



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
CCS-CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO E DIETÉTICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

ESTUDO DO EFEITO DO CONSUMO AGUDO DE
CAFÉ VERDE, REGULAR E DESCAFEINADO NO PERFIL
BIOQUÍMICO EM INDIVÍDUOS JOVENS

MIRZA ADRIANA DE ASSIS JÁCOME

Prof.^a Orientadora: Dr.^a Glorimar Rosa

Prof.Co-orientador: Dr. Carlos Alberto Bastos De Maria

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-graduação em
Nutrição da Universidade Federal do
Rio de Janeiro

Rio de Janeiro

2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Jácome, Mirza Adriana de Assis

Estudo do Efeito do Consumo Agudo de Café Verde, Regular e Descafeinado no Perfil Bioquímico em Indivíduos Jovens./ Mirza Adriana de Assis Jácome – Rio de Janeiro: UFRJ/ Instituto de Nutrição, 2006.

xviii, 102f., il

Dissertação (Mestrado) – UFRJ Instituto de Nutrição, 2006.

Referências Bibliográficas: f. 66-86.

1. Café
2. Cafeína
3. Ácido Clorogênico (5-ACQ)
4. Folato
5. Perfil bioquímico
6. Rio de Janeiro
7. Nutrição – Dissertação

I. Rosa, Glorimar; De Maria, CAB. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de nutrição Josué de Castro. III. Título.

**“A fé é o firme fundamento das coisas que se
esperam e a prova das coisas que se não vêem”
(He 11:1)**

**Aos meus pais Flóri e Lourdes, que
reverteram minha existência em amor
incondicional, carinho e dedicação**

AGRADECIMENTOS

À Deus, onipresente e onisciente, que permitiu e orientou cada passo dessa caminhada;

Aos meus pais, Flóri e Lourdes, que me ensinaram os grandes valores da vida com paciência e determinação

Aos meus irmãos queridos, Cleber de Assis Jácome e Alessandro de Assis Jácome, que respeitaram os meus sonhos, que me acolheram e aconselharam nos momentos de dificuldade;

A todos os voluntários da pesquisa um agradecimento especial, pois dedicaram parte do seu precioso tempo para participarem desse estudo:

José Rotondaro

Victor Edler

Deivson Silva da Costa

Nair de Paula Silveira

Maurício de Mattos Santos

Cleber de Assis Jácome

Mônica Santiago Roucas

Ana Maria Lisboa

Raquel Pereira de Azevedo

Izabel Cristina Vargas

Luciana Diniz

Júlia Elba Ferreira

Carlos Eduardo da Silva

Wellinton de Souza

Christiane Queiroz

Flávia Lavinás

Sabrina Barreiros

Silvana Oliveira

Osman Feitosa da Silva

Aos orientadores Glorimar Rosa e Carlos Alberto Bastos De Maria, pelo exemplo de dignidade pessoal, pelo carinho, paciência e todos os ensinamentos transmitidos durante essa convivência;

Ao professor Ricardo Felipe Alves Moreira, pela sua grande disposição em ajudar pacientemente em várias etapas desse projeto, desde os experimentos na bancada, no esclarecimento de várias dúvidas, na análise dos cromatogramas, pelas valiosas contribuições durante a revisão deste trabalho e pelas palavras de incentivo e amizade;

À professora Ana Paola Pierucci, pela sua ajuda e colaboração na utilização do HPLC no Laboratório de Tecido Conjuntivo do HUCFF/UFRJ;

À amicíssima Sofia Kimi Uehara, exemplo de companheirismo e dedicação, que amanhecia e anoitecia ao meu lado, que esteve presente em todos os momentos, nas etapas mais difíceis e cruciais desta pesquisa, em todo o período dos experimentos e que se mostrou incansável e sempre disposta a me ajudar;

À amicíssima Júlia Elba, por toda amizade e incentivo, no esclarecimento de dúvidas nos exercícios de estatística, por ter doado o seu sangue e seu tempo participando como voluntária;

À amiga Maria Luiza pela ajuda profissional nas coletas de sangue;
Aos enfermeiros do setor de coleta de sangue do HUCFF/UFRJ;

Às alunas de iniciação científica Wânia Monteiro e Ana Maria Lisboa, pela ajuda na digitação dos questionários e, em especial a Ana Maria pela participação como voluntária;

A todas do grupo de Pesquisa, coordenado pela Professora Glorimar Rosa;
A todos os professores e funcionários do Instituto de Nutrição da UFRJ, em especial ao Sr Jorge e Sr Germano;

A todos da "Solução Estatística Júnior"(UERJ), em especial, à professora Regina Lanzillotti e Felipe Pinto, pela assessoria na análise estatística;

Ao Professor Mauro Pavão do Laboratório de Tecido Conjuntivo, que gentilmente permitiu a utilização do HPLC para realização das análises em nossas amostras de café;

Às professoras Nádia Trugo e Carmen Donangelo, do Laboratório de Bioquímica Nutricional e de Alimentos, Departamento de Bioquímica, Instituto de química, UFRJ, por permitirem a utilização do laboratório para a realização das análises de folato e cobalamina;

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e ao CENC (Curso de Especialização em Nutrição Clínica) do Instituto de Nutrição Josué de Castro, pelo apoio financeiro.

MUITO OBRIGADA!!!

PRODUÇÃO CIENTÍFICA VINCULADA À DISSERTAÇÃO

❖ Publicação em periódicos

- Artigos Completos

- **JÁCOME, M. A.A.; ROUÇAS, M.S.; MARIA, C. A.B.; ROSA G. O consumo de café e sua relação com a hiperhomocisteinemia**, aprovado para a publicação **Revista Nutrire**, volume 30, p. 109-116, dezembro de 2005.

- **JÁCOME, M. A.A.; UEHARA, S. K.; ROSA, G. Atualidades sobre os possíveis efeitos e mecanismos de ação da cafeína, ácido clorogênico, quinídeos e magnésio presentes no Café na tolerância à glicose e sensibilidade à insulina**. Submetido à publicação na Revista de Nutrição, setembro de 2006.

❖ Resumo em Anais de Congressos

- **JÁCOME, M. A. A.; MOREIRA, R.F.A.; UEHARA, S.K.; MARIA, C.A.B.; ROSA, G. . “Análise comparativa do conteúdo de ácido clorogênico em grãos de café verde e torrado em uma amostra de café arábica”**. XVIII Congresso Brasileiro de Nutrição, realizado em Setembro de 2004 no Centro de Convenções Rubens Gil Camilo, Campo Grande, Mato Grosso do Sul.

- **JÁCOME, M. A. A.; MOREIRA, R. F. A.; DE MARIA, C. A. B.; ROSA, G. 5-Caffeoylquinic acid content of coffee extracts**. 6º SLACA – Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos realizado em Novembro de 2005 no Centro de Convenções da UNICAMP, em Campinas- SP.

- **JÁCOME, M. A. A.; MONTEIRO, W. L. A.; MOREIRA, R.F.A.; UEHARA, S.K.; MARIA, C.A.B.; ROSA, G. . “Efeito do consumo agudo de diferentes tipos de cafés no perfil lipídico: um ensaio clínico”**. XXIII Congresso de Cardiologia da SOCERJ, realizado em abril de 2006 - Rio Centro, Rio de Janeiro

- **JÁCOME, M. A. A.; MONTEIRO, W. L. A.; UEHARA, S. K.; MOREIRA, R. F. A.; DE MARIA, C. A. B.; ROSA, G. “Efeito do consumo agudo de café descafeinado, convencional e verde no perfil lipídico de indivíduos jovens”**. XIX Congresso Brasileiro de Nutrição, realizado em Setembro de 2006 – ITM Expo – São Paulo

- **JÁCOME, M. A. A.; MONTEIRO, W. L. A.; UEHARA, S. K.; MOREIRA, R. F. A.; DE MARIA, C. A. B.; ROSA, G. “Estudo do efeito do consumo agudo de diferentes tipos de cafés no perfil lipídico e na homocisteinemia em indivíduos jovens”**. XIX Congresso Brasileiro de Nutrição, realizado em Setembro de 2006 – ITM Expo – São Paulo

- **JÁCOME, M. A. A.; MONTEIRO, W. L. A.; UEHARA, S. K.; MOREIRA, R. F. A.; DE MARIA, C. A. B.; ROSA, G. “Efeito do consumo agudo de diferentes tipos de cafés na glicemia e na insulinemia em indivíduos jovens”**. XIX Congresso Brasileiro de Nutrição, realizado em Setembro de 2006 – ITM Expo – São Paulo

❖ **Jornada de Iniciação Científica**

- **JÁCOME, M. A. A.; MARIA, C.A.B.; ROSA, G. “Efeito térmico nas concentrações de ácido clorogênico e cafeína em amostras de café da espécie arábica”.** XXVI Jornada de Iniciação Científica, Artística e Cultural da Universidade Federal do Rio de Janeiro, realizada em Novembro de 2004.

- **JÁCOME, M. A. A.; MARIA, C.A.B.; ROSA, G. “Teores de ácido clorogênico em grãos de café verde e torrado na Bebida pronta para o consumo”.** XXVII Jornada de Iniciação Científica, Artística e Cultural da Universidade Federal do Rio de Janeiro, realizada em Outubro de 2005.

- **LISBOA, A. M.; JÁCOME, M.A.A.; UEHARA, S. K.; ROSA, G. “Atualidades sobre os possíveis efeitos do consumo de café na sensibilidade à insulina.”** XXVII Jornada de Iniciação Científica, Artística e Cultural da Universidade Federal do Rio de Janeiro, realizada em Outubro de 2005.

- **JÁCOME, M. A. A.; MONTEIRO, W. L. A.; MOREIRA, R.F.A.;UEHARA, S.K.; MARIA, C.A.B.; ROSA, G. . “Efeito do consumo agudo de café descafeinado, regular e verde no perfil lipídico: um ensaio clínico”.** XXVIII Jornada de Iniciação Científica, Artística e Cultural da Universidade Federal do Rio de Janeiro, realizada em novembro de 2006.

RESUMO

Nos últimos anos, o café tem despertado grande interesse científico no que se refere aos seus efeitos na saúde. O presente trabalho teve como objetivo verificar o possível efeito do consumo agudo de café filtrado (verde, regular e descafeinado) na glicemia, insulinemia, uricemia, homocisteinemia e perfil lipídico em indivíduos jovens. Foram coletadas amostras de sangue de 20 voluntários após jejum noturno de 12 h (basal) e 0,5 h; 1,0 h e 3 h após a ingestão controlada dos diferentes tipos de cafés. A glicemia, uricemia e o perfil lipídico foram determinados através de métodos enzimático-colorimétricos. O folato em eritrócitos, o folato e cobalamina plasmáticos foram determinados por técnica de diluição de radioisótopos. Como foi diagnosticada uma deficiência subclínica de folato em nosso estudo piloto (n= 4), todos os participantes foram suplementados com folato (400 µg/ dia) durante as 4 semanas que antecederam os experimentos, para que não houvesse interferência nos resultados da homocisteinemia. A insulinemia foi determinada por eletroquimioluminescência e a homocisteína plasmática por técnica de imunoenensaio competitivo. A cafeína e o ácido 5-cafeoilquínico (5-ACQ) compostos do café com reconhecida ação fisiológica foram monitorados nos diferentes tipos de café, a fim de que possíveis correlações pudessem ser estabelecidas entre eles e os parâmetros bioquímicos supracitados. As análises de cafeína e 5-ACQ no café foram realizadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. Não houve diferença significativa no perfil lipídico e na homocisteinemia após a ingestão dos três tipos de café. A insulinemia aumentou significativamente após o consumo de café verde (p = 0,001), regular (p = 0,00009) e descafeinado (p = 0,0002). Comparando-se os três tipos de café, observou-se que a diferença nos incrementos da insulinemia foi mais significativa entre o café verde e o descafeinado (p = 0,03). Após a ingestão do café verde, verificou-se um aumento significativo na glicemia nos 30 min após o consumo da bebida (p = 0,03). Em relação à uricemia, houve uma diminuição significativa das concentrações (p= 0,03) para a mesma bebida. O resultado observado pode ter relação com o 5-ACQ, porém torna-se necessário a realização de novos estudos para a confirmação dessa hipótese.

ABSTRACT

For several years coffee has been a target of great scientific interest due its health effects. The goal of the present study was to determinate the relationship between acute filtered coffee consumption (green, regular and decaffeinated coffee) on glycemia, insulinaemia, uricemia and serum lipid levels monitored in young population. Blood samples of 20 volunteers were collected after 12h fasting and after 0,5; 1,0 and 3h the following the oral administration of the coffee. Glycemia, uricemia and lipid profile were determined by enzymatic-colorimetric methods. As erythrocyte and plasmatic folate as well as plasmatic cobalamin were determined by a radioisotope dilution method. It was assessed a sub clinical folate deficiency (pilot study n= 4) and all participants received oral folate supplementation (400 µ/d) during four weeks, before trials avoiding to affect to homocysteinemia results. Insulinaemia was determined by electroquimioluminescence method and homocysteine by a competitive immunoassay method. Caffeine and 5-caffeoylquinic acid (5-CQA), coffee compounds presenting recognized physiological actions were analyzed in all kind of coffee, to establish a possible correlation between coffee compounds and mentioned biochemical parameters. Caffeine and 5-CQA were determined by High Pressure Liquid Chromatograph. No statistic differences in lipid profile and homocysteine concentrations were noted, after the consumption of the three coffee beverages. Insulinaemia increased significantly after green coffee (p= 0,001), regular coffee (p= 0,00009) and decaffeinated coffee (p= 0,0002) consumption, and comparing the three coffee beverages, differences were significantly greater during green coffee than decaffeinated coffee (p= 0,03) ingestion. It was observed a significant increase in glycemia after 0,5 h of green coffee ingestion. There were a statistical decrease in uricemia after green coffee consumption (p= 0,03). The data suggest that 5-CQA can be associated glycemia and uricemia results, but it is necessary additional researches to support this hypothesis.

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1: Estrutura Química dos Principais Ácidos Clorogênicos e de Seus Precursores.....	06
Figura 2: Estrutura Química da Xantina e da Cafeína.....	09
Figura 3: Desenho Experimental.....	26
Figura 4: Tipos de Análises Bioquímicas do Estudo.....	32
Figura 5: Processamento do café verde à Bebida.....	39
Figura 6: Comparação do Perfil Lipídico Antes e Após o Consumo de café verde, regular e descafeinado.....	53
Figura 7: Comparação dos Valores de Ácido Úrico e Homocisteína Antes e Após o Consumo de café verde, regular e descafeinado.....	54
Figura 8: Representação Gráfica dos Valores de Glicemia e de Insulinemia obtidos nos Ensaios.....	55

LISTA DE TABELAS

Página

Tabela 1: Composição Química da Fração não Volátil do Café verde da Espécie <i>Coffea arabica</i>	03
Tabela 2: Indicadores Dietéticos de Folato e Cobalamina – Estudo piloto...	46
Tabela 3: Indicadores Bioquímicos de Folato e Cobalamina – Estudo piloto.....	47
Tabela 4: Características Gerais da População Estudada.....	48
Tabela 5: Consumo Alimentar Habitual do Grupo Estudado.....	49
Tabela 6: Estimativa de Adequação dos Indicadores Dietéticos do Estudo – Folato e Cobalamina.....	49
Tabela 7: Teste de <i>Friedman</i> entre as Variáveis Bioquímicas.....	56
Tabela 8: Teste de <i>Wilcoxon</i> entre as Variáveis Bioquímicas.....	57
Tabela 9: Teste de <i>Friedman</i> entre os Valores de Glicemia.....	58

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

3-ACQ: Ácido 3-cafeoilquínico

4-ACQ: Ácido 4-cafeoilquínico

5-ACQ: Ácido 5-cafeoilquínico

3,4-DiACQ: Ácido 3,4 di-cafeoilquínico

3,5-DiACQ: Ácido 3,5 di-cafeoilquínico

4,5-diACQ: Ácido 4,5 di-cafeoilquínico

3-FQA: Ácido 3-feruloilquínico

4-FQA: Ácido 4-feruloilquínico

5-FQA: Ácido 5-feruloilquínico

3-CoQA: Ácido 3-*p*-cumaroilquínico

4-CoQA: Ácido 4-*p*-cumaroilquínico

ACG: Ácido clorogênico

ATP: Adenosina trifosfato

CLAE: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

Cobal: cobalamina

colest T: colesterol total

DNA: Ácido Desoxirribonucléico

EAR: *Estimated Average Requirements*

EDTA: Ácido Etilenodiamino Tetracético

pc: peso corporal

F: fator de calibração

g: grama

g/dL: grama por decilitro

GOD: glicose oxidase

Hb: hemoglobina

HDL: Lipoproteína de Alta densidade

HOMA: *Homeostasis Model Assessment*

HPLC: *High Pressure liquid Chromatograph*

Ht: hematócrito

IMC: Índice de Massa Corporal

IOM: Instituto de Medicina

LDL: Lipoproteína de Baixa Densidade

MTHF Redutase: enzima metilenotetrahidrofolato redutase

OMS: Organização Mundial da Saúde

POD: peroxidase

RDA: *Recommended Dietary Allowance*

RDI :*Reference Dietary Intakes*

SAM: S-adenosil metionina

SAH: S- adenosil homocisteína

SPSS : *Statistical Package for the Social Sciences*

UV: Ultravioleta

VLDL: lipoproteína de densidade muito baixa

tHcy: concentração de homocisteína plasmática

SUMÁRIO		Página
Produção Científica Vinculada à Dissertação.....		viii
Resumo.....		X
Abstract.....		xi
Lista de Figuras.....		xii
Lista de Tabelas.....		xiii
Lista de Abreviaturas.....		xiv
1 – INTRODUÇÃO.....		01
1.1 – Café – Composição Química.....		01
1.2 – Ácido Clorogênico (ACG): Definição, Principais Fontes e Biodisponibilidade.....		04
1.3 – Cafeína: Definição, Principais Fontes e Biodisponibilidade.....		09

1 – INTRODUÇÃO

1.1- Café - Composição Química

O café tem ocupado no cenário mundial um papel de destaque, como uma das bebidas mais populares e consumidas (Somoza *et al.*, 2003). As plantas de café pertencem à família Rubiácea, do gênero *Coffea*. Possuem inúmeras espécies, no entanto, somente a *Coffea arabica* (Arábica) e *Coffea canephora* (Robusta) são mais importantes comercialmente e se encontram disponíveis em termos de variedade e cultivo (Ramalakshmi & Raghavan, 1999).

A composição química dos grãos de café verde sofre influências da espécie, variedade, grau de maturação, condições climáticas, de processamento, estocagem e práticas agrícolas (RamalaKshmi & Ravagan, 1999; Toci, 2004). Dependendo da espécie analisada, os grãos de café verde podem apresentar em sua composição cerca de

6-10 % de ácidos clorogênicos (ACG) (Clifford, 1999) e 1-2 % de cafeína (Ramalakshmi & Raghavan, 1999). A partir de dados publicados na literatura, verifica-se que o café arábica contém cerca de 0,6-1,2 % de trigonelina. Outros compostos como polissacarídeos representam cerca de 40-50 % dos sólidos totais do café verde, sendo que a sacarose constitui o principal oligossacarídeo, apresentando valores médios de 5-8 % no café arábica. Segundo De Maria *et al.* (1999), o conteúdo de proteínas no café verde pode variar de 9-12 %. Em termos de lipídios, o percentual apresentado é de 9-18 %, enquanto de minerais é de 3 – 4,5 % (Trugo, 2003).

O processo de torrefação é responsável pelo aumento da complexidade da composição química do café. Além disso, constitui um aspecto importante a ser considerado, uma vez que se observa o desenvolvimento do sabor e aroma característicos através das alterações físicas e químicas que normalmente ocorrem no produto (Illy & Viani, 1996). Apesar dos reconhecidos efeitos fisiológicos do café, são as características relacionadas ao aroma e sabor do café que tornam essa bebida apreciada em todo o mundo. Dos atributos sensoriais supracitados, o aroma recebe um papel de destaque, uma vez que é formado por uma mistura complexa de compostos voláteis que exibem qualidades de aroma, intensidades e concentrações diferentes. Dessa forma, a participação de cada um desses compostos para o aroma final do café é bem variada, podendo inclusive ocorrer alterações sinérgicas e antagônicas entre esses diferentes compostos (Moreira *et al.*, 2000). Sabe-se que mais de 800 constituintes químicos voláteis são formados durante o processo de torrefação e que continuam a sofrer influência dos fatores ambientais e também de sua própria instabilidade intrínseca (Charles-Bernard *et al.*, 2005). Os componentes não voláteis da matriz do café (Tabela 1) exibem um papel importante nessa instabilidade observada, e também interagem com os compostos voláteis durante a torrefação (Charles-Bernard *et al.*, 2005).

Tabela1: Composição Química da Fração Não Volátil do Café Verde da Espécie

Coffea arabica

Componente	Composição (%)
Açúcares redutores	1.0
Sacarose	7.0
Pectina	3.0
Amido	10.0
Pentose	5.0
Hemicelulose	15.0
Holocelulose	18.0
Ligninas	2.0
Lipídios	13.0
Proteínas	13.0
Cinzas	4.0
Ácido clorogênico	7.0
Trigonelina	1.0
Cafeína	1.0

Fonte: Adaptado de RamalaKshmi & Ravagan, 1999

Os compostos fenólicos degradados durante o processo de torrefação do café resultam na formação de voláteis do aroma, materiais poliméricos (melanoidinas) e liberação de CO₂ (Illy & Viani, 1996). Os ACG, por exemplo, são degradados gerando lactonas e compostos de baixo peso molecular, como o 4-vinil fenol guaiacol, e vanilinas (Clifford, 1999; Moreira *et al.*, 2000). A cafeína e os lipídeos têm se mostrado estáveis durante a torrefação, enquanto a trigonelina sofre degradação resultando em ácido nicotínico e compostos voláteis, tais como: as piridinas e os pirróis, que exercem um importante papel para o sabor da bebida. As proteínas sofrem desnaturação em temperaturas inferiores à pirólise, ocorrendo hidrólise das ligações peptídicas das moléculas protéicas com liberação de aminas e carbonilas. Além disso, as proteínas reagem com outros compostos, como glicídios na reação de *Maillard* (Moreira *et al.*, 2000).

Dessa forma, o processo de torrefação contribui para as mudanças na composição química e atividade biológica do café, uma vez que ocorre transformação das substâncias que existem naturalmente no café verde e a geração de compostos derivados de complexos mecanismos químicos que se encontram envolvidos na produção das características de cor, sabor e aroma do café tais como: as reações de *Maillard*, caramelização de açúcares, degradação de ácidos clorogênicos, proteínas e polissacarídeos (Illy & Viani, 1996).

Apesar da cafeína ser o componente mais conhecido e estudado no café, este contém polifenóis de grande interesse em função dos seus efeitos antioxidantes *in vitro* (Harland, 2000). Entre os principais polifenóis existentes no café destacam-se os ACG (Clifford, 1999).

