

ESTUDO DO POLIMORFISMO DOS GENES CYP1A2 E ADORA2A E SUA RELAÇÃO NO DESEMPENHO ERGOGÊNICO DOS EFEITOS DA CAFEÍNA: CARACTERIZAÇÃO GENOTÍPICA DA POPULAÇÃO UNIVERSITÁRIA

Bárbara Dias Campos (IC) e Ana Paula Pimentel Costa (Orientador)

Apoio: PIBIC Mackenzie

RESUMO

A cafeína é amplamente consumida, especialmente entre estudantes universitários, devido aos seus efeitos benéficos, como aumento da atenção e melhora da função cognitiva. Entretanto, há variações individuais na resposta à cafeína com alguns indivíduos não apresentando os efeitos positivos mencionados, possivelmente influenciadas por polimorfismos genéticos nos genes CYP1A2 e ADORA2A. O gene ADORA2A, codificante dos receptores de adenosina A2A, está relacionado à sensibilidade à cafeína, classificando os indivíduos como de alta (genótipo TT) ou baixa (genótipos CT ou CC) sensibilidade. O gene CYP1A2, codificante da enzima citocromo P450 1A2 e responsável pela metabolização da cafeína, tem sido utilizado para classificar indivíduos como metabolizadores rápidos (genótipo AA) ou lentos (genótipos AC ou CC). O objetivo deste estudo foi verificar os polimorfismos do receptor adenosina A2A e do citocromo P450 1A2 em uma população de estudantes universitários. Foi realizado um estudo transversal, utilizando uma amostra composta por estudantes participantes do projeto "Sucesso Acadêmico", da UPM. O DNA foi extraído de células epiteliais bucais. A genotipagem para ADORA2A foi realizada por PCR alelo-específico (ainda em padronização), enquanto a genotipagem para CYP1A2 foi feita por PCR-RFLP, identificando três grupos genotípicos: AA (41,7%), AC (51,7%) e CC (6,9%), com frequências alélicas semelhantes a estudos publicados realizados em outros países. Este estudo inicial fornece dados fundamentais para futuras pesquisas sobre a relação entre esses polimorfismos e os efeitos ergogênicos da cafeína, visando a personalização de estratégias de consumo com base na genética individual.

Palavras-chave: Polimorfismo. Cafeína. CYP1A2 ADORA2A

ABSTRACT

Caffeine is widely consumed, especially by college students, due to its beneficial effects, such as increased attention and improved cognitive function. However, there are individual variations in the response to caffeine, with some individuals not experiencing the mentioned positive effects, possibly influenced by genetic polymorphisms in the CYP1A2 and ADORA2A genes. The ADORA2A gene, which codes for adenosine A2A receptors, is related to caffeine sensitivity, classifying individuals as having high (TT genotype) or low (CT or CC genotypes) sensitivity. The CYP1A2 gene, which codes for the enzyme cytochrome P450 1A2 responsible for caffeine metabolism, has been used to classify individuals as fast (AA genotype) or slow (AC or CC genotypes) metabolizers. The aim of this study was to verify the polymorphism of the cytochrome P450 1A2 receptor in a population of college students. A cross-sectional study was conducted using a sample of students from the "Academic Success" project at UPM. DNA was extracted from buccal epithelial cells. Genotyping for ADORA2A was performed using allele-specific PCR (still in standardization), while genotyping for CYP1A2 was done using PCR-RFLP, identifying three genotypic groups: AA (41.7%), AC (51.7%), and CC (6.9%), with allele frequencies similar to published studies conducted in other countries. This initial study provides fundamental data for future research on the relationship between these polymorphisms and the ergogenic effects of caffeine, aiming for personalized consumption strategies based on individual genetics.

Keywords: Polymorphism. Caffeine. CYP1A2 ADORA2A

1. INTRODUÇÃO

Devido à sua disponibilidade, a cafeína é amplamente utilizada como fonte de energia. Café, pílulas, refrigerantes e bebidas energéticas são algumas das fontes mais populares de cafeína. Alguns dos benefícios atribuídos à ingestão moderada de cafeína incluem maior atenção, estado de alerta, elevação do humor, aumento da função cognitiva e menos falhas cognitivas, menor risco de suicídio e menos sintomas depressivos (LARA, 2010). Assim, o uso de cafeína é extremamente prevalente entre estudantes universitários. O estilo de vida universitário, no entanto, parece levar a uma maior ingestão de cafeína em comparação com o resto da população (CHAMPLIN, et al 2016).

No entanto, a resposta à ingestão de cafeína não parece ser uniforme entre os indivíduos, com alguns experimentando aumentos no desempenho após a ingestão, enquanto outros não mostram mudanças relacionadas ao desempenho ou mesmo diminuem após o consumo (SABOL; GRGIC; MIKULIC, 2019).

De acordo com Cornelis et al. (2006) diferentes respostas dos indivíduos à cafeína podem estar relacionadas a polimorfismos genéticos, mais especificamente polimorfismos presentes nos genes CYP1A2 (codificante da enzima citocromo P450 1A2, responsável por 95% da metabolização da cafeína) e ADORA2A (codificante dos receptores de adenosina A2A e alvos da cafeína).

