

# Café e factores de risco

## de doença cardiovascular



### José Alejandro Ribeiro dos Santos

José Alejandro Ribeiro dos Santos. Professor auxiliar da Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto (FCNAUP), membro do Conselho Científico da FCNAUP e da Comissão Científica do Mestrado em Nutrição Clínica da FCNAUP. Docente das disciplinas de Bioquímica do 2º ano. Desenvolve trabalho de investigação no Centro de Farmacologia e Biopatologia Química da Universidade do Porto.

### Resumo do artigo

O café é uma complexa mistura de compostos dos quais se destacam o ácido clorogénico, a cafeína e os diterpenos cafestol e kahweol. Vários estudos prospectivos de coorte não encontraram relação entre o consumo de café e risco aumentado de doença cardiovascular. Contudo, o consumo de café tem sido associado com o aumento de vários factores de risco cardiovascular, incluindo a hipertensão (cafeína), dislipidemia (diterpenos) e a hiper-homocisteinemia. Aplicando o princípio da precaução, será de recomendar aos doentes com hipertensão, hiper-colesterolemia e/ou hiper-homocisteinemia uma redução da ingestão de café e/ou de bebidas contendo cafeína. Esta recomendação pode ser de difícil aplicação devido à enorme variabilidade na concentração dos compostos bioactivos nas bebidas de café.

### Introdução

O café, infusão feita com grãos de café torrado moídos, é uma das bebidas com maior consumo a nível mundial. Há relatos sobre a sua importância como constituinte da dieta humana desde pelo menos o século XVI, com dados sempre controversos em relação aos seus efeitos na saúde<sup>(1)</sup>. Apesar do sabor e aroma agradáveis, muito provavelmente é o seu conteúdo em cafeína que lhe confere a enorme popularidade<sup>(2)</sup>. A cafeína é o fármaco psicoestimulante mais consumido a nível mundial, sendo 75 % do seu consumo feito sob a forma de café. Outras fontes de cafeína são o chá, refrigerantes, chocolate, medicamentos e suplementos de ervanária<sup>(3)</sup>. Nos E.U.A. 52 % da população com mais de 10 anos de idade consome café. De acordo com dados da Organização Internacional do Café, o consumo anual em Portugal é de aproximadamente 4 kg *per capita*, oscilando o consumo na União Europeia entre os 2 kg no Reino Unido até aproximadamente 12 kg *per capita* na Finlândia<sup>(2)</sup>.

O café é uma bebida muito complexa, encontrando-se-lhe mais de 1000 compostos químicos, incluindo glicídeos, lipídeos, compostos azotados, vitaminas, minerais, alcalóides e compostos fenólicos<sup>(4)</sup>.

No Homem, a maioria dos estudos do impacto do consumo de café na saúde são observacionais. No passado, os estudos epidemiológicos podem ter exacerbado os riscos para a saúde resultantes do consumo de café por não terem separado esse consumo de comportamentos de risco como fumar e sedentarismo. Mais recentemente, surgiram dados que sugerem a redução do risco de desenvolver algumas doenças crónicas pelo consumo de café. No entanto, a existência de dados contraditórios e de dúvidas sobre as metodologias usadas torna difícil a interpretação da informação existente, tanto pelos profissionais de saúde como pelo público em geral<sup>(4)</sup>. O objectivo deste artigo é fazer uma pequena revisão dos constituintes do café com maior impacto nos riscos e benefícios resultantes do consumo desta bebida na saúde cardiovascular.

### Substâncias bioactivas do café com possível impacto na saúde humana

Há duas espécies de plantas de café com importância comercial, a *Coffea arabica* e a *Coffea robusta*. Os grãos verdes de café destas duas espécies têm composição química diferente. Os grãos de *arabica* contêm mais lipídeos enquanto que os grãos de *robusta* contêm mais cafeína, sacarose e polifenóis antioxidantes como o ácido clorogénico e seus derivados. A variedade *arabica*, com um

sabor mais agradável, constitui 80% do comércio mundial. A variedade *robusta* é usada em cafés instantâneos e em misturas com a variedade *arabica*<sup>(5)</sup>. O processo de torrefacção leva à desidratação dos grãos verdes e à degradação de muitos compostos, incluindo alguns polifenóis com actividade antioxidante. Contudo, não há grandes diferenças no total de compostos antioxidantes entre os produtos resultantes dos vários processos de torrefacção usados pela indústria<sup>(6)</sup>. No café existem mais de mil compostos diferentes, muitos deles formados no processo de torrefacção, e que são responsáveis pelo seu sabor e aroma únicos<sup>(5)</sup>. Considerando critérios como a concentração na bebida, a detecção do composto ou de metabolitos no organismo, e os seus efeitos fisiológicos, existem três grupos de constituintes do café que se destacam pela sua importância: a cafeína, os álcoois diterpenos (*cafestol* e *kahweol*) e outros polifenóis<sup>(2)</sup>.

