



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«Γονίδια Προδιάθεσης για την Κατανάλωση Καφέ»



Ευαγγελία Καραγλάνη
Α.Μ. 20809

ΑΘΗΝΑ 2014

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«Γονίδια Προδιάθεσης για την Κατανάλωση Καφέ»

Ευαγγελία Καραγλάνη Α.Μ. 20809



ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:

Γεώργιος Δεδούσης, Καθηγητής Χαροκόπειου Πανεπιστημίου

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Γεώργιος Δεδούσης, Καθηγητής Χαροκόπειου Πανεπιστημίου

Γιαννακούλια Μαίρη, Επίκουρη Καθηγήτρια Χαροκόπειου Πανεπιστημίου

Μανιός Ιωάννης, Αναπληρωτής Καθηγητής Χαροκόπειου Πανεπιστημίου

ΑΘΗΝΑ 2014

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμότατα τον επιβλέποντα καθηγητή μου, Γεώργιο Δεδούση, Καθηγητή Κυτταρικής και Μοριακής Βιολογίας του Ανθρώπου του τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής του Χαροκόπειου Πανεπιστημίου, για την ανάθεση του συγκεκριμένου θέματος, την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με τον τομέα της διατροφογενετικής.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω στην υποψήφια διδάκτορα του τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής του Χαροκόπειου Πανεπιστημίου, Μελίνα Δημητρίου, για την εξαιρετική συνεργασία μας καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας εργασίας, χωρίς την πολύτιμη υποστήριξη και βοήθεια της οποίας δεν θα μπορούσε να ολοκληρωθεί η εργασία αυτή.

Τέλος, ευχαριστώ θερμά την υποψήφια διδάκτορα του τμήματος Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής του Χαροκόπειου Πανεπιστημίου, Νάνα Καλαφάτη, για τη σημαντική βοήθεια της στις γενετικές αναλύσεις και στατιστική επεξεργασία της παρούσας εργασίας.

Ο καφές, καυτός σαν κόλαση, γλυκός σαν την αγάπη,
μου δίνει έναν πόνο που συνοδεύεται από ηδονή.
Προτιμώ, όμως, να υποφέρω, παρά να μην νιώθω τίποτα...

Ναπολέον Βοναπάρτης
«Κατακτητής του Κόσμου»

Αφιερωμένη στους γονείς μου,
την αδελφή μου Μακρίνα & το Γιάννη

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	viii
ABSTRACT	x
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	xii
A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1. ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ	1
1. 1 Επιδημιολογικά Δεδομένα	1
1. 2 Παράγοντες Κινδύνου για Καρδιαγγειακά Νοσήματα.....	4
1. 3 Γενετική Προδιάθεση για Καρδιαγγειακά Νοσήματα.....	5
1. 4 Διατροφική Πρόσληψη και Καρδιαγγειακά Νοσήματα	7
2. ΚΑΦΕΣ.....	9
2. 1 Μια Σύντομη Ανασκόπηση στο Φυτό του Καφέ	9
2. 2 Επιδημιολογία της Κατανάλωσης Καφέ.....	10
2. 3 Συστατικά του Καφέ.....	11
2. 4 Διατροφικές Συνήθειες σε σχέση με την Κατανάλωση Καφέ	15
2. 5 Γενετική Προδιάθεση για Κατανάλωση Καφέ	17
2. 6 Κατανάλωση Καφέ και Καρδιαγγειακός Κίνδυνος.....	18
2. 6. 1 Οξείες και Μακροχρόνιες Επιδράσεις της Κατανάλωσης Καφέ.....	20
2. 7 Κατανάλωση Καφέ και Ενδιάμεσοι Παράγοντες Καρδιαγγειακού Κινδύνου	22
2. 7. 1 Καφές και Υπέρταση.....	22
2. 7. 2 Καφές και Λιπίδια Ορού	23
2. 7. 3 Καφές και Ευαισθησία στην Ινσουλίνη	23
2. 7. 4 Καφές και Κάπνισμα	24
2. 7. 5 Καφές και Επίπεδα Ομοκυστεΐνης Πλάσματος και Δεικτών Φλεγμονής	24
2. 8 Αλληλεπίδραση Γονιδίων και Καφέ στον Καρδιαγγειακό Κίνδυνο	25
B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	29
1. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	29
2. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	30

