



**D.R.E.A.M**

Alcançar, Abraçar e Reconhecer a Saúde Mental

# Livro de Atas

# I Congresso Internacional

## Bem Estar e Saúde Mental no Ensino Superior



Auditório  
Nadir Afonso,  
Chaves



14 dezembro



9h30 - 13h00  
14h30 - 17h00



Com a colaboração de:

co-financiado por:

---

## **Ficha Técnica**

**Título:** I Congresso Internacional de Bem-Estar e Saúde Mental nos estudantes do ensino superior: livro de atas

**Editores:**

Ana Maria Galvão, Instituto Politécnico de Bragança  
Clara B. Vaz, CEDRI, Instituto Politécnico de Bragança  
Clarisse Pais, Instituto Politécnico de Bragança  
Susana Sánchez, Universidad de Extremadura

**Revisores:**

Clarisse Pais, Instituto Politécnico de Bragança  
Marco Pinheiro, ISCTE-IUL

**Editor:** Instituto Politécnico de Bragança – 2024  
Campus de Santa Apolónia 5300-253 Bragança Portugal

### **COMISSÃO CIENTÍFICA**

Adília Fernandes	Justina Silvano
Alcina Nunes	Kleiver Sanchez
Alexandra Neto	Marco Pinheiro
Ana Galvão	Maria José Alves
Ana Maria Gerales Pereira	Maria José Gomes
Bruno Magalhães	Maria José Viveiros
Carina Rodrigues	Marta Correia de Carvalho
Clara Vaz	Miguel Monteiro
Clarisse Pais	Odília Cavaco
Cristina Quadros	Paula Fortunato Vaz
Fernando Pereira	Samuel Gonçalves Almeida da Encarnação
Flora Silva	Sílvia Ala
Florêncio de Castro	Susana Sánchez
Gorete Batista	Vasco Alves
Helena Pimentel	Vera Lebres
Javier Cubero Juanez	Zélia Caçador
Joana Carvalho	

### **COMISSÃO ORGANIZADORA**

Ana Galvão	Justina Silvano
Beatriz Cunha	Marco Pinheiro
Clara Vaz	Maria José Alves
Clarisse Pais	Maria José Viveiros
Cristina Quadros	

ISBN: 978-972-745-332-0

Handle: <http://hdl.handle.net/10198/28523>

DOI: 10.34620/978-972-745-332-0



---

**Índice**

Sobre o congresso .....	3
Índice .....	4
Considerações Iniciais .....	5
Ana Galvão <sup>1</sup> , Clara B. Vaz <sup>2</sup> , Clarisse Pais <sup>1</sup> & Susana Sánchez <sup>3</sup>	
Desafios à intervenção psicológica no ensino superior - projeto D.R.E.A.M.....	7
Ana Galvão, Clara Vaz, Clarisse Pais & Beatriz Cunha	
Promoção da saúde mental em estudantes do ensino superior através de um programa estruturado de atividade física: conexão corpo-mente.....	13
Samuel Encarnação <sup>1</sup> , Helios Parega <sup>2</sup> , Miguel Monteiro <sup>1</sup> & Ana Galvão <sup>1</sup>	
A arte em sintonia com a saúde mental .....	17
Vasco Alves	
Promoção da literacia em epilepsia: estudantes do ensino superior .....	22
Beatriz Cunha, Maria José Gomes & Ana Galvão	
Caracterização do acesso aos cuidados de saúde por parte dos alunos do IPB a estudar na cidade de Bragança .....	29
Clara B. Vaz <sup>1</sup> & Filipe Vaz <sup>2</sup>	
O Projeto Desejar-Comunicar-Agir.....	35
Cecília Fonseca <sup>1</sup> , Daniel Marrinhas <sup>2</sup> , Manuela Figueira <sup>1</sup> , Miguel Salgado <sup>1</sup> & Odília D. Cavaco <sup>2</sup>	
<i>Quem pode tomar café (?): Uma abordagem em Nutrigenética e Farmacogenética ao metabolismo da cafeína</i> 45	
Elizabete Batista Vaz Pereira, Carina de Fátima Rodrigues & Olívia Rodrigues Pereira	
Avaliação do estado nutricional de crianças com idades menor ou igual a 5 anos internadas no hospital nacional Simão Mendes - Guiné-bissau.....	54
I. Djassi <sup>1</sup> , J. Almeida-de-Souza <sup>2</sup> & A.M. Pereira <sup>2</sup>	
Relação do nível de adesão à Dieta Mediterrânica com a composição corporal em frequentadores de ginásios .....	64
Barbara Mendes <sup>1</sup> , António Fernandes <sup>2</sup> & Ana Maria Pereira <sup>2</sup>	
Associação entre o Nível de Adesão à Dieta Mediterrânica e o Índice de Massa Corporal, em Indivíduos Diabéticos .....	73
M. Fernandes <sup>1</sup> , A. Azevedo <sup>1</sup> , A. Fernandes <sup>2</sup> , C. Pires <sup>3</sup> , M. Pires <sup>4</sup> & A.M. Pereira <sup>2</sup>	
Dificuldade intelectual e desenvolvimental: considerações teórico-práticas para a inclusão no desporto .....	81
Paula Marisa Fortunato Vaz <sup>1</sup> , António Miguel de Barros Monteiro <sup>2</sup> & Samuel Gonçalves Almeida da Encarnação <sup>3</sup>	
Understanding the benefits and mechanisms behind Mindfulness meditation practices for enhancing health and overall well-being .....	90
Teresa Ranieri	
Transição para o ensino superior, desafios - projeto de cocriação: let's get inclusive .....	94
Beatriz Cunha, Ana Galvão, Isabel Chumbo & Eugénia Anes	
Novos horizontes da saúde mental e hotelaria: um exemplo de boas práticas .....	97
Ana Galvão & Sílvia Ala	