a gravidez, a primeira exposição ocorre mesmo antes do nascimento<sup>(9)</sup>. A exposição continua durante a infância, estabilizando os padrões de consumo na adolescência e no adulto jovem, com poucas modificações ao longo do resto da vida. A prevalência sem paralelo do consumo de cafeína pode ter um efeito multiplicador em relação ao possível impacto deste fármaco na saúde da população. Isto é, os efeitos observados ao nível individual, mesmo quando pequenos, podem ter um impacto cumulativo substancial quando são avaliados grupos populacionais<sup>(10)</sup>. As concentrações da cafeína nas bebidas de café podem sofrer enormes flutuações. O café expresso parece ser a forma de preparação da bebida mais consumida em Portugal<sup>(11)</sup>. Apresenta uma concentração média de cafeína de 105 mg por porção, oscilando as amostras entre 15 e 254mg<sup>(12)</sup>. Outras bebidas com cafeína apresentam grande variabilidade na concentração deste composto, o que

**“Uma dose de cafeína equivalente a duas ou três chávenas de café (200-250 mg) aumenta a pressão arterial sistólica de 3 a 14 mmHg e a pressão arterial diastólica de 4 a 13 mmHg.”**

### Cafeína

A cafeína (1,3,7-trimetilxantina) é um alcalóide púrico que se encontra nos grãos de café. Nos níveis de ingestão associados ao consumo habitual de café, a cafeína parece exercer a maioria dos seus efeitos fisiofarmacológicos através do antagonismo dos receptores da adenosina, nomeadamente dos subtipos A<sub>1</sub> e A<sub>2A</sub><sup>(4)</sup>. Sendo a adenosina um neuromodulador endógeno de efeitos predominantemente inibitórios, o antagonismo da adenosina pela cafeína resulta em efeitos predominantemente estimulantes. De entre os efeitos associados à administração de cafeína destacam-se a elevação da pressão arterial (efeito agudo), aumento da taxa metabólica e da diurese<sup>(7)</sup>. A cafeína é absorvida rapidamente na sua quase totalidade a nível estomacal e no intestino delgado, sendo distribuída a todos os tecidos, incluindo o cérebro. Cerca de 95 % do metabolismo primário da cafeína ocorre a nível hepático por acção do citocromo P450, isoforma CYP2A<sup>(8)</sup>. Para a maioria dos consumidores, a exposição a cafeína ocorre ao longo de toda a vida. A cafeína atravessa a placenta e, como a maioria das mulheres consome cafeína durante

coloca dificuldades adicionais no controlo da ingestão. As concentrações de cafeína oscilam nos chás entre 12,5 e 282,5mg/l, nos refrigerantes com extracto de cola e açúcar entre 88 e 171mg/l, nas versões light desses refrigerantes entre 81,5 e 124mg/l e nas bebidas energéticas entre 21 e 2175mg/l<sup>(13)</sup>.

### Diterpenos

Os diterpenos *cafestol* e *kahweol* encontram-se na fracção lipídica do café, sendo removidos quando o café é filtrado por papel ou algodão. O café não filtrado contém 1-2g de lipídeos por litro, dos quais cerca de 10% serão diterpenos<sup>(14)</sup>. Apesar da elevada concentração de diterpenos observada no café expresso, esta forma da bebida é uma fonte intermédia de *cafestol* e *kahweol* (4mg/chávena) dado o pequeno volume de cada dose. Estudos efectuados em doentes ileostomizados indicam que 70 % dos diterpenos presentes no café são absorvidos a nível intestinal<sup>(15)</sup>. O *cafestol* encontra-se nos grãos de café *arabica* e *robusta*, enquanto que o *kahweol* só se encontra nos grãos *arabica*. A ingestão de café rico em *cafestol*