2. 1 Δείγμα της Μελέτης.....	30
2. 2 Συλλογή Στοιχείων	32
2. 2. 1 Ατομικό και Οικογενειακό Ιατρικό Ιστορικό	32
2. 2. 2 Δημογραφικά Στοιχεία	32
2. 2. 3 Ανθρωπομετρικά Χαρακτηριστικά	32
2. 2. 4 Εκτίμηση Επιπέδου Φυσικής Δραστηριότητας	33
2. 2. 5 Δεδομένα Τρόπου Ζωής και Διατροφικές Συνήθειες	34
2. 2. 6 Αιμόληψία και Εργαστηριακές Αναλύσεις	35
2. 2. 7 Αξιολόγηση Παραγόντων Κινδύνου	35
2. 3 Απομόνωση DNA.....	36
2. 3. 1 Αρχή της Μεθόδου.....	36
2. 4 Γονοτύπηση σε Μικροσυστοιχίες - METABOCHIP	36
3. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	38
Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	39
1. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ.....	39
2. ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ	41
3. ΕΛΕΓΧΟΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΩΝ.....	47
4. ΓΕΝΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ.....	51
Δ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	65
Ε. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	71

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα αποτελούν την κυριότερη αιτία θανάτου στους ενήλικες άνδρες και γυναίκες παγκοσμίως. Ανάμεσα στους ποικίλους παράγοντες κινδύνου, οι γενετικοί και οι διατροφικοί παράγοντες παίζουν ρόλο-κλειδί στην παθογένεια τους. Πολλές επιδημιολογικές μελέτες έχουν εξετάσει, τα τελευταία χρόνια, εκτενώς τις επιδράσεις της κατανάλωσης καφέ, του πιο ευρέως διαδεδομένου ροφήματος παγκοσμίως, στον καρδιαγγειακό κίνδυνο, ωστόσο το ζήτημα παραμένει αμφιλεγόμενο.

Σκοπός

Αρκετά είναι τα γονίδια και συγκεκριμένοι πολυμορφισμοί που έχουν συσχετιστεί, αφενός, με την εξατομικευμένη προτίμηση για κατανάλωση καφέ και αλληλεπιδρούν, αφετέρου, με αυτήν ως προς τον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων. Σκοπός της παρούσας εργασίας, που αποτελεί μέρος της μελέτης THISEAS, ήταν η εξέταση αυτών των πολυμορφισμών ως προς την αλληλεπίδρασή τους με την κατανάλωση καφέ στον κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου και εμφράγματος του μυοκαρδίου, καθώς επίσης ως προς το ρόλο τους στη γενετική προδιάθεση του πληθυσμού για κατανάλωση καφέ.

Μεθοδολογία

Η εργασία (μέρος της μελέτης THISEAS) αποτελεί μια μελέτη ασθενών-μαρτύρων, δείγματος 784 ατόμων, στους οποίους αξιολογήθηκαν ατομικά, ανθρωπομετρικά και δημογραφικά δεδομένα, ενώ πραγματοποιήθηκε κλινική εξέταση και αιμοληψία. Η απομόνωση βιολογικών υλικών περιελάμβανε γενετικό υλικό DNA, στο οποίο ακολούθησε γονοτύπηση σε μικροσυστοιχίες Metabochip. Πραγματοποιήθηκαν αναλύσεις και επεξεργασία των δεδομένων, καθώς και στατιστική ανάλυση των γενετικών δεδομένων, λαμβάνοντας υπόψη ποικίλους συγχυτικούς παράγοντες όπως ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, κάπνισμα, φυσική δραστηριότητα, ενεργειακή πρόσληψη κ.ά.