O polimorfismo no gene ADORA2A tem sido utilizado para categorizar os indivíduos como tendo uma sensibilidade "alta" (genótipo TT) ou "baixa" (genótipo CT ou CC) à cafeína (NEHLIG 2018). Já o polimorfismo no gene CYP1A2 tem sido utilizado para categorizar indivíduos como "metabolizadores rápidos" (genótipo AA) ou "metabolizadores lentos" (genótipo AC ou CC) de cafeína (CORNELIS et al., 2006).

Porém, a influência das diferenças genéticas no desempenho ergogênico dos efeitos da cafeína ainda precisam ser totalmente elucidados, pois os dados da literatura são controversos (FULTON et al, 2018; NEHLIG, 2018; TIAN et al, 2019). Além disso, há uma escassez de estudos focados nos genótipos de CYP1A2 e ADORA2A entre brasileiros, o que motivou a realização deste estudo para preencher essa lacuna. Nesse contexto, o presente projeto verificou os polimorfismos do receptor adenosina A2A - ADORA2A, e do citocromo P450 1A2- CYP1A2 e avaliou suas relações com desempenho ergogênico dos efeitos da cafeína entre uma população de estudantes universitários.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

Segundo Pereira et al. (2015), o café é a principal bebida consumida no Brasil. Uma pessoa consome em média 163 ml por dia (SOUSA; DA COSTA, 2015). Ele é amplamente apreciado em todo o país, tendo um consumo anual per capita brasileiro de 6,02 kg, o que representa 13% da demanda mundial (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INDÚSTRIA DO CAFÉ - ABIC, 2019). Cientes de que a cafeína é o principal componente desta bebida e que memória e atenção são funções essenciais para o bom desempenho acadêmico, muitos jovens têm consumido estas bebidas para a realização de suas atividades de estudo (SANTANA et al., 2020).

Além disso, a cafeína é um agente ergogênico bem estabelecido, conhecido por melhorar o desempenho atlético. Embora inúmeros estudos tenham demonstrado uma melhora no desempenho de resistência (ou seja, uma redução no tempo de prova) e no desempenho de potência (aumento na altura do salto) após a suplementação com cafeína, ainda existe uma variabilidade interindividual substancial na resposta à ingestão de cafeína. Portanto, alguns indivíduos podem experimentar efeitos benéficos com o consumo de cafeína, enquanto outros podem não sentir efeitos ou até mesmo reações adversas, como palpitações e insônia (WANG et al. 2024).

De acordo com Burke (2008), as diferentes respostas dos indivíduos à cafeína são afetadas pela dose, método e momento da ingestão. Porém, evidências sugerem que polimorfismos genéticos, mais especificamente polimorfismos presentes nos genes CYP1A2 (codificante da enzima citocromo P450 1A2, responsável por 95% da metabolização da cafeína) e ADORA2A (codificante dos receptores de adenosina A2A e alvos da cafeína) são potenciais candidatos para explicar parte desta variabilidade (CORNELIS et al. 2006).

O gene ADORA2A codifica o receptor de adenosina A2A, e a cafeína é um potente antagonista desse receptor, bloqueando as ações da adenosina no sistema nervoso central e diminuindo assim o cansaço, aumentando a excitação, a vigilância e a vontade de fazer esforço durante o exercício (CARSWELL et al. 2020). O polimorfismo 1976T>C resulta na substituição do nucleotídeo T por C, na posição 1083 (rs5751876) e ele tem sido utilizado para categorizar os indivíduos como tendo uma sensibilidade "alta" (genótipo TT) ou "baixa" (genótipo CT ou CC) à cafeína (NEHLIG 2018).

Portadores do genótipo TT (15,5% da população) tem maior sensibilidade nos receptores A2A à cafeína e seus metabólitos, o que resultaria em efeito ergogênico mais pronunciado em comparação aos indivíduos portadores dos genótipos CC (37,4%) e CT

(47,1%), chamados de “menos sensíveis” (NEHLIG, 2018; ERBLANG et al., 2019). Em um estudo realizado por Bodenmann et al. (2012) mostra que ao realizar testes de atenção logo após o consumo de cafeína, pessoas com genótipo TT apresentaram tempos de resposta mais rápidos do que aqueles com genótipo CC ou CT. Além disso, estudos clínicos demonstram que os homozigotos CC são mais suscetíveis ao aumento da ansiedade, nervosismo e distúrbios do sono (CARSWELL et al. 2020).

O metabolismo da cafeína ocorre principalmente no fígado através do sistema do citocromo P450 (CYP1A2), onde ocorre a conversão dela em seu principal metabólito paraxantina (CARSWELL et al. 2020). Uma substituição de A a C na posição 163 (-163C>A; rs762551) no gene CYP1A2 afeta a velocidade desse metabolismo (CORNELIS et al. 2006). A presença do polimorfismo reduz a expressão da enzima, alterando a taxa de metabolização e depuração da cafeína, podendo influenciar nos seus efeitos ergogênicos (ERBLANG et al., 2019).