## **Quem pode tomar café (?): Uma abordagem em Nutrigenética e Farmacogenética ao metabolismo da cafeína**

Elizabete Batista Vaz Pereira, Carina de Fátima Rodrigues & Olívia Rodrigues Pereira

Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal

### **Resumo**

Certas variantes genéticas podem afetar o metabolismo da cafeína e a forma como o corpo a processa e responde a ela. Para identificar estas alterações é necessário analisar genes específicos, como o CYP1A2. As variações genéticas nesses mesmos genes podem aumentar ou diminuir a velocidade com que a cafeína é metabolizada.

O objetivo desta revisão da literatura é fornecer uma visão abrangente e atualizada da importância do metabolismo da cafeína e dos polimorfismos genéticos que afetam esse mesmo metabolismo e o seu impacto positivo ou negativo em diferentes condições de saúde. Todo o tema se insere na medicina de precisão englobando a abordagem quer da nutrigenética quer da farmacogenética.

A metodologia de revisão utilizada é do tipo “Scopus review” e os descritores a utilizar estão relacionados com “cafeína, metabolismo, genética, farmacogenética, nutrigenética e medicina de precisão.

Embora os testes genéticos para a metabolização da cafeína tenham o potencial de contribuir para uma medicina personalizada, existem limitações que precisam ser consideradas. Apesar de todo o acervo bibliográfico sobre este assunto, a realização de pesquisas adicionais, incluindo estudos em diversas populações e investigações mais aprofundadas sobre a complexidade genética e as interações com fatores ambientais são necessárias. Além disso, a evidência clínica deve ser continuamente avaliada para que se possa retirar o máximo de informação sobre o verdadeiro impacto das variações genéticas.

**Palavras-chave:** *Cafeína, Metabolismo, Enzimas CYP, Polimorfismos genéticos, Nutrigenética, Farmacogenética.*

### **Introdução**

A forma como metabolizamos a cafeína pode ser abordado do ponto de vista da nutrigenética ou da farmacogenética. Na nutrigenética, o objeto de estudo são as variações genéticas que podem influenciar a resposta de um indivíduo a nutrientes e componentes alimentares, incluindo os produtos naturais como a cafeína. Por outro lado, a farmacogenética estuda a forma como as variações genéticas podem influenciar a resposta de um indivíduo a medicamentos e outras substâncias químicas, incluindo a cafeína (Teh & Bertilsson, 2012; Wang et. al 2018). A cafeína é um produto natural e a sua metabolização ocorre no fígado através da ação de enzimas da fase I e da fase II do metabolismo hepático. São exemplo destas enzimas as CYPs (Citocromo P450) que constituem uma família de enzimas pertencentes à fase 1 do metabolismo xenobiótico, responsáveis pela oxidação e modificação de uma ampla variedade de compostos endógenos e exógenos (Guengerich, 2008; Zanger & Schwab, 2013). Essas enzimas estão localizadas principalmente no retículo endoplasmático de células hepáticas, embora também possam estar presentes em outros tecidos. As CYPs desempenham um papel fundamental na introdução de grupos funcionais (como hidroxilação, desalquilação, desalquil-hidroxilação, epoxidação, entre outros) nos substratos, tornando-os mais solúveis em água e preparando-os para reações subsequentes na fase 2 de conjugação (Guengerich, 2001).

Um dos polimorfismos bem estudados no gene CYP1A2 localiza-se na região promotora -163. Esta variante específica, rs762551 é um polimorfismo que está associado a diferenças na atividade transcricional do gene CYP1A2, o que leva a variações nos níveis da enzima CYP1A2. As mesmas variantes do gene CYP1A2 que afetam o metabolismo da cafeína também podem afetar a forma como um indivíduo responde a fármacos (Cornelis et al., 2011; Wang et al., 2019; Ghotbi et al., 2007; Zhou, 2009).

Estudos têm indicado que indivíduos com o alelo C (tipo selvagem) na posição -163 tendem a ter uma atividade enzimática CYP1A2 mais elevada em comparação com aqueles que possuem o alelo A (variante).

Consequentemente, indivíduos portadores do alelo A podem ter um metabolismo mais lento da cafeína, resultando em níveis mais elevados de cafeína circulante e efeitos prolongados da substância (Palatini et al., 2010; Yang et al., 2010). Indivíduos com este genótipo podem também ser mais sensíveis aos efeitos de certos medicamentos, enquanto aqueles com um genótipo de metabolização rápida podem experimentar efeitos menos pronunciados, resultando em efeitos terapêuticos adversos (S.F., 2009).