1.2 – Ácido Clorogênico (ACG): Definição, Principais Fontes e Biodisponibilidade

O termo ácido clorogênico têm sido usado para designar uma família de compostos fenólicos formada pela esterificação do ácido quínico (figura 1a), que possui hidroxilas na posição axial nos carbonos 1 e 3 e hidroxilas equatoriais nos carbonos 4 e 5, com um ou mais derivados do ácido transcinâmico (figura 1b): ácido caféico, ácido ferúlico, ou ácido *p*-cumárico. Os cinamatos são compostos amplamente distribuídos como conjugados em estruturas vegetais, incluindo alimentos, bebidas e, representam a maior classe dos compostos fenólicos. Os ácidos cinâmicos raramente ocorrem na sua forma livre em grãos de café verde comercial (Clifford, 2000), sendo que o ácido 5-cafeoilquínico (5-ACQ) tem sido reconhecido como o composto fenólico mais abundante no café (Manach *et al.*, 2004; Karakaya, 2004).

A família dos ACG é formada por cinco grupos (Figura 1), conforme descrito abaixo:

- Ácidos cafeoilquínicos: provenientes da esterificação do ácido quínico com o ácido caféico, com três isômeros principais: 3-ACQ, 4-ACQ e 5-ACQ;
- Ácidos dicafeoilquínicos: provenientes da esterificação do ácido quínico com duas moléculas de ácido caféico, cujos isômeros principais são 3,4-diACQ, 3,5-diACQ e 4,5-diACQ;
- Ácidos feruloilquínicos: provenientes da esterificação do ácido quínico com uma molécula de ácido ferúlico, cujos isômeros principais são: 3-FQA, 4-FQA e 5-FQA;

- Ácidos *p*-cumaroilquínicos: provenientes da esterificação do ácido quínico com o *p*-CoA, com três isômeros principais, 3-CoQA, 4-CoQA e 5-CoQA;
- Ácidos cafeoilferuloilquínicos: provenientes da esterificação do ácido quínico com os ácidos caféico e ferúlico.

A estrutura química dos principais ACG e de seus precursores são mostradas na

Figura 1.

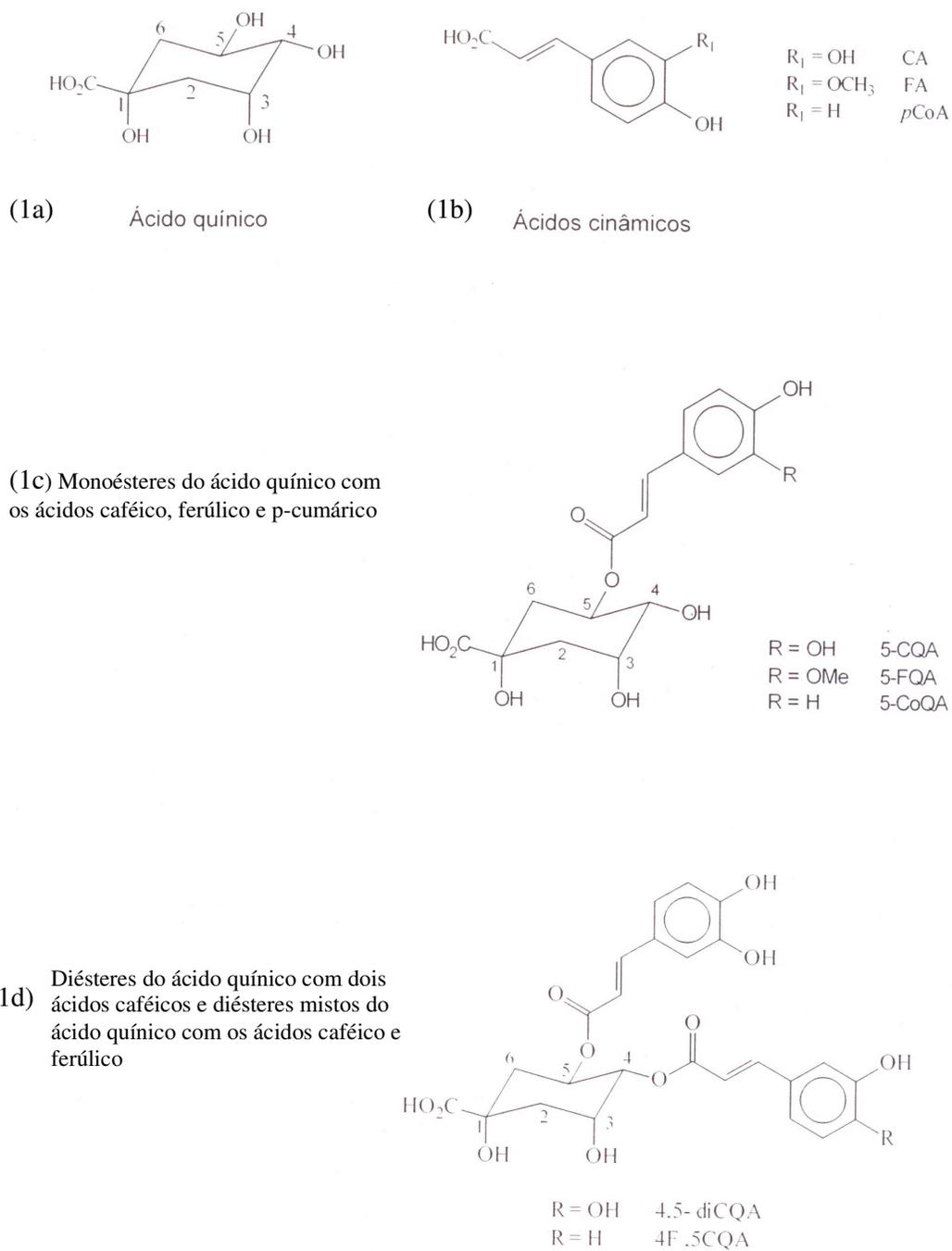


Figura 1: Estrutura Química dos Principais Ácidos Clorogênicos e de seus Precursores

CA= ácido caféico; FA= ácido ferúlico; pCoA= ácido p-cumárico; OMe= CH₃= grupo metil; 5-CQA= ácido 5-cafeoilquínico; 5FQA= ácido 5-feruloilquínico; 5-CoQA= ácido 5-pcumaroilquínico; 4,5 diCQA= 4,5-dicafeoilquínico; 4F-5CQA= ácido 4-feruloil- 5 cafeoilquínico

Entre os ACG, o 5-ACQ tem sido apontado como o composto mais abundante no café, sendo atualmente o único comercialmente disponível. Dessa forma, o 5-ACQ tem sido utilizado frequentemente para se referir aos ACG, termo empregado para designar a família de conjugados do ácido quínico (Clifford, 2000).

O ACG está presente nos alimentos de origem vegetal, como frutas, hortaliças e ervas (De Maria *et al.*, 1998; Rawel *et al.*, 2000; Pontes *et al.*, 2002; Silva *et al.*, 2006), mas o café é considerado sua principal fonte dietética. O conteúdo total de ACG no café verde (grãos) é relativamente elevado, podendo alcançar de 6 a 10 %. Dependendo da espécie de café e das condições de processamento, uma xícara da bebida (200 mL) pode fornecer de (20-675 mg) (Clifford, 1999). Ademais, supõe-se que em consumidores assíduos, a ingestão seja de 0,5 a 1,0 g / dia de ACG (Olthof *et al.*, 2001).

Os compostos fenólicos, caracterizados por substâncias biologicamente ativas (Olthof *et al.*, 2001), têm despertado grande interesse científico devido ao seu papel na prevenção de várias doenças relacionadas ao estresse oxidativo, tais como o câncer, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas. Outros efeitos biológicos observados incluem: neutralização de radicais livres, quelação de metais e modulação de atividades enzimáticas (Stoclet *et al.*, 2004; Scalbert *et al.*, 2005).

É importante mencionar que estudos epidemiológicos ainda são escassos (Block *et al.*, 1992; Arts *et al.*, 2005) e que as evidências dos efeitos protetores dos polifenóis em relação ao câncer e doenças neurodegenerativas são derivadas de estudos a partir de modelos experimentais “*in vivo*” e “*in vitro*” (Lambert *et al.*, 2005; Jin *et al.*, 2005).

O 5-ACQ, apesar de não apresentar valor nutricional, exibe algumas propriedades fisiológicas, sendo apontado como uma das substâncias fenólicas que exerce atividades antitumorais como, por exemplo, a inibição da carcinogênese, muito

embora os mecanismos moleculares intracelulares no processo anticâncer ainda se mostrem pouco compreendidos e necessitem ser mais investigados (Jin *et al.*, 2005). Uma outra propriedade do 5-ACQ, que tem sido bastante estudada, seria sua atuação como antioxidante, que estaria associada à proteção contra danos provocados pelo estresse oxidativo, processo que favorece a degeneração celular. Alguns estudos *in vitro* (Roginsky *et al.*, 2001; Borelli *et al.*, 2002) demonstraram os efeitos antioxidantes do 5-ACQ. No entanto, é importante salientar que as propriedades antioxidantes das misturas de café empregadas nas pesquisas “*in vitro*” têm se mostrado efetivas, porém são dependentes das condições de torrefação aplicadas aos grãos de café verde (Nicoli *et al.*, 1997). Em outros estudos também se verificou um aumento da capacidade antioxidante total no plasma humano, após o consumo de café (Natella *et al.*, 2002; Espósito *et al.*, 2003). Entretanto, os efeitos observados sofrem influência da quantidade consumida de 5-ACQ e também de aspectos relacionados à sua biodisponibilidade (Manach *et al.*, 2004). Dessa forma, torna-se difícil propor quais seriam as recomendações para a população em geral ou para populações em particular que apresentam algum risco específico. Além disso, uma outra dificuldade seria a presença de uma grande variedade de compostos fenólicos encontrados nos alimentos.

Apesar da existência de estudos realizados “*in vitro*” e em ratos, a respeito das propriedades farmacológicas do 5-ACQ, os trabalhos enfocando aspectos relacionados à absorção, metabolização e biodisponibilidade desses compostos em humanos ainda são escassos e controversos (Farah *et al.*, 2004). Alguns pesquisadores acreditam que a absorção de 5-ACQ possa ocorrer no intestino delgado ou cólon, de forma semelhante aos demais polifenóis (Bravo *et al.*, 1998; Scalbert *et al.*, 2002). Em seguida, seriam transportados ao fígado e tecidos extra-hepáticos, sendo excretados pela urina e bile (Bravo *et al.*, 1998). Por outro lado, existem estudos que não foram capazes de detectar

a sua presença no sangue (Azuma *et al.*, 2000; Nardini *et al.*, 2002) após o consumo de café (200 mL), apesar dessa bebida ser rica em 5-ACQ. Verificaram que somente o ácido caféico (tanto na forma livre quanto conjugada com o ácido glicurônico), foi identificado no plasma.

1.3 – Cafeína: Definição, Principais Fontes e Biodisponibilidade

Quimicamente, a cafeína pode ser definida como 1,3,7-trimetilxantina, que representa uma molécula de xantina no qual três hidrogênios são substituídos por grupos metila ligados ao nitrogênio no anel de xantina, conforme observado na Figura 2b.

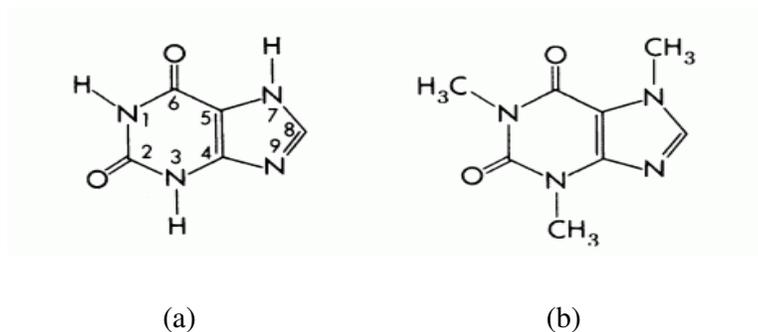


Figura 2: Estrutura Química da: (a) Xantina e (b) da Cafeína

A cafeína pode ser considerada como a substância psicoativa mais consumida em todo o mundo, por pessoas de todas as idades. Suas principais fontes na dieta são representadas por chá, café, produtos de chocolate, refrigerantes (do tipo cola) (Camargo & Toledo, 1998). Recentemente, a indústria de alimentos introduziu fontes dietéticas não tradicionais de cafeína como bebidas energéticas, gomas e bebidas alcoólicas. Apesar disso, o café continua sendo a sua principal fonte (Robinson *et al.*, 2004). A cafeína sofre poucas variações durante o processo de torrefação, apresentando uma estabilidade considerável (Licciardi *et al.*, 2004) e dependendo da espécie

empregada, uma xícara de café pode apresentar aproximadamente 100 mg de cafeína. A ingestão média per capita de cafeína nas sociedades ocidentais é estimada em 200-400mg/dia. Segundo Robinson *et al.* (2004), a ingestão diária de cafeína de 400-450 mg/dia, não estaria associada com efeitos adversos no organismo humano.

De acordo com Biaggioni *et al.* (2002), após absorção a cafeína é distribuída amplamente no organismo humano, onde as concentrações que são observadas no cérebro são comparáveis às do plasma. Além disso, a cafeína pode atravessar a placenta e também pode ser encontrada no leite materno. Uma dose de 250 mg (v.o) de cafeína (aproximadamente 5 xícaras de café/ dia), quantidade que é bem tolerada, produziu um excesso de de 40 $\mu\text{mol/L}$ de cafeína e 20 $\mu\text{mol/L}$ de paraxantina, o principal metabólito da cafeína (Biaggioni *et al.*, 1991). Alguns fatores como a meia vida de eliminação e o último período que a cafeína foi consumida representam os principais determinantes das suas concentrações no plasma. Considerando que a meia vida da cafeína em seres humanos é aproximadamente de 5 h e que esta é consumida em pequenas doses ao longo do dia, sugere-se que as concentrações de cafeína são mais elevadas no período da tarde e, menores no período da manhã. Dessa forma, no período noturno (10-12 h) ocorre depleção sistêmica quase completa da cafeína pela manhã (James, 1997).

Alguns efeitos sistêmicos da cafeína incluem um aumento da pressão sanguínea e estimulação da liberação das catecolaminas, particularmente epinefrina (Keijzers *et al.*, 2002). Tem sido observado incrementos de 5-15 mmHg (pressão sistólica) e 5-10 mmHg (pressão diastólica) em homens e mulheres normotensos e hipertensos de todas as idades, geralmente uma hora (pico) após a ingestão de cafeína. Acredita-se que a cafeína atue como antagonista dos receptores de adenosina, o que causaria vasoconstrição e conseqüentemente um aumento na resistência periférica total (James, 1997). Embora a produção de efeitos hemodinâmicos agudos após a ingestão de cafeína

possa ser observada, pode se desenvolver uma tolerância hemodinâmica a partir de sua ingestão contínua e habitual. Pelo exposto, torna-se difícil extrapolar os resultados observados em estudos metabólicos desenvolvidos à curto prazo para aqueles a longo prazo (Salazar-Martinez *et al.*, 2004).

Outros estudos também têm demonstrado que a cafeína administrada de forma aguda diminuiria a sensibilidade à insulina, apesar de ter sido observado também que uma tolerância à cafeína poderia se desenvolver (Greer *et al.*, 2001; Keijzers *et al.*, 2002). Efeitos adversos provenientes da ingestão da cafeína incluem a associação positiva com a osteoporose (Cummings *et al.*, 1995), doenças periodontais (Sesso *et al.*, 1999) e também com resultados obstétricos indesejáveis (abortos) (Cnattingius *et al.*, 2000). Por outro lado, a cafeína tem sido amplamente empregada em preparações utilizadas no tratamento de alergias, analgésicos, diuréticos e estimulantes (Biaggioni *et al.*, 2002). Além disso, a cafeína estimula a termogênese e aumenta o gasto energético, o que pode contribuir para a redução de peso corporal (Greenberg *et al.*, 2005)

1.4 – Abordagem sobre os Efeitos do Consumo de Café no Perfil Lipídico, na Glicemia, Insulinemia, na Uricemia e na Homocisteinemia

Estudos epidemiológicos interessados em discutir a associação do consumo de café e saúde apontam conhecidos efeitos psicoativos e fisiológicos da cafeína, mas também mencionam outros possíveis efeitos que têm sido identificados e atribuídos ao conteúdo de diterpenos (cafestol e cafeol) (Roos *et al.*, 1998) ou fenólicos, como o 5-ACQ, tendo este último recebido ênfase especial nos últimos anos (Kitts & Wijewickreme, 1994).

Em relação às doenças cardiovasculares, estudos prospectivos e epidemiológicos têm sido realizados objetivando elucidar de que forma o consumo de café poderia

influenciar no surgimento e agravamento das doenças coronárias (Palmer *et al.*, 1995; Meyer *et al.*, 1998). No entanto, na maioria dos estudos, os resultados observados têm se mostrado controversos, em diferentes populações. Possivelmente, os diferentes hábitos associados ao consumo de café em cada população constituem fatores que dificultam a diferenciação dos efeitos do café de outros fatores dietéticos e ambientais (Mursu *et al.*, 2005). Além disso, aspectos relevantes são desconsiderados nos estudos, como a espécie da planta, volume consumido, grau de torrefação e a forma de preparo da bebida (Dórea *et al.*, 2005). Acrescido aos fatores já mencionados, um outro inconveniente observado nos estudos seria a ausência de um melhor controle para fatores confundidores como o fumo e o tipo de café (regular ou descafeinado) (Palmer *et al.*, 1995).

Segundo Sudano *et al.* (2005), a ingestão aguda de café ou de bebidas que contêm cafeína, pode aumentar a pressão arterial e também promover a estimulação do sistema nervoso simpático em pessoas que não têm o hábito de consumo de café. É importante salientar que a hipertensão é um fator de risco primário para derrame, doenças cardíacas e falência renal (Whelton *et al.*, 2002). Sudano *et al.* (2005) acrescentaram ainda, que os efeitos supracitados não foram observados em pessoas que têm o hábito de ingerir a bebida. De acordo com Corti *et al.* (2002), também foi observado um aumento na pressão arterial após o consumo agudo de café regular e descafeinado em pessoas sem o hábito de consumo da bebida, o que amplia ainda mais a discussão quanto à participação de outras substâncias, que não somente a cafeína, na ativação do sistema cardiovascular.

Tem Por outro lado, alguns estudos têm demonstrado que extratos solúveis de café verde foram efetivos contra a hipertensão em ratos (Susuki *et al.* 2002) e em humanos (Kozuma *et al.*, 2005).sido sugerido por Ochiai *et al.* (2004) que a ação anti-

hipertensiva dos extratos de café verde (125 mL) seja em decorrência da presença de grandes quantidades de 5- ACQ (140 mg), atuando na produção de substâncias vasoreativas, como por exemplo o óxido nítrico, no endotélio vascular, que por sua vez é um importante fator relaxante da musculatura lisa.

Durante vários anos, o consumo de café também tem sido associado a concentrações elevadas de colesterol sérico, importante fator de risco para o desenvolvimento de aterosclerose (Tverdal *et al.*, 1990). Ao realizar uma revisão sistemática da literatura a partir de ensaios clínicos controlados, Jee *et al.* (2001) verificaram que o consumo de seis xícaras ou mais de café regular esteve associado significativamente com um aumento no colesterol total, LDL-colesterol e triglicérides, mas não afetou o HDL-colesterol. Essa relação persistiu após o ajuste da idade média dos participantes e do método de preparação do café. Tais efeitos foram mais pronunciados nos estudos nos quais os participantes ingeriram café fervido, do que naqueles que ingeriram café filtrado. O consumo de café fervido é típico das regiões escandinavas e da Turquia, na qual em seu preparo, o café é fervido com água durante 10 min ou mais, sendo o líquido decantado sem o uso de um filtro (Urgert *et al.*, 1996; Gross *et al.*, 1997). Seu consumo tem mostrado associação com concentrações elevadas de LDL-colesterol e VLDL-colesterol (Gross *et al.*, 1997), sendo que o efeito hipercolesterolêmico observado, foi atribuído à presença de alguns diterpenos (cafestol e caveol) na fração lipídica dos grãos torrados (Roos *et al.*, 1998). Esses componentes podem ser encontrados nas variedades arábica e robusta (predominantemente cafestol) (Lecker *et al.*, 1995) e representam cerca de 10-15% da fração lipídica dos grãos de café torrados (Ratnayake *et al.*, 1995). Tais substâncias diminuem a expressão e a atividade da colesterol alfa-hidrolase, importante enzima relacionada à síntese dos ácidos biliares, o que promoveria uma diminuição na excreção da bile (Boekschoten *et al.*, 2005). Além

disso, as maiores concentrações existentes dessas substâncias no café fervido ocorrem, devido às temperaturas mais elevadas durante o preparo do café e o tempo mais prolongado de contato entre os grãos de café e a água. Já a filtração do café através do filtro de papel removeria as frações dos extratos de café responsáveis pelo aumento do colesterol.

De acordo com Urgert & katan (1996), o consumo diário de 900 mL (5 a 6 xícaras) de café forte fervido durante 24 semanas afetou a integridade das células hepáticas, conforme demonstrado pelos aumentos nas concentrações da alanina aminotransferase. Além disso, também foi observado um aumento nas concentrações de colesterol total (6 a 10 %) e na LDL-colesterol (9-14 %), o que sugere um risco maior para o desenvolvimento da aterosclerose e de doenças cardíacas coronárias.

Por outro lado, Strandhagen & Thelle (2003), realizando um estudo prospectivo controlado, com 121 participantes saudáveis, que consistiu em dois períodos de privação absoluta de café regular (3 semanas, em cada período) e outros dois de consumo de café regular filtrado (600 mL por dia e 4 semanas em cada período), verificaram que os períodos de abstenção de café foram relacionados com um declínio nas concentrações de colesterol de 0,22 mmol/L (95% CI 0,15-0,36) e 0,36 mmol/L (95% CI 0,46-0,26), respectivamente. Já durante o período de consumo de café, houve um aumento nas concentrações de colesterol de 0,25 mmol/L (95 % CI 0,15- 0,36) e 0,15 mmol/L (95% CI 0,04-0,26). Tais achados são importantes em relação ao perfil lipídico, uma vez que concentrações séricas elevadas de colesterol total e de triglicérides, bem como a oxidação da LDL-colesterol, são fatores que têm sido associados a um maior risco de doenças cardiovasculares (Meyer *et al.*, 1998).

Alguns estudos ainda escassos e contraditórios têm demonstrado particular interesse na participação do café em relação ao controle de diabetes melito. Segundo os

estudos, o consumo elevado de café estaria associado a uma redução do risco de desenvolvimento de diabetes melito do tipo 2, condição caracterizada pela resistência à insulina e descrita como um fator de risco independente para as doenças cardiovasculares (Tuomilehto *et al.*, 2004; Salazar-Martinez *et al.*, 2004). Segundo Van Dam & Feskens (2002), indivíduos que consumiram no mínimo 7 xícaras de café por dia apresentavam um risco relativo de 0,50 de desenvolver o diabetes, quando comparados àqueles que consumiram 2 xícaras ou menos de café por dia. Salazar-Martinez *et al.* (2004) acrescentaram que associação da ingestão de café (≥ 6 xícaras/dia) com um menor risco para o diabetes melito do tipo 2 esteve relacionada com a ingestão crônica de ambos os tipos de café. Já, outros trabalhos descritos na literatura como os de demonstraram que o consumo de café poderia estar associado com o desenvolvimento de diabetes melito tipo 2, possivelmente pela diminuição da sensibilidade à insulina, muito embora não tenham considerado o tipo de café (regular ou descafeinado) (Graham *et al.*, 2001; Greer *et al.*, 2001; Keijzers *et al.*, 2002; Robinson *et al.*, 2004).