Αποτελέσματα

Πέντε πολυμορφισμοί (SNP's) επιλέχθηκαν, τελικά, προς ανάλυση: οι rs2472297, rs6495122, rs4680, rs6968554 και rs11072505. Κανένα SNP δεν βρέθηκε να επιδρά

στατιστικά σημαντικά στην εμφάνιση ΣΝ ή/και ΕΜ, ούτε να αλληλεπιδρά με την κατανάλωση καφέ στον καρδιαγγειακό κίνδυνο. Η παρουσία ενός Α αλληλομόρφου του rs2472297 έτεινε να αυξάνει την ημερήσια κατανάλωση καφέ ($b = 0,26$, $p = 0,03$), όμως, η ισχύς χανόταν με την παρουσία της φυσικής δραστηριότητας στους συγγχτικούς παράγοντες ($b = 0,21$, $p = 0,08$). Η αλληλεπίδραση κάθε C αλληλομόρφου του rs6495122 με την κατανάλωση καφέ φάνηκε να αυξάνει την πιθανότητα ανάπτυξης δυσλιπιδαιμίας ($b = 0,62$, $p = 0,01$), ενώ το ίδιο αποτέλεσμα φάνηκε να έχει και στην αύξηση των επιπέδων της ολικής και LDL χοληστερόλης αίματος ($b = 5,5$, $p = 0,004$ και $b = 3,9$, $p = 0,02$, αντίστοιχα). Εκτός από το rs6495122, κάθε Α αλληλομόρφο του rs6968554 βρέθηκε, επίσης, ότι αλληλεπιδρά στατιστικά σημαντικά με την κατανάλωση καφέ στην αύξηση των επιπέδων της ολικής και LDL χοληστερόλης αίματος ($b = 6,2$, $p = 0,001$ και $b = 5,2$, $p = 0,001$, αντίστοιχα).

Συζήτηση

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας υποδεικνύουν δυο σημαντικά ευρήματα: αφενός, ότι η εξατομικευμένη κατανάλωση καφέ επηρεάζεται από το γονότυπο και, αφετέρου, ότι η κατανάλωση καφέ αλληλεπιδρά με το γονότυπο και προκαλεί σημαντικές επιπτώσεις στην υγεία. Επιπλέον έρευνα είναι απαραίτητη ώστε να επιβεβαιώσει τα ευρήματα αυτά και να τα επεκτείνει και σε άλλες πληθυσμιακές ομάδες. Ακόμα, είναι απαραίτητο να διερευνηθούν οι μηχανισμοί με τους οποίους συμβαίνουν αυτά, αλλά και τα συστατικά του καφέ τα οποία ευθύνονται για κάθε επίδραση του.

ABSTRACT

Background

Cardiovascular diseases are the leading cause of death in adult men and women worldwide. Among the various risk factors, genetic and nutritional factors play a key-role in their pathogenesis. Recently, many epidemiological studies have extensively examined the effects of coffee consumption, the most widespread beverage all over the world, on cardiovascular risk, but the issue remains controversial.

Objectives

Several genes and specific polymorphisms have been associated, on the one hand, with the individual preference for coffee drinking and interact, on the other hand, with it as to the risk of cardiovascular diseases. The main purpose of the present thesis, which is part of the THISEAS study, was to examine these polymorphisms as to their interaction with coffee consumption on the risk of developing CAD and MI, as well as to their role in the genetic predisposition for drinking coffee.

Method

The present work (part of the THISEAS study) is a case-control study with a sample of 784 people, on whom personal, anthropometric and demographic data were evaluated, while clinical examination was performed and blood samples were taken. The isolation of biological materials included DNA genetic material, which was genotyped in Metabochip microarrays. Data analyses and processing were then performed, as well as statistical analysis of genetic data, taking into account various confounding factors such as age, sex, BMI, smoking status, physical activity, energy intake etc.

Results

Five SNP's were finally selected to be analyzed: rs2472297, rs6495122, rs4680, rs6968554 and rs11072505. None of the SNP's was found to significantly affect the development of CAD and/or MI, nor to interact with coffee consumption on the cardiovascular risk. The presence of a single A allele of rs2472297 tended to increase daily coffee consumption ($b=0,26$, $p=0,03$), yet the power decreased when physical activity was taken as a confounder ($b=0,21$, $p=0,08$). The interaction of every single C allele of rs6495122 with coffee

drinking seemed to increase the probability of developing dyslipidemia ($b = 0,62$, $p = 0,01$), while it seemed to have the same result on the increase of the levels of total and LDL blood cholesterol ($b = 5,5$, $p = 0,004$ and $b = 3,9$, $p = 0,02$, respectively). Besides rs6495122, every single A allele of rs6968554 was found to also interact significantly with coffee consumption on the increase of the levels of total and LDL blood cholesterol ($b = 6,2$, $p = 0,001$ and $b = 5,2$, $p = 0,001$, respectively).