Algumas condições clínicas têm sido associadas a variações genéticas nas enzimas de metabolização da cafeína. Por exemplo, pessoas com metabolismo lento da cafeína podem apresentar um maior risco de desenvolver doenças cardiovasculares e hipertensão arterial (van der Walt et al., 2019; Cornelis et al., 2006). Além disso, alterações metabólicas, como diabetes tipo 2, ansiedade e depressão.

O acesso a informações genética dos indivíduos para profissionais de saúde como médicos, nutricionistas e farmacêuticos é de extrema importância para o desenvolvimento de abordagens personalizadas de tratamento e intervenções dietéticas no domínio da prevenção. Assim, poder-se-á adaptar as recomendações nutricionais, ajustar a dosagem de medicamentos e fornecer orientações específicas para ajudar a otimizar a saúde e o bem-estar de cada indivíduo, o que constitui a definição de medicina de personalização (Mwenesi et al., 2019).

Neste trabalho pretende-se sintetizar os principais dados científicos disponíveis sobre a associação entre o metabolismo da cafeína, polimorfismos genéticos e outras patologias, destacando as descobertas mais relevantes e discutir a relevância dessas análises para a saúde de cada indivíduo e para os diferentes grupos populacionais.

### **Metodologia**

Esta revisão da literatura é uma revisão do tipo "Scopus". Na definição do tema consideramos a genética do metabolismo da cafeína. Foram consideradas palavras-chave como: "caffeine metabolismo", *polymorphisms*, *pharmacogenetics*, *nutrigenetics*. Como motores de pesquisa utilizamos a Web of Science, a Scopus, devido à sua abrangência em várias áreas de pesquisa, incluindo ciências da saúde e biologia molecular e também o motor de busca PubMed, para obter artigos específicos na área da saúde e medicina. Para cada motor de pesquisa, realizamos uma estratégia utilizando os descritores e a sua ligação por caracteres booleanos da seguinte forma: *Web of Science*: ("caffeine metabolism" OR "caffeine clearance") AND (*polymorphism*\* OR *genetic variation*) AND (*pharmacogenetic*\* OR *nutrigenetic*\*). *Scopus*: (TITLE-ABS-KEY ("caffeine metabolism") OR TITLE-ABS-KEY ("caffeine clearance")) AND (TITLE-ABS-KEY (*polymorphism*\*) OR TITLE-ABS-KEY (*genetic variation*)) AND (TITLE-ABS-KEY (*pharmacogenetic*\*) OR TITLE-ABS-KEY (*nutrigenetic*\*)). *PubMed*: ("caffeine metabolism" OR "caffeine clearance") AND (*polymorphism*\* OR *genetic variation*) AND (*pharmacogenetic*\* OR *nutrigenetic*\*).

Limitamos a pesquisa a artigos escritos em inglês e português. No período de publicação incluímos artigos publicados a partir de 2000 até a presente data para obter informações atualizadas e relevantes. Não foram considerados os artigos em que o texto integral estava inacessível. Após a realização das pesquisas utilizamos a ferramenta *Mendeley* e *Ryyan* para gerir as publicações como software de gestão bibliográfica.

Removemos os duplicados e revimos títulos e resumos dos artigos para selecionar aqueles que são relevantes para o tema da revisão. Realizamos uma leitura completa dos artigos selecionados para extrair as informações relevantes sobre o metabolismo da cafeína, polimorfismos e sua importância em farmacogenética e nutrigenética. Organizamos os dados em categorias temáticas e sintetizamos os principais resultados e conclusões dos estudos nos subcapítulos do texto principal deste artigo.

### **Química da cafeína e suas consequências fisiológicas**

O 1,3,7-trimetilxantina é um alcaloide mais conhecido como cafeína, também chamado de teína ou guaranina. Do ponto de vista estrutural, a cafeína está intimamente relacionada às outras xantinas naturais, a teobromina, a teofilina e a paraxantina, assim como a muitas moléculas endógenas (purinas) altamente importantes, como as bases purínicas adenina e guanina e o metabólito purínico ácido úrico (Faudone et al., 2021). A cafeína é bem solúvel em água (21,7 g/L) com solubilidade pronunciadamente dependente da temperatura (66 g/L em água fervente). Possui características ligeiramente lipofílicas, podendo atravessar membranas e barreiras biológicas (Faudone et al., 2021).

A cafeína atua no sistema nervoso central, produzindo efeitos positivos e negativos. O consumo frequente desta droga pode perturbar a organização comportamental e eletrofisiológica do funcionamento cerebral. A capacidade que organismos normais têm de focar a atenção para executar uma tarefa de forma otimizada, assim como a produção de atividade elétrica normal no cérebro, são funções neurais básicas que podem ser influenciadas pela cafeína e pelo estado nutricional do organismo (Preedy, 2012). Segundo os dados da Autoridade Europeia de Segurança Alimentar (EFSA), uma dose única de cafeína de até 200 mg (cerca de 3 mg/kg de peso corporal para um adulto de 70 kg) de todas as fontes não levanta preocupações de segurança para a população adulta saudável em geral, entretanto a ingestão de até 400 mg por dia (cerca de 5,7 mg/kg de peso corporal por dia) consumidas ao longo do dia não dão origem a preocupações de segurança para adultos saudáveis na população em geral, exceto mulheres grávidas.