**“No Homem, a ingestão de café melhora a resistência a alterações oxidativas das lipoproteínas de baixa densidade (LDL)...”**

foi associada a aumento na concentração plasmática da aminotransferase da alanina, o que parece sugerir que este diterpeno afecta as células hepáticas<sup>(16)</sup>. Ensaio controlados permitiram observar que os diterpenos eram responsáveis pelo efeito hipercolesterolemia associado ao consumo de café não filtrado<sup>(17)</sup>. Este efeito parece estar associado a aumentos da actividade da proteína de transferência dos ésteres de colesterol (CETP), da proteína de transferência de fosfolípidos (PLTP) e das proteínas de ligação ao elemento regulador dos esteróis (SREBPs). As SREBPs parecem ser os mediadores mais importantes neste efeito, dado o seu papel regulador do metabolismo do colesterol (na síntese de colesterol e na síntese dos seus receptores) e dos triacilgliceróis (na síntese de ácidos gordos e da lipase de lipoproteínas)<sup>(18)</sup>. Contudo, alguns estudos demonstraram que o café filtrado (com menor teor de diterpenos) poderia ter efeito hipercolesterolemia, apesar de menos potente quando comparado com café não filtrado. Este dado poderá justificar maior cuidado no consumo de café no doente com hiperlipidemia, independentemente da forma de preparação<sup>(3)</sup>.

### **Polifenóis**

Os ácidos clorogénicos constituem uma família de ésteres formados entre o ácido quínico e os ácidos trans-cinâmicos e constituem um importante grupo de fenóis da dieta. Do grupo dos ácidos clorogénicos, aquele que é mais frequentemente encontrado no café é o ácido 5-O-cafeoilquínico, sendo frequentemente designado como ácido clorogénico. Nos consumidores habituais, o café constitui a principal fonte alimentar de ácidos clorogénicos e de ácidos cinâmicos (ácido cafeico)<sup>(4)</sup>.

Vários trabalhos demonstraram que as infusões de café têm elevado teor de polifenóis e que estas bebidas estão entre os principais fornecedores de compostos antioxidantes na dieta em países como a Espanha, Itália ou Noruega<sup>(19)</sup>. Nos Estados Unidos da América são mesmo consideradas a principal fonte de antioxidantes da dieta<sup>(20)</sup>. Contudo, é de salientar que o poder antioxidante

das infusões de café não resulta unicamente da presença destes polifenóis mas também da presença de cafeína e produtos de reacções de Maillard, como as melanoidinas formadas no processo de torrefacção do café. As infusões de café obtidas em máquinas “expresso” têm maior poder antioxidante do que as obtidas por outros métodos, o que resulta da utilização de café torrefacto, com maior teor de melanoidinas, e do método de preparação (temperatura e pressão elevada<sup>(19)</sup>). No Homem, a ingestão de café melhora a resistência a alterações oxidativas das lipoproteínas de baixa densidade (LDL), parecendo resultar este efeito da rápida incorporação de compostos fenólicos do café nas LDL<sup>(21)</sup>. Alguns estudos epidemiológicos sugerem que a ingestão habitual de café está inversamente relacionada com a tolerância oral à glicose, apesar de se saber que a exposição aguda à cafeína diminui a tolerância à glicose e a sensibilidade à insulina<sup>(22)</sup>. Este aparente paradoxo poderá ser explicado pela inibição da fosfatase do fosfato de glicose-6 e da absorção intestinal da glicose pelos compostos fenólicos do café, bem como pela maior ingestão de magnésio e aumento do dispêndio energético associados à ingestão do café. Contudo, não é ainda possível defender o consumo do café como forma de prevenir a diabetes tipo 2<sup>(4)</sup>.

**“Aplicando o princípio da precaução, será de recomendar aos doentes com hipertensão, hiper-colesterolemia e/ou hiper-homocisteinemia uma redução da ingestão de café e/ou de bebidas contendo cafeína.”**

### **Consumo de café e factores de risco cardiovascular**

#### **Hipertensão arterial**

A ingestão aguda de cafeína, nas doses habituais de consumo, aumenta a pressão arterial tanto nos indivíduos normotensos como nos hipertensos<sup>(10)</sup>. Uma dose de cafeína equivalente a duas ou três chávenas de café (200-250mg) aumenta a pressão arterial sistólica de 3 a 14mmHg e a pressão arterial diastólica de 4 a 13mmHg<sup>(23)</sup>. Uma meta-