Discussion

The results of the present thesis suggest two important findings: firstly, that the individualized coffee consumption is affected by the genotype and, secondly, that coffee consumption interacts with the genotype causing significant impact on health. Further research is essential to replicate these findings and evaluate them in other population groups. Furthermore, it is needed to elucidate potential mechanisms by which these effects occur, as well as specific compounds of coffee that are responsible for any of its actions.

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

ΚΝ: Καρδιαγγειακά νοσήματα ή Καρδιαγγειακή Νόσος

ΣΝ: Στεφανιαία Νόσος

ΑΕΕ: Αγγειακό Εγκεφαλικό Επεισόδιο

ΕΜ: Έμφραγμα του Μυοκαρδίου

ΣΔ(2): Σακχαρώδης Διαβήτης (Τύπου 2)

HDL: Λιποπρωτεΐνη υψηλής πυκνότητας («Καλή Χοληστερόλη»)

LDL: Λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας («Κακή Χοληστερόλη»)

CRP: C – αντιδρώσα πρωτεΐνη

DNA: Δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ

ΚΝΣ: Κεντρικό Νευρικό Σύστημα

RDA: Συνιστώμενη Ημερήσια Πρόσληψη

SNP: Πολυμορφισμός ενός μόνο νουκλεοτιδίου

GWAS: Μελέτη Σάρωσης Ανθρώπινου Γονιδιώματος

WHO: Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας

USDA: United States Department of Agriculture

1. ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα (ΚΝ) αποτελούν την κυριότερη αιτία θανάτου στους ενήλικες άνδρες και γυναίκες παγκοσμίως. Αποτελούν ένα ευρύ φάσμα διαταραχών, οι οποίες προσβάλλουν την καρδιά και τα αιμοφόρα αγγεία και περιλαμβάνουν:

- τη στεφανιαία νόσο (ΣΝ) – ασθένεια των αιμοφόρων αγγείων που τροφοδοτούν τον καρδιακό μυ,
- την εγκεφαλοαγγειακή νόσο – ασθένεια των αιμοφόρων αγγείων που τροφοδοτούν τον εγκέφαλο,
- τη ρευματική καρδιοπάθεια – βλάβη στον καρδιακό μυ και τις καρδιακές βαλβίδες από ρευματικό πυρετό, που προκαλείται από στρεπτοκοκκικά βακτήρια,
- τη συγγενή καρδιοπάθεια – δυσπλασίες στη δομή της καρδιάς που υπάρχουν από τη γέννηση,
- την περιφερική αρτηριοπάθεια – ασθένεια των αιμοφόρων αγγείων που τροφοδοτούν τα άκρα,
- την εν τω βάθει φλεβοθρόμβωση και πνευμονική εμβολή – θρόμβοι αίματος στις φλέβες του ποδιού, οι οποίες μπορεί να αποκολληθούν και να μεταναστεύσουν στην καρδιά και τους πνεύμονες.