### **Enzimas envolvidas no metabolismo da cafeína: variações genéticas**

A cafeína é principalmente metabolizada no fígado pela enzima citocromo P450 (CYP) CYP1A2, para paraxantina (4, cerca de 85%) e pequenas quantidades de teobromina (2, cerca de 10%) e teofilina (3, menos de 5%) (MC et al., 2014). O citocromo P450 1A2 (CYP1A2) é um dos sistemas oxidase de função mista CYP450 que é responsável pelo metabolismo de xenobióticos no corpo e está envolvido na síntese de colesterol, esteroides e outros lipídios.

O gene *CYP1A2* é encontrado na região do braço longo do cromossomo 15, se estende por cerca de 7,8 kb, compreendendo sete éxons e seis íntrons e é um dos principais CYPs expressos no fígado humano, constituindo 13 a 15% de todos os CYPs (Kukul et al., 2023). Esta enzima é de importante interesse clínico devido ao grande número de interações medicamentosas associadas à sua indução e inibição. Além da principal via mediada pela CYP1A2, a cafeína também pode ser metabolizada pela xantina oxidase e pela N-acetiltransferase 2 (NAT2). Os metabólitos da cafeína são excretados pelos rins, enquanto a própria cafeína é fortemente reabsorvida no túbulo renal (Muñoz et al., 2020).

### **Variações genéticas que explicam diferenças no metabolismo da cafeína**

A atividade da CYP1A2 pode ser afetada por fatores endógenos, como polimorfismos genéticos e níveis hormonais, bem como contribuições exógenas, como tabagismo, ingestão de drogas e dieta, resultando na alta variabilidade de sua atividade enzimática (Faudone et al., 2021). Vários outros estudos sugeriram que bebedores de café com polimorfismos genéticos comuns que afetam o metabolismo da cafeína podem ter maior risco de doença cardiovascular (Loftfield et al., 2018). A grande variabilidade interindividual na atividade da enzima CYP1A2 contribui a uma variação no metabolismo e na farmacocinética da cafeína, tendo um efeito na velocidade com a qual a cafeína é metabolizada, o que reflete a tolerância que cada indivíduo tem ao consumir essa substância.

Um total de 2205 SNPs no gene CYP1A1, 2620 SNPs no gene CYP1A2 e 5494 SNPs em região intergênica foram encontrados no banco de dados dbSNP. Esses SNPs abrangem 7 alelos estrela do CYP1A1 e 28 alelos estrela do CYP1A2 (Kukul et al., 2023). Os SNPs encontrados em regiões exônicas, intrônicas e regulatórias do gene podem causar alterações estruturais na enzima CYP, afetando a afinidade de ligação ao substrato ou alterando sua expressão, resultando em atividade normal, aumentada, reduzida ou

ausente (Esteves et al., 2021). O polimorfismo de nucleotídeo único -163 A>C (rs762551) tem sido demonstrado que altera a inducibilidade e atividade da enzima CYP1A2.

O alelo A desse polimorfismo está associado a uma diminuição na atividade enzimática, resultando em uma metabolização mais lenta enquanto o alelo C é associado a uma maior atividade do CYP1A2. Polimorfismo -3860G>A (CYP1A2\*1C) também está localizado no promotor do gene CYP1A2, e o alelo A desse polimorfismo está associado a uma atividade enzimática reduzida, semelhante ao polimorfismo -163C>A. A variante alela do polimorfismo rs4646903 (T > C) e rs1048943 (A > G) do CYP1A1 está relatada como aumentando a atividade da enzima, onde indivíduos com genótipo CC ou TC do rs4646903 e indivíduos com genótipo GG ou AG do rs1048943 apresentam maior atividade enzimática. A variante alela do polimorfismo rs2606345 (G/C > T/A) do CYP1A1 está relatada como reduzindo a atividade do promotor da enzima, portanto, uma menor atividade enzimática é especulada para indivíduos com genótipo TT/AA ou GT/CA (Kukal et al., 2023).

### ***Doenças e condições clínicas associadas a alterações no metabolismo da cafeína***

Dependendo do metabolismo lento ou rápido devido à variação genética das enzimas que metabolizam a cafeína, podem ocorrer diferentes condições clínicas (ver o quadro 1). Estas condições incluem a sintomatologia observada naqueles que apresentam metabolismo lento da cafeína e que podem experimentar uma sensibilidade aumentada aos efeitos estimulantes da substância, levando a sintomas como insônia, ansiedade, tremores, taquicardia e irritabilidade (Cornelis MC, 2009; Saito et al., 2015). Além disso, eles podem ter um maior risco de efeitos colaterais, como palpitações cardíacas.

O consumo de café tem sido associado a certas doenças ou efeitos na saúde. Um desses efeitos está relacionado a uma diminuição na densidade mineral óssea (Hallström et al., 2010) e a um menor risco de cancro relacionado a parte hormonal em mulheres (Cornelis MC, 2009; Cornelis MC et al., 2008; Ganmaa et al., 2008), além de oferecer proteção contra a doença de Parkinson e o desenvolvimento de diabetes *mellitus* (Carlström & Larsson, 2018; Ganmaa et al., 2008).