-análise incluindo 18 ensaios clínicos randomizados, com um tempo médio de consumo de café de 43 dias e uma mediana de ingestão de 725ml/d, demonstrou um aumento significativo da pressão arterial sistólica (+ 1,2mmHg), o que não ocorreu com a pressão arterial diastólica (+ 0,5mmHg). Não é ainda clara a razão pela qual o efeito pressor da cafeína, em doses semelhantes, é maior quando esta é administrada sob a forma de cápsulas do que na forma de café<sup>(4)</sup>. Aparentemente, o efeito pressor da cafeína é mais pronunciado nos indivíduos hipertensos<sup>(23,24)</sup>. Apesar de o consumo habitual de cafeína resultar num certo grau de tolerância ao efeito pressor deste composto, os resultados de vários ensaios clínicos sugerem que esta tolerância não é completa, mesmo nos consumidores diários de café<sup>(10,25)</sup>.

consumo de café filtrado praticamente não alterava estes parâmetros. Os mecanismos envolvidos neste processo já foram atrás descritos. O consumo de café fervido aumentava o colesterol total em 23mg/dl e o colesterol LDL em 14mg/dl, enquanto que o consumo de café filtrado aumentava o colesterol LDL em 3mg/dl não afectando as concentrações do colesterol total<sup>(29)</sup>.

#### Homocisteína total no plasma

Valores elevados de homocisteína total no plasma (HTP) têm sido associados com um maior risco de doença cardiovascular, não sendo ainda claro se a relação é causal<sup>(30)</sup>. Os resultados de ensaios clínicos controlados confirmaram que a ingestão de elevadas doses de café

**“...o consumo de café fervido aumentava de forma dependente da dose a concentração sérica de colesterol LDL e colesterol total, enquanto que o consumo de café filtrado praticamente não alterava estes parâmetros.”**

Num dado dia, a magnitude da elevação da pressão arterial induzida por cada dose sucessiva de bebida com cafeína é quase inversamente proporcional ao número de doses consumidas nesse dia. Isto é, para o consumidor individual, a reactividade hemodinâmica é menor a partir da segunda chávena de café<sup>(26)</sup>. Contudo, a sensibilidade hemodinâmica à primeira chávena de café é recuperada na sua quase totalidade após uma noite de abstinência<sup>(27)</sup>. Este dado pode assumir maior importância no caso de doentes hipertensos, mesmo se medicados, pois é exactamente no período do início da manhã que a eficácia da terapêutica anti-hipertensora é menor e que o risco de acidente vascular cerebral é maior<sup>(28)</sup>. Os estudos sobre os efeitos do consumo de café por longos períodos na pressão arterial e no risco de desenvolver hipertensão têm dado resultados pouco claros e por vezes contraditórios. Contudo, num ponto os vários estudos epidemiológicos sobre o tema parecem concordar, sendo este que o efeito do consumo de café no desenvolvimento de hipertensão é provavelmente diminuto<sup>(4)</sup>.

#### Colesterol LDL e colesterol total

Uma meta-análise de 14 ensaios controlados randomizados permitiu concluir que o consumo de café fervido aumentava de forma dependente da dose a concentração sérica de colesterol LDL e colesterol total, enquanto que o

aumenta as concentrações de HTP<sup>(31,32)</sup>. Quando indivíduos saudáveis consumiam diariamente, durante duas semanas, um litro de café não filtrado, as concentrações plasmáticas em jejum de HTP subiram 10 %. Quando esta experiência se realizou com café filtrado as concentrações plasmáticas em jejum de HTP subiram 18 %<sup>(32)</sup>. Por outro lado, a abstenção do consumo de café durante quatro semanas, em indivíduos que consumiam em média quatro chávenas de café filtrado por dia, resultou numa redução de 11 % de HTP em jejum<sup>(33)</sup>. Aparentemente o aumento da HTP poderá ser atribuído ao ácido clorogénico e à cafeína<sup>(34,35)</sup>. A suplementação com ácido fólico evita o aumento da HTP tanto em indivíduos saudáveis<sup>(36)</sup> como em homocigotos para o polimorfismo C677T da redutase do tetra-hidrofolato de metionina, sendo que este último grupo é mais sensível aos aumentos da HTP mediados pelo consumo de café<sup>(37)</sup>. Não é ainda claro se os níveis mais elevados da HTP associados ao consumo de café aumentam o risco cardiovascular, sublinhando-se que uma ingestão adequada de folatos ou a sua suplementação poderão evitar este efeito.