Considerando que o café é uma matriz complexa, sendo constituído não apenas de cafeína (até 2 %), mas também de outros componentes biologicamente ativos, é plausível sugerir que outros compostos, que estão presentes em grande quantidade, a exemplo do 5-ACQ, possam explicar a associação inversa existente entre o consumo de café e o diabetes, que foi observada na maioria dos estudos supracitados. Segundo Sotillo & Hadley (2002), o 5-ACQ seria o componente responsável pela redução da glicose sangüínea, dos níveis de colesterol total ou concentrações de triglicerídeos observados *in vivo*. Os autores sugeriram que o 5-ACQ atuaria diretamente inibindo a atividade da translocase, que faz parte de um sistema enzimático da glicose-6-fosfatase, presente no fígado e que é responsável pela última etapa dos processos de glicogenólise

e gliconeogênese. Dessa forma, nos casos de diabetes tipo 2, onde se observa gliconeogênese acentuada, a inibição do sistema glicose-6-fosfatase pelo 5-ACQ desempenharia importante papel no controle da glicemia (Hemmerle *et al.*, 1997). Além disso, o 5-ACQ ao regular a função hepática, promovendo o aumento da sensibilidade à insulina, modularia conseqüentemente, as concentrações de colesterol e triglicerídeos plasmáticos.

Existem evidências na literatura de que o 5-ACQ exerce influência nas funções das células β pancreáticas, podendo aumentar a produção das incretinas, hormônios que potencializam a liberação da insulina estimulada pela glicose (Johnston *et al.*, 2003). Esses autores observaram que após o consumo de 400 mL de café regular e descafeinado (ambos com quantidades equivalentes de 2,5 mmol/L de 5-ACQ) houve supressão dos níveis séricos do Polipeptídeo Insulinotrópico dependente de Glicose ou Polipeptídeo Inibidor Gástrico (GIP), com um conseqüente aumento no Peptídeo semelhante ao Glucagon-1 (GLP-1). Como sabemos, a liberação de GIP é mediada pelo processo de absorção de nutrientes e pelas concentrações de insulina circulante. Dessa forma, a absorção de glicose nos segmentos mais proximais do intestino, promoveu um estímulo de liberação da secreção de GIP e, de forma oposta, quando a absorção de glicose ocorreu nos segmentos mais distais do intestino houve um aumento de secreção de GLP-1. Este, por sua vez, aumenta a produção de adenosina monofosfato cíclico (AMPC) nas células β pancreáticas, pela ativação de um receptor de membrana que amplifica a secreção de insulina e pode reverter a disfunção das células β que são observadas em diabéticos do tipo 2. Dessa forma, o retardo na absorção da glicose contribui como um fator de proteção para as células β pancreáticas em relação aos efeitos adversos da hiperglicemia (Mc Carty, 2005).

Vários estudos epidemiológicos têm confirmado a associação positiva do ácido úrico com acidente vascular encefálico e doenças isquêmicas (Wannamethee *et al.*, 1997; Verdecchia *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2001). Entretanto, o reconhecimento do ácido úrico como um fator de risco independente para a mortalidade cardiovascular permanece controverso em vários estudos, devido à associação com fatores confundidores como a obesidade, dislipidemia, hipertensão, utilização de diuréticos e resistência à insulina (Culleton *et al.*, 1999; Burnier *et al.*, 1999; De Leeuw *et al.*, 2002). O ácido úrico é um produto da oxidação das xantinas, sendo derivado do metabolismo das purinas. Devido à sua baixa solubilidade nos líquidos corporais, modestas alterações na sua produção ou excreção podem produzir elevadas concentrações séricas (Kiyohara *et al.*, 1999). As concentrações de ácido úrico variam significativamente em humanos, como resultado de fatores que podem aumentar a sua produção (como dieta elevada em purinas ou proteínas, consumo de álcool, elevada taxa de renovação celular ou defeitos enzimáticos no metabolismo das purinas) ou que possam diminuir a sua excreção (Johnson *et al.*, 2003).

Um estudo sugeriu que o consumo de café pode estar associado a menores concentrações séricas de ácido úrico. Indivíduos com hábito diário de consumo de cinco xícaras de café exibiram menores concentrações séricas comparados àqueles que consumiram uma xícara, independente da idade, Índice de Massa Corporal (IMC), pressão sanguínea sistólica, creatinina sérica, colesterol total, fumo e consumo de bebidas alcoólicas (Kiyohara *et al.*, 1999). Tais resultados são importantes uma vez que concentrações aumentadas de ácido úrico no sangue (hiperuricemia) têm sido associadas com maior envolvimento nos processos de adesão e agregação plaquetária e no processo inflamatório (Masashiko *et al.*, 2005).

Além dos possíveis efeitos benéficos supracitados em alguns estudos em razão do consumo do café, outros estudos têm demonstrado que esse consumo tem aumentado as concentrações de homocisteína plasmática total (tHcy) em humanos (Urgert *et al.*, 2000; Olthof *et al.*, 2001; Verhoef *et al.*, 2002). A homocisteína é um aminoácido sulfurado não protéico, formado a partir da desmetilação do aminoácido metionina (Jacques *et al.*, 2001). No plasma, a homocisteína pode ser encontrada na forma oxidada e também ligada a proteínas plasmáticas. Segundo Mallinow *et al.* (1990) aproximadamente 80 % da homocisteína plasmática se encontra ligada à albumina.

A elevação das tHcy ou hiperhomocisteinemia tem sido associada com aumento da peroxidação lipídica (Refsum *et al.*, 2001; Ueland *et al.*, 2000). Além disso, outros estudos também têm tratado a hiperhomocisteinemia, não apenas como um importante fator de prognóstico, mas também como um mediador químico para o risco de doenças vasculares oclusivas precoces (Boushey *et al.*, 1995; Wald *et al.*, 2002; Hung *et al.*, 2003). Apesar disso, outros estudos afirmam que essa associação é controversa, não tendo sido observada nenhuma associação (Folsom *et al.*, 1998; Ford *et al.*, 2002). Provavelmente a discrepância relacionada aos resultados encontrados fundamenta-se no tipo e período de acompanhamento dos estudos, fatores relacionados ao estilo de vida e com hábitos alimentares e quanto à presença de outros fatores de risco associados às doenças cardiovasculares (Eikelboom *et al.*, 1999).

Embora os prováveis mecanismos de ação da hiperhomocisteinemia na gênese de doenças vasculares oclusivas ainda não tenham sido esclarecidos (Voutilainen *et al.*, 2004), alguns estudiosos acreditam que a hiperhomocisteinemia possa atuar como um agente tóxico para o endotélio vascular ao promover a produção de peróxido de hidrogênio e homocisteína tiolactona (Lentz *et al.*, 1998; Undas *et al.*, 2001). Além disso, sugerem que a hiperhomocisteinemia também inibiria a guanilil ciclase,

importante enzima que atua na síntese de óxido nítrico, um potente vasodilatador (McCully *et al.*, 1990; Lusster-cacan, 1996; Selhub, 1999).

Embora não haja um consenso referente à classificação da homocisteinemia, muitos estudos sugerem que são seguras concentrações de até 14 $\mu\text{mol/L}$ (Ubbink *et al.*, 1991; Selhub *et al.*, 1993; Ubbink, 1994). Já, Kang (1995) propôs valores de 5 a 15 $\mu\text{mol/L}$ como aqueles que não estariam associados a agravos e doenças não transmissíveis, classificando a hiperhomocisteinemia em moderada, intermediária e grave, quando as concentrações de homocisteína plasmática em jejum variam de 15 a 30 $\mu\text{mol/L}$, de 30 a 100 $\mu\text{mol/L}$ e maiores que 100 $\mu\text{mol/L}$, respectivamente. Entretanto, Omenn *et al.* (1998) sugeriram um novo ponto de corte para homocisteinemia de até 10 $\mu\text{mol/L}$. Sendo assim, valores acima de 10 $\mu\text{mol/L}$ já caracterizariam quadro de hiperhomocisteinemia. A hiperhomocisteinemia moderada e a intermediária são bem mais comuns que a grave e podem ser causadas por insuficiência renal ou defeitos no metabolismo da homocisteína, relacionados com uma remetilação ineficiente, decorrente das deficiências de folato (Selhub, 1999). A hiperhomocisteinemia grave caracterizada por níveis acima de 100 $\mu\text{mol/L}$, estaria mais relacionada a defeitos genéticos, que comprometeriam a expressão das enzimas envolvidas no metabolismo da homocisteína (Pietrzik & Brönstrup, 1997; krumdieck & Prince, 2000; Hung *et al.*, 2003).

Os principais determinantes da hiperhomocisteinemia moderada são caracterizados por deficiências das vitaminas do complexo B (folato, cobalamina, piridoxina) e representam dois terços dos casos. Geralmente, a deficiência de folato é o principal determinante (Bothwell & Charlton, 1984; Chait *et al.*, 1999, Aubard *et al.*, 2000, Saw *et al.*, 2001; Jacques *et al.*, 2001), provavelmente devido ao seu papel como co-substrato na remetilação da homocisteína a metionina. Em estudo de base

populacional realizado na Dinamarca, a ingestão dietética de folato, mas não de cobalamina e piridoxina, mostrou-se independentemente e inversamente associada às concentrações de homocisteína plasmática (Bothwell & Charlton, 1984). Quando a ingestão de folato foi inferior a 400 µg/dia, houve maior prevalência de altas concentrações de homocisteína plasmática (>15 µmol/L) e um aumento na ingestão de 200 para 400 µg/dia reduziu essa prevalência (Boushey *et al.*, 1995, Chait *et al.*, 1999; Selhub, 1999). Diversos estudos epidemiológicos têm apontado outros possíveis determinantes para a hiperhomocisteinemia moderada, tais como idade (idosos), sexo (masculino), etnia (negros), Índice de Massa Corporal (IMC), tabagismo, consumo de álcool e de café (Nygard *et al.*, 1998; Jacques *et al.*, 1999, Jacques *et al.*, 2001, De Bree *et al.*, 2001). Esses determinantes variam entre diferentes países e podem ser independentes dos teores das vitaminas relevantes na dieta habitual da população.

No que diz respeito não apenas ao consumo, mas a quantidade de café e sua associação com a hiperhomocisteinemia, ainda não há consenso no meio científico sobre a quantidade exata capaz de afetar os níveis de homocisteína plasmática. Em seu estudo, Christensen *et al.* (2001) verificaram que o consumo de 4 xícaras ou mais de café diariamente provocou o aumento das (tHcy). De acordo com Vollset *et al.* (2001), tais efeitos foram observados a partir de uma quantidade diária igual ou superior à cinco xícaras. Já Urgert *et al.* (2000) observaram incrementos nas concentrações de tHcy com uma quantidade diária de 1000 mL.

Grubben *et al.* (2000) demonstraram que uma ingestão elevada de café não filtrado (1000 mL/dia) aumentou as concentrações de tHcy em 10 % (12,8 para 14,0 µmol/L). Por outro lado, Nygard *et al.* (1998) também verificaram uma associação positiva entre o consumo de café com as concentrações de tHcy em mais de 14.000

indivíduos que consumiram café filtrado, não filtrado e instantâneo, embora não tenha sido observado esse efeito com o consumo de café descafeinado.

Verhoef *et al* (2002) ao comparar o efeito da mesma quantidade de cafeína isolada (870 mg/dia) com a presente na bebida de café, verificou que a cafeína em cápsulas foi responsável por 50 % do aumento das concentrações de tHcy promovido pela bebida de café. Tais resultados sugerem que possivelmente outros compostos presentes no café também sejam responsáveis pelo aumento nas concentrações de tHcy. Olthof *et al.* (2001) demonstraram que um consumo elevado de ACG (2 g), o equivalente a 1500 mL de café forte, elevou as concentrações de tHcy no jejum (4 %) e no período pós-prandial (12 %). Os autores sugeriram que os aumentos observados nas concentrações de tHcy seriam decorrentes dos incrementos das reações de metilação que ocorre no metabolismo dos polifenóis.

2 – JUSTIFICATIVA

O café é uma bebida amplamente consumida em todo o mundo, sendo que a sua popularidade se deve aos seus reconhecidos atributos de aroma, sabor e também de suas propriedades psicoativas, devido à presença de seu componente mais conhecido e farmacologicamente estudado, a cafeína. Os efeitos mencionados da cafeína incluem um estado de alerta aumentado, maior facilidade em processar as informações, redução da fadiga e da necessidade de sono (Harland, 2000). Além disso, o café também tem despertado interesse científico mundial devido a outros efeitos na saúde humana. Recentemente, um dos principais efeitos observados tem sido relacionado principalmente à sua atividade antioxidante, que tem sido atribuído à presença de compostos fenólicos. Segundo Daglia *et al.* (2004), o 5-ACQ foi considerado o componente fenólico que mais demonstrou ação específica contra radicais hidroxil *in vivo* e *in vitro*.

Embora o Brasil seja um grande produtor e consumidor de café, não há relato de estudos que avaliem a influência do consumo agudo de café (descafeinado, regular e verde) em diferentes parâmetros bioquímicos (perfil lipídico, glicemia, insulinemia, uricemia e homocisteinemia). Alterações nesses parâmetros estão relacionadas a uma série de doenças que acometem a população. Portanto, há um grande interesse em investigar as propriedades fisiológicas de produtos amplamente consumidos pela população. Este é o caso do café, no qual estudos preliminares têm associado esse produto alimentício com alguns efeitos benéficos para saúde humana. Entretanto, a maioria dos relatos da literatura empregou a cafeína ou 5-ACQ, os principais componentes do café com reconhecida ação biológica, na sua forma isolada. Além disso, nem todos os estudos relacionados aos efeitos do consumo de café na saúde se preocuparam em considerar alguns aspectos importantes, como: espécie de café, tipo de

café (regular ou descafeinado), forma de preparo da bebida (filtrado ou fervido), hábito de consumo e quantidade ingerida. Esses parâmetros acabam influenciando os diversos resultados descritos na literatura científica, os quais são bastante controversos.

Em adição, apesar da bebida de café verde não se configurar como hábito em nossa população, ela contém componentes como a cafeína (1-2 % dependendo da espécie considerada) e o 5-ACQ (5-10 %), que têm demonstrado efeitos fisiológicos pronunciados na espécie humana, mas que precisam ser melhor investigados.

3 – OBJETIVOS

3.1 – OBJETIVO GERAL

- Verificar uma possível influência do consumo agudo de café verde, regular e descafeinado sobre a glicemia, insulinemia, uricemia, homocisteinemia e perfil lipídico em indivíduos jovens.

3.2– OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a glicemia, insulinemia, homocisteinemia, uricemia, o perfil lipídico em jejum e após o consumo de café verde, regular e descafeinado;
- Verificar uma possível associação entre os marcadores bioquímicos após o consumo dos diferentes tipos de café.

4- MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 População e Amostra

O estudo foi desenvolvido através de ensaio clínico controlado, cuja amostra foi constituída por 20 voluntários, de ambos os sexos, de diferentes cor de pele, numa faixa etária entre 18 e 35 anos, sem relato de doenças pré-existentes, não tabagistas, não etilistas, eutróficos ou com sobrepeso ($IMC \leq 30 \text{ kg/m}^2$) segundo os critérios estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde (OMS/1998) e que consumiam café habitualmente. Foram excluídos do estudo indivíduos que utilizassem medicamentos de uso contínuo, que interferissem no estado nutricional do folato, com relato de problemas gástricos e que apresentassem anemia (hematócrito $< 40 \%$ e hemoglobina $< 11,5 \text{ g/dL}$), segundo os valores de referência propostos por Miller, 1995.

O protocolo experimental foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF) sob o nº 175/03 (Anexo 9.2). Todos os voluntários foram informados sobre a importância e objetivos da pesquisa, além da não existência de recompensa de qualquer natureza pela participação no projeto e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 9.3). O desenho experimental, considerando as principais etapas que envolveram o estudo, foi descrito na Figura 3.

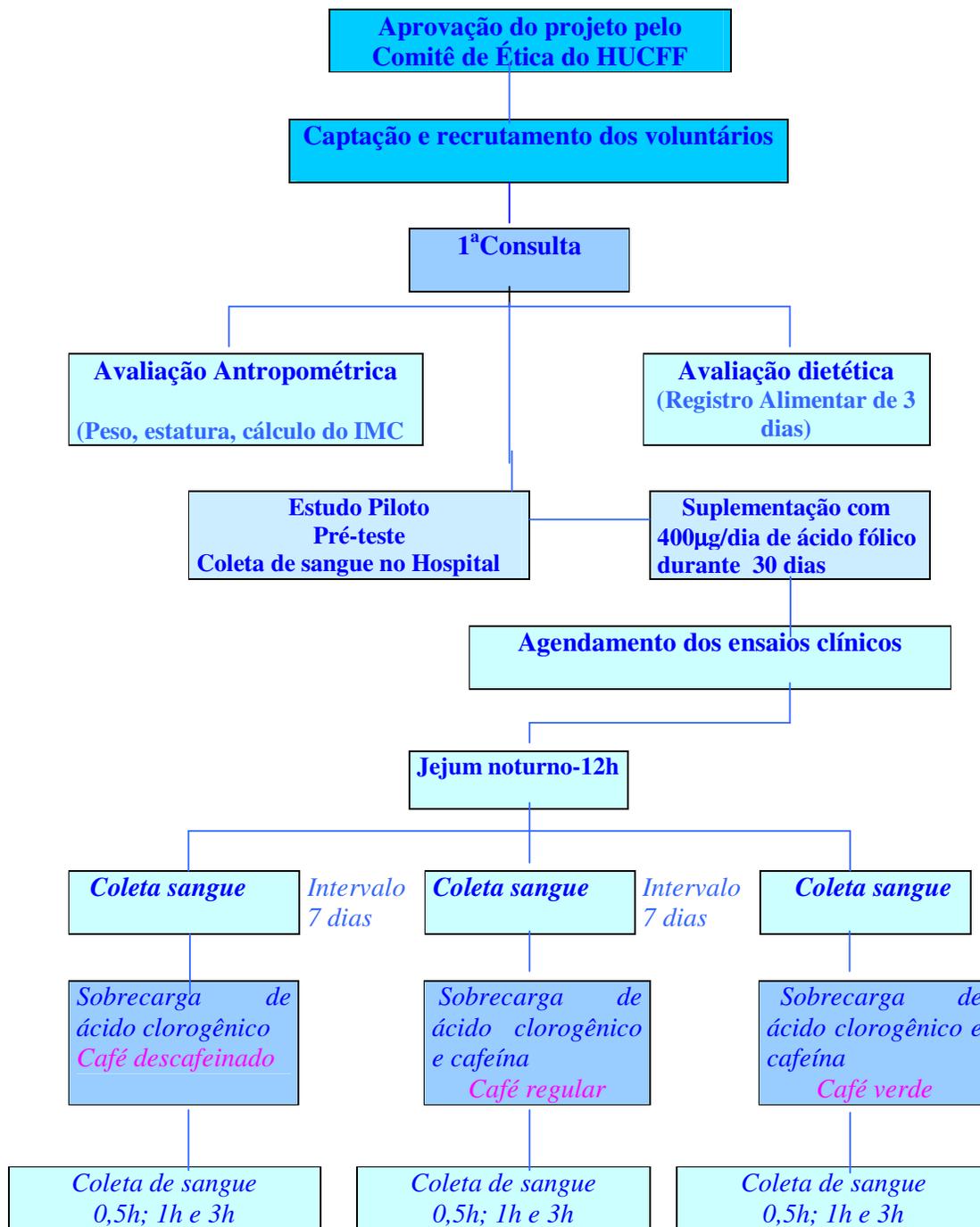


Figura 3: Desenho Experimental

4.2 – Captação e Recrutamento dos voluntários

O recrutamento dos voluntários teve início após a aprovação do protocolo experimental pelo supracitado Comitê de Ética, tendo sido realizado através de cartazes afixados no Hospital Universitário Clementino Fraga e Filho (HUCFF) e no campus universitário da UFRJ, a fim de que pudéssemos captar indivíduos que transitavam nos locais citados.

Todos os interessados em participar do estudo receberam explicações verbais e ainda um informe detalhado (por escrito), contendo informações adicionais descrevendo as etapas que envolveriam a participação no estudo.

4.3 - Realização da primeira consulta

A primeira consulta foi realizada no Laboratório de Avaliação Nutricional (LANUTRI-INJC/UFRJ) e, nesse momento, os participantes além de assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, responderam a um questionário estruturado elaborado pelos pesquisadores a fim de obter informações gerais e pertinentes ao estudo (Anexo 9.4). Em seguida, foram realizadas as seguintes atividades durante a primeira consulta:

4.3.1- Avaliação Antropométrica

4.3.1.1 Peso corporal

Para mensuração do peso corporal foi utilizada balança digital, da marca Fillizola, com precisão de 100 gramas e capacidade máxima de 150 kg, de acordo com a técnica descrita por Gibson (1990).

4.3.1.2 Estatura

A estatura foi obtida empregando-se um estadiômetro com escala de 0,1 cm, de acordo com a técnica descrita por Gibson (1990).

4.3.1.3 Índice de Massa Corporal (IMC)

O IMC foi determinado com base no peso corporal e na estatura através da fórmula:

$$\frac{\text{Peso Corporal (kg)}}{\text{Estatura}^2(\text{m}^2)}$$

O diagnóstico nutricional foi realizado de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS, 1998).

4.3.2 - Avaliação da Ingestão Dietética

Para essa avaliação, foi utilizado o registro alimentar de três dias alternados (Anexos 9.5 e 9.6). A avaliação da composição química dos inquéritos dietéticos foi realizada através do programa computacional *Food Processor* versão 12.0 (*ESHA Corporation*, Oregon, EUA - 1984), após adaptação da composição química dos alimentos à realidade brasileira.

4.3.2.1 - Estimativa de Prevalência da Inadequação da Ingestão de Folato e Cobalamina dos Participantes do Estudo

A influência da sazonalidade, dias da semana, seqüência da aplicação dos questionários, ou diferentes entrevistadores, explica uma pequena proporção da variabilidade do consumo de nutrientes. Então, para se estimar a prevalência de inadequação de folato e cobalamina foi utilizado o método proposto por Slater *et al.* (2004), baseado na análise de variância dos valores fornecidos (no nosso caso, pelos

registros alimentares de três dias alternados) para a implementação de um valor ajustado para cada nutriente em questão. Dessa forma, a dieta habitual poderia ser explicada pelo seguinte modelo:

$$Y = \mu + \text{indivíduo } i + e$$

onde:

Y = ingestão do nutriente

μ = média de consumo verdadeira

Indivíduo i = o efeito da variância interpessoal

e = erro aleatório

Nesse modelo, a ingestão habitual de um nutriente compõe-se pela média verdadeira (μ), de cada indivíduo da população, com variabilidade medida pela variância interpessoal. Como este valor não pode ser medido diretamente, então, a média do consumo verdadeiro não poderá ser uma medida livre de erro (Cole, 2000). Dessa forma, a ingestão dietética habitual das vitaminas de interesse foi ajustada pelas variâncias intra e interpessoal, na qual se obteve uma distribuição corrigida para esses valores. Foi construída uma curva de distribuição, a partir dos parâmetros corrigidos estimados (média e desvio padrão) e em seguida, utilizou-se os valores da EAR (*Estimated Average Requirements*) de cada nutriente como ponto de corte para se verificar a proporção de indivíduos na qual a ingestão de nutrientes se apresentou inadequada. Foi considerado como inadequação, os valores situados na área da curva abaixo dos valores de referência.