Indivíduos que possuem o genótipo AA (46% da população) são considerados “metabolizadores rápidos” de cafeína, dado que este genótipo codifica a forma altamente induzível da enzima CYP1A2 (CORNELIS et al., 2006). Indivíduos com genótipo AC ou CC, ou seja, portadores do alelo C (54% da população), tendem a ter metabolismo mais lento dessa substância e são considerados “metabolizadores lentos” (CORNELIS et al., 2006).

Alguns estudos encontraram diferenças nos efeitos ergogênicos da cafeína. Indivíduos que possuem o genótipo AA experimentaram melhorias no desempenho após a ingestão, enquanto aqueles com o genótipo AC ou CC não foram impactados positivamente pela ingestão (GUEST et al., 2018). Em contraste com esses achados, outros sugeriram que indivíduos com o genótipo AC experimentam maiores melhorias no desempenho após a ingestão do que aqueles que possuem o genótipo AA (PATAKY et al, 2016).

Nos últimos anos, é possível observar um aumento nos estudos sobre a associação da variabilidade genética em torno da metabolização e ação da cafeína e seus efeitos sobre o desempenho físico e cognitivo (GRGIC et al., 2021; GUEST et al., 2021). Em uma ordem cronológica de publicações, inicialmente os autores Womack et al. (2012), Loy et al. (2015), Salinero et al. (2017) e Puente et al. (2018) realizaram ensaios clínicos controlados utilizando placebo e cafeína, nas mais diferentes doses (3 a 6 mg/kg de peso corporal), comparando seu efeito de acordo com o polimorfismo dos genes CYP1A2 e ADORA2A. Foi observado que os efeitos positivos sobre a ergogenicidade e cognição estão associadas ao polimorfismo do genótipo AA no gene CYP1A2, que exibe metabolismo rápido da cafeína no fígado. Já os sintomas negativos percebidos com a suplementação aguda dessa substância podem estar

relacionados a outro gene, ADORA2A, associado a sensibilidade à cafeína (LOY et al., 2015; PUENTE et al., 2018; SALINERO et al., 2017; WOMACK et al., 2012).

Posteriormente, os autores Rahimi et al. (2019), Guest, et al. (2018), e Giersch et al. (2018) encontraram resultados controversos sobre a associação entre metabolismo rápido da cafeína e melhor ergogenicidade, através de uma comparação entre os portadores do genótipo AA e os portadores do alelo C.

Finalmente, os autores Grgic et al. (2020), Carswell et al. (2020) e Muñoz et al. (2020), usando uma dose padrão de cafeína (3 mg/kg peso), avaliaram polimorfismo do gene CYP1A2 em um modelo cruzado controlado por placebo e observaram melhores resultados para os portadores do genótipo AA. Já para os indivíduos com genótipo TT no gene ADORA2A, associado a alta sensibilidade para cafeína, foi observada uma baixa associação de melhora cognitiva ou ergogênica (CARSWELL et al., 2020; GRGIC et al., 2020; MUÑOZ et al., 2020).

Neste contexto, os dados bibliográficos apresentam resultados controversos em pesquisas científicas e na prática clínica, indicando que a influência das diferenças genéticas no desempenho ergogênico dos efeitos da cafeína ainda precisa ser totalmente elucidada. Além disso, há uma escassez de estudos focados nos genótipos de CYP1A2 e ADORA2A entre brasileiros.

A caracterização genética da população em relação a esses polimorfismos é crucial para personalizar tratamentos e suplementações de cafeína, maximizando os benefícios e minimizando os riscos. Investigar a frequência desses polimorfismos em uma população universitária brasileira e analisar sua possível correlação com os efeitos da cafeína não só contribuirá para uma melhor compreensão do tema, mas também fornecerá subsídios importantes para o embasamento de estratégias impulsionadoras dentro do programa Sucesso Acadêmico.

3. METODOLOGIA

3.1 Caracterização da amostra

O presente projeto de iniciação científica é parte integrante de um projeto temático que avalia a influência dos componentes de bebidas energéticas (cafeína e taurina) e consumo de café, assim como da prática de exercícios físicos nas funções cognitivas (atenção e memória), no humor (ansiedade e depressão) e na fadiga de jovens universitários. Este projeto temático, por sua vez, faz parte do Programa de Extensão – “Sucesso Acadêmico: Promoção de Boas Práticas de Vida e de Estudo para o Desenvolvimento Acadêmico-Profissional”, o qual conta

atualmente com uma equipe interdisciplinar, que tem integrado atividades de pesquisa à extensão.

Assim a amostra analisada foi composta por universitários já participantes do programa de extensão “Sucesso Acadêmico”, onde já foram coletados dados epidemiológicos referentes ao consumo regular de café e/ou energéticos, prática de atividade física, regime de sono, sonolência diurna, dificuldade de atenção, além de dados sociodemográficos.

Os participantes foram apresentados a este novo estudo por meio de contato pessoal ou eletrônico e neste momento receberam o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), onde havia uma breve descrição do projeto. Estimou-se uma amostra de 150 participantes para garantir um poder estatístico suficiente para as análises.