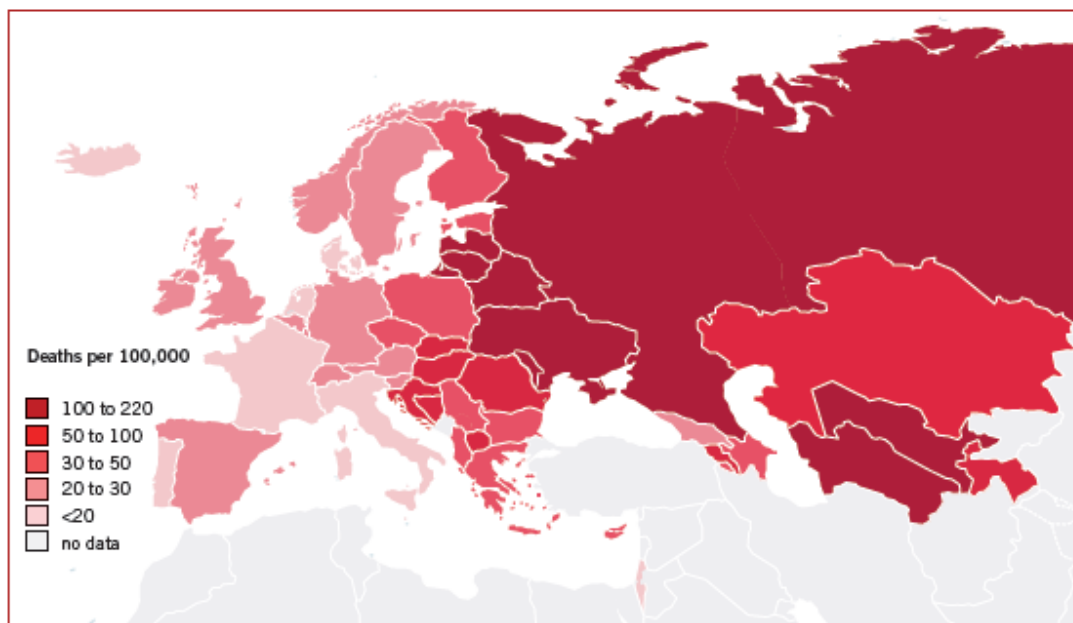
Οι καρδιακές προσβολές και τα εμφράγματα είναι, συνήθως, οξεία επεισόδια και προκαλούνται, κυρίως, από μια απόφραξη που εμποδίζει το αίμα να ρέει προς τον εγκέφαλο ή την καρδιά. Τα εμφράγματα μπορεί, επίσης, να προκληθούν από αιμορραγία ενός αιμοφόρου αγγείου στον εγκέφαλο ή από θρόμβους του αίματος [1].

1. 1 Επιδημιολογικά Δεδομένα

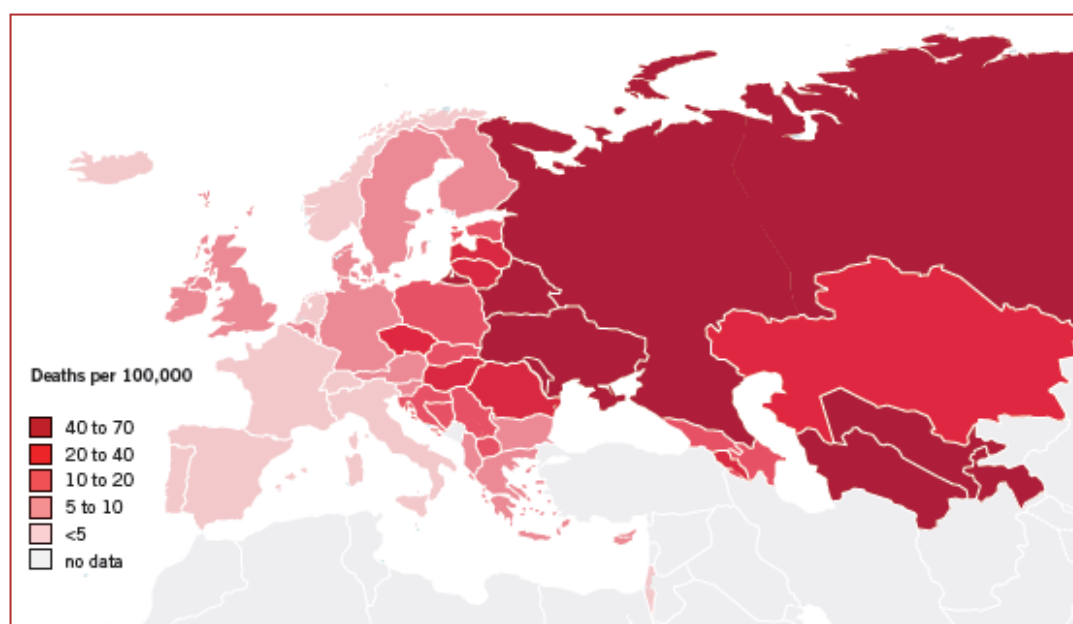
Υπολογίζεται ότι, το έτος 2008, 17,5 εκατομμύρια άνθρωποι πέθαναν από ΚΝ, αντιπροσωπεύοντας το 39 % των θανάτων κάτω της ηλικίας των 70 ετών. Η πλειοψηφία των θανάτων αυτών σημειώνεται στις αναπτυσσόμενες χώρες [2]. Υπολογίζεται ότι μέχρι