#### Conclusões

Apesar de em quase todos os artigos que se debruçam sobre o tema da ingestão de café e saúde, a conclusão é a de que são necessários mais trabalhos para esclarecer

## Café e factores de risco de doença cardiovascular

a questão, pelo que acima foi descrito podemos concluir que a ingestão de café pode agravar alguns factores de risco cardiovascular. Aplicando o princípio da precaução, será de recomendar aos doentes com hipertensão, hiper-colesterolemia e/ou hiper-homocisteinemia uma redução da ingestão de café e/ou de bebidas contendo cafeína. No caso dos doentes hipertensos, a maior sensibilidade à cafeína da primeira toma do dia, associada à menor cobertura terapêutica habitual no início da manhã, podem justificar o adiamento do primeiro café do dia para depois do almoço! Tendo em conta a enorme variabilidade nas doses de cafeína presentes nos vários tipos de bebidas de café e bebidas energéticas, será necessário alertar os doentes para este facto de forma a evitar a ingestão de elevadas quantidades de cafeína. Nos doentes com dislipidemia poderá ser interessante a adopção de café filtrado. A indústria poderá ponderar a preparação de café expresso recorrendo a “pastilhas” que, contendo filtros de papel, reduzam o teor de diterpenos no café. Nos doentes com hiper-homocisteinemia a adequação da ingestão de folatos parece ser a solução mais sensata.

*José Alejandro Ribeiro dos Santos*

### Bibliografia

1. Campos H, Baylin A. Coffee consumption and risk of type 2 diabetes and heart disease. *Nutr Rev.* 2007 Apr;65(4):173-9.
2. Bonita JS, Mandarano M, Shuta D, Vinson J. Coffee and cardiovascular disease: in vitro, cellular, animal, and human studies. *Pharmacol Res.* 2007 Mar;55(3):187-98.
3. Rodrigues IM, Klein LC. Boiled or filtered coffee? Effects of coffee and caffeine on cholesterol, fibrinogen and C-reactive protein. *Toxicol Rev.* 2006;25(1):55-69.
4. Higdon JV, Frei B. Coffee and health: a review of recent human research. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2006;46(2):101-23.
5. Parliament TH, Stahl HB. What makes the coffee smell so good? *Chemical Technology.* 1995;25(8):38-47.
6. Daglia M, Papetti A, Gregotti C, Berte F, Gazzani G. In vitro antioxidant and ex vivo protective activities of green and roasted coffee. *J Agric Food Chem.* 2000 May;48(5):1449-54.
7. Carrillo JA, Benitez J. Clinically significant pharmacokinetic interactions between dietary caffeine and medications. *Clin Pharmacokinet.* 2000 Aug;39(2):127-53.
8. Magkos F, Kavouras SA. Caffeine use in sports, pharmacokinetics in man, and cellular mechanisms of action. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2005;45(7-8):535-62.
9. Dumas M, Gouyon JB, Tenenbaum D, Michiels Y, Escousse A, Alison M. Systematic determination of caffeine plasma concentrations at birth in preterm and full-term infants. *Dev Pharmacol Ther.* 1982;4 Suppl:182-6.
10. James JE. Critical review of dietary caffeine and blood pressure: a relationship that should be taken more seriously. *Psychosom Med.* 2004 Jan-Feb;66(1):63-71.
11. Azevedo A, Barros H. Coffee and myocardial infarction: heterogeneity of an association in Portuguese men. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2006 Apr;13(2):268-73.
12. Survey of Caffeine Levels in Hot Beverages. United Kingdom: Food Standards Agency; 2004.
13. Pena A, Lino C, Silveira MI. Survey of caffeine levels in retail beverages in Portugal. *Food Addit Contam.* 2005 Feb;22(2):91-6.
14. Ratnayake WM, Hollywood R, O'Grady E, Stavric B. Lipid content and composition of coffee brews prepared by different methods. *Food Chem Toxicol.* 1993 Apr;31(4):263-9.
15. De Roos B, Meyboom S, Kosmeijer-Schuil TG, Katan MB. Absorption and urinary excretion of the coffee diterpenes cafestol and kahweol in healthy ileostomy volunteers. *J Intern Med.* 1998 Dec;244(6):451-60.
16. Urgert R, Essed N, van der Weg G, Kosmeijer-Schuil TG, Katan MB. Separate effects of the coffee diterpenes cafestol and kahweol on serum lipids and liver aminotransferases. *Am J Clin Nutr.* 1997 Feb;65(2):519-24.
17. Ranheim T, Halvorsen B. Coffee consumption and human health--beneficial or detrimental?--Mechanisms for effects of coffee consumption on different risk factors for cardiovascular disease and type 2 diabetes mellitus. *Mol Nutr Food Res.* 2005 Mar;49(3):274-84.