A EAR é caracterizada como um valor médio da ingestão diária estimada para atender as necessidades de 50% dos indivíduos saudáveis de um grupo em determinado estágio de vida e gênero (*Institute of Medicine*, 2000). Os valores de EAR do folato e cobalamina para indivíduos do sexo masculino e feminino segundo a faixa etária de 19-70 anos são, respectivamente: 320 µg/dia e 2,0 µg/dia.

4.4. Estudo Piloto (n=4)

Foi realizado com o objetivo de se avaliar o estado nutricional de folato, a partir de indicadores bioquímicos e dietéticos. Para tal foi coletada uma amostra de sangue (5 mL) por punção venosa à vácuo, em um tubo contendo anti-coagulante EDTA, no HUCFF. Foi observada depleção de folato, o que nos levou a realizar suplementação com essa vitamina, a fim de evitar um possível viés nos nossos resultados, uma vez que essa vitamina influencia a homocisteinemia, o que poderia mascarar o possível efeito do 5-ACQ.

4.5 Suplementação com Folato

A suplementação com 400 µg/dia de folato foi realizada, de acordo com o *Institute of Medicine* (IOM, 2000), durante quatro semanas, objetivando corrigir essa depleção nutricional.

4.6 Restrições Dietéticas - Véspera das Coletas

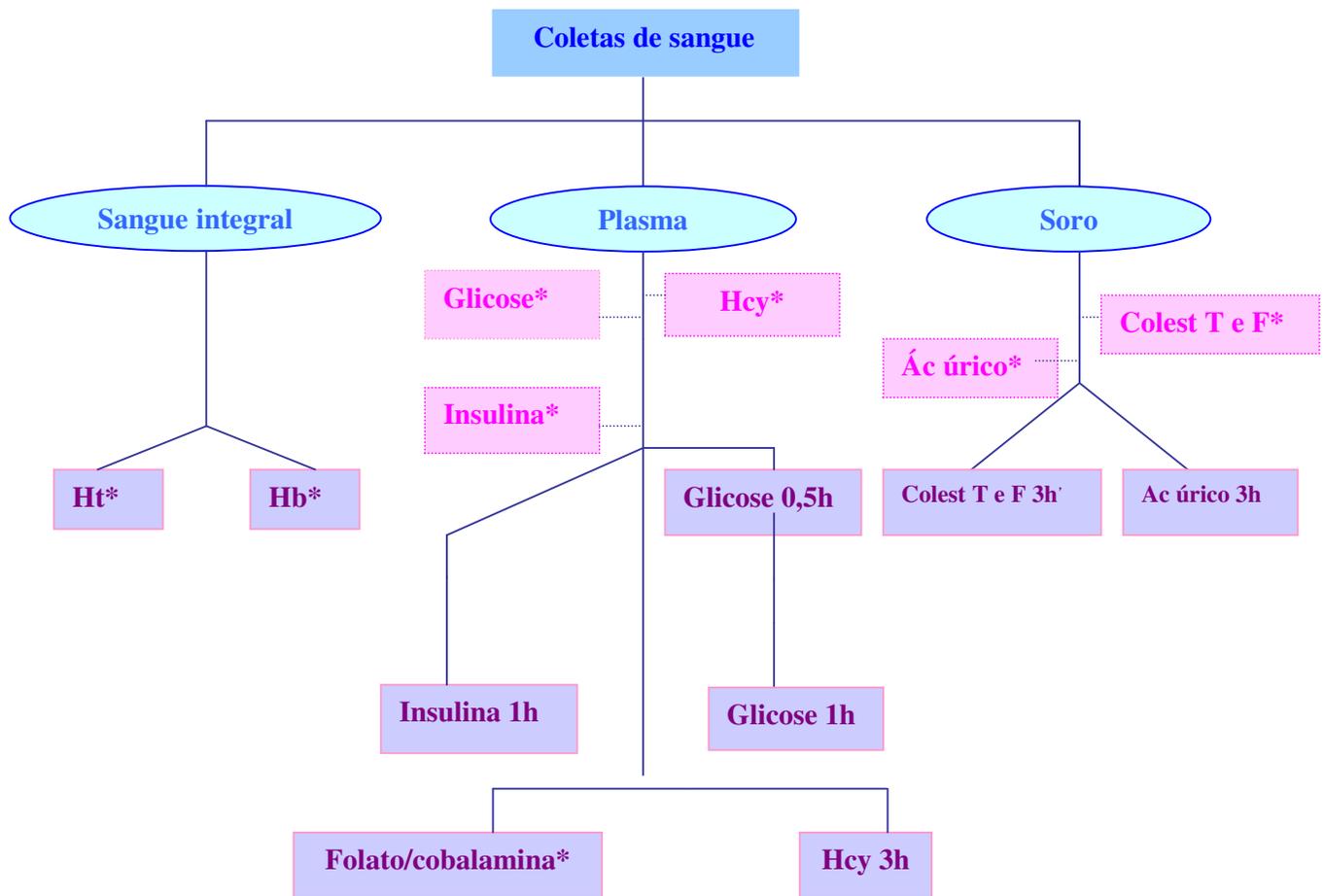
Todos os participantes foram orientados a evitar alguns alimentos ricos em polifenóis e fontes de cafeína na véspera do experimento (Anexo 9.7). Além disso, também receberam orientação para ingerir bastante líquido (aproximadamente 1,5 L), notificar em caso de problemas gastrointestinais (diarréia), resfriados e febre para remarcar o experimento.

4.7 As Coletas de Sangue

Foram realizadas em cada ensaio clínico seis (06) coletas de sangue sendo utilizados como materiais: gelco (nº 22G), perfusor duplo e heparina sódica (5000 UI/0,25 mL) (10 mL) para evitar o estresse venoso e assegurar maior segurança e conforto aos participantes. O experimento envolveu três dias de coleta, um a cada semana, considerando um intervalo de 07 dias de uma coleta para outra, até completar três semanas de coleta. Em cada dia, os participantes receberam um tipo de café, de forma que ao final do estudo todos os voluntários consumiram os três tipos de café (descafeinado, regular e verde). O sangue foi coletado após jejum noturno, de aproximadamente 12 horas e após o consumo dos três tipos de café, como pode ser observado na Figura 2.

Juntamente com o café cada participante recebeu quatro fatias de pão de forma integral com margarina light (16 g). Em cada ensaio foram coletados 60 mL de sangue de cada participante, dos quais 40 mL foram destinados à obtenção de plasma e 20 mL de soro. Após o sangue ter sido coletado, foi distribuído em tubos com EDTA K3 ou gel, centrifugados a 4000 rpm durante 15 minutos para a obtenção de plasma ou soro, respectivamente. Então, as amostras foram subdivididas em alíquotas e mantidas sob refrigeração (4°C) para análise de colesterol total e frações, triglicerídeos, ácido úrico e glicose, e as demais alíquotas foram armazenadas à -20° C para posterior análise (insulina e homocisteína). No caso de hemoglobina e hematócrito, utilizamos 100 µL de sangue integral. Todas as análises foram realizadas em triplicata, onde foi considerada a média aritmética. A Figura 4 mostra todas as análises bioquímicas que foram realizadas no estudo.

4.7.1 Análises Bioquímicas do Estudo



- Jejum*
- Colest T e F = colesterol total e frações
- Ht= hematócrito
- Hb=hemoglobina
- Hcy=homocisteína

Figura 4: Análises Bioquímicas do Estudo

4.7.1.1 - Sangue Integral

Hematócrito

Foi avaliado através de técnica capilar convencional, por centrifugação (3000 rpm) por 12,5 minutos. O resultado foi expresso em percentual, relacionando a altura correspondente às hemácias, com a altura do sangue total no capilar heparinizado.

Hemoglobina

Foram necessários 20 µl de sangue integral e foi empregado o kit comercial BIOCLIN (Brasil), utilizando o método colorimétrico segundo Henry (1983) que se baseia na produção de cianometahemoglobina. O método em questão consiste na oxidação do átomo de ferro da molécula de hemoglobina pelo ferricianeto de potássio, formando a metahemoglobina que é convertida em cianometahemoglobina após a reação com o cianeto de potássio.

O padrão utilizado tem concentração de 11 g/dL.

A leitura foi realizada a 540 nm no espectrofotômetro DU 650 Beckman, em um intervalo máximo de 60 minutos após a transferência do reativo de trabalho para o tubo de ensaio.

O cálculo foi realizado conforme abaixo:

$$\text{Fator de calibração (F)} = \frac{11 \text{ g/dl}}{\text{Absorvância do padrão}}$$

$$\text{Concentração da hemoglobina} = \boxed{F \times (\text{absorvância da amostra} - \text{branco})}$$

Folato em eritrócitos

A dosagem do folato em eritrócitos foi realizada com kit comercial *DUALCOUNT* (*Diagnostic Products*®, USA), empregando-se a mesma técnica de folato

e cobalamina plasmáticos (descrita posteriormente), sendo o resultados expesso em nmol/L e obtido segundo a fórmula* descrita abaixo. As análises foram realizadas em triplicata no laboratório de Bioquímica Nutricional e de Alimentos do Departamento de Bioquímica do Instituto de Química da UFRJ.

*** Folato em eritrócitos (nmol/L) $21R (100/H)$, onde o R (concentração de folato no hemolisado) e H (hematócrito).**

4.7.1.2 - Plasma

Homocisteína

Foram utilizados para a análise de homocisteína 15 µl de amostra de plasma no qual se empregou a técnica de imunoensaio competitivo. Foi realizado um ciclo de pré-tratamento das amostras com S-adenosil L-homocisteína (SAH) hidrolase e ditriotreitol (DTT) num tubo de reacção sem esfera. Após 30 minutos de incubação, a amostra tratada foi transferida para um segundo tubo de reacção contendo uma esfera de poliestireno revestida com SAH e um anticorpo específico para SAH marcado com fosfatase alcalina. Durante os 30 minutos de incubação, a SAH convertida da amostra previamente tratada compete com a SAH imobilizada pela ligação ao anticorpo anti-SAH marcado com fosfatase alcalina. O conjugado enzimático não ligado é removido pela lavagem por centrifugação. Adiciona-se substrato e o procedimento de imunoensaio tem seqüência. Os resultados de homocisteína plasmática foram expressos como µmol/L (Ueland *et al.*, 1993).

Glicemia

Foram necessários 10 µL de plasma e foi empregado o kit comercial CELM (Brasil) na qual utilizou-se o método enzimático-colorimétrico contendo 4-

aminofenazona (4-AF), tampão fosfato, fenol, e as enzimas Glicose Oxidase (GOD) e Peroxidase (POD) segundo Trinder (1969). A leitura foi realizada em espectrofotômetro (DU 650 *Beckman*) a 505 nm num período máximo de 60 minutos após a transferência do reativo de trabalho para o tubo de ensaio. As análises foram realizadas em triplicata, sendo considerada a média aritmética das mesmas e os resultados de glicose plasmática foram expressos como mg/dL.

Insulina plasmática

Foram necessários 20 μ L de amostra de plasma e foi utilizado o Kit da ROCHE e o método empregado foi o de eletroquimioluminescência (Clark, 1999). O teste consistiu em etapas, que incluíram a técnica de *SANDWICH* com duração de 18 minutos, conforme descrito abaixo:

1^o incubação - amostra foi incubada com anticorpo monoclonal biotilado específico para insulina, marcado com complexo de rutênio, e a insulina contida na amostra reage com esse anticorpo formando um complexo *sandwich*.

2^o incubação - após a incorporação das micropartículas revestidas de estreptavidina, o complexo formado liga-se a fase sólida pela interação da biotina e da estreptavidina. A mistura de reação é aspirada para a célula de leitura por onde as micropartículas são fixadas magneticamente a superfície do eletrodo. Os elementos não ligados são removidos com Procell. A aplicação de uma corrente elétrica ao eletrodo induz uma emissão quimioluminescente que é medida por um fotomultiplicador. Os resultados de insulina plasmática foram expressos como μ U/mL.

Resistência à Insulina

A resistência à insulina foi estimada segundo método de Mathews *et al.* (1985), o qual se baseia em um modelo matemático [*Homeostasis Model Assessment* (HOMA)^{*}], capaz de estimar a sensibilidade à insulina. Dessa forma, valores de HOMA $\geq 2,71$ caracterizam um quadro de resistência à insulina (Geloneze *et al.*, 2005).

$$\text{HOMA} = \frac{\text{Insulina de jejum } (\mu\text{U/mL}) \times \text{Glicemia de jejum } (\mu\text{mol/L})}{22,5}$$

22,5

Folato e Cobalamina Plasmáticos

A concentração plasmática de folato e cobalamina foi simultaneamente determinada através da técnica de diluição de radioisótopos, empregando o Kit comercial *DUALCOUNT* (*Diagnostic Products*[®], USA), segundo Gutcho & Mansbach (1977). O método baseia-se numa reação de desnaturação que promove liberação de folato e cobalamina de suas respectivas proteínas ligantes, seguida da adição de vitaminas marcadas radioativamente ([¹²⁵I] folato e [⁵⁷Co] cobalamina e suas respectivas proteínas ligantes. Desse modo, ocorre uma competição entre as vitaminas das amostras e as marcadas radioativamente. Portanto, quanto maior a quantidade de ciano [⁵⁷Co] cobalamina e [¹²⁵I] ácido fólico que se ligam às proteínas ligantes adicionadas, menores os níveis de cobalamina e folato nas amostras. As análises foram realizadas em triplicata e a determinação da radioatividade foi realizada no *Automatic Gama Counter Wallac 1470 Wizard*. Os resultados de folato plasmático foram expressos como nmol/L e os de cobalamina plasmática, pmol/L.

4.7.1.3 Soro

Colesterol Total

Foram utilizados 10 μL de amostra de soro empregando o kit comercial da KATAL (Brasil) que é baseado no método de Trinder (1969). Os ésteres de colesterol da amostras são hidrolisados pela colesterol esterase produzindo colesterol livre, que em presença da referida enzima e de oxigênio, produz peróxido de hidrogênio. Esse composto formado sofre ação da peroxidase em presença de fenol e 4-aminoantipirina e produz um composto róseo avermelhado (quinonimina) com máximo de absorção em 500 nm. As análises foram realizadas em triplicata, sendo considerada a média aritmética das mesmas e os resultados de colesterol total foram expressos como mg/dL.

Triglicerídeos

Foram utilizados 10 μL de amostra de soro de acordo com Trinder (1969), empregando o Kit comercial da KATAL (Brasil) na qual os triglicerídeos são hidrolisados pela lipase lipoprotéica produzindo glicerol livre. Em seguida, são fosforilados pela enzima glicerol quinase cujo produto sofre ação da enzima glicerol-P-oxidase, que em presença de oxigênio, produz peróxido de hidrogênio. Este sob a ação da peroxidase em presença de um reagente fenólico (p-clorofenol) e 4-aminoantipirina, produz um composto róseo avermelhado (quinonimina). As análises foram realizadas em triplicatas, sendo considerada a média aritmética das mesmas e os resultados de Triglicerídeos foram expressos como mg/dL.

Lipoproteína de Alta Densidade (HDL-colesterol)

Foram necessários 250 μL de amostras de soro na qual foi utilizado o kit comercial da KATAL (Brasil), sendo analisado de acordo com Bergmeyer (1985),

através de precipitação a partir de ácido fosfotungstico / cloreto de magnésio. Essa mistura precipita os quilomícrons, VLDL, LDL sem alterar a solubilidade das HDL. Após precipitação recolhe-se o líquido sobrenadante que contem a fração HDL cujo conteúdo em colesterol (HDL) é determinado enzimaticamente, utilizando o mesmo kit de colesterol total. As análises foram realizadas em triplicatas, sendo considerada a média aritmética das mesmas e os resultados de HDL-colesterol foram expressos como mg/dL.

Lipoproteína de Baixa Densidade (LDL-colesterol) e Lipoproteína de Densidade Muito Baixa (VLDL-colesterol)

As frações de LDL-colesterol e VLDL-colesterol foram determinadas através da equação de Friedwald (1977) quem é descrita abaixo e leva em consideração somente valores de triglicérides abaixo de 400 mg/dL. os resultados de LDL-colesterol e VLDL-colesterol foram expressos como mg/dL.

$$\text{LDL-colesterol} = \text{Colesterol total} - \text{HDL colesterol} - \text{Triglicerídeos} \div 5$$

$$\text{VLDL-colesterol} = \text{Triglicerídeos} \div 5$$

Ácido Úrico

Foram necessários 20 µL de amostras de soro e foi utilizado o kit comercial da KATAL (Brasil), empregando método enzimático descrito por Trinder (1969), no qual o ácido úrico sofre ação da uricase, na presença de oxigênio, produzindo alantoína e peróxido de hidrogênio. Esse último, em presença de um reagente fenólico (TOOS) e de 4-aminoantipirina, sofre ação das peroxidases produzindo um composto violáceo (quinonimina) com máximo de absorção em 545 nm. As análises foram realizadas em

triplicatas, sendo considerada a média aritmética das mesmas e os resultados de ácido úrico foram expressos como mg/dL.

4.8- Etapas da Determinação do Volume de Café (verde, regular e descafeinado) que foi empregado no Estudo

4.8.1 Espécie de Café e Seleção das Amostras

A espécie de café empregada no estudo foi a *Coffea arabica*, adquirida na forma verde na região Sul de Minas Gerais (*Coffee N4. 2/3 Screen – 16/17- Greenish Good to fine poast, soft*). Quanto ao café descafeinado, foi adquirido através de procedência garantida, comercial. As etapas referentes ao processamento do café para a obtenção das bebidas que foram utilizadas no estudo são mostradas na Figura 5:

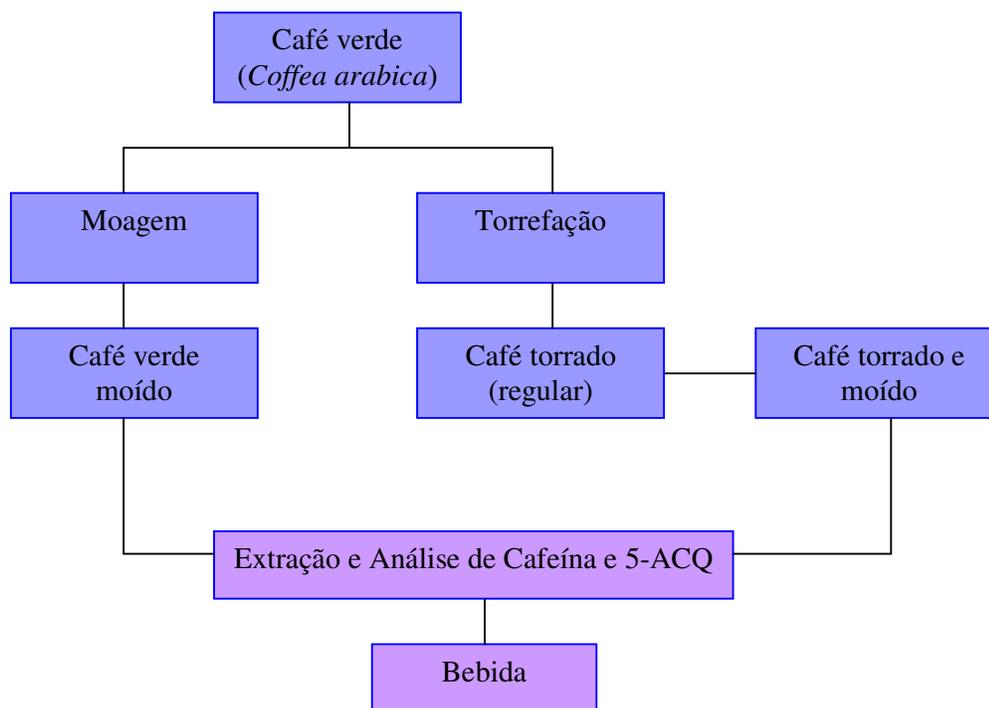


Figura 5 – Processamento do Café Verde à Bebida

4.8.2 Torrefação e Moagem do Café

Inicialmente, as amostras de café verde foram pesadas em balança da marca *Gehara* AG 200 e trituradas em moinho (*Retsch*, Alemanha) com malha de 0,05 mm no Laboratório de Tecnologia de Alimentos, do Instituto de Nutrição Josué de Castro da UFRJ. Separou-se uma parte para as análises no café verde e o restante do café foi torrado em estufa (Icamo modelo 4, Brasil) à $210 \pm 5^\circ \text{C}$ por 15 min, no Laboratório de Química de Alimentos do Instituto Biomédico da UNIRIO.

4.8.3 Extração e Análise do 5-ACQ e Cafeína por CLAE

4.8.3.1 Extração – Processo Exaustivo

Foram dissolvidos 0,2 g de café (verde, torrado e descafeinado) em 30 mL de água bidestilada; a solução foi mantida em banho com agitação à 80°C por 15 minutos. Em seguida, foi filtrada e tratada com 2 mL da solução de Carrez 1 (21,9 % m/v , contendo 3 % de ácido acético glacial v/v) e Carrez 2 (ferrocianeto de potássio 10,6 % m/v) para clarificação dos extratos, de acordo com o método de Pearson (1976). O volume foi completado a 250 mL (água bidestilada), a suspensão foi agitada e filtrada sob gravidade. Separou-se uma alíquota, filtrou-se em membrana *Millipore* (0,45 μm) e armazenou-se à -20°C até as análises.

4.8.3.2 Análises de 5-ACQ e Cafeína

5-ACQ

Após o processo de extração exaustiva nos grãos de café moídos, foram realizadas as análises de 5-ACQ por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) com detecção por ultravioleta (UV), usando um sistema de cromatografia Shimadzu LC-10 AD. A coluna empregada foi de fase reversa (C-18, 250 mmx4mm d.i. *Lichrocart da Merck KgaA*, Alemanha). A fase móvel utilizada era composta de

metanol e solução aquosa de citrato trissódico (0,01 M, pH 2,5) na proporção 40:60 (v/v), com fluxo de 1 mL/min. O volume de injeção foi de 20 µL. Para a desgaseificação das soluções utilizou-se gás hélio, durante 20 minutos. A análise cromatográfica foi baseada em método publicado anteriormente (Trugo & Macrae, 1984). Essas análises foram realizadas no Laboratório de Tecido Conjuntivo - Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF).

Cafeína

Foi determinada por CLAE sob comprimento de onda de 272 nm, utilizando como fase móvel metanol com água 40:60 (v/v), com fluxo de 1mL/min e volume de injeção de 20µL. Essa análise foi realizada no Laboratório de Tecido Conjuntivo-HUCFF.