Foram aplicados os mesmos critérios de inclusão e exclusão do programa “Sucesso Acadêmico”. Os critérios de inclusão contaram com participantes saudáveis, de ambos os sexos, com idade entre 18 e 25 anos, que estejam matriculados em alguma instituição de ensino. Foram excluídos os participantes que apresentaram histórico de doenças vasculares e cardíacas, que se declararam dependentes químicos, gestantes, que apresentaram impossibilidade de prática de exercícios físicos, contraindicação ao consumo de cafeína e/ou taurina e consomem regularmente café e/ou energéticos, em doses acima de 400 mg/dia.

3.2 Extração de DNA

A obtenção do DNA foi realizada no Laboratório de Biologia Molecular da Universidade Presbiteriana Mackenzie, por meio da metodologia padronizada por Abrão et al (2005).

Os voluntários foram orientados a bochechar previamente com 100 mL de água destilada e a coleta foi realizada raspando a face interna das bochechas com hastes flexíveis estéreis (swab), fazendo movimentos circulares aproximadamente 30 vezes. As hastes tiveram a porção externa cortadas, colocadas em microtubos de 2,0 mL e armazenadas em geladeira por período de 2 a 30 dias antes da extração. Aos tubos contendo o swab foram adicionados 200 μ L de TES (Tris HCl 10 mM pH 7,6; EDTA 1 mM; SDS 0,6%) e 5 μ L de proteinase K (10 mg/ml) e estes foram incubados por 2h a 42 °C. Após a incubação, foi retirado o swab e foi esperado obter um volume de 250 μ L aproximadamente, aos quais adicionamos 42 μ L de NaCl saturado (6M), agitando manualmente com vigor. Centrifugamos por 1 min a 15.000 x g. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo e foi adicionado 2 vezes o volume de etanol absoluto. Os tubos foram agitados e centrifugados por 1 min a 15.000 x g. O etanol foi descartado e foi adicionado 1 mL de etanol 70%, invertendo-se os tubos diversas vezes para lavar o pellet. Os tubos foram centrifugados por 1 min a 15.000 x g e o sobrenadante desprezado. Em seguida, repetimos a lavagem com etanol 70% mais uma vez

e, após desprezar o sobrenadante, os tubos permaneceram abertos por 30 minutos para evaporação do etanol residual. O DNA foi dissolvido em 60 µL de TE 10: 0,1 (Tris HCl 10mM; EDTA 0,1mM). Todas as amostras de DNA foram armazenadas a 4°C até sua análise.

3.3 Análise do polimorfismo do receptor adenosina A2A - ADORA2A (rs5751876)

A análise do polimorfismo 1083T>C do gene do receptor adenosina A2A (ADORA2A) (rs5751876) foi realizada através do PCR alelo-específico conforme descrito por Rétey et al, (2007). Foram utilizados primers específicos para amplificação de cada alelo e um primer universal: A2A-F-T (prime senso específico para o alelo T: 5'-CGGAGGCCCAATGGCTAT-3'), A2A-F-C (prime senso específico para o alelo C: 5'-CGGAGGCCCAATGGCTAC-3') e A2A-R (primer universal antisenso 5'-GTGACTGGTCAAGCCAACCA-3'). A reação de PCR foi realizada em um volume final de 25 µL contendo 50 ng de DNA genômico, 250 µM dNTPs, 400 nM primer senso, 400 nM primer antisenso 0.02 U HotStar Taq DNA Polymerase (Qiagen) em 4 mM MgCl₂ tampão de reação. As condições da PCR: desnaturação inicial 15 min, 95°C seguida de 35 ciclos de desnaturação a 95°C por 1 min, anelamento de 1 min, a 66°C : para o conjunto de primers A2A-F-C / A2A-R e a 68°C para o conjunto de primers A2A-F-T/ A2A-R e extensão de 30s a 72°C, com extensão final de 5 min, a 72°C), esperou-se obter um produto de amplificação de 243pb.

Os produtos de PCR foram separados por eletroforese em gel de agarose 1,0% e visualizados através de coloração com Syber Safe (Invitrogen).

3.4 A análise do polimorfismo do citocromo P450 1A2- CYP1A2 (rs762551)

O segmento CYP1A2 englobando o sítio polimórfico 163C/A foi analisado através de reações de amplificação em cadeia (PCR) e análise de polimorfismo por fragmentos de restrição (RFLP), conforme descrito por Sachse et al (1999).

Para a amplificação por PCR foram utilizados os iniciadores P1f (5'-CAACCCTGCCAATCTCAAGCAC-3') e P4r (5'-AGAAGCTCTGTGGCCGAGAAGG-3'). Cada reação de PCR foi realizada em um volume final 25 µL contendo 100 ng de DNA genômico, 0,2 µM de cada iniciador, 200 µmol/L dNTPs, 3 mM MgCl₂ e 1,25 u de Taq polimerase em tampão (50 mmol/L of KCl, 1.5 mmol/L of MgCl₂, 10 mmol/L Tris-HCl pH8,3) . As condições da PCR: desnaturação inicial de 94 °C por 2 min, seguido de 35 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30 s, anelamento 60 °C por 10 s e extensão de 72 °C por 1 min, com a extensão final de 7 min a 72 °C.

