab Immunol, 1995. **2**(6): p. 689-92.
39. Shin, H.Y., et al., *Inhibitory effect of anaphylactic shock by caffeine in rats.* Int J Immunopharmacol, 2000. **22**(6): p. 411-8.
40. Meiners, I., et al., *Pentoxifylline and propentofylline are inhibitors of TNF-alpha release in monocytes activated by advanced glycation endproducts.* J Neural Transm, 2004. **111**(3): p. 441-7.

41. Ritter, M., et al., *Caffeine inhibits cytokine expression in lymphocytes*. Cytokine, 2005. **30**(4): p. 177-81.
42. Rosenthal, L.A., et al., *Methylxanthine-induced inhibition of the antigen- and superantigen-specific activation of T and B lymphocytes*. Immunopharmacology, 1992. **24**(3): p. 203-17.
43. Horrigan, L.A., J.P. Kelly, and T.J. Connor, *Caffeine suppresses TNF-alpha production via activation of the cyclic AMP/protein kinase A pathway*. Int Immunopharmacol, 2004. **4**(10-11): p. 1409-17.
44. Graham, T.E., et al., *Does caffeine alter muscle carbohydrate and fat metabolism during exercise?* Appl Physiol Nutr Metab, 2008. **33**(6): p. 1311-8.
45. Wang, P., et al., *IL-10 inhibits transcription of cytokine genes in human peripheral blood mononuclear cells*. J Immunol, 1994. **153**(2): p. 811-6.
46. Wang, P., et al., *Interleukin (IL)-10 inhibits nuclear factor kappa B (NF kappa B) activation in human monocytes. IL-10 and IL-4 suppress cytokine synthesis by different mechanisms*. J Biol Chem, 1995. **270**(16): p. 9558-63.
47. Moore, K.W., et al., *Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor*. Annu Rev Immunol, 2001. **19**: p. 683-765.
48. Maynard, C.L. and C.T. Weaver, *Diversity in the contribution of interleukin-10 to T-cell-mediated immune regulation*. Immunol Rev, 2008. **226**: p. 219-33.
49. Peake, J.M., *Exercise-induced alterations in neutrophil degranulation and respiratory burst activity: possible mechanisms of action*. Exerc Immunol Rev, 2002. **8**: p. 49-100.
50. Gessi, S., et al., *A(3) adenosine receptors in human neutrophils and promyelocytic HL60 cells: a pharmacological and biochemical study*. Mol Pharmacol, 2002. **61**(2): p. 415-24.
51. Swain, S.D., et al., *Inhibition of the neutrophil NADPH oxidase by adenosine is associated with increased movement of flavocytochrome b between subcellular fractions*. Inflammation, 2003. **27**(1): p. 45-58.
52. O'Dowd, Y.M., et al., *Inhibition of formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine-stimulated respiratory burst in human neutrophils by adrenaline: inhibition of Phospholipase A2 activity but not p47phox phosphorylation and translocation*. Biochem Pharmacol, 2004. **67**(1): p. 183-90.
53. Walker, G.J., et al., *The effect of caffeine ingestion on human neutrophil oxidative burst responses following time-trial cycling*. J Sports Sci, 2008. **26**(6): p. 611-9.
54. Bishop, N.C., et al., *Effect of caffeine ingestion on lymphocyte counts and subset activation in vivo following strenuous cycling*. Eur J Appl Physiol, 2005. **93**(5-6): p. 606-13.
55. Chazaud, B., et al., *Dual and beneficial roles of macrophages during skeletal muscle regeneration*. Exerc Sport Sci Rev, 2009. **37**(1): p. 18-22.

56. Walker, G.J., et al., *The effect of caffeine ingestion on neutrophil oxidative burst responses following prolonged cycling*. Int J Sport Nutr Exerc Metab, 2006. **16**(1): p. 24-35.
57. Zaldivar, F., et al., *Constitutive pro- and anti-inflammatory cytokine and growth factor response to exercise in leukocytes*. J Appl Physiol (1985), 2006. **100**(4): p. 1124-33.
58. Ostrowski, K., et al., *Pro- and anti-inflammatory cytokine balance in strenuous exercise in humans*. J Physiol, 1999. **515 (Pt 1)**: p. 287-91.
59. Nieman, D.C., et al., *Influence of vitamin C supplementation on oxidative and immune changes after an ultramarathon*. J Appl Physiol (1985), 2002. **92**(5): p. 1970-7.
60. Nieman, D.C., et al., *Cytokine changes after a marathon race*. J Appl Physiol (1985), 2001. **91**(1): p. 109-14.
61. Nieman, D.C., et al., *Influence of vitamin C supplementation on cytokine changes following an ultramarathon*. J Interferon Cytokine Res, 2000. **20**(11): p. 1029-35.
62. Deng, B., et al., *IL-10 triggers changes in macrophage phenotype that promote muscle growth and regeneration*. J Immunol, 2012. **189**(7): p. 3669-80.
63. Heredia, J.E., et al., *Type 2 innate signals stimulate fibro/adipogenic progenitors to facilitate muscle regeneration*. Cell, 2013. **153**(2): p. 376-88.