το 2030, περισσότεροι από 23 εκατομμύρια άνθρωποι θα χάσουν τη ζωή τους εξαιτίας ΚΝ [3]. Στην Ευρώπη, τα καρδιαγγειακά ευθύνονται για πάνω από 4 εκατομμύρια θανάτους κάθε χρόνο, όπως επίσης στην Ευρωπαϊκή Ένωση ευθύνονται για 1,9 εκατομμύρια θανάτους κάθε χρόνο. Σχεδόν οι μισοί (47 %) από το σύνολο των θανάτων προκαλούνται από ΚΝ (52 % των θανάτων στις γυναίκες και 42 % των θανάτων στους άνδρες), ενώ τα ΚΝ αποτελούν την κύρια αιτία θανάτου πριν την ηλικία των 65 ετών στην Ευρώπη. Οι κύριες μορφές ΚΝ είναι η στεφανιαία νόσος (ΣΝ) και το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο (ΑΕΕ). Η ΣΝ από μόνη της αποτελεί τη μοναδική πιο κοινή αιτία θανάτου στην Ευρώπη και την Ευρωπαϊκή Ένωση. Πάνω από μια στις πέντε γυναίκες (22 %) και ένας στους πέντε άνδρες (20 %) πεθαίνουν από τη νόσο. Το ΑΕΕ αποτελεί τη δεύτερη πιο κοινή αιτία θανάτου στην Ευρώπη και την Ευρωπαϊκή Ένωση, όπου πάνω από μια στις επτά γυναίκες (15 %) και ένας στους δέκα άνδρες (10 %) πεθαίνουν από τη νόσο. Τα ποσοστά θανάτου από ΣΝ και ΑΕΕ είναι γενικά υψηλότερα στις χώρες της κεντρικής και ανατολικής Ευρώπης (*Εικόνες 1 & 2*), σε σχέση με τις χώρες της βόρειας, της νότιας και της δυτικής Ευρώπης [4].

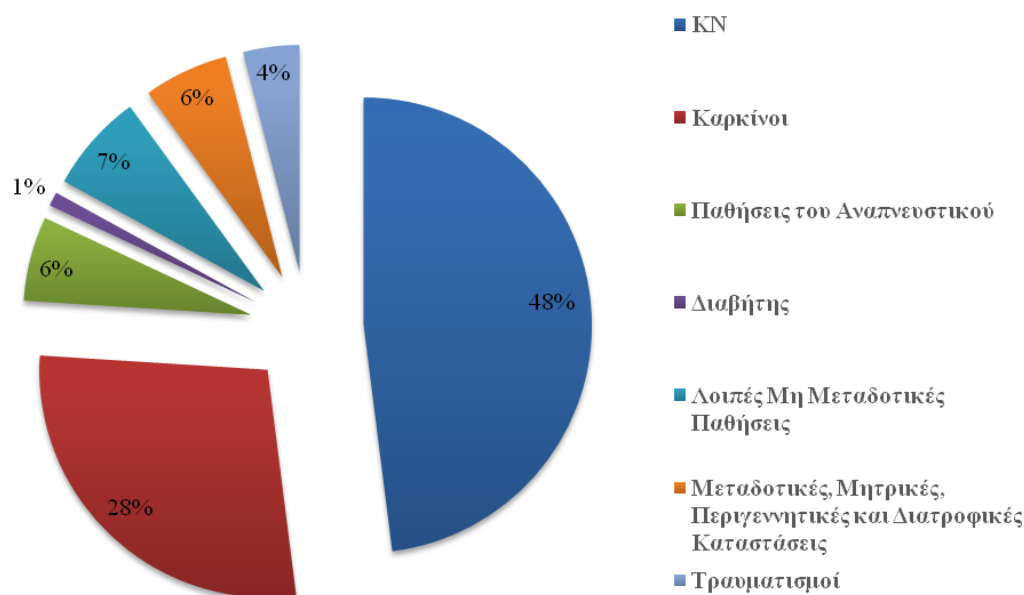
Στην Ελλάδα, το έτος 2001, το 56 % και το 45 % του συνόλου των θανάτων στις γυναίκες και τους άνδρες, αντίστοιχα, αποδόθηκε στα ΚΝ [5]. Η συχνότερη αιτία θανάτου μεταξύ των ΚΝ στις γυναίκες ήταν το ΑΕΕ, ενώ στους άνδρες ήταν η ΣΝ [6]. Το έτος 2003, σύμφωνα με την Εθνική Στατιστική Υπηρεσία της Ελλάδας, περίπου το 49 % των θανάτων που σημειώθηκαν οφείλονταν στις καρδιαγγειακές παθήσεις, με τη ΣΝ να αποτελεί την τρίτη αιτία θανάτου, ευθυνόμενη για το 13,3 % του συνόλου των θανάτων, ενώ πρώτη αιτία θανάτου αποτελούσε η νόσος των εγκεφαλικών αγγείων, που ευθυνόταν για το 17,5 % του συνόλου των θανάτων. Σύμφωνα με τον WHO, το έτος 2008, τα ποσοστά θανάτου από ΚΝ και ΣΔ ήταν 215 άνδρες στα 100.000 άτομα και 158 γυναίκες στα 100.000 άτομα (*Εικόνα 3*) [7].