Em relação aos efeitos cardiovasculares, o café tem sido associado a um aumento do risco de hipertensão (Farag et al., 2010; Palatini et al., 2009), sendo que essa associação é modificada geneticamente (Palatini et al., 2009).

No entanto, no que respeita ao impacto na doença arterial coronária os resultados são ainda inconclusivos (Cornelis et al., 2006; Cornelis & El-Sohehy, 2007). Aqueles que apresentam metabolismo rápido da cafeína tendem a ter menor sensibilidade aos efeitos estimulantes da substância. Além disso, os efeitos da cafeína podem ter uma duração mais curta nesses indivíduos.

**Quadro 1:** Lista de patologias e condições clínicas associadas a alterações no metabolismo da cafeína.

<b>Condições clínicas associadas a alterações no metabolismo da cafeína</b>
<b>Sensibilidade aumentada à cafeína:</b>
Insónia
Ansiedade
Tremores
Taquicardia
Irritabilidade
A cafeína na prevenção de certas patologias
Parkinson
Certos tipos de cancro
<b>Metabolismo lento da cafeína:</b>
Prolongamento dos efeitos estimulantes da cafeína
Maior risco de efeitos colaterais, como palpitações cardíacas
<b>Risco aumentado de certas patologias:</b>
Doença cardiovascular, como hipertensão arterial
Transtornos do sono, como insónia crónica
Doenças metabólicas, como diabetes tipo 2
Ansiedade e depressão
<b>Metabolismo rápido da cafeína:</b>
Menor sensibilidade aos efeitos estimulantes da cafeína
Menor duração dos efeitos da cafeína
<b>Interações medicamentosas:</b>
Interferências com a eficácia de certos medicamentos metabolizados pelas mesmas enzimas de metabolização da cafeína

As enzimas que metabolizam a cafeína também estão envolvidas no metabolismo de outros medicamentos. Portanto, variações genéticas que afetam o metabolismo da cafeína podem interferir na eficácia de certos medicamentos.

Alguns exemplos de medicamentos que são metabolizados pela CYP1A2 incluem o ropinirol, medicamento utilizado no tratamento da doença de Parkinson, a olanzapina, um antipsicótico utilizado no tratamento de transtornos psiquiátricos, a clozapina, outro antipsicótico. A fluvoxamina, um antidepressivo da classe dos inibidores seletivos da recaptção de serotonina. A cafeína pode ser usada como uma ferramenta para fenotipagem da atividade da CYP1A2 na metabolização da fluvoxamina.

Estes são apenas alguns exemplos de medicamentos que são metabolizados pela CYP1A2 e nos quais a cafeína pode ser usada como fenotipagem para avaliar a atividade dessa enzima. A fenotipagem com cafeína é um método utilizado para avaliar a atividade da enzima CYP1A2 no metabolismo da cafeína. O procedimento envolve a administração de uma dose padronizada de cafeína e a medição dos níveis de cafeína e de seus metabólitos na urina ou no plasma sanguíneo ao longo do tempo.

Uma dose padronizada de cafeína é administrada ao indivíduo. Essa dose pode variar, mas geralmente é baseada no peso corporal do indivíduo. A cafeína pode ser administrada oralmente na forma de cápsulas ou em uma bebida contendo uma quantidade conhecida de cafeína. As amostras são utilizadas para medir os níveis de cafeína e de seus metabólitos, como a paraxantina, teobromina e teofilina. Amostras de urina e/ou sangue são colhidas antes da administração da cafeína e em intervalos de tempo definidos após a

administração. Os níveis de cafeína e seus metabólitos são quantificados por meio de técnicas analíticas, como cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) ou espectrometria de massa. A partir desses dados, é possível determinar a taxa de metabolização da cafeína e inferir a atividade da enzima CYP1A2.

#### ***Diferentes técnicas aplicadas na genotipagem do polimorfismo do polimorfismo CYP1A2 (rs762551)***

Existem inúmeros protocolos que podem ser obtidos para genotipar o polimorfismo mais importante do promotor do gene CYP2A1. Num laboratório hospitalar ou laboratório privado de análises clínicas, que tenham condições de realizar técnicas de biologia molecular, podem ser utilizados protocolos simples, em que é necessário apenas um termociclador e um equipamento de electroforese e protocolos que utilizam equipamento mais caro como os de sequenciação gênica. Assim temos o protocolo mais simples que é o de PCR seguido RFLP (Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism). Outra abordagem pode ser a PCR em Tempo Real também conhecida como PCR quantitativa, que permite a detecção do DNA amplificado em tempo real. Utilizando sondas ou corantes fluorescentes específicos (Tecnologia TaqMan), é possível identificar o alelo presente no polimorfismo. A sequenciação de sanger também permite analisar toda a sequência envolvente do nucleótido -163. Apesar do sucesso no sequenciamento do genoma humano completo, a Sequenciação de Sanger, é um método caro e ineficiente para projetos de larga escala. A sequenciação de nova geração (do inglês, Next-Generation Sequencing-NGS) pode ser aplicado a sequenciação de DNA e RNA automatizado, paralelo e de alto rendimento. Permite sequenciar o DNA de forma muito mais rápida e barata em comparação com o sequenciamento de Sanger.