O produto de PCR obtido foi digerido com a enzima de restrição Bsp120I (MBI Fermentas). Para a diferenciação do polimorfismo, esperou-se encontrar um único fragmento

de 920 pb para o alelo A, e 2 fragmentos, sendo um de 709 pb e outro de 211 pb, para o alelo C.

Os produtos obtidos foram separados por eletroforese em gel de agarose 2,0% e visualizados através de coloração com Syber Safe (Invitrogen).

3.5 Análise dos dados

As frequências alélicas foram determinadas pela razão entre a frequência de um dado alelo pelo número total de alelos e as frequências genotípicas foram determinadas pela razão entre a frequência de um alelo e o número total de indivíduos avaliados. A avaliação das frequências foi realizada pelo teste de χ^2 com a correção de Yates. A distribuição genotípica será verificada para o equilíbrio de Hardy-Weinberg.

3.6 Aspectos éticos

O estudo seguiu a Declaração de Helsinque e todos os procedimentos metodológicos aqui descritos foram submetidos ao Comitê de Ética em Seres Humanos da Universidade Presbiteriana Mackenzie para aprovação. Os participantes foram apresentados à pesquisa por contato direto ou por redes sociais, onde tiveram acesso ao resumo do projeto por meio um questionário eletrônico (Google Forms), e aqueles que se enquadraram nos critérios de inclusão e aceitaram participar da pesquisa, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

4. RESULTADO E DISCUSSÃO

Caracterização da população estudada

Neste trabalho, foram coletadas 156 amostras de uma população de jovens universitários do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS) da Universidade Presbiteriana Mackenzie. Dessas, apenas 29 amostras deram resultados positivos na genotipagem dos polimorfismos de interesse. As amostras foram colhidas após a aprovação do comitê de ética e após os jovens terem assinado um termo de consentimento. Entre as 29 amostras analisadas, 16 eram de mulheres e 13 de homens, com idades entre 18 e 27 anos.

Gene CYP1A2

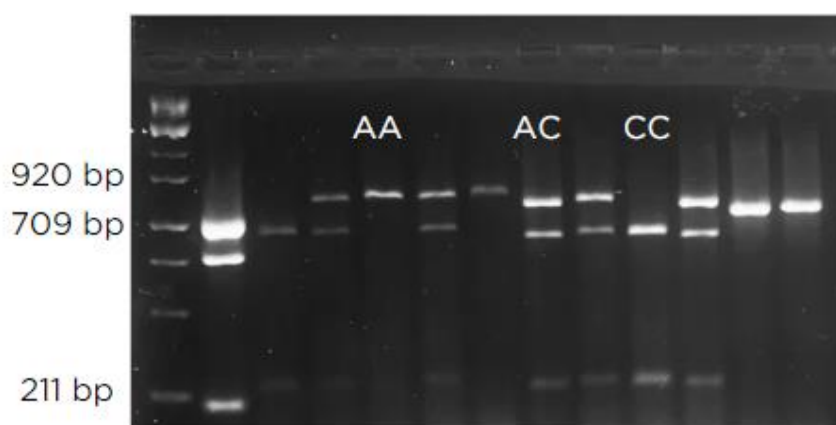
O segmento CYP1A2 englobando o sítio polimórfico 163C/A foi analisado através de reações de amplificação em cadeia (PCR) e análise de polimorfismo por fragmentos de restrição (RFLP), conforme descrito por Sachse et al (1999).

O polimorfismo no gene CYP1A2 tem sido utilizado para categorizar indivíduos como metabolizadores rápidos (genótipo AA) ou lentos (genótipo AC ou CC) de cafeína.

Após a realização da PCR, o produto de PCR obtido foi digerido com a enzima de restrição Bsp120I e as amostras foram analisadas por eletroforese em gel de agarose 2% (Figura 1).

Para a diferenciação de polimorfismos, era esperado um único fragmento de 920 pb para o alelo A, e dois fragmentos, um de 709 pb e outro de 211 pb, para o alelo C.

Figura 1. Análise por eletroforese em gel de agarose do produto da reação de restrição do gene CYP. AA – indivíduo com genótipo AA; AC – indivíduo com genótipo AC; CC – indivíduo com genótipo CC.



Fonte: Autoria Própria.

Das 29 amostras coletadas e analisadas, 12 apresentaram o genótipo AA (41,7%), 15 apresentaram o genótipo AC (51,7%) e 2 apresentaram o genótipo CC (6,9%). Esses resultados indicam que a maioria dos indivíduos na amostra possui a capacidade de metabolizar a cafeína de forma intermediária a lenta, com uma frequência genotípica em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($P > 0,05$). Os cálculos da frequência genotípica estão indicados na tabela 1.

Tabela 1: Frequência genotípica dos genótipos AA, AC e CC.