Εικόνα 1: Ποσοστά θανάτου από ΣΝ, άνδρες κάτω των 65 ετών, Ευρώπη, τελευταίο διαθέσιμο έτος (European Cardiovascular Disease Statistics 2012)



Εικόνα 2: Ποσοστά θανάτου από ΣΝ, γυναίκες κάτω των 65 ετών, Ευρώπη, τελευταίο διαθέσιμο έτος (European Cardiovascular Disease Statistics 2012)



Εικόνα 3: Αναλογική θνησιμότητα στην Ελλάδα (% ολικών θανάτων, όλων των ηλικιών, WHO, 2008)

1. 2 Παράγοντες Κινδύνου για Καρδιαγγειακά Νοσήματα

Ο όρος παράγοντας κινδύνου περιγράφει εκείνα τα χαρακτηριστικά που σχετίζονται με την εμφάνιση πρώιμης καρδιαγγειακής νόσου. Τα καρδιαγγειακά αποτελούν μια πολυπαραγοντική νόσο με ευρεία ποικιλία παραγόντων κινδύνου, όπως υψηλή αρτηριακή πίεση, διαβήτη και υψηλή χοληστερόλη ορού. Η κληρονομικότητα παίζει κάποιον ρόλο στη ΣΝ και το ΑΕΕ, αλλά και τα δυο επηρεάζονται σημαντικά από παράγοντες του τρόπου ζωής, όπως η διατροφή, η φυσική δραστηριότητα και το κάπνισμα. Ένας συνηθισμένος τρόπος ταξινόμησης των παραγόντων κινδύνου για τα καρδιαγγειακά είναι η κατηγοριοποίηση τους σε τροποποιήσιμους (που μπορούν να προληφθούν ή να αντιμετωπιστούν) και μη τροποποιήσιμους παράγοντες κινδύνου (όπως η ηλικία), όπως φαίνεται στον Πίνακα 1 [8]. Πέρα από αυτούς, ορισμένοι επιπλέον παράγοντες που επηρεάζουν τον καρδιαγγειακό κίνδυνο είναι η εξατομικευμένη απόκριση στο στρες, η κατάχρηση αλκοόλ και η χρήση απαγορευμένων ουσιών.

Στις μέρες μας, έχουν προταθεί κάποιοι «νεότεροι» παράγοντες που φαίνεται να έχουν προγνωστική και ενδεχόμενα παθογενετική σημασία για την εμφάνιση πρώιμης

καρδιαγγειακής νόσου, που είναι οι εξής: υπερτροφία της αριστεράς κοιλίας, αυξημένα επίπεδα ομοκυστεΐνης πλάσματος, υπερτριγλυκεριδαιμία, αυξημένα επίπεδα λιποπρωτεΐνης α [Lp(a)], οξειδωτικό στρες, υπερπηκτικότητα και μειωμένη δραστηριότητα ινωδολυτικού μηχανισμού, δείκτες φλεγμονής (όπως C-αντιδρώσα πρωτεΐνη – CRP) και λοιμώδεις παράγοντες [9].