#### ***PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism)***

O método de polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição de reação em cadeia da polimerase (PCR-RFLP) é baseado na digestão de amplicons de PCR com enzimas de restrição apropriadas para produzir fragmentos polimórficos distintos usados como marcadores para identificação de espécies. O RFLP, como marcador molecular, é específico para uma única combinação de clone/enzima de restrição. A maioria dos marcadores RFLP é codominante (ambos os alelos em uma amostra heterozigótica serão detectados) e altamente específica para o locus.

Uma sonda de RFLP é uma sequência de DNA marcada que hibridiza com um ou mais fragmentos da amostra de DNA digerido após a separação por eletroforese em gel, revelando assim um padrão característico de blots único para um genótipo específico em um locus específico. Clones de DNA genômico ou cDNA de baixa cópia, curtos e únicos, são tipicamente usados como sondas de RFLP (Eshkoor et al., 2013)

#### ***qPCR (tecnologia taqman)***

A qPCR (PCR em tempo real) é uma técnica molecular amplamente utilizada para quantificar o DNA ou RNA em uma amostra. A tecnologia TaqMan é um dos métodos comumente empregados na qPCR., é uma derivação das descobertas de Karry Mullis na década de 80 que tem como principais características a detecção e quantificação de fluorescência emitida durante cada ciclo de uma reação de PCR e a sensibilidade de detectar poucas cópias de DNA presentes em uma dada amostra. A tecnologia qPCR permite que a amplificação e detecção ocorram simultaneamente sendo possível visualizar o resultado, em tempo real, durante o procedimento de amplificação (Lin et al., 2022). O processo é rápido, o risco de contaminação é baixo e ainda é capaz de gerar resultados quantitativos com maior precisão. A quantificação é determinada pela quantidade de produto amplificado durante cada ciclo, através da fluorescência emitida.

### **Análise de Polimorfismo de Conformação de cadeia Única (SSCP)**

A análise de Polimorfismo de Conformação de Fita Única (SSCP) é uma técnica utilizada para detectar variações na sequência de DNA, como polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) ou mutações pontuais. Essa técnica baseia-se na capacidade das moléculas de DNA de fita simples em adotarem conformações específicas, dependendo de sua sequência primária. Como consequência, mesmo uma única alteração de base pode resultar em uma mudança conformacional, que pode ser detectada pela mobilidade alterada da molécula de DNA de fita simples na eletroforese SSCP ( Saiyaros et al., 2019). O processo SSCP envolve a amplificação por PCR do fragmento alvo, desnaturação do produto de PCR de dupla fita com calor e (ou outros desnaturantes) e eletroforese em gel de poliacrilamida não desnaturante.

Vários parâmetros foram empiricamente encontrados para afetar a sensibilidade da análise SSCP. Entre eles estão: tipo de mutação; tamanho do fragmento de DNA; conteúdo de G e C do fragmento; composição da matriz de gel de poliacrilamida ou outra composição de gel; tamanho e potencial do gel; temperatura do gel durante a eletroforese; concentração de DNA; tempo de execução da eletroforese; composição do tampão, incluindo força iônica e pH; e aditivos de tampão, como glicerol ou sacarose.

### **Sequenciação de Sanger e Sequenciação NGS**

A sequenciação de Sanger, também conhecida como "método de terminação de cadeia", foi projetado para determinar a sequência de bases de nucleotídeos em um fragmento de DNA (geralmente com menos de 1.000 pares de bases) (Li et al., 2022). Foi o método utilizado no Projeto Genoma Humano para determinar as sequências de fragmentos de DNA e, eventualmente, cromossomos inteiros.

Na sequenciação de Sanger, um primer de DNA complementar ao DNA a ser sequenciado é usado como ponto de partida para a síntese de DNA. Na presença dos quatro desoxirribonucleotídeos trifosfatos (dNTPs: A, G, C e T), a polimerase estende o primer adicionando o dNTP complementar à cadeia do DNA molde. Para determinar qual nucleotídeo é incorporado à cadeia de nucleotídeos, são utilizados quatro desoxirribonucleotídeos trifosfatos terminadores (ddNTPs: ddATP, ddGTP, ddCTP e ddTTP) marcados com corantes fluorescentes distintos para interromper a reação de síntese (Cornelis et al., 2015). Após a síntese, os produtos da reação são carregados em quatro faixas de um gel dependendo do nucleotídeo terminador específico e submetidos à eletroforese em gel. Com base em seus tamanhos, a sequência do DNA é determinada.

A sequenciação de nova geração (Next-Generation Sequencing - NGS) poderia ser utilizada se pretendêssemos analisar todos os polimorfismos que hoje descritos para o metabolismo da cafeína. Essa técnica de alto rendimento permite a análise simultânea de múltiplos genes ou regiões do genoma (Barua et al., 2022). Com a NGS, é possível identificar o polimorfismo -163C>A e outros polimorfismos em larga escala, fornecendo uma visão mais abrangente do perfil genético.

A escolha da estratégia laboratorial depende dos recursos disponíveis, da quantidade de amostras a serem analisadas, da precisão necessária e do objetivo do estudo. Existem várias empresas de biotecnologia que oferecem testes genéticos de consumo que incluem a análise de polimorfismos em diversos genes, incluindo o CYP1A2. Os profissionais de saúde ou mesmo os utentes podem solicitar um kit de colheita de swab bucal ou saliva e enviar sua amostra para o laboratório da empresa, onde o DNA é extraído e analisado usando tecnologias de genotipagem em larga escala.