Genótipos	Frequência Genotípica Observada	Frequência Genotípica Esperada
AA	0,414	0,4489
AC	0,517	0,4422

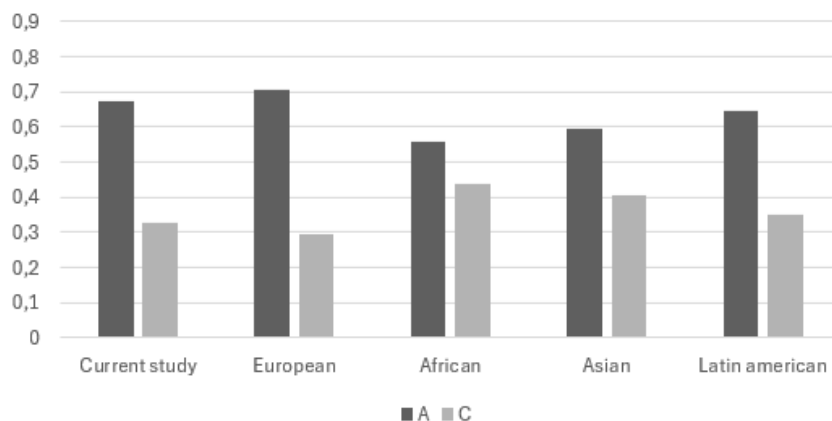
CC	0,069	0,1089
----	-------	--------

Fonte: Autoria Própria.

As frequências alélicas observadas para os alelos A (0,67) e C (0,33) são semelhantes à estudos anteriores analisados sugerindo que essa população compartilha semelhanças genéticas com outras populações globais. A frequência alélica mundial para o alelo A é de aproximadamente 0,68, enquanto para o alelo C é de aproximadamente 0,32.

Quando comparados com diferentes populações, os resultados são bastante semelhantes (Gráfico 1). A frequência do alelo A é bastante semelhante a algumas populações europeias (0,7) e latino-americanas (0,64), mas é um pouco diferente em populações asiáticas (0,59) e africanas (0,55). A frequência do alelo C observada, também foi semelhante nesses grupos, europeus (0,29) e latino-americanos (0,35), e diferente em populações asiáticas (0,41) e africanas (0,44). Esses resultados podem refletir diferenças regionais e étnicas na distribuição desse polimorfismo.

Gráfico 1. Frequência dos alelos CYP1A2 encontrada em comparação com outras populações.



Fonte: Autoria Própria

Esses achados são particularmente valiosos como um ponto de partida para futuras pesquisas, pois fornecem uma base inicial de dados que pode ser expandida para estudos mais abrangentes. A caracterização das frequências genotípicas e alélicas nesta amostra universitária brasileira pode ajudar a compreender melhor a variação genética da população e sua relação com a metabolização da cafeína. Além disso, esses dados podem ser úteis para a personalização de estratégias de consumo de cafeína, contribuindo para a otimização do desempenho cognitivo e físico em contextos acadêmicos e esportivos.

Gene ADORA2A

A análise do polimorfismo 1083T>C do gene do receptor adenosina A2A (ADORA2A) (rs5751876) foi realizada através do PCR alelo-específico conforme descrito por Rétey et al, (2007). Neste caso, a PCR é duplamente específica, utilizando primers âncoras, que são específicos para o gene ADORA2A, e primers específicos para o alelo normal e para o alelo da variante patogênica. Para investigar uma variação polimórfica específica, são realizadas duas PCRs: uma contendo o primer âncora e o primer específico para o alelo selvagem (alelo T) e outra com o primer âncora e o primer específico para o alelo da variante polimórfica (alelo C). Dessa forma, eram esperados produtos de amplificação de 243 pares de bases, permitindo a identificação dos genótipos selvagens (TT) e dos mutantes (CC e CT).

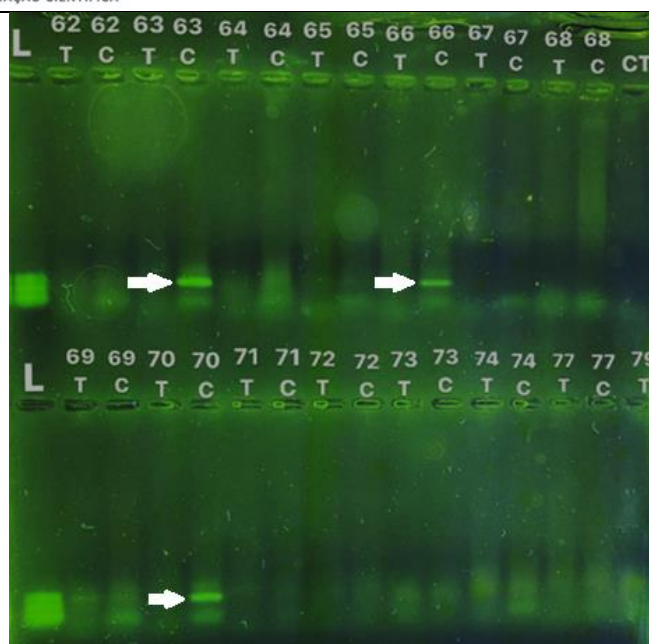
O polimorfismo no gene ADORA2A tem sido utilizado para categorizar os indivíduos como tendo uma sensibilidade alta (genótipo TT) ou baixa (genótipo CT ou CC) à cafeína.