4.8.3.3 Extração de 5 ACQ usando Cafeteira

As amostras moídas (20 g) dos três tipos de café sofreram extração com 250 mL de água filtrada em uma cafeteira elétrica (M&C LC-100, Brasil), processo que simulava as condições de preparo dos extratos a serem utilizados nos ensaios clínicos, no qual 50 mL de água ficaram retidos no filtro de papel (nº 102). Essa extração durou 5 minutos e a temperatura máxima alcançada foi de 70°C. Após as extrações, os extratos foram clarificados com 2 mL de cada um dos reagentes de Carrez, o volume foi completado para 250 mL e, após homogeneização, a solução foi filtrada segundo os mesmos critérios observados na extração exaustiva. Uma alíquota do último filtrado foi retirada, passada em membrana Millipore (0,45 µm) e mantida à - 20°C para posterior análise.

As análises de 5-ACQ desse processo de extração (cafeteira) também foram realizadas através da CLAE, de forma semelhante à extração exaustiva. Dessa forma,

foi possível determinar o volume final de cada tipo de café a ser oferecido aos participantes da pesquisa, de forma a assegurar uma oferta de 1,0 g de 5-ACQ.

- Café descafeinado: (100g de pó) – volume final: 475 mL
- Café verde: (120g de pó) – volume final 600 mL
- Café torrado: (100g de pó) – volume final 1000 mL

Convém destacar que os experimentos descritos na literatura, envolvendo o consumo de café realizado em humanos, consistiram em uma ingestão diária elevada de café (até 1000 mL), o que não trouxe repercussões negativas e/ou efeitos tóxicos sobre a saúde dos participantes (Roos *et al.*, 1998; Grubben *et al.*, 2000).

4.9 Análise Estatística

4.9.1 - Análise Exploratória / Descritiva

Foi realizada a análise exploratória dos dados que permitiu uma abordagem sobre a distribuição dos dados, indicando a sua estrutura interna e modelo utilizado. Os resultados serão apresentados sob a forma de tabelas, gráficos e estatísticas básicas considerando-se a amplitude (Máx- Min), posição (média) e dispersão (desvio-padrão, erro padrão).

4.9.2 - Análises Confirmatórias

Os Testes Não-Paramétricos não dependem da validade em assumir a normalidade, portanto não dependem do formato da distribuição da população da qual a amostra é retirada. Os cálculos de probabilidade para estabelecer a aceitação ou rejeição da hipótese nula são, na maior parte dos testes Não-Paramétricos, cálculos exatos.

4.9.3 – Tipos de Café X Perfil Bioquímico

Para comparação global de cada variável bioquímica¹ entre os três tipos de café: verde, regular (torrado) e descafeinado, foi empregado o teste χ^2 de Friedman (teste Não-Paramétrico) com o objetivo de se verificar a similaridade nos intervalos de tempo considerados.

1: concentrações séricas de colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol, VLDL-colesterol, Triglicerídeos e ácido úrico e concentrações plasmáticas de glicose, insulina e homocisteína.

Para se verificar a influência singular de cada tipo de café no perfil bioquímico, foi empregado os testes de ordem assinaladas de *Wilcoxon* (testes Não-Paramétricos), com a exceção da glicose, onde foi realizado o teste χ^2 de *Friedman*, para os intervalos considerados.

4.9.4 – Estudo de Associação entre as Variáveis Bioquímicas

A correlação de *Spearman* é uma medida de associação não-paramétrica entre duas variáveis que apresentam variáveis em escala ordinal e / ou escalar, de modo que os objetos ou indivíduos do estudo possam dispor-se por postos em duas ordenadas.

A partir dos resultados obtidos na estatística χ^2 no modelo anterior, utilizou-se a correlação de *Spearman* com o objetivo de se verificar o grau de associação entre as variáveis bioquímicas do estudo que apresentaram significância estatística. Foi empregado também o teste de *Mann-Whitney* para verificar se houve similaridade entre os sexos, nos casos onde foi observada associação entre as variáveis bioquímicas.

4.9.5 Generalidades

Todas as análises foram conduzidas usando o programa estatístico SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*) versão 11.0 e Statistica versão 6.0. Foi considerado resultado estatisticamente significativo àqueles com valores de $p < 0,05$.

5. RESULTADOS

5.1. Estudo Piloto

As Tabelas 2 e 3 apresentam os resultados provenientes do estudo piloto ($n = 4$). Na Tabela 2, os cálculos do percentual de confiabilidade de adequação dietética foram obtidos comparando-se os três registros dietéticos com a EAR de cada nutriente (Marchioni *et al.*, 2004). Em relação ao percentual de adequação de folato e cobalamina dietéticos, foi verificado que os participantes apresentaram uma estimativa de confiabilidade dietética, respectivamente de: (69,23 %; 43,58 %; 72,58 % e 67,16 %) e (40,70 %; 40,65 %; 45,77 % e 39,96 %). Em relação às variáveis bioquímicas (Tabela 3), verificamos que todos os participantes apresentaram deficiência subclínica de folato, caracterizada pela depleção do folato plasmático ($< 13,8 \text{ nmol/L}$), o que reflete um consumo recente de dieta pobre em fontes de folato. Além disso, 50 % dos voluntários apresentaram também depleção tissular, devido os valores reduzidos ($< 360 \text{ nmol/L}$) de folato nos eritrócitos, o que representa um importante indicador do estado nutricional crônico de folato, ou seja, refletindo o *pool* total de folato no organismo. Apesar desses aspectos bioquímicos que foram observados, os participantes não apresentaram anemia, conforme verificado pelos valores de hemoglobina e hematócrito. Segundo Graham (2000), o aumento das concentrações de tHcy pode ocorrer antes da deficiência clássica de folato e cobalamina se tornar evidente.

No estudo piloto, através das análises dos registros dietéticos, verificamos que houve uma grande variabilidade no percentual de confiabilidade dietética apresentado pelos voluntários. Além disso, o perfil bioquímico dos participantes revelou um comprometimento do estado nutricional das vitaminas folato e cobalamina, o que justificou a suplementação com folato (400 µg/dia) durante 4 semanas em todos os participantes da pesquisa. Inclusive, vários estudos têm demonstrado que a suplementação diária com folato (400 µg/dia) durante 4 semanas representa a quantidade requerida para a redução adequada das concentrações de tHcy (Boushey *et al.*, 1995; Chait *et al.*, 1999; Selhub, 1999; Oort *et al.*, 2003).

Tabela 2: Indicadores Dietéticos de Folato e Cobalamina – Estudo Piloto (n=4).

Resultados expressos como: média (\bar{x}) e desvio padrão (Dp \pm).

Variáveis dietéticas	EAR ^a	Voluntários	Confiabilidade de	\bar{x}	Dp (±)
			Adequação (%)		
Folato dietético (µg/dia)	320,0	1	69,23	292,12	141,12
		2	43,58	448,04	221,59
		3	72,58	303,01	85,96
		4	67,16	289,87	172,28
Cobalamina dietética (µg/dia)	2,0	1	40,70	5,04	5,40
		2	40,65	4,56	3,30
		3	45,77	2,88	0,81
		4	39,96	5,78	7,35

a. EAR (*Estimated Average Requirement*) - necessidade média estimada (Slater *et al.*, 2004)
Inquérito alimentar empregado: registros dietéticos

Tabela 3: Indicadores Bioquímicos de Folato e Cobalamina – Estudo piloto (n=4).

Resultados expressos como: média (\bar{x}) e desvio padrão (Dp ±).

Variáveis	VR ^a	Frequência dos níveis marginais (%)	\bar{x}	Dp (±)
Bioquímicas				
Folato plasmático (nmol/L)	< 13,5 ^b	100	2,62	1,85
Folato nos eritrócitos (nmol/L)	< 360 ^b	50	350,11	210,45
Cobalamina plasmática (pmol/L)	< 110 ^c	0	195	20,15
Hemoglobina (g/dL)	< 12 ^d	0	18,37	3,20
Hematócrito (%)	< 38 ^d	0	40,83	2,63

^a VR= Valor de referência para estado marginal ^b Selhub & Rosenberg, 1996
^c Herbert, 1996 ^d Bothwell & Charlton, 1984.

5.2- Caracterização dos Participantes do Estudo

O grupo do estudo foi constituído por 20 indivíduos, sendo 65 % (n= 13) do sexo feminino e 35 % (n= 7) do sexo masculino, com faixa etária situando-se entre 19 e 33 anos. A Tabela 4 apresenta as demais características gerais dos participantes do estudo.

Tabela 4: Características Gerais da População Estudada

Características (Total n=20)	Masculino (n= 7)				Feminino (n=13)			
	Branços (n= 5)		Não Brancos (n= 2)		Branços (n= 7)		Não Brancos (n= 6)	
	\bar{x}	Dp \pm	Min	Max	\bar{x}	Dp \pm	Min	Máx
Idade (anos)	26.43	3.95	21	32	24.69	3.54	19	33
IMC (kg/m ²)	24.57	2.88	21.01	28.8	22.12	2.79	18.01	28.1
Renda familiar (R\$)	2628.57	2205.08	800.00	6000.00	4249.23	2565.59	700.00	10.500

A Tabela 5 demonstra a análise geral do consumo alimentar habitual do grupo estudado. É importante mencionar que em nosso estudo, o consumo médio diário de cafeína foi inferior à média per capita diária normalmente apresentada de produtos que contêm cafeína, nos Estados Unidos e Canadá (200 mg), podendo exceder a 400 mg em alguns países, como a Holanda e países escandinavos (Biaggioni & Davis, 2002). Além disso, deve se acrescentar que o consumo médio diário dos participantes do estudo foi de 1 xícara (de chá) de café regular. Segundo o *Institute of Medicine* (2000), as recomendações dietéticas previstas para as vitaminas folato e cobalamina são, respectivamente, 400 $\mu\text{g}/\text{dia}$ e 2,4 $\mu\text{g}/\text{dia}$. Em nosso estudo, embora os valores médios de folato e cobalamina estivessem dentro das recomendações dietéticas previstas, verificamos que o percentual de adequação dietética dessas variáveis apresentadas pelos participantes do estudo, segundo a metodologia proposta por Slater *et al.* (2004), foi de apenas 49,77 % de folato dietético e de 64,16 % de cobalamina dietética (Tabela 6).

Tabela 5: Consumo Alimentar Habitual do grupo Estudado

Variáveis dietéticas	Valores			
	\bar{x}	Dp \pm	Min	Max
Energia (Kcal)	2189,29	742,49	1144,16	3804,29
Proteínas (g)	101,93	41,30	55,70	175,56
Carboidratos (g)	291,80	118,39	155,60	582,90
Lipídios (g)	72,71	19,35	34,41	112,17
Cafeína (mg)	180,29	240,47	9,00	751,40
Folato (μ g)	399,44	97,93	287,46	812,11
Vitamina B12 (μ g)	6,38	12,07	1,52	88,37

Tabela 6: Estimativa de Adequação dos Indicadores Dietéticos do estudo - folato e cobalamina

	Adequação dos indicadores dietéticos (n=20)						
	EAR ^a	Adequação		\bar{x}	Dp \pm	Min	Max
		(%)	(%)				
Folato							
(μ g/dia)	320,0	49,77	50,23	399,44	97,93	287,46	812,11
Cobalamina							
(μ g/dia)	2,0	64,16	35,84	6,38	12,07	1,52	88,37

a. EAR= (*Estimated Average Requirement*) – necessidade média estimada (Slater *et al.*, 2004).
Inquérito alimentar empregado: registros dietéticos

5.3. Caracterização das bebidas de café oferecida aos participantes do Estudo

Em relação à caracterização das bebidas de café que foram oferecidas aos voluntários, verificamos que os teores médios percentuais de 5-ACQ que foram obtidos nas análises do processo de extração exaustiva do café verde e torrado foram, respectivamente: 5,69 % e 1,53 %. Em relação à cafeína os valores (%) no café verde e regular foram, respectivamente: 1,19 % e 1,13 %. Isto demonstra que a cafeína apresenta um comportamento mais estável ao processo de torrefação quando comparada ao 5-ACQ. Vale ressaltar que em nosso estudo, a partir das condições de tempo e temperatura estabelecidos, o 5-ACQ apresentou uma perda de 73 % durante o processo de torrefação. Na extração da bebida pronta (cafeteira), os valores (%) de 5-ACQ provenientes das análises de café verde, regular e descafeinado foram, respectivamente: 0,88 %, 0,94 % e 1,05 %. Dessa forma, verificamos que o teor de 5-ACQ apresentado foi de 1,67 mg /mL (600 mL – café verde), 1,0 mg/mL (1000 ml- café regular) e 2,10 mg/ mL (475 mL – café descafeinado), permitindo a oferta de 1000 mg de 5-ACQ aos participantes do estudo.

5.4. Análise Descritiva das variáveis bioquímicas durante o Ensaio Clínico

O perfil bioquímico do grupo estudado nos três ensaios no estado de jejum é apresentado no Anexo 9.8. Em relação ao perfil lipídico, os valores médios de colesterol total foram semelhantes no período observado, apresentando uma diferença maior apenas no período do experimento do café descafeinado, que demonstrou um coeficiente de variação (CV) de 39,26 % em relação à média (ordenação por postos). No tocante aos valores médios de triglicérides, as maiores diferenças observadas, foram referentes ao período do experimento do café verde, demonstrando um CV de 100,89 % em relação à média. Em conformidade com os valores de triglicérides apresentados, o VLDL-colesterol, exibiu o mesmo CV que foi observado no período de experimento

com café verde. No caso, do HDL-colesterol e LDL-colesterol as maiores diferenças observadas foram, respectivamente: no experimento do café verde (CV = 37,35 %) e do café descafeinado (CV = 56,94 %). Em relação ao ácido úrico, insulina e glicose, as maiores diferenças observadas foram em relação ao café descafeinado, apresentando um CV respectivamente de: 38 %, 119,07 % e 24,70 %. A homocisteína apresentou as maiores diferenças no período de experimento com o café verde, com CV de 32,07 %.

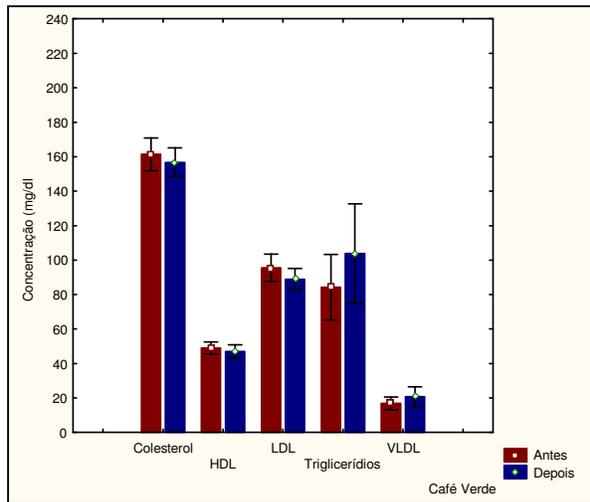
Em nosso estudo, verificamos que houve uma variabilidade nos valores apresentados no perfil bioquímico medidos na situação de jejum. Apesar disso, ao realizarmos o teste de *Mann-Whitney* verificamos que não houve diferença significativa entre as médias (ordenação por postos) dos valores apresentados nas três semanas que antecederam os testes (jejum), com a exceção do ácido úrico. Nesse caso, os valores médios de ácido úrico no café verde foram maiores e diferiram significativamente em relação ao café regular ($p=0,05$). Possivelmente, as diferenças observadas no jejum em alguns parâmetros bioquímicos podem ser atribuídas à dificuldade na adesão completa dos participantes a um protocolo muito extenso da pesquisa (três semanas consecutivas de ensaios), como: respeitar o jejum de 12 h na véspera dos ensaios, algumas restrições dietéticas e também ao próprio metabolismo individual. Apesar dessas limitações, verificamos que a média dos valores apresentados no perfil lipídico pelos participantes do estudo estavam dentro dos valores de normalidade propostos (Níveis desejáveis - Colesterol total < 200 mg/dL; Níveis desejáveis- LDL-colesterol entre 100 e 129 mg/dL; Níveis desejados - HDL-colesterol > 40 mg/dL e Níveis ótimos- triglicérides < 150 mg/dL), segundo à III Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose Sociedade Brasileira de Cardiologia (2001). Os valores médios de glicemia também se inseriram dentro dos limites de normalidade (<110 g/dL) de acordo com os critérios estabelecidos pela Sociedade Brasileira de Diabetes (2002).

Não verificamos presença de resistência à insulina conforme os valores apresentados pela concentração de insulina e pelos cálculos obtidos pelo índice de HOMA (1,48). Também, não foi observada presença de hiperuricemia ($> 7,0$ mg/dL) (Johnson *et al.*, 2003). Quanto aos valores médios de homocisteína, os participantes também apresentaram níveis dentro de normalidade (< 10 μ mol/L) (Omenn *et al.*, 1998).

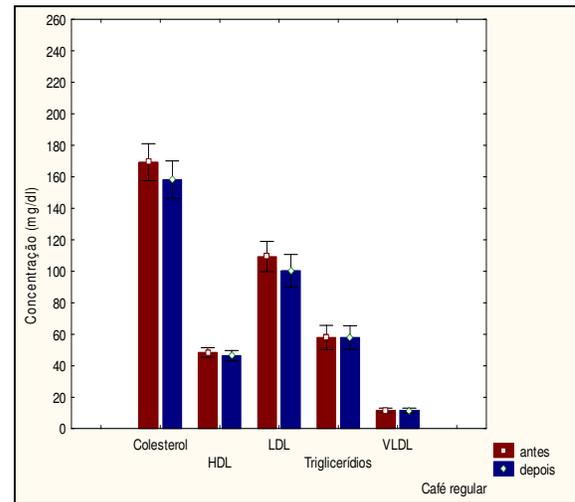
O perfil bioquímico referente aos ensaios, que foram realizados, constam dos Anexos 9.8 e 9.9. Em relação ao perfil lipídico, os valores médios apresentados de colesterol total, HDL-colesterol e LDL-colesterol foram menores nos três tipos de café, quando comparados aos valores apresentados no jejum. Já os valores médios de triglicerídios e VLDL-colesterol após o consumo de café regular e descafeinado não sofreram alterações. Foi utilizado o teste de *Mann-Whitney* para verificar se houve diferença significativa entre esses valores observados. Verificamos que as maiores diferenças foram relacionadas ao LDL-colesterol, apresentando maiores valores após o consumo de café descafeinado em relação ao café verde ($p = 0,01$). O comportamento do perfil lipídico (antes e após os ensaios clínicos) pode ser melhor visualizado nas figuras 6 (6a, 6b e 6c). Também observamos menores valores médios de homocisteína após os três ensaios. Em adição, foram observados menores valores de ácido úrico após o ensaio com o café verde, conforme demonstrado também na figura 7 (7a, 7b e 7c).

A Figura 8 ilustra bem o comportamento da glicose e insulina nos intervalos considerados. Em relação a insulinemia foram observados maiores valores médios após a ingestão dos três tipos de café. Porém, no café verde, foram observados os valores mais expressivos. Após o teste de *Mann-Whitney* verificamos que os maiores valores de insulina apresentados foram após o consumo do café verde comparado ao descafeinado ($p = 0,03$). Quanto à glicemia (figura 8a), foram observados os maiores valores médios no primeiro intervalo após o jejum (30 minutos após o término do lanche padrão) tanto

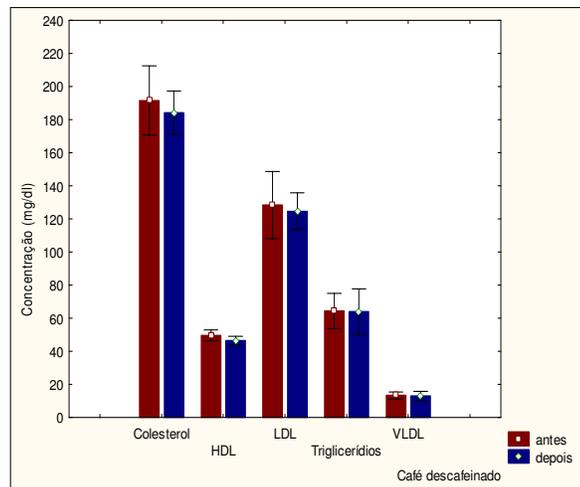
no café verde quanto no regular. No entanto, no ensaio com o café verde, os valores médios de glicemia permaneceram praticamente inalterados, considerando o segundo intervalo após o jejum (30 à 60 minutos após o término do lanche padrão). No café regular observou-se uma diminuição nos valores médios.



(a)

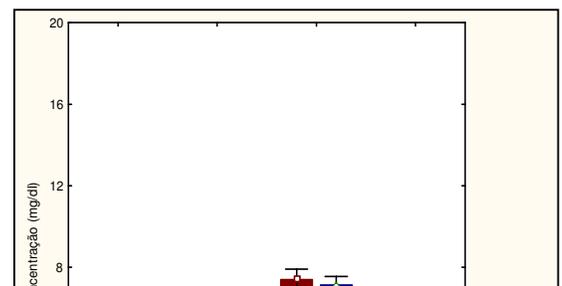
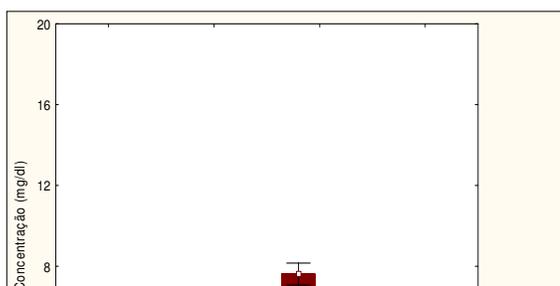


(b)



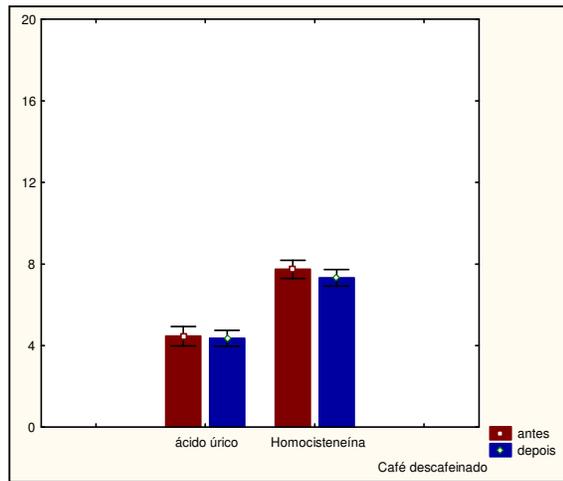
(c)

Figura 6: Comparação do Perfil Lipídico antes e após o consumo de café verde (a), regular (b) e descafeinado (c). Resultados expressos como (\bar{x}) média e (\pm) erro padrão.



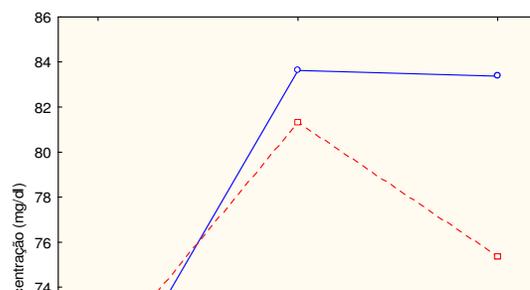
(a)

(b)



(c)

Figura 7: Comparação dos Valores de Ácido Úrico e Homocisteína antes e após o consumo de café verde (a), regular (b) e descafeinado (c). Resultados expressos como média (\bar{x}) e (\pm) erro padrão.