18. Horton JD, Shah NA, Warrington JA, Anderson NN, Park SW, Brown MS, et al. Combined analysis of oligonucleotide microarray data from transgenic and knockout mice identifies direct SREBP target genes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003 Oct 14;100(21):12027-32.
19. Lopez-Galilea I, De Pena MP, Cid C. Correlation of selected constituents with the total antioxidant capacity of coffee beverages: influence of the brewing procedure. *J Agric Food Chem*. 2007 Jul 25;55(15):6110-7.
20. Vinson JA, Proch J, Bose P, Muchler S, Taffera P, Shuta D, et al. Chocolate is a powerful ex vivo and in vivo antioxidant, an antiatherosclerotic agent in an animal model, and a significant contributor to antioxidants in the European and American Diets. *J Agric Food Chem*. 2006 Oct 18;54(21):8071-6.
21. Natella F, Nardini M, Belevi F, Scaccini C. Coffee drinking induces incorporation of phenolic acids into LDL and increases the resistance of LDL to ex vivo oxidation in humans. *Am J Clin Nutr*. 2007 Sep;86(3):604-9.
22. van Dam RM, Hu FB. Coffee consumption and risk of type 2 diabetes: a systematic review. *Jama*. 2005 Jul 6;294(1):97-104.
23. Nurminen ML, Niittynen L, Korpela R, Vapaatalo H. Coffee, caffeine and blood pressure: a critical review. *Eur J Clin Nutr*. 1999 Nov;53(11):831-9.
24. Hartley TR, Sung BH, Pincomb GA, Whitsett TL, Wilson MF, Lovallo WR. Hypertension risk status and effect of caffeine on blood pressure. *Hypertension*. 2000 Jul;36(1):137-41.
25. Denaro CP, Brown CR, Jacob P, 3rd, Benowitz NL. Effects of caffeine with repeated dosing. *Eur J Clin Pharmacol*. 1991;40(3):273-8.
26. Goldstein IB, Shapiro D, Hui KK, Yu JL. Blood pressure response to the "second cup of coffee". *Psychosom Med*. 1990 May-Jun;52(3):337-45.
27. James JE. Is habitual caffeine use a preventable cardiovascular risk factor? *Lancet*. 1997 Jan 25;349(9047):279-81.
28. Dahlof B. Prevention of stroke in patients with hypertension. *Am J Cardiol*. 2007 Aug 6;100(3A):17J-24J.
29. Jee SH, He J, Appel LJ, Whelton PK, Suh I, Klag MJ. Coffee consumption and serum lipids: a meta-analysis of randomized controlled clinical trials. *Am J Epidemiol*. 2001 Feb 15;153(4):353-62.
30. Splaver A, Lamas GA, Hennekens CH. Homocysteine and cardiovascular disease: biological mechanisms, observational epidemiology, and the need for randomized trials. *Am Heart J*. 2004 Jul;148(1):34-40.
31. Grubben MJ, Boers GH, Blom HJ, Broekhuizen R, de Jong R, van Rijt L, et al. Unfiltered coffee increases plasma homocysteine concentrations in healthy volunteers: a randomized trial. *Am J Clin Nutr*. 2000 Feb;71(2):480-4.
32. Urgert R, van Vliet T, Zock PL, Katan MB. Heavy coffee consumption and plasma homocysteine: a randomized controlled trial in healthy volunteers. *Am J Clin Nutr*. 2000 Nov;72(5):1107-10.
33. Christensen B, Mosdol A, Retterstol L, Landaas S, Thelle DS. Abstention from filtered coffee reduces the concentrations of plasma homocysteine and serum cholesterol--a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*. 2001 Sep;74(3):302-7.
34. Verhoef P, Pasman WJ, Van Vliet T, Urgert R, Katan MB. Contribution of caffeine to the homocysteine-raising effect of coffee: a randomized controlled trial in humans. *Am J Clin Nutr*. 2002 Dec;76(6):1244-8.
35. Olthof MR, Hollman PC, Zock PL, Katan MB. 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*. 2001 Mar;73(3):532-8.
36. Strandhagen E, Landaas S, Thelle DS. Folic acid supplement decreases the homocysteine increasing effect of filtered coffee. A randomised placebo-controlled study. *Eur J Clin Nutr*. 2003 Nov;57(11):1411-7.
37. Strandhagen E, Zetterberg H, Aires N, Palmer M, Rymo L, Blennow K, et al. The methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism is a major determinant of coffee-induced increase of plasma homocysteine: a randomized placebo controlled study. *Int J Mol Med*. 2004 Jun;13(6):811-5.