Durante a padronização da PCR para amplificação do polimorfismo 1083T>C do gene ADORA2A, várias dificuldades foram encontradas, que comprometeram a obtenção de resultados consistentes. A padronização da PCR é um processo complexo que requer atenção minuciosa a diversos fatores, como a escolha correta dos primers, a otimização das condições de reação, e a manutenção de um ambiente livre de contaminações.

Inicialmente, foi observado que nem todas as amostras amplificaram corretamente, resultando em amplificações incompletas ou falhas. Além disso, em várias reações, apareceram produtos inespecíficos, que dificultaram a análise dos resultados. Esses produtos podem surgir devido à ligação não específica dos primers a sequências de DNA semelhantes, mas não idênticas, ao alvo desejado, ou devido a condições não adequadas de temperatura durante a amplificação ou também devido a qualidade do DNA obtido.

Ao tentar repetir as amplificações, os resultados foram inconsistentes. Essas inconsistências indicam a necessidade de uma padronização mais rigorosa das condições de PCR, e possivelmente melhorando a pureza do DNA obtido, testando outros protocolos de extração ou mesmo utilizando kits comerciais (Figura 2).

Figura 2. Eletroforese em gel de agarose 1,0% dos produtos da PCR do gene ADORA. L = ladder 1kb. Números = amostras. C = alelo C. T = alelo T. Fragmentos indicados pela seta foram os que amplificaram no tamanho esperado.



Fonte: Autoria Própria.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo realizou uma análise detalhada de 29 amostras de jovens universitários do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS) da Universidade Presbiteriana Mackenzie, com o objetivo de verificar os polimorfismos do receptor adenosina A2A - ADORA2A, e do citocromo P450 1A2- CYP1A2 e avaliar suas relações com desempenho ergogênico dos efeitos da cafeína entre uma população de estudantes universitários.

No gene CYP1A2, observou-se que a distribuição das frequências genotípicas para os alelos A e C foi consistente com o equilíbrio de Hardy-Weinberg, e os resultados obtidos foram comparáveis aos de outras populações globais. As frequências alélicas observadas foram semelhantes às de estudos anteriores, indicando uma boa representatividade da amostra em relação à população mundial.

Esses resultados contribuem para o entendimento das interações entre a genética e o comportamento em relação ao consumo de cafeína, mas também ressaltam a complexidade dessas interações e a necessidade de estudos adicionais para elucidar outros fatores que possam estar envolvidos.

Entretanto, durante a padronização da PCR para o polimorfismo 1083T>C do gene ADORA2A, a amplificação incompleta de algumas amostras e a presença de produtos inespecíficos indicam a necessidade de uma revisão cuidadosa das condições de PCR, bem como das condições de extração das amostras de DNA. Esses problemas destacam a

complexidade do processo de padronização da PCR e a importância de otimizar rigorosamente as condições experimentais para garantir resultados confiáveis.

Este trabalho é apenas o começo do levantamento de dados, e é necessário ampliar a amostra e realizar mais estudos para obter uma compreensão mais aprofundada. Estudos futuros com amostras maiores e a inclusão de variáveis adicionais, como hábitos alimentares, padrões de sono e níveis de atividade física, são recomendados para aprofundar a compreensão das influências genéticas e ambientais sobre esses comportamentos.

6. REFERÊNCIAS

ABRÃO, M. G. et al. Padronização da técnica de extração de DNA de células de mucosa oral com NaCl: aplicação no estudo do gene PROP1. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 49, n. 6, p. 978-982, 2005.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DO CAFÉ - ABIC. **ABIC divulga dados de consumo de café no Brasil**. Disponível em: <https://www.abic.com.br/>. Acesso em: 8 abr. 2023.

BODENMANN, S. et al. Polymorphisms of ADORA2A modulate psychomotor vigilance and the effects of caffeine on neurobehavioural performance and sleep EEG after sleep deprivation: ADORA2A haplotypes, vigilance and CNS stimulants. **British Journal of Pharmacology**, v. 165, n. 6, p. 1904–1913, 2012.

BURKE, L. M. Caffeine and sports performance. **Applied Physiology Nutrition and Metabolism**, v. 33, n. 6, p. 1319–1334, 2008.

CARSWELL, A. T. et al. The effect of caffeine on cognitive performance is influenced by CYP1A2 but not ADORA2A genotype, yet neither genotype affects exercise performance in healthy adults. **European Journal of Applied Physiology**, v. 120, n. 7, p. 1495–1508, 2020.

CHAMPLIN, Sara E.; PASCH, Keryn E.; PERRY, Cheryl L. Is the consumption of energy drinks associated with academic achievement among college students? **The journal of primary prevention**, v. 37, p. 345-359, 2016.

CORNELIS, M. C. et al. Coffee, CYP1A2 genotype, and risk of myocardial infarction. **JAMA: The Journal of the American Medical Association**, v. 295, n. 10, p. 1135–1141, 2006.