(a)

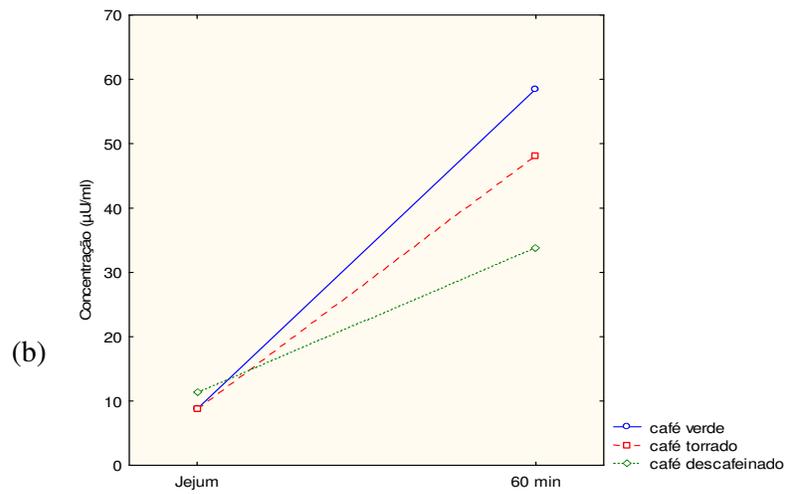


Figura 8: Representação Gráfica dos Valores de (a) Glicemia e de (b) Insulinemia obtidos nos três ensaios, nos intervalos considerados. Resultados expressos como média (\bar{x}).

5.5. Análise Confirmatória das variáveis bioquímicas durante o Ensaio Clínico

Segundo o teste não paramétrico de *Friedman* (χ^2), houve diferença significativa entre as médias dos valores apresentados de ácido úrico (p=0,03), glicose (p=0,05) e insulina (p=0,004) entre os ensaios clínicos, conforme demonstrado na Tabela 8. As demais variáveis bioquímicas não apresentaram diferença significativa entre as médias.

Tabela 7: Teste χ^2 de *Friedman* entre as Variáveis Bioquímicas

Variável	GL	χ^2	p-valor
Colesterol total	5	9,41	NS
HDL	5	4,03	NS
LDL	5	7,68	NS
TG	5	3,69	NS
VLDL	5	3,77	NS
Ácido úrico	5	12,21	0,03*
Insulina	5	47,53	4,42X10 ⁻⁹ *
Homocisteína	5	7,93	NS
Glicose	8	15,28	0,05*

Teste de *Friedman* * Nível de significância $p \leq 0,05$ GL graus de liberdade NS: valores não significativos

Segundo o teste de *Wilcoxon* (Tabela 8) verificou-se que os valores médios de ácido úrico diminuíram significativamente após o experimento com café verde (p=0,03). Observou-se também que houve um aumento significativo dos valores médios de insulina após a ingestão do café verde (0,001), regular (0,00008) e descafeinado (0,0002).

Tabela 8: Teste de *Wilcoxon* (Z) ente as Variáveis Bioquímicas

café	Variável	Z	p-valor
verde	Colesterol total	-0,82131875	NS
	HDL-colesterol	-1,1199801	NS
	LDL-colesterol	-0,93331677	NS
	TG	-1,4559741	NS
	VLDL-colesterol	-1,4559741	NS
	Ácido úrico	-2,12833309	0,03
	Insulina	-3,17979741	0,001
	Homocisteína	-1,26931071	NS
regular	Colesterol total	-1,15584099	NS
	HDL-colesterol	-1,68930602	NS
	LDL-colesterol	-0,71128678	NS
	TG	-0,26673254	NS
	VLDL-colesterol	-0,26673254	NS
	Ácido úrico	-0,66391373	NS
	Insulina	-3,92027187	0,00009
	Homocisteína	-0,442664	NS
descafeinado	Colesterol total	-0,10482848	NS
	HDL-colesterol	-1,01334202	NS
	LDL-colesterol	-0,17471413	NS
	TG	-0,45425677	NS
	VLDL-colesterol	-0,59402806	NS
	Ácido úrico	-0,7337994	NS
	Insulina	-3,6959343	0,0002
	Homocisteína	-1,67997015	NS

Teste de *Wilcoxon* * nível de significância $p \leq 0,05$ NS: valores não significativos
Z normal padrão

Em relação à glicose, verificamos que no ensaio com o café verde, houve um aumento significativo ($p = 0,03$) das médias apresentadas durante todo o intervalo considerado (Tabela 9).

Tabela 9: Teste χ^2 de *Friedman* entre os Valores de Glicemia

Variável	GL	χ^2	p-valor
Glicose verde	2	6,86	0,03 *
Glicose regular	2	3,1	NS
Glicose descafeinado	2	0,1	NS

Teste de *Friedman* * Nível de significância $P \leq 0,05$ NS: valores não significativos

Segundo o teste de *Mann Whitney*, não foi observada diferença entre os sexos nas variáveis bioquímicas que apresentaram significância estatística no modelo de *Wilcoxon*, com a exceção do ácido úrico masculino ($5,91 \pm 0,99$) e feminino ($4,57 \pm 0,94$) antes do experimento com o café verde (jejum).

Após a realização da correlação de *Spearman*, não foi verificada associação entre as variáveis bioquímicas do estudo.

6. DISCUSSÃO

Esse é o primeiro estudo brasileiro que avaliou a concentração plasmática de homocisteína e demais parâmetros bioquímicos após o consumo de café verde, regular e descafeinado. Em nosso estudo, o volume de café (descafeinado: 475 mL; café verde: 600 mL e regular: 1000 mL) oferecido aos participantes foi semelhante àqueles de outras pesquisas clínicas, a exemplo de Grubben *et al.*, 2000 e Chirstensen *et al.*, 2001 que ofereceram volumes de até 1000 mL de café. Nossos resultados demonstraram um considerável percentual de inadequação dietética representados por (50,2 % e 35,84 %) de folato e cobalamina, respectivamente. Os indicadores bioquímicos mostraram o mesmo. Dados na literatura mencionam que a depleção de folato pode afetar um grande número de processos celulares essenciais, uma vez que atuam como co-fatores em várias reações bioquímicas diferentes (Scott and Weir, 1998), como na síntese de purinas, aminoácidos e metilação do DNA, podendo inclusive comprometer os níveis plasmáticos de homocisteína (Mattson *et al.*, 2002). Por sua vez, a homocisteína tem sido referida como um marcador sensível do estado de folato e cobalamina (Fakhrzadeh *et al.*, 2006). A hiperhomocisteinemia tem sido relacionada com um risco aumentado para aterosclerose e infartação miocárdica, além de induzir mudanças no DNA que podem resultar em efeitos pro-carcinogênicos. Apesar disso, não observamos diferença significativa dos valores médios de tHcy como pôde ser visto na Tabela 10. De forma semelhante aos nossos resultados, outro estudo (clínico) realizado à curto prazo também não verificou aumento nas concentrações de tHcy após o consumo de café (Natella *et al.*, 2002). Entretanto, em outros ensaios clínicos descritos na literatura, o consumo de 450-1000 mL de café regular filtrado aumentou a tHcy em 19% no período de 4h e 11-22 % após 2 a 4 semanas (Urgert *et al.*, 2000; Verhoef *et al.*, 2002). Um estudo epidemiológico também verificou a associação do consumo de café com o aumento nas

concentrações de tHcy em ambos os tipos de café (filtrado e não filtrado), porém não observou efeito no café descafeinado (Nygard *et al.* 1997).

Dados da literatura científica têm apresentado resultados conflitantes em relação ao consumo de café com o aumento dos níveis de colesterol (Lancaster *et al.*, 1994; Kark *et al.*, 1995; Gynelberg *et al.*, 1995). É provável que a heterogeneidade observada em alguns resultados, se deva à inexistência de padronização dos protocolos adotados, como tipo de café consumido (regular ou descafeinado), quantidade de café (massa empregada no preparo), método de preparo (fervido ou filtrado), até mesmo quanto ao período de intervenção e efeitos observados (agudo ou crônico). Tem sido observado que o aumento no perfil lipídico é mais pronunciado em indivíduos com hiperlipidemia, com hábito de consumo de café regular filtrado (média de 6 xícaras por dia) ou fervido (Jee *et al.*, 2001). Em nosso estudo, o consumo agudo de diferentes tipos de café não afetou o perfil lipídico de forma estatisticamente significativa. Os participantes do estudo tinham um hábito de consumo diário de 200 mL de café regular e foram privados de fontes de cafeína e compostos fenólicos, apenas na véspera do estudo. No estudo de Christensen *et al.* (2001) foi observado que a privação de café regular, por um intervalo de 6 semanas consecutivas, em indivíduos com hábito de consumo diário de 4 xícaras, esteve associado a uma diminuição do colesterol total (0,28 mmol/L – 95 % CI: 0,13-0,42). Um outro estudo verificou que o consumo crônico de café regular (450 ml/dia) durante uma semana, esteve associado com uma diminuição significativa, não apenas de colesterol total, mas de LDL-colesterol e triglicerídeos, após um período de privação de uma semana (Yukawa *et al.*, 2004). No entanto, esses autores não observaram efeito no HDL-colesterol.

Em nosso estudo, era plausível que houvesse um aumento significativo da insulinemia, após os três ensaios (verde p= 0,001, regular p= 0,00008 e descafeinado p=

0,0002). Contudo, não atribuímos o efeito observado na insulinemia às bebidas de café, de forma isolada. Reconhecemos que o maior estímulo à liberação de insulina após os três ensaios tenha ocorrido em resposta ao lanche que foi consumido juntamente com o café. As ações da insulina na estimulação da captação de glicose tanto nos tecidos (adiposos e musculares) como na manutenção da homeostase da glicemia já são bastante reconhecidas (Akiba *et al.*, 2004). No entanto, observamos que o comportamento glicêmico apresentado durante os ensaios, não foi semelhante em todos os intervalos considerados. Em nosso estudo, os efeitos na glicemia 30 min após o consumo do café verde, pareceram mais pronunciados ($p= 0,03$) comparados ao café regular ($p= 0,07$). Talvez essa diferença possa ser explicada pelo conteúdo maior de açúcares do café verde (Tabela 1). No entanto, a partir do segundo intervalo, no café verde, observamos certa tendência à prolongação dos efeitos na glicemia, representado pela manutenção dos seus níveis, enquanto no café regular, um declínio dos níveis glicêmicos. Pizziol *et al.* (1998) avaliaram se as concentrações de glicose poderiam ser modificadas pela ingestão aguda de cafeína. Todos os participantes do estudo receberam 50 mL de café descafeinado (expresso) e a mesma quantidade de café descafeinado acrescido de 200 mg de cafeína (o equivalente a 4 xícaras de café), no intervalo de 2 semanas. Os autores observaram que após 2 horas, houve um aumento nas concentrações de glicose no experimento com café descafeinado acrescido de cafeína comparado à outra bebida do estudo. Em nosso estudo, a cafeína no café verde não se encontra livre no citoplasma, mas forma complexos com polissacarídeos, proteínas (15-18 % carboidratos, 11-15 % compostos nitrogenados) (Viani, 1986) e com o clorogenato de potássio, o que a torna pouco solúvel e com pouca mobilidade entre os tecidos (Illy & Viani, 1996). Possivelmente a sua liberação poderia ocorrer de forma mais gradual, o que justificaria a observação do prolongamento dos efeitos glicêmicos verificados, a partir de um

determinado intervalo de tempo. No café regular, a intensa pirólise que ocorre durante o processo de torrefação, possibilitaria a liberação da cafeína dos complexos existentes, o que poderia justificar um efeito mais rápido da cafeína nos níveis glicêmicos.

A literatura científica tem descrito a associação positiva da cafeína (administrada de forma aguda) com a diminuição da tolerância à glicose em humanos (Graham *et al.*, 2001) e também na redução da disponibilidade de glicose corporal (15-30 %) (Greer *et al.*, 2001; Keijzers *et al.*, 2002; Thong *et al.*, 2002). Tem sido sugerido que a cafeína possa atuar como antagonista dos receptores de adenosina (A_1 , A_{2a} , A_{2b} e A_3), principalmente nos receptores A_{2a} (Varani *et al.*, 2000). Sabe-se que os receptores de adenosina estão presentes no tecido adiposo, músculo esquelético e fígado, de forma que, nos tecidos sensíveis à ação da insulina, a adenosina facilitaria a captação de glicose (Vergauwen *et al.*, 1994). Outros estudos observaram que a cafeína diminuiria a sensibilidade à insulina, possivelmente como um resultado do aumento plasmático de epinefrina, já que esta exerce efeito oposto ao promovido pela insulina, inibindo a captação periférica de glicose pelos tecidos (Thong & Graham *et al.*, 2002; Keijzers *et al.*, 2002).

Segundo Johnston *et al.* (2003), a cafeína poderia inibir a atividade das fosfodiesterases, enzimas que atuam no catabolismo do Monofosfato Cíclico de Adenosina (AMPC). Dessa forma, concentrações aumentadas de AMPC têm demonstrado elevar a glicogenólise, razão que pode ser parcialmente responsável pela tolerância prejudicada à glicose observada após o consumo de café regular. Um estudo *in vivo*, verificou que a cafeína foi responsável pela inibição da fosforilação e ativação da proteína quinase B, uma das enzimas associadas à translocação do GLUT 4 (transportadores de glicose 4), etapa fundamental da atuação da insulina na captação da glicose no músculo e adipócitos (Akiba *et al.*, 2004).

Cabe destacar que os estudos mencionados foram realizados a partir de cafeína pura (5mg/kg/pc) – o equivalente a 3 a 4 xícaras de café regular) ao invés da bebida de café. Isso implica não considerar a influência dos efeitos agudos ou crônicos de outros compostos biologicamente ativos (5-ACQ, por exemplo), presentes no café em quantidades superiores às aquelas representadas pela cafeína (Robinson *et al.*, 2004).

Em relação à uricemia, há relato na literatura de apenas um estudo, o qual verificou que o consumo de café instantâneo esteve inversamente associado com os níveis de ácido úrico, independente da idade, IMC, pressão sanguínea, colesterol total, HDL-colesterol, fumo, álcool e proteína dietética (Kiyohara *et al.*, 1999). Segundo os autores, a cafeína devido à sua ação diurética, aumentaria a taxa de fluxo sanguíneo renal, o que promoveria maior excreção de ácido úrico e, conseqüentemente, diminuiria as suas concentrações. No entanto, nenhum efeito foi observado na uricemia, em relação ao chá verde (outra fonte importante de cafeína). Segundo Lin *et al.* (2000), a partir de um estudo *in vitro* verificaram que os compostos fenólicos do chá (teoflavina, teoflavina-3-galato, teoflavina-3,3 digalato, epigalocatequina 3- galato, ácido gálico e galato de propila) têm demonstrado ação inibitória sobre uma importante enzima relacionada ao metabolismo do ácido úrico, a xantina oxidase (XO), que é responsável pela conversão do substrato hipoxantina em ácido úrico. Conseqüentemente, menores concentrações de ácido úrico são produzidas. Quando presente em grandes concentrações, o ácido úrico tem sido associado com aumento na produção de espécies reativas de oxigênio. Sendo assim, os compostos fenólicos ao reduzirem a atividade da XO, contribuem para a redução do estresse oxidativo.

Em nosso estudo, observamos que a uricemia esteve associada negativamente com o consumo de café verde ($p=0,03$), não tendo sido observada diferença entre os sexos após o consumo do café. Sugerimos que o 5-ACQ, principal polifenol do café,

possa estar relacionado com as menores concentrações de ácido úrico observadas, inibindo a ação da enzima xantina oxidase, de forma análoga aos outros polifenóis. Considerando que o café verde possui uma matriz extremamente complexa, acreditamos que a sua liberação aconteça de forma mais gradual, prolongando os efeitos observados.

Quanto à possível associação da homocisteinemia com marcadores bioquímicos, não verificamos em nosso estudo, associação com os parâmetros considerados (glicemia, insulinemia, uricemia e perfil lipídico). Alguns estudos descritos na literatura, no entanto, confirmaram essa associação com a glicemia (Meigs *et al.* 2001), trigliceridemia (Nygard *et al.*, 1995; Tavares *et al.*, 2002), concentrações de HDL-colesterol (Nygard *et al.*, 1995; Giltay *et al.*, 1998; Meigs *et al.*, 2001) e com as concentrações de colesterol total (Nygard *et al.*, 1995). Apesar disso, nossos resultados corroboram com àqueles realizados por Saw *et al.* (2001), Godsland *et al.* (2001); Guven *et al.* (2005) que também não acharam associação entre a homocisteinemia e os outros parâmetros bioquímicos analisados.

7. CONCLUSÕES

- No estudo verificamos que a ingestão aguda do café verde, regular e descafeinado (filtrados) não alterou de forma significativa o perfil lipídico e as concentrações de homocisteína plasmática dos participantes.
- Não observamos, nos diferentes tipos de café, associação entre os parâmetros bioquímicos do estudo (glicemia, insulinemia, uricemia, colesterolemia, trigliceridemia, concentrações de VLDL-colesterol, LDL-colesterol e HDL-colesterol e homocisteinemia).
- No ensaio com café verde observamos um aumento significativo da glicemia ($p = 0,03$) nos 30 min após o consumo do café. No intervalo de 30 a 60 min após a ingestão

do café, observamos a manutenção dos níveis glicêmicos, denotando uma prolongação dos efeitos na glicemia. Como plausibilidade para justificar os aumentos mais pronunciados no café verde nos primeiros 30 min, sugerimos a maior quantidade de açúcar presente nessa matriz. Reconhecemos que para uma melhor observação desses efeitos, seria necessária a análise dos parâmetros bioquímicos num maior intervalo de tempo.

- Ainda em relação ao café verde, verificamos uma diminuição significativa ($p= 0,03$) da uricemia 3h após a ingestão deste. Considerando que os teores de 5-ACQ e de cafeína foram o mesmo nos cafés verde e regular, sugerimos que essas diferenças observadas tanto na glicemia quanto na uricemia sejam decorrentes da complexidade da composição química no café verde. - Como não há relato na literatura científica a respeito dos efeitos agudos ou crônicos do café verde na glicemia, uricemia e demais parâmetros bioquímicos, sugerimos que mais estudos sejam realizados nessa área.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKIBA, T.; YAGUCHI, K.; TSUTSUMI, K.; NISHIOKA, T.; KOYAMA, I.;
NOMURA, M.; YOKOGAWA, K.; MORITANI, S.; MIYAMOTO, K. Inhibitory

mechanism of caffeine on insulin-stimulated glucose uptake in adipose cells. *Biochem Pharmacol*, 68: 1929-1937, 2004.

ARTS, I.C.; HOLLMAN, P.C. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *Am J Clin Nutr*, v. 81, p. 317S-325S, 2005.

AUBARD, Y., DAROTES, N.; CANTALOUBE, M. Hyperhomocysteinemia and pregnancy – review of our present understanding and therapeutic implications. *Eur J Obst Gyn Repr Biol*, v. 93, p. 157, 2000.

AZUMA, K.; IPPOUSHI, K.; NAKAYAMA, M.; ITO, H.; HIGASHIO, H.; TERAOKA, J. Absorption of chlorogenic acid and caffeic acid in rats after oral administration. *J Agric Food Chem*, v. 48, n. 11, p. 5496-5500, 2000.

BAK, A. A. A.; GROBBEE, D. E. The effect on serum cholesterol levels of coffee brewed by filtering or boiling. *New Engl J Med*, v. 321, p. 1432-1437, 1989.

BERGMEYER, H. U. Methods of Enzymatic Analysis. Academic Press 2 Ed., p. 148, 1985.

BIAGGIONI, I.; PAUL, S.; PUCKETT, A.; ARZUBIAGA, C. Caffeine and theophylline as adenosine receptor antagonists in human. *J Pharmacol Exp Ther*, v. 258, p. 588-593, 1991.

BIAGGIONI, I.; DAVIS, S. N. Caffeine: A cause of Insulin Resistance? *Diab Care*, v. 25, n. 2, p. 399-400, 2002.

BIOCLIN. Kit para a determinação da hemoglobina para diagnóstico *in vitro*. Quibasa Química Básica: Belo Horizonte, 2002.

BLOCK, G.; PATTERSON, B.; SUBAR, A. Fruit, vegetables and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence. *Nutr Cancer*, v. 18, p.1-30, 1992.

BOEKSCHOTEN, M. V.; HOFMAN, M. K.; BUYTENHEK R.; SCHOUTEN, E. G.; PRINCEN H. M.; KATAN M. B. Coffee oil consumption increases plasma levels of 7- α -hydroxy-4-cholesten-3-one in humans. *J Nutr*, v. 135, n. 4, p. 785-789, 2005.

BORELLI, R. C.; VISCONTI, A.; MENELLA, C.; ANESE, M.; FOGLIANO, V. Chemical characterization and antioxidant properties of coffee melanoidins. *J Agric Food Chem*, v. 50, p. 6527-6533, 2002.

BOTHWELL, T. H.; CHARLTON, R. W. Iron deficiency in women. New York, USA: The Nutrition Foundation. 1984.

BOUSHEY, C.; BERESFORD, S. A. A.; OMENN, G.; MOTULSKY, A. A Quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid and intakes. *JAMA*, v. 274, n. 13, p. 1049-1057, 1995.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary, sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev*, v. 56, n. 11, p. 317-333, 1998.

BURNIER, M.; BRUNNER, H. R. Is hyperuricemia a predictor of cardiovascular risk? *Curr Opin Nephrol Hypertens*, v. 8, p. 167-172, 1999.

CAMARGO, M. C. R.; TOLEDO, M. C. F. Teor de Cafeína em Cafés Brasileiros. *Cienc.Tecnol. Aliment*, v. 18, n. 4, p. 1-10, 1998

CELM. Kit para a determinação de glicose em soro, plasma e outros líquidos corporais. Cia Equipadora Laboratórios Modernos: São Paulo, 2004.

CHAIT, A.; MALINOW, M. R.; NEVIN, D. N.; MORRIS, C. D.; EASTGARD, R. L.; KRIS-ETHERTON, P. et al. Increased dietary micronutrients decreased serum homocysteine concentrations in patients at high risk of cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*, v. 70, p. 881, 1999.

CHARLES-BERNARD, M.; KRAEHEBUEHL.; RYTZ, A.; ROBERTS, D. D. Interactions between volatile and Nonvolatile Coffee Components. Screening of Nonvolatile Components. *J Agric Food Chem*, v. 53, p. 4417-4425, 2005.

CHRISTENSEN, B.; MOSDOL, A.; RETTERSTOL, L.; LANDAAS, S.; THIELLE, D. S. Abstention from filtered coffee reduces the concentrations of plasma homocysteine and serum cholesterol: a randomized controlled trial. *Am J. Clin Nutr*, v. 74, n. 3, p. 302-307, 2001.

CLARK P. M Assay for insulin, proinsulin (s) and C-Peptide, *Ann Clin Biochem*, v. 36, n. 5, p. 5410564, 1999.

CLIFFORD, M. N. Chlorogenic acids and other cinnamates nature, occurrence and dietary burden. *J food Agric*, v. 79, p. 363-372, 1999.