### **Análise crítica**

A análise das variantes génicas num contexto de nutrigenética ou farmacogenética reveste-se de grande importância, ela permite a personalização do aconselhamento nutricional e terapêutico (ajuste da dosagem, por exemplo) para diversos fármacos. Com base nas informações genéticas, os médicos, nutricionistas e farmacologistas podem adaptar as recomendações de tratamento e intervenções preventivas de acordo com as características genéticas únicas de cada paciente.

O conhecimento dos polimorfismos genéticos poderá no futuro ajudar a identificar indivíduos que poderão estar em maior risco de desenvolver certas patologias, permitindo intervenções precoces ou estratégias de prevenção mais específicas.

### Referências

- Alsene, K., Deckert, J., Sand, P., de Wit, H. (2003). Association between A2a receptor gene polymorphisms and caffeine-induced anxiety. *Neuropsychopharmacology*, 28(9), 1694-1702.
- Behjati, S., & Tarpey, P. S. (2013). What is next generation sequencing?. *Archives of Disease in Childhood-Education and Practice*, 98(6), 236-238.
- Cornelis MC, El-Sohemy A Coffee, caffeine, and coronary heart disease *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 10 (2007), pp. 745-751
- Cornelis, M. C. et al. (2007). Coffee, CYP1A2 genotype, and risk of myocardial infarction. *JAMA*, 298(15), 1768-1775. doi: 10.1001/jama.298.15.1768
- Caffeine, alcohol, smoking, and the risk of incident epithelial ovarian cancer *Cancer*, 112 (2008), pp. 1169-1177
- Cornelis, M. C., El-Sohemy, A., Kabagambe, E. K., & Campos, H. (2006). Coffee, CYP1A2 genotype, and risk of myocardial infarction. *JAMA*, 295(10), 1135-1141.
- Dahlin, A., & Ingelman-Sundberg, M. (2015). Pharmacogenomics of CYP2D6: Molecular Genetics, Interethnic Differences and Clinical Importance. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 30(1), 2-18.
- Eshkooor, S., Ismail, P., Rahman, S., Moin, S., & Adon, M. (2013). Role of the CYP1A2 gene polymorphism on early ageing from occupational exposure. *Balkan Journal of Medical Genetics*, 16(2), 45-52.
- Faudone, G., Arifi, S., & Merk, D. (2021). The medicinal chemistry of caffeine. *Journal of Medicinal Chemistry*, 64(11), 7156-7178.
- Farag NH, Whitsett TL, McKey BS, Wilson MF, Vincent AS, Everson-Rose SA, Lovallo WR Caffeine and blood pressure response: sex, age, and hormonal status *J Womens Health (Larchmt)*, 19 (2010), pp. 1171-1176
- Fuhr, U., Jetter, A., & Kirchheiner, J. (2007). Appropriate phenotyping procedures for drug metabolizing enzymes and transporters in humans and their simultaneous use in the "cocktail" approach. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 81(2), 270-283.
- Ganmaa D, Willett WC, Li TY, Feskanich D, van Dam RM, Lopez-Garcia E, Hunter DJ, Holmes MD Coffee, tea, caffeine and risk of breast cancer: a 22-year follow-up *Int J Cancer*, 122 (2008), pp. 2071-2076
- Gertig DM, Gates MA, Hecht JL, Hankinson SE
- Ghotbi, R., Christensen, M., Roh, H. K., Ingelman-Sundberg, M., Aklillu, E., & Bertilsson, L. (2007). Comparisons of CYP1A2 genetic polymorphisms, enzyme activity and the genotype-phenotype relationship in Swedes and Koreans. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 63(6), 537-546.
- Guengerich, F. P. (2008). Cytochrome P450 and Chemical Toxicology. *Chemical Research in Toxicology*, 21(1), 70-8.
- Guengerich, F. P. (2001). Common and uncommon cytochrome P450 reactions related to metabolism and chemical toxicity. *Chemical Research in Toxicology*, 14(6), 611-650.
- Han, D. H., Lee, Y. S., Kim, B. N., & Min, K. J. (2018). Association between the CYP1A2 polymorphisms and attention deficit hyperactivity disorder in Korean children. *Psychiatry Investigation*, 15(7), 693-697.
- Hallström H, Melhus H, Glynn A, Lind L, Syvanen AC, Michaelsson K Coffee consumption and CYP1A2 genotype in relation to bone mineral density of the proximal femur in elderly men and women: a cohort study *Nutr Metab (Lond)*, 7 (2010), p. 12
- Hall, S. D., Wang, Z., Huang, S. M., et al. (2003). The interaction between CYP1A2 genetic polymorphisms and age on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of verapamil and norverapamil. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 74(5), 388-398.
- Hernán MA, Takkouche B, Caamano-Isorna F, Gestal-Otero JJ A meta-analysis of coffee drinking, cigarette smoking, and the risk of Parkinson's disease *Ann Neurol*, 52 (2002), pp. 276-284
- Kim, K. A., Park, P. W., Kim, H. K., & Bae, K. S. (2013). Effect of CYP1A2 genetic polymorphism on the efficacy of clozapine. *The Journal of Clinical Psychopharmacology*, 33(5), 681-685.
- Kukal, S., Thakran, S., Yadav, S., Mishra, M. K., Guin, D., Singh, P., & Kukreti, R. (2023). Genic-intergenic polymorphisms of CYP1A genes and their clinical impact. *Gene*, 147171.
- Li, J., Chen, T., Jie, F., Xiang, H., Huang, L., Jiang, H., ... & Tang, Y. (2022). Impact of VKORC1, CYP2C9, CYP1A2, UGT1A1, and GGXX polymorphisms on warfarin maintenance dose: Exploring a new algorithm in South Chinese patients accept mechanical heart valve replacement. *Medicine*, 101(29).