ERBLANG, M. et al. The impact of genetic variations in ADORA2A in the association between caffeine consumption and sleep. **Genes**, v. 10, n. 12, p. 1021, 2019.

FULTON, Jacob L. et al. Impact of genetic variability on physiological responses to caffeine in humans: A systematic review. **Nutrients**, v. 10, n. 10, p. 1373, 2018.

GIERSCH, G. E. W. et al. The effect of the CYP1A2 –163 C > A polymorphism on caffeine metabolism and subsequent cycling performance. **Journal of Caffeine and Adenosine Research**, v. 8, n. 2, p. 65–70, 2018.



GRGIC, J. et al. Effects of caffeine on resistance exercise: A review of recent research. **Sports Medicine (Auckland, N.Z.)**, v. 51, n. 11, p. 2281–2298, 2021.

GRGIC, J. et al. ADOR2A C allele carriers exhibit ergogenic responses to caffeine supplementation. **Nutrients**, v. 12, n. 3, p. 741, 2020.

GUEST, N. S. et al. Caffeine, CYP1A2 genotype, and endurance performance in athletes. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 50, n. 8, p. 1570–1578, 2018.

GUEST, N. S. et al. International society of sports nutrition position stand: caffeine and exercise performance. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 18, n. 1, p. 1, 2021.

LARA, Diogo R. Caffeine, mental health, and psychiatric disorders. **Journal of Alzheimer's disease**, v. 20, n. s1, p. S239-S248, 2010.

LOY, B. D. et al. Caffeine Is Ergogenic for Adenosine A2A Receptor Gene (ADORA2A) T Allele Homozygotes: A Pilot Study. **Journal of Caffeine Research**, v. 5, n. 2, p. 73–81, 2015.

MUÑOZ, A. et al. Effects of CYP1A2 and ADORA2A genotypes on the ergogenic response to caffeine in professional handball players. **Genes**, v. 11, n. 8, p. 933, 2020.

NEHLIG, A. Interindividual differences in caffeine metabolism and factors driving caffeine consumption. **Pharmacological Reviews**, v. 70, n. 2, p. 384–411, 2018.

PATAKY, M. W. et al. Caffeine and 3-km cycling performance: Effects of mouth rinsing, genotype, and time of day: Caffeine, genetics, and time of day. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 26, n. 6, p. 613–619, 2016.

PEREIRA, R. A. et al. Beverage consumption in Brazil: results from the first National Dietary Survey. **Public Health Nutrition**, v. 18, n. 7, p. 1164–1172, 2015.

PUENTE, C. et al. The CYP1A2 -163C>A polymorphism does not alter the effects of caffeine on basketball performance. **PloS One**, v. 13, n. 4, p. e0195943, 2018.

RAHIMI, R. et al. The effect of CYP1A2 genotype on the ergogenic properties of caffeine during resistance exercise: a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover study. **Irish Journal of Medical Science**, v. 188, n. 1, p. 337–345, 2019.

RÉTEY, J. V. et al. A genetic variation in the adenosine A2A receptor gene (ADORA2A) contributes to individual sensitivity to caffeine effects on sleep. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 81, n. 5, p. 692-698, 2007.

SABOL, F.; GRGIC, J.; MIKULIC, P. The effects of 3 different doses of caffeine on jumping and throwing performance: A randomized, double-blind, crossover study. **International Journal of Sports Physiology and Performance**, v. 14, n. 9, p. 1170–1177, 2019.

SACHSE, Christoph et al. Functional significance of a C→ A polymorphism in intron 1 of the cytochrome P450 CYP1A2 gene tested with caffeine. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 47, n. 4, p. 445-449, 1999.

SALINERO, J. J. et al. CYP1A2 genotype variations do not modify the benefits and drawbacks of caffeine during exercise: A pilot study. **Nutrients**, v. 9, n. 3, p. 269, 2017.

SANTANA, L. C. et al. Consumo de Estimulantes Cerebrais por Estudantes em Instituições de Ensino de Montes Claros/MG. **Revista Brasileira de Educação Médica**, v. 44, n. 1, 2020.

SOUSA, A. G.; DA COSTA, T. H. M. Usual coffee intake in Brazil: results from the National Dietary Survey 2008-9. **The British Journal of Nutrition**, v. 113, n. 10, p. 1615–1620, 2015.

TIAN, Dan-Dan et al. Effects of common CYP 1A2 genotypes and other key factors on intraindividual variation in the caffeine metabolic ratio: An exploratory analysis. **Clinical and translational science**, v. 12, n. 1, p. 39-46, 2019.

WANG, J. et al. Does ergogenic effect of caffeine supplementation depend on CYP1A2 genotypes? A systematic review with meta-analysis. **Journal of sport and health science**, v. 13, n. 4, p. 499–508, 2024.

WOMACK, C. J. et al. The influence of a CYP1A2 polymorphism on the ergogenic effects of caffeine. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 9, n. 1, p. 7, 2012.

Contatos: barbara.dc2010@gmail.com (aluna) e appcosta@mackenzie.br (orientadora).