CLIFFORD, M. N. Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. *J Sci Food Agric*, v. 80, p. 1033-1043, 2000.

COLE T. J. Sampling, study size, and power. In: Margetts B, Nelson M. Desing concepts in nutritional epidemiology. 2nd ed. London: Oxford University Press; 2000.

CORTI, R.; BINGGELI, C.; SUDANO, I.; HANSELER, E.; RUSCHITZKA, F.; CHAPLIN, W. F.; LUSCHER, T. F.; NOLL, GEORG. Coffee Acutely Increases Sympathetic Nerve Activity and Blood Pressure Independently of Caffeine Content. *Circulation*, v. 106, p. 2935-2936, 2002.

CULLETON B. F.; LARSON, M. G.; KANNEL, W. B.; LEVY, D. Serum uric acid and risk for cardiovascular disease and death: The Framingham Heart Study. *Ann Intern Med*, v. 131, p. 7-13, 1999.

CUMMINGS, S. R.; NEVITT, M. C.; BROWNER, W. S.; STONE, K.; FOX, K. M.; ENSRUD, K. E.; CAULEY, J.; BLACK, D.; VOGT, T. M. The Study of Osteoporotic

Fractures research Group: Risk factors for hip fracture in white women. *N Engl J Med*, v. 332, p. 767-774, 1995.

CNATTINGIUS, S.; SIGNORELLO, L. B.; ANNEREN, G.; CLAUSSEON, B.; EKBOM, A.; LJUNGER, E.; BLOT, W. J.; MCLAUGHLIN, J. K.; PETERSSON, G.; RANE, A.; GRANATH, F. Caffeine intake and risk of first trimester spontaneous abortion. *N England J Med*, v. 343, p. 1839-1845, 2000.

DAGLIA, M.; PAPETTI, A.; GREGOTTI, C.; BERTÈ, F.; GAZZANI, G. In vivo and ex Vivo prospective activities of green and roasted coffee. *J Agric Food Chem*, v. 48, p. 1449-1454, 2000.

DE BREE, A.; VERSHUREN, W. M. M.; BLOM, H. J.; KROMHOUT, D. Lifestyle Factors and Plasma Homocysteine Concentrations in a General Population Sample. *Am J Epidemiol*, v. 154, n. 2, p. 150-154, 2001.

DE BREE, A.; VERSCHUREN, W. M.N.; BJORKE-MONSEN, A.L.; VAN DER PUT, N. M. J.; HEIL, S. G.; TRIJBELS, F. J. M.; BLOM, H. J. Effect of the methylene tetrahydrofolate reductase 677 – T mutation on the relations among folate intake and plasma folate and homocysteine concentrations in a general population sample. *Am J Clin Nutr*, v. 77, p. 687-693, 2003.

DE LEEUW, P. W.; BIRKENHÄGER, W. H.; VOYAKI, S. M. EFSTRAPOULOS, A. S.; FAGARD, R. H.; LEONETTI, G.; NACHEV, C.; PETRIE, J.; RODICIO, J. L.; ROSENFELD, J. J.; SARCI, C.; STAESSEN, J. Prognostic significance or renal function in elderly patients with isolated systolic hypertension: results from the Syst-Eur Trial. *J. Am Soc Nephrol*, v. 13, p. 2213-2222, 2002.

DE MARIA, C. A. B.; TRUGO, L. S.; DE MARIZ E MIRANDA, L. S. SALVADOR, E. Stability of 5- caffeoylquinic acid under different conditions of heating. *Food Res Int*, v. 31, n. 6-7, p. 475-477, 1998.

DE MARIA, C. A. B.; MOREIRA, R. F. A. Componentes Voláteis do Café Torrado. Parte I: Compostos Heterocíclicos. *Quím Nova*, v. 22, n. 2, p. 1-21, 1999.

DOREA, J. G.; COSTA, T. H. M. Is coffee a functional food? *Brit J Nutr*, v. 93, p. 773-782, 2005.

DPC. DUALCOUNT Folic Acid/ SPNB vitamin B12 *in vitro* Diagnostic Test. Kit. Diagnostic Products Coeperation: Los Angeles, 2000.

EIKELBOOM, J. W.; LONN, E.; GENEST, J.; HANKEY, G.; YUSUF, S. Homocysteine and cardiovascular disease: a critical review of the epidemiologic evidence. *Ann Intern Med*, v. v. 131, p. 363-375, 1999.

ESPÓSITO, F.; MORISCO, F.; VERDE, V.; RITIENI, A.; ALEZIO, A.; CAPORASO, N.; FOGLIANO, V. Moderate coffee consumption increases plasma glutathione but not homocysteine in healthy subjects. *Food Pharmacol Ther*, v. 17, p. 595-601, 2003.

Estados Unidos. Institute of Medicine. DRIs -Nutrition during pregnancy. National Academy press, 2000.

FAKHRZADEH, H.; GHOTBI, S.; POUREBRAHI, R.; NOURI, M.; HESHMAT, R.; BANDARIAN, F. ALIREZA, S.; BAGHER, L. Total plasma homocysteine, folate, and vitamin b12 status in healthy Iranian adults: the Tehran homocysteine survey (2003–2004)/a cross – sectional population based study. *Bio Med Central Public Health*, v. 6, p. 1471-2458, 2006.

FARAH, A. Distribuição nos grãos, importância na qualidade da bebida e biodisponibilidade dos ácidos clorogênico do café. Tese de doutorado – Ciência de Alimentos. UFRJ, 2004.

FOLSOM, A. R.; NIETO, J.; McGOVERN, P. G.; TSAI, M. Y.; MALINOW, M. R.; ECKFELDT, J. H.; HESS, D. L.; DAVIS, C. E. Prospective study of coronary heart disease incidence in relation to fasting total homocysteine, related genetic

polymorfisms, and B vitamins – Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Circulation*, v. 98, p. 204-210, 1998.

FORD, E. S.; SMITH, S. J.; STROUP, D. F.; STEINBERG, K. K.; MUELLER, P. W.; THACKER, S. B. Homocyst(e)ine and cardiovascular disease: a systematic review of the evidence with special emphasis on case- control studies and nested case- control studies. *Int J Epidemiol*, v. 31, p. 59-70, 2002.

FINKELSTEIN, J. D. Methionine metabolism in mammals. *J Biochem*, v. 1, p. 228, 1990.

FOOD PROCESSOR. versão 12. Esha Cororation: Oregon USA, 1984.

FRIEDWALD W. T.; LEVY I. R.; FRIEDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of Low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*, v. 18:499-502, 1972.

GELONEZE, B.; GELONEZE, S. R.; ERMETICE, M. N.; REPETTO, E. M.; TAMBASCIA, M. A. The threshold value for insulin resistance (HOMA-IR) in an admixed population. IR in the Brazilian Metabolic Syndrome Study. *Diab Res Clin Pract*, 2005; 24 [Epub ahead of print] (*in press*).

GIBSON, R. S. Principles of Nutrition Assessment. New York: Oxford University, 1990. p. 691.

GILTAY, E. J.; HOOGEVEEN, E. K.; ELBERS, J. M. H.; GOOREN, L. J. G.; ASSCHEMAN, H.; STEHOUWER, C. D. A. Insulin resistance is associated with elevated plasma total homocysteine levels in healthy, non-obese subjects. *Atherosclerosis*, v. 139, p. 197-198, 1998.

GODSLAND, I. F.; ROSANKIEWICZ, J. R.; PROUDLER, A. J.; JOHNSTON, D. G. Plasma total homocysteine concentrations are unrelated to insulin sensitivity and

components of the metabolic Syndrome in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab*, v. 86, p. 719-723, 2001.

GRAHAM, I. M.; OCALLAGHAN, P: The role of folic acid in the prevention of cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol*, v. 11, p. 577-587, 2000.

GRAHAM T. E; SATHASIVAM P.; ROWLAND, M.; MARKO, N.; GREER, F.; BATTRAM, D. Caffeine ingestion elevates plasma insulin response in human during an oral glucose tolerance test. *Can J Physiol Pharmacol*; v. p. 79: 550-565, 2001.

GREER, F.; HUDSON, R.; ROSS, R.; GRAHAM, T. Caffeine Ingestion Decreases Glucose Disposal During a Hyperinsulinemic-Euglycemic Clamp in Sedentary Humans. *Diabetes*, v. 50, p. 2349-2354, 2001.

GREENBERG, J. A.; AXEN, K. V.; SCHNOLL, R.; BOOZER, C. N. Coffee, Tea and Diabetes: The role of weight loss and caffeine. *Int J Obesity*, v. 29, p. 1121-1129, 2005.

GROSS, E.; JACCAUD, E.; HUGGETT, A. C. Analysis of the content of the diterpenes Cafestol e Kahweol in Coffee Brews. *Food and Chem Toxicol*, v. 35, p. 547-554, 1997.

GRUBBEN, M. J.; BERS, G. H.; BLOM, H. J. et al. Unfiltered coffee increases plasma homocysteine concentrations in healthy volunteers: a randomized trial. *Am J Clin Nutr*, v. 71, n. 2, p. 480- 484, 2000.

GUTCHO, S.; MANSBACH, L. Simultaneous radioassay of serum vitamin B12 and folic acid. *Clin Chem*, v. 23, n. 9, p. 1609-1614, 1977.

GUVEN, A.; INNANC, F.; KILINE, M.; EKERBICER, H. Plasma homocysteine and lipoprotein (a) levels in Turkish patients with Metabolic Syndrome. *Heart Vessels*, v. 20, p. 290-295, 2005.

GYNTEMBERG, F.; HEIN, H. O.; DUADICANI, P et al. Coffee consumption and risk of ischaemic heart disease – a settled issue? *J Intern Med*, v. 237, p. 55-61, 1995.

HARLAND, B. F. Caffeine and nutrition. *Nutr*, v. 16, p. 522-526, 2000.

HEMMERLE, H.; BURGER, H. J.; BELOW, P.; SCHUBERT, G.; RIPPEL, R.; SCHINDLER, P. W.; PAULIS, E.; HERLING, A. W. Chlorogenic acid and synthetic chlorogenic acid derivatives: Novel Inhibitors of Hepatic Glucose-6-phosphate Translocase. *J Med Chem*, v. 40, n. 2, p. 137-145, 1997.

HENRY, R. J. Principles and Technics. *J Clin Chem*, v. 9, p. 217, 1983.

HERBERT, V. Vitamin B₁₂ . In: Ziegler EE, Filer, LJ, eds. Present Knowledge in nutrition. 7th edition. Washington, DC, USA: ILSI Press, 191-205, 1996.

HUNG, J.; BEILBY, J. P.; KNUIMAN, M. W.; DIVITINI, M. Folate and Vitamin B-12 and risk of fatal cardiovascular disease: cohort study from Busselton, Western Australia. *Br Med J*, v. 326, n. 7381, p. 131-139, 2003.

ILLY, A.; VIANI, R. Espresso coffee: the chemistry of quality. 2. ed. San Diego: Academic press, 1996, 253p.

INSTITUTE OF MEDICINE. Food Nutrition Board. Estimated Average Requirement, 2000. 800p.

JACQUES, P. F.; SELHUB, J.; BOSTOM, A. G.; WILSON, P. W. F.; ROSENBERG, I. H. Impact of folic acid fortification on plasma folate and total homocysteine concentrations in middle-aged and older adults from the Framingham Study. *N Engl J Med*, v. 340, p. 1449, 1999.

JACQUES, P. F.; BOSTON, A. G.; WILSON, P. W. F.; RICH, S.; ROSENBERG, I. H.; SELHUB, J. Determinants of plasma total homocysteine concentration in the Framingham Offspring cohort. *Am J Clin Nutr*, v. 73: 613, p. 2001.

JAMES, J. E. Is Habitual caffeine use a preventable cardiovascular risk factor? *Lancet*, v. 349, p. 279-281, 1997.

JEE, H. S.; JIANG, H. E.; LAWRENCE, J. A.; WHELTON, P. K.; SUH, I.; KLAG, J. Coffee Consumption and Serum Lipids: A meta Analysis of Randomized Controlled Trials. *Am J Epidemiol* v. 153, n. 4, p. 353-62, 2001.

JIN, U. H.; LEE, J. Y.; KANG, S. K.; KIM, J. K.; PARK, W. H.; KIM, J. G.; MOON, S. K.; JOSEPH, J. A.; SHUKITT-HALE, B.; CASADESUS, G. Reversing the deleterious effects of aging on neuronal communication and behavior: beneficial properties of fruit polyphenolic compounds. *Am J Clin Nutr*, n. 81 (suppl), p. 218S-222S, 2005.

JOHNSON, R. J.; KANG, D.; FEIG, D.; KIVLIGHN, S.; KANELIS, J.; WATANABLE, S.; TUTTLE, K. R.; RODRIGUEZ-ITUBE, B.; HERRERA-ACOSTA, J.; MAZZALI, M. Is There a Pathogenetic Role for Uric Acid in Hypertension and Cardiovascular and Renal Disease?, *Hypert*, v. 41, p. 1183-1190, 2003.

JOHNSTON K. L.; CLIFFORD, M. N.; MORGAN, L. M. Coffee acutely modifies gastrointestinal hormone secretion and glucose tolerance in human: glycemic effects of chlorogenic acid and caffeine. *Am J Clin Nutr*, v. 78, n. 4, p. 729-733, 2003.

KANG, S. S. Critical points for determining moderate hyperhomocysteinaemia. *Eur J Clin Invest*, v. 25, p. 806, 1995.

KARAKAYA, S. Bioavailability of Phenolic compounds. *Crit Rev Food Sci Nutr*, v. 44, p. 453-464, 2004.

KARK, J. D.; FRIEDLANDER, Y.; KAUFFMAN, N. A. et al. Coffee, tea and cholesterol: The Jerusalem lipid research clinic prevalence study. *Br Med J* (Clin Res Ed), p. 699-704, 1985.

KATAL. Kit para a determinação dos triglicérides, colesterol total, HDL-colesterol e ácido úrico. Katal Biotecnológica Indústria e Comércio LTDA: Minas Gerais, 2002.

KEIJZERS, G. B.; GALAN, B. E. Caffeine Can Decrease Insulin Sensivity in Humans. *Diab Care*, v. 25, n. 2, p. 364-369, 2002.

KITTS, D. D.; WIJEWICKREME, A. N. Effect of dietary caffeic and chlorogenic acids on in vivo xenobiotic enzyme systems. *Plant Foods Hum. Nutr*, v. 45, 287-98, 1994.

KIYOHARA, C.; KONO, S.; HONJO, S.; TODOROKI, I.; SAKURAI, Y.; NISHIWAKI, M.; HAMADA, H.; NISHIKAWA, H.; KOGA, H.; OGAWA, S. Inverse association between coffee drinking and serum uric acid concentrations in middle-aged Japanese males. *Br J Nutr*, v. 82, p. 125-130, 1999.

KOZUMA, K.; TSUCHIYA, S.; KOHORI, J.; HASE, T.; TOKIMITSU, I. Antihypertensive Effect of Green Coffee Bean Extract on Mildly Hypertensive Subjects. *Hypert Res*, v. 28, p. 711-718, 2005.

KRUMDIECK, C. L.; PRINCE, C. W. Mechanisms of toxicity on Connective Tissues: Implications for the morbidity of Aging. *J Nutr*, v. 130. n. 12, p.3655-3685, 2000.

LANCASTER, T.; MUIR, J.; SILAGY, C. The effects of coffee on serum lipids and blood pressure in a UK population. *J R Soc Med*, v. 87, p. 506-507, 1994.

LAMBERT, J. D.; HONG, J.; YANG, G.; LIAO, J.; YANG, C. S. Inhibition of Carcinogenesis by Polyphenols: evidence from laboratory investigations. *Am J Clin Nutr*, n. 81 (suppl), p. 284S-291S, 2005.

LENTZ, S. R. Mechanisms of thrombosis in hyperhomocysteinemia. *Curr Opin Hematol*, v. 5, p. 343-9, 1998.

LERCKER, G.; FREGA, N.; BOCCI, F. RODRIQUEZ-ESTRADA, M.T. High Resolution gás chromatographic determination of diterpenic alchols and sterols in coffee lipids. *Chromatogr*, v. 41, p. 29-33, 1995.

LIN, J.; CHEN, P.; HO, C.; SHJIAU, S. Inhibition of Xantine Oxidase and Supression of Intracellular Peactive Oxygen Species in HL-60 Cells by Theaflavin-3,3 – digallate,

(-) Epigallocatechin-3-gallate, and Propyl Galate. *J Agric Food Chem*, v. 48, p. 2636-2743, 2000.

LICCIARDI, R.; PEREIRA, R. G. F. A.; MENDONÇA, L. M. V. L.; FURTADO, E. F. Avaliação Físico-química de cafés torrados e moídos, de diferentes marcas comerciais, da região de Sul de Minas Gerais. *Ciênc Tecnol Aliment*, v. 25, n. 3, p. 2-10, 2005.

LUSSIER-CACAN, S.; XHIGNESSE, M.; PIOLOT, A.; SELHUB, J.; DAVIGNON, J.; JUNIOR, J. G. Plasma total homocysteine in healthy subjects: Sex-specific relation with biological traits. *Am J Clin Nutr*, v. 64, n. 4, p.587-593, 1996.

Mc CARTY, M. F. A chlorogenic acid-induced increase in GLP-1 production may mediate the impact of heavy coffee consumption on diabetes risk. *Med Hypotheses*, v. 64, p. 848-853, 2005.

MALLINOW, M. R.; SEXTON, G.; AVERBUCH, M.; GROSSMAN, M.; WILSON, D.; UPSON, B. Homocysteinemia in daily practice: levels in coronary artery disease. *Coronary Art Dis*, v. 1, p. 215, 1990.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; REMESY, C.; JIMENEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*, v. 79, p. 727-747, 2004.

MARCHIONI, D. M. L; SLATER, B.; FISBERG, R. M. Aplicação das *Dietary Reference Intakes* na avaliação da ingestão de nutrientes para indivíduos. *Rev Nutr*, v. 17, n. 2, p. 207-216, 2004.

MASASHIKO K.; HISATOMI I.; TOMIKURA, Y. et al. Status of Endothelial Dependent Vasodilatation in Patients with urucemia. *Am J Cardiol*, v. 96, n. 11, p. 1576-1578, 2005.

MATTHEWS, D. R.; HOSKER,, J. P.; RUDENSKI, B.A.; NAYLOR, D. F.; TREACHER, D. F.; TURNER, R. C. Homeostasis model assessment: insulin resistance

and cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetol*, v. 28, p. 4112-419, 1985.

MATTSON, M. P.; KRUMAN, I. I.; DUAN, W. Folic Acid and Homocysteine in age-related disease. *Ageing Res Rev*, v. 1, p. 95-111, 2002.

McCULLY, K. S.; OLSZEWSKI, A. J.; VEZERIDIS, M. P. Homocysteine and Lipid metabolism in atherogenesis: effect of homocysteine thiolactonyl derivatives, thioretinaco and thioretinamide. *Atherosclerosis*, v. 83, n. 2-3, p. 197-206, 1990.

MEIGS, J. B.; JACQUES, P. F.; SELHUB, J.; SINGER, D. E.; NATHAN, D. M.; RIFAL, N.; DÁGOSTINO, R. B.; WILSONS, P. W. F. Fasting plasma homocysteine levels in the insulin resistance syndrome – The Framingham Offspring Study. *Diab Care*, v. 24, p. 1403-1410, 2001.

MEYER, A. S.; HEINONEM, M.; FRANKEL, E. N. Antioxidant interactions of catechin, cyanidin, caffeic acid, quercetin, and ellagic on human LDL oxidation. *Food Chem*, v. 61, n. 1/2, p. 71-75, 1998.

MILLER, O.; GONÇALVES, R. R. O laboratório para o Clínico. Capítulo 4 Hemograma – Série Vermelha, 8ed: Atheneu, 1995.

MOREIRA, R. F. A.; TRUGO, L. C. ; De MARIA, C. A. B. Componentes Voláteis do Café Torrado. Parte II. Compostos Alifáticos, Alicíclicos e Aromáticos. *Quím Nova*, v. 23, n. 3, p. 195-203, 2000.

MURSU, J.; VOULTILAINEN, S.; NURMI, T.; ALFTHAN, G.; VIRTANEM, J. K.; RISSANEN, T. H.; HAPPONEN, P.; NYSSONEN, K.; KAIKKONNEN, J.; SALONEN, R.; SALONEN J. T. The effects of coffee consumption on lipid peroxidation and plasma total homocysteine concentrations: a clinical trial. *Fr Radiol Biol Med*, v. 38, p. 527-534, 2005.

NARDINI, M.; CIRILLO, E.; NATELLA, F.; SCACCINI, C. Absorption of phenolic acids in human after coffee consumption. *J Agric Food Chem*, v. 50, n. 20, p. 5735-5741, 2002.

NATELLA, F.; NARDINI, M.; GIANNETTI, I.; DATTILO, C.; SCACCINI, C. Coffee drinking influences plasma antioxidant capacity in humans. *J. Agric. Food Chem*, v. 50, p. 6211-6216, 2002.

NICOLI, M. C.; ANESE, M.; MANZOCCO, L.; LERICI, C. R. Antioxidant properties of coffee brews in relation to the roasting degree. *Lebensm. Wiss. Technol*, v. 30, p. 292-298, 1997.

NYGARD, O.; VOLLSET, S. E.; REFSUM, H, et al. Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile – The Hordaland Homocysteine Study. *JAMA*, v. 274, p. 1526-1533, 1995.

NYGARD, O.; REFSUM, H.; UELAND, P. M.; VOLLSET, S. E. Major lifestyle determinants of plasma total homocysteine distribution: The Hordaland Homocysteine Study. *Am J Clin Nutr*, v. 67, n. 2, p. 264-270, 1998.

OCHIAI, R.; JOKURA, H.; SUSUKI, A.; TOKIMITSU, I.; OHISHI, M.; KOMAI, H.; OGIHARA, I. Green Coffee Extract Improves Human Vasoreactivity. *Hypertens Res*, v. 27, p. 731-737, 2004.

OLTHOF, M. R.; HOLLMAN, P. C. H.; KATAN, M. B. Chlorogenic acid are absorbed in humans. *J Nutr*, v. 131, n. 1, p. 66-71, 2001.

OLTHOF, M. R.; HOLLMAN, P. C.; ZOCK, P. L.; KATAN, M. B. Consumption of high doses of chlorogenic acid, present in coffee, or of black tea increases plasma total homocysteine concentrations in humans. *Am J Clin Nutr*, v. 73, n. 3, p. 532-538, 2001.

OMENN, G. S.; BERESFORD, S. A. A.; MOTULSKY, A. G. Preventing coronary heart disease – B vitamins and homocysteine. *Circulation*, v. 97, p. 421-424, 1998.

OORT, F. V. V.; ALIDA, M.; BROUWER, I. A.; CLARKE, R.; WEST, C. E.; KATAN, M. B.; VERHOEF, P. Folic acid and reduction of plasma homocysteine concentrations in older adults: a dose-response study. *Am J Clin Nutr*, v. 77, n. 5, p. 1318-1323, 2003.

PALMER, J. R.; ROSENBERG, L.; RAO, R. S.; SHAPIRO, S. Coffee Consumption and Myocardial Infarction in Women. *Am J Epidemiol*, v. 141, n. 8, p. 724-731, 1995.