- Lin, L., Wang, Y., Shao, S., Lin, W., Huang, D., Dai, Y., & Xia, Y. (2022). Herb-drug interaction between Shaoyao-Gancao-Fuzi decoction and tofacitinib via CYP450 enzymes. *Journal of Ethnopharmacology*, 295, 115437.
- Lofffield, E., Cornelis, M. C., Caporaso, N., Yu, K., Sinha, R., & Freedman, N. (2018). Association of coffee drinking with mortality by genetic variation in caffeine metabolism: findings from the UK Biobank. *JAMA internal medicine*, 178(8), 1086-1097.
- Mattias Carlström, Susanna C Larsson, Coffee consumption and reduced risk of developing type 2 diabetes: a systematic review with meta-analysis, *Nutrition Reviews*, Volume 76, Issue 6, June 2018, Pages 395–417, <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuy014>
- Muñoz, A., López-Samanes, Á., Aguilar-Navarro, M., Varillas-Delgado, D., Rivilla-García, J., Moreno-Pérez, V., & Del Coso, J. (2020). Effects of CYP1A2 and ADORA2A genotypes on the ergogenic response to caffeine in professional handball players. *Genes*, 11(8), 933.
- Mwenesi, H. A., Harland, K. K., Do, J., et al. (2019). Pharmacogenetics of caffeine metabolism: A review of current knowledge and implications for precision medicine. *Journal of Personalized Medicine*, 9(1), 12
- Palatini, P., Dorigatti, F., Saladini, F., Benetti, E., Mos, L., & Mormino, P. (2009). Genetic contribution to the variance in CYP1A2 activity and to the bronchodilator effect of coffee. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 85(2), 154-160.
- Palatini P, Ceolotto G, Ragazzo F, et al. CYP1A2 genotype modifies the association between coffee intake and the risk of hypertension. *J Hypertens*.2009;27(8): 1594-1601.doi: 10.1097/HJH.0b013e32832bbae1.
- Preedy, V. R. (Ed.). (2012). *Caffeine: Chemistry, analysis, function and effects* (No. 2). Royal Society of Chemistry.
- Saiyaros, K., Kritpetcharat, P., Pairojkul, C., & Sithithaworn, J. (2019). Detection of epidermal growth factor receptor (EGFR) gene mutation in formalin fixed paraffin embedded tissue by polymerase chain reaction-single Strand conformational polymorphism (PCR-SSCP) in non-small cell lung Cancer in the northeastern region of Thailand. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP*, 20(5), 1339.
- Saito E, Inoue M, Sawada N, et al. Association of Coffee Intake with Total and Cause-Specific Mortality in a Japanese Population: The Japan Public Health Center-based Prospective Study. *Am J Clin Nutr*. 2015;101(5):1029-1037. doi: 10.3945/ajcn.114.103316.
- van der Walt, N. T., van Tonder, J. J., Loots, D. T., & Warnich, L. (2019). The impact of CYP1A2 metabolism on the effect of caffeine and coffee consumption on cardiovascular disease and diabetes risk. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 57(6), 789-798.
- Van Dam RM, Hu FB Coffee consumption and risk of type 2 diabetes: a systematic review *JAMA*, 294 (2005), pp. 97-104
- Wang, H., Chen, W., Li, D., & Yin, X. (2019). Genetic polymorphisms of cytochrome P450 1A2 and risk of caffeine-induced hypertension: A meta-analysis. *Journal of the American Heart Association*, 8(2), e010341.
- Wang, Z. J., & Ngo, V. (2018). Phenotyping for cytochrome P450 1A2 activity with caffeine: Still a useful tool for precision medicine? *Journal of Clinical Pharmacology*, 58(5), 573-583.
- Wang, H., Chen, W., Li, D., & Yin, X. (2019). Genetic polymorphisms of cytochrome P450 1A2 and risk of caffeine-induced hypertension: A meta-analysis. *Journal of the American Heart Association*, 8(2), e010341.
- Yang, A., Palmer, A. A., de Wit, H. (2010). Genetics of caffeine consumption and responses to caffeine. *Psychopharmacology*, 211(3), 245-257.
- Zhou, S. F., & Zhou, Z. W. (2009). Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance: Part I. *Clinical Pharmacokinetics*, 48(11), 689-723.
- Zanger, U. M., & Schwab, M. (2013). Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: Regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacology and Therapeutics*, 138(1), 103-141.