PEARSON, D. The Chemical Analysis of food. London: Churchill Livingstone, 1976. p. 11-12.

PEREIRA A et al. III Diretrizes brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arq Bras cardiol*, v. 77, 2001.

PIETRZIK, K.; BRÖNSTRUP, A. Folate in preventive medicine: A new role in cardiovascular disease, neural tube defects and cancer. *Ann Nutr Metab*, v. 41, p. 331, 1997.

PIZZIOL, A.; TIKHONOFF, V.; PALEARI, C. C.; RUSSO, E.; MAZZA, A.; GINOCCHIO, G.; ONESTO, C.; PAVAN, L.; CASIGLIA, E.; PESSINA, A. C. Effects of caffeine on glucose tolerance: A placebo-controlled study. *Eur J Clin Nutr*, v. 52, p. 846-849, 1998.

PONTES, P. V.; MOREIRA, R. F. A.; TRUGO, L. C.; DE MARIA, C. A. B. The content of chlorogenic acids in tropical fruits. *J Sci Food Agric*, v. 82, p. 1- 5, 2002.

RAMALAKSHMI, K.; AGHAVAN, B. Caffeine in coffee: Its removal. Why and How? *Cr Rev Food Sci Nutr*, v. 39, n. 5, p. 441-456, 1999.

RATNAYAKE, W. M. N.; PELLETIER, G.; HOLLYWOOD, R.; MALCOM, S.; STAVRIC, B. Investigation of the coffee lipids on serum cholesterol in Hamsters. *Food Chem toxicol*, v. 33, p. 195-201, 1995.

RAWEL, H. M.; KROLL, J.; RIESE, B. Reactions of chlorogenic Acid with lysozyme: Physiocochemical characterization and proteolytic Digestion of the derivatives. *J Food Sci*, v. 65, n. 6, p. 1091-1098, 2000.

REFSUM, H.; YAJNIK, C. S.; GADKARI, M. *et al.* Hyperhomocysteinemia and elevated methylmalonic acid indicate a high prevalence of cobalamin deficiency in Asian Indians. *Am J Clin Nutr*, v. 74, p. 233-241, 2001.

ROBINSON, L. E.; SAVANI, S.; BATTRAM, D. S.; McLAREN, D. H.; SATHASIVAM, P.; GRAHAM, T. E. Caffeine ingestion before an Oral Glucose Tolerance Test Impairs blood Glucose management in Men with Type 2 Diabetes. *J Nutr*, v. 134, p. 2528-2533, 2004.

ROCHE DIAGNOSTICS. Elecsys insulin MCE 1C10/2010 Modular Analytcs *in vitro*, 2001

ROOS, B.; KOSMEIJER-SCHULIL, T. G.; KATAN, M. B. Absortion and urinary excretion of the coffee diterpenes cafestol and kahweol in healthy ileostomy volunteers. *J Int Med*, v. 244, p. 451-460, 1998.

ROGINSKY, V.; BARSUKOVA, T. Chain-breaking antioxidant capability of some beverages as determined by the clark electrode technique. *J. Med food*, v. 4, p. 219-229, 2001.

SALAZAR MARTINEZ, E.; WILLET, W. C.; ASCHERIO, A.; MANSON, J.; LEITZMANN, M. F.; STAMPFER, M. J.; HU, F. B. Coffee consumption and risk for type 2 diabetes mellitus. *Ann Int Med*, v. 140, p. 1-8. 2004.

SAW, S.; YUAN, J.; ONG, C. *et al.* Genetic, dietary, and other lifestyle determinants of plasma homocysteine concentrations in middle-aged and older Chinese men and women in Singapore. *Am J Clin Nutr*, v. 73, n. 2, p 232-239, 2001.

SCALBERT, A.; MORAND, C.; MANACH, C.; REMESY, C. "Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health". *Biomed Pharmacother*, v. 56, n. 6, p. 276-282, 2002.

SCALBERT, A.; MANACH, C.; MORAND, C.; REMESY, C.; JIMENEZ, L. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr*, v. 45, p. 287-306, 2005.

SCOTT, J. M.; WEIR, D. G. Folic Acid, Homocysteine and one-carbon metabolism: a review of the essential biochemistry. *J Cardiovasc Risk*, v. 5, p. 223-227, 1998.

SELHUB, J. Homocysteine Metabolism. *Ann Rev Nutr*, v. 19, n. 1 p. 217-246, 1999.

SELHUB, J.; JACQUES, P. F.; WILSON, P. W. F.; RUSH, D.; ROSENBERG, I. H. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in the elderly. *JAMA*, v. 270, p. 2693, 1993.

SELHUB, J.; ROSENBERG, I. H. Folic Acid. In: Ziegler E.E, Filer L.J., eds. Present Knowledge in Nutrition. 7th edition. Washington, DC, USA: ILSI Press, 191-205, 1996.

SESSO, H. D.; GAZIANO, J. M.; BURING, J. E.; HENNEKENS, C. H. Coffee and Tea Intake and the Risk of Myocardial Infarction. *Am J Epidemiol*, v. 149, n. 2, p. 162-167, 1999.

SILVA, A. I.; SANTANA, C. S.; PIVATO, S. C. L.; DE MARIA, C. A. B.; MOREIRA, R. F. A. Chlorogenic acid profile of commercial Brazilian herbal infusions. *Sci Aliments*, v. 26, n. 2. p. 173-180, 2006.

SLATER, B.; MARCHIONINI, D. L.; FISBERG, R. M. Estimando a prevalência da ingestão inadequada de nutrientes. *Rev Saúde Pú*b, v. 38, n. 4, p. 599-605, 2004.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Consenso Brasileiro sobre Diabetes: Diagnóstico e Classificação do Diabetes Mellitus e Tratamento do Diabete Mellitus do tipo 2. Rio de Janeiro: Diagraphic Editora, 2002. 73 p.

SOMOZA, V.; LINDENMEIER, M.; WENZEL, E.; FRANK, O.; ERBERSDOBLER, H.; HOFFMAN, T. Activity-Guided Identification of a Chemopreventive Compound in Coffee Beverage Using in Vitro and in Vivo Techniques. *J Agric Food Chem*, v. 51, n. 23, 6861-6869, 2003.

SOTILLO, R.; HODLEY, M. Chlorogenic acid modifies plasma and liver concentrations of cholesterol, triacylcholesterol and minerals in Zucker rats (fa/fa). *J Nutr Biochem*, v. 13, n. 12: 77-726, 2002.

SPSS. STATISITICAL PACKAGE FOR THE SOCIAL SCIENCES. Versão 11. SPSS: Chicago USA, 2001.

STATISTICA. Versão 6.0. Eletronic Statistics Text book: Tulsa, 2006.

SUDANO, I.; BINGGELI, C.; SPIEKER, L.; LUSCHER, T.F.; RUSCHITZKA, F.; NOLL, G.; CORTI, R. Cardiovascular effects of coffee. Is it a risk factor? *Progr Cardio Nurs*, v. 20, n. 2, p. 65-69, 2005.

SUZUKI, A.; KAGAWA, D.; FUJIII, A.; OCHIAI, R.; TOKIMITSU I.; SAITO I. Short and long term effects of ferulic acid on blood pressure in spontaneous hypertensive rats. *Am J Hypert*, v. 15, p. 351-357, 2002.

STOCLET, J. C.; CHATAIGNEAU, T.; NDIAYE, M.; OAK, M. H.; EL BEDOUI, J.; CHATAIGNEAU, M.; SCHINI-KERTH, V. B. Vascular protection by dietary polyphenols. *Eur J Pharmacol*, v. 500, p. 299-313, 2004.

STRANDHAGEN, E.; THELLE, D.S. Filtered coffee raise cholesterol: results from controlled study. *Eur J Clin Nutr*, v. 57, n.9, p. 1164-1168, 2003.

TAVARES, E. F.; VIEIRA-FILHO, J. P.B.; ANDRIOLO, A.; FRANCO, L. J. Relação da homocisteinemia com a sensibilidade à insulina e com faotres de risco cardiovascular em um grupo indígena brasileiro. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, v. 46, p. 260-268, 2002.

THONG, F. S.; GRAHAM, T. E. Caffeine-induced impairment of glucose tolerance is abolished by beta-adrenergic receptor blockade in humans. *J Appl Physiol*, v. 92, p. 2347-52, 2002.

TOCI, A. T. Modificações químicas do café descafeinado na torração. 2004. 81f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.

TRINDER, P. Annual. *Clin Biochem*, v. 6, p. 24, 1969.

TRUGO, L. C.; MACRAE, R. Chlorogenic acid composition of instant coffee. *Analyst*, v. 109, p. 263-266, 1984.

TRUGO, L. C. In: Encyclopedia of Food Science and Nutrition. Caballero, B.; Trugo, L. C.; Finglas, P. (Ed.). 2ª edição, Academia Press, 2003.

TUOMILEHTO, J.; HU, G.; BIDEL, S.; LINDSTROM, J. Coffee Consumption and Risk of Type 2 Diabetes Mellitus Among Middle-aged Finnish Men and Women. *JAMA*, v. 291, p.1213-1219, 2004.

TVERDAL, A.; STENSVOLD I.; SOLVOLL, K.; FOSS, OP.; LUND-LARSEN, P.; BJARTVEIT, K. Coffee consumption and death from coronary heart disease in middle aged Norwegian men and women. *BMJ*, v. 300, p. 566-9, 1990.

UBBINK, J. B.; VERMAAK, W. J.; BIJSSBORT, S. Rapid high-performance liquid chromatographic assay for total homocysteine levels in human serum. *Journal of Chromatogr*, v. 565, p. 441, 1991.

UBBINK, J. B. Vitamin Nutrition status and homocysteine: An atherogenic risk factor. *Nutr Rev*, v. 52, n 11, p. 383, 1994.

UELAND, P. M.; REFSUM, H.; STABLER, S. P, et al. Total homocysteine in plasma or serum: Methods and clinical applications. *Clin Chem*, v. 39, p. 1764-79, 1993.

UELAND, P. M.; REFSUM, H.; BERESFORD, S. A. A.; VOLLSET, S. E. The controversy over homocysteine and cardiovascular risk. *Am J Clin Nutr*, v. 72, p. 324, 2000.

UNDAS, A.; WILLIAMS, E. B.; BUTENAS, S.; ORFEO, T.; MANN, K. G. Homocysteine inhibits inactivation of factor Va by activated Protein C. *J Biol Chem*, v. 276, n. 6, p. 4389-4397, 2001.

URGERT, R.; KATAN, M. B. The cholesterol-raising factor from coffee beans. *J Royal Soc Med*, v. 89, p. 618-623, 1996.

URGERT, R.; VAN VLIET, T.; ZOCK, P. L.; KATAN, M. B. Heavy coffee consumption and plasma homocysteine: a randomised controlled trial in healthy volunteers. *Am J Clin Nutr*, v. 72, n. 5, p. 1107-1110, 2000.

VAN DAM, R. B.; FESKENS, E. J. M. Coffee consumption and risk of type 2 diabetes mellitus. *Lancet*, v. 360 (9344), p. 1477-1478, 2002.

VARANI, K.; PORTALUPPI, F.; GESSI, S.; MERIGHI, S.; ONGINI, E.; BELARDINELLI, L.;BOREA, P. A.. Dose and Time Effects of Caffeine Intake on Human Platelet Adenosine A_{2a} Receptors: Functional and Biochemical Aspects. *Circulation*, v. 102, p. 285-289, 2000.

VERDECCHIA, P.; SCHILLACI, G.; REBOLDI, G. P.; SANTEUSANIO, F.; PORCELLATI, C.; BRUNETTI, P. Relation between serum uric acid and risk of cardiovascular disease in essential hypertension. *Hypert*, v. 36, p. 1072-1078, 2000.

VERGAUWEN L.; HESPEL, P.; RICHTER, E. A. Adenosine Receptors Mediate Synergistic Stimulation of Glucose Uptake and Transport by Insulin and by Contractions in Rat Skeletal Muscle. *J Clin Investig*, v. 93, p. 974-981, 1994.

VERHOEF, P.; PASMÁN, W. J.; VLIET, T. V.; URGERT, R.; KATAN, M. B. Contribution of caffeine to the homocysteine-raising effect of coffee: a randomized controlled trial in humans. *Am J Clin Nutr*, v. 76, p. 1244-1248, 2002.

VIANI, R. Coffee. In: Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry Weinheim: VCH Verlagsgesellschaft, 1986; 315-339.

VOLLSET, S. E.; REFSUM, H.; TVERDAL, A. et al. Plasma total homocysteine and cardiovascular and noncardiovascular mortality: The Hordaland Homocysteine Study. *Am J Clin Nutr*, v. 74, p. 130-136, 2001.

VOUTILAINEN, S.; VIRTANEN, J. K.; RISSANEN, T. H.; ALFTHAN, G.; LAUKKANEN, J.; NYSSÖNEN, K.; MURSU, J.; VALKONEN, V.; TUOMAINEN, T.; KAPLAN, G. A.; SALONEN, J. T. Serum folate and homocysteine and the incidence of acute coronary events: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study. *Am J Clin Nutr*, v. 80, n. 2, p. 317-323, 2004.

WALD, D. S.; LAW, M.; MORRIS J. K. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. *Br Med J*, v. 325, p. 1202, 2002.

WANG, J. G.; STAESSEN, J. A. FAGARD, R. H.; BIRKENHÄGER, W. H.; GONG, L.; LIU, L. Trial Collaborative group for systolic hypertension in China. *Hypert*, v. 37, p. 1069-1074, 2001.

WANNAMETHEE, S. G.; SHAPER, A. G.; WHINCUP, P. H. Serum urate and the risk of major coronary heart disease events. *Heart*, v. 79, n. 2, p. 147-153, 1997.

WHELTON, P. K.; HE, J.; APPEL, L. J. et al. National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee: Primary Prevention of Hypertension: clinical and public health advisory from the National High Blood Pressure Education Program. *JAMA*, v. 288, p. 1882-1888, 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. The Use and Interpretation of Anthropometry. Physical Status: report of a WHO expert committee. Geneva, World Health Organization, 1998.

YUKAWA, G. S.; MUNE, M.; OTANI, H.; TONE, Y.; LIANG, X. M.; IWAHASHI, H.; SAKAMOTO, W. Effects of Coffee Consumption on Oxidative Susceptibility of Low Density lipoproteins and FERUM Lipids Levels in Human. *Biochem*, v. 69, n. 1, p. 70-74, 2004.

9.0 - ANEXOS

9.1- Artigo vinculado à dissertação: O consumo de café e sua relação com a hiperhomocisteinemia: revisão

9.2- APROVAÇÃO DO PROJETO DE PESQUISA PELO COMITÊ DE ÉTICA

9.3 TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
CCS – INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO E DIETÉTICA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

De acordo com a Resolução 196/96

PROJETO DE PESQUISA - “*Estudo do efeito do consumo de café verde, regular no perfil bioquímico em indivíduos jovens*”.

Pesquisadores responsáveis: Glorimar Rosa, Carlos Alberto Bastos de Maria e Mirza Adriana de Assis Jácome

Recebi orientação e declaro estar ciente dos objetivos desta pesquisa, que visa, principalmente, verificar a relação da quantidade de uma substância presente no sangue - homocisteína com uma substância do café chamada ácido clorogênico. Essa relação pode ser importante na prevenção de doenças crônicas, como por exemplo, algumas doenças do coração, câncer entre outras.

Dessa forma, aceito participar desta pesquisa, de livre e espontânea vontade, respondendo a um questionário, permitindo a tomada de medidas do meu corpo (peso e estatura) e de seis coletas de sangue (ao todo) em três dias não consecutivos. A primeira coleta será realizada após jejum noturno (12 h) e a outra após o consumo de ácido clorogênico, isto é, após o consumo de café verde, café torrado e também de café descafeinado. Essas amostras serão empregadas nas dosagens da homocisteína, ácido clorogênico e para o cálculo de resistência à insulina.

Estou ciente que não receberei nenhum tipo de recompensa financeira pela participação nesta pesquisa.

Fui informado que receberei os resultados dos testes realizados e os dados por mim fornecidos terão garantia de sigilo por parte dos pesquisadores. Além disto, também está garantido o meu direito de desistência em qualquer etapa da pesquisa.

O pesquisador responsável Prof^a. Dr^a. Glorimar Rosa poderá ser contatada através do telefone: 2562.6601 (UFRJ - Instituto de Nutrição Josué de Castro – Departamento de Nutrição e Dietética).

Rio de Janeiro,----- de-----de 2005.

Nome do participante: -----

Assinatura do participante -----

--

Assinatura do pesquisador-----

--

9.4 QUESTIONÁRIO PARA O ESTUDO DO EFEITO DO CONSUMO DE CAFÉ VERDE, REGULAR E DESCAFEINADO NO PERFIL BIOQUÍMICO EM INDIVÍDUOS JOVENS

nº da amostra _____ Data _____

Nome do voluntário _____

Endereço _____

_____ Telefone _____ Idade _____ Naturalidade _____

_____ Escolaridade _____ Estado civil _____

Renda Familiar _____ SM

Fumante () Sim () Não Uso de contraceptivos orais: () Sim () Não

Uso de medicamentos: () Sim () Não Qual? _____ Etnia:-----

-- Sexo () F () M Consome bebidas alcoólicas () Sim () Não Que tipo de bebida? _____ Qual a frequência do consumo? _____

História _____ Patológica

Pregressa: _____

História familiar: _____

AVALIAÇÃO NUTRICIONAL

DADOS ANTROPOMÉTRICOS	VALOR MENSURADO	AVALIAÇÃO SEGUNDO O PERCENTIL
PESO		
ESTATURA		
ÍNDICE DE MASSA CORPORAL		

DIAGNÓSTICO NUTRICIONAL _____

9.5 RECORDATÓRIO DE 24 HORAS

AVALIAÇÃO SEMI-QUANTITATIVA DA INGESTÃO DE ALIMENTOS

	Alimentos	Observações	Quantidade Medida caseira	Quantidade (ml/g)
Desjejum				
Colação				
Almoço				
Lanche				
Jantar				
Ceia				

9 7 LISTA DOS ALIMENTOS PROIBIDOS NA VÉSPERA DAS COLETAS

Café de todos os tipos;
Chá;
Mate;
Refrigerantes, principalmente do tipo cola;
Guaraná em pó;
Guaraná natural;
Bebidas isotônicas;
Chocolate e achocolatados;
Frutas e verduras

9 8 PERFIL BIOQUÍMICO: ANTES DO CONSUMO DO CAFÉ – JEJUM.

Café	Variável	\bar{x}	\pm	Min	Máx
Verde	Colesterol Total (mg/dL)	161,42	42,59	93,6	245,91
	HDL (mg/dL)	49,06	15,74	31,61	97,73
	LDL (mg/dL)	95,51	35,67	43,98	166,55
	TG (mg/dL)	84,23	84,98	18,26	427
	VLDL (mg/dL)	16,85	17	3,65	85,4
	Ácido úrico (mg/dL)	5,1	1,15	2,89	7,65
	Insulina (μ U/mL)	8,76	5,44	2,9	20,6
	Homocisteína (μ mol/L)	7,62	2,44	1,99	10,96
Glicose (g/dL)	68,35	14,96	46,1	93,21	
Regular	Colesterol Total (mg/dL)	169,3	39,02	117,32	245
	HDL (mg/dL)	48,37	9,86	32,83	68,78
	LDL (mg/dL)	109,35	31,92	73,82	163,35
	TG (mg/dL)	57,87	25,5	16,73	114,11
	VLDL (mg/dL)	11,58	5,1	3,35	22,82
	Ácido úrico (mg/dL)	4,09	1,2	1,6	6,09
	Insulina (μ U/mL)	8,86	5,52	2,3	24,2
	Homocisteína μ mol/L)	7,4	2,29	4,17	12,7
Glicose (/dL)	70,64	10,89	53,36	90,03	
Descateinado	Colesterol Total (mg/dL)	191,64	75,23	86,45	363,17
	HDL (mg/dL)	49,7	11,71	28,83	66,65
	LDL (mg/dL)	128,49	73,16	48,62	313,47
	TG (mg/dL)	64,41	38,55	37,03	180,23
	VLDL (mg/dL)	13,44	7,64	7,41	36,05
	Ácido úrico (mg/dL)	4,46	1,7	1,11	7,2
	Insulina (μ U/mL)	11,33	13,49	2,4	64,8
	Homocisteína μ mol/L)	7,74	2,01	4,72	12,3
Glicose (mg/dL)	69,38	17,13	38,56	101,89	

RESULTADOS EXPRESSOS COMO MÉDIA (\bar{x}), DESVIO PADRÃO (DP \pm) E VALORES MÍNIMOS (MIN) E MÁXIMOS (MÁX).

9.9 PERFIL BIOQUÍMICO: APÓS O CONSUMO DO CAFÉ.

Café	Variável	\bar{x}	\pm	Min	Máx
Verde	Colesterol total (mg/dL)	156,78	37,19	96,59	227,9
	HDL (mg/dL)	47,06	16,61	22,93	97,1
	LDL (mg/dL)	88,94	28,25	41,75	126,48
	TG (mg/dL)	103,9	128,57	23,87	623,54
	VLDL (mg/dL)	20,78	25,71	4,77	124,71
	Ácido úrico (mg/dL)	4,74	1,217	2,83	7,9
	Insulina (μ U/mL)	58,52	40,9	13,5	145,9
	Homocisteína (μ mol/L)	6,45	2,21	1,99	9,66
	Glicose 30 (mg/dL)	83,62	20,44	58,78	136,01
	Glicose 60 (mg/dL)	83,38	11,61	68,94	103,96
Regular	Colesterol total (mg/dL)	158,24	39,53	84,87	220,15
	HDL (mg/dL)	46,35	10,97	30,47	64,13
	LDL (mg/dL)	100,36	34,41	44,38	171,25
	TG (mg/dL)	57,93	24,68	10,8	114
	VLDL (mg/dL)	11,58	4,94	2,16	22,8
	Ácido úrico (mg/dL)	4,25	1,11	1,77	5,8
	Insulina (μ U/mL)	48,13	45,09	6,5	177,1
	Homocisteína μ mol/L	7,19	1,78	5,1	11,5
	Glicose 30 (mg/dL)	81,34	28,36	29,11	124,08
	Glicose 60 (mg/dL)	75,38	24	32,36	116,17
descafeinado	Colesterol Total (mg/dL)	184,22	47,27	109,16	271,66
	HDL (mg/dL)	46,57	9,34	29,92	64,73
	LDL (mg/dL)	124,73	40,31	69,31	217,97
	TG (mg/dL)	64	49,67	27,06	207,87
	VLDL (mg/dL)	13,07	9,88	5,41	41,57
	Ácido úrico (mg/dL)	4,36	1,4	0,73	6,5
	Insulina (μ U/mL)	33,87	28,63	5,8	124,4
	Homocisteína μ mol/L	7,32	1,8	4,64	10,4
	Glicose 30 (mg/dL)	68,62	21,26	33,23	117,84
	Glicose 60 (mg/dL)	70,18	20,05	34,1	118,61

RESULTADOS EXPRESSOS COMO MÉDIA (\bar{x}), DESVIO PADRÃO (DP \pm) E VALORES MÍNIMOS (MIN) E MÁXIMOS (MÁX).

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)