Όσο περισσότερους παράγοντες κινδύνου παρουσιάζει ένα άτομο, τόσο πιο επιρρεπές είναι στο να εκδηλώσει κάποια στιγμή ένα καρδιαγγειακό επεισόδιο. Ωστόσο, η παρουσία ενός παράγοντα κινδύνου δε συνεπάγεται πάντα και την εκδήλωση της νόσου, ενώ από την άλλη, ακόμα κι αν εμφανίσει κάποιος οξύ στεφανιαίο σύνδρομο είναι πιθανό να μην είχε παρουσιάσει παράγοντες κινδύνου.

Πίνακας 1: Τροποποιήσιμοι και Μη Τροποποιήσιμοι Παράγοντες Κινδύνου για Καρδιαγγειακά Νοσήματα.

Τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου	Μη τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου
○ Αρτηριακή Υπέρταση ○ Δυσλιπιδαιμία ○ Σακχαρώδης Διαβήτης ○ Παχυσαρκία ○ Κάπνισμα ○ Διατροφικές Συνήθειες ○ Σωματική Αδράνεια	○ Ηλικία ○ Φύλο ○ Κληρονομικότητα ○ Καρδιακό Επεισόδιο ή ΑΕΕ στο παρελθόν

Τροποποίηση από: Elisaf, 2001

1. 3 Γενετική Προδιάθεση για Καρδιαγγειακά Νοσήματα

Το γενετικό υπόβαθρο κάθε ατόμου έχει φανεί ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην ερμηνεία της διαφορετικής ευαισθησίας για ΚΝ που παρατηρείται μεταξύ των ανθρώπων. Γενετικές μελέτες σε διδύμους έχουν δείξει ότι η κληρονομικότητα ΣΝ σε άνδρες και γυναίκες κυμαίνεται στο 57 % και 38 %, αντίστοιχα. Σε νεότερα άτομα, έχει βρεθεί ότι η γενετική ποικιλομορφία συνεισφέρει κατά 20 έως 60 % στην αύξηση του κινδύνου για ΣΝ [10].

Πριν από δέκα χρόνια, περιγράφηκε για πρώτη φορά το Πρόγραμμα Αλληλουχίας του Ανθρώπινου Γονιδιώματος, διευρύνοντας την κατανόηση της συμβολής των γενετικών

παραγόντων στην ανάπτυξη καρδιαγγειακών παθήσεων [11]. Η συντριπτική πλειοψηφία των ΚΝ είναι πολυγονιδιακές, με κληρονομικούς αλλά και περιβαλλοντικούς παράγοντες κινδύνου [12]. Εκατοντάδες γενετικοί τόποι που σχετίζονται με διάφορες καρδιαγγειακές παθήσεις και χαρακτηριστικά έχουν αναγνωριστεί μέχρι σήμερα, ως αποτέλεσμα των μελετών σάρωσης του ανθρώπινου γονιδιώματος (Genome-wide Association Study – GWAS), οι οποίες περιλαμβάνουν έλεγχο ενός μεγάλου συνόλου γενετικών παραλλαγών σε ασθενείς και ομάδες ελέγχου από ένα μεγάλο δείγμα πληθυσμού, ώστε να προσδιορίσουν ποιοι πολυμορφισμοί σχετίζονται με την εκάστοτε ασθένεια [13].

Μέχρι το 2011, οι GWAS μελέτες είχαν αναγνωρίσει περίπου 35 γενετικούς τόπους που σχετίζονται με το έμφραγμα του μυοκαρδίου και τη στεφανιαία νόσο [10]. Οι Schunkert et al. 2011, σε μια μετά-ανάλυση 14 τέτοιων μελετών από το CARDIoGRAM Consortium, που περιελάμβαναν 22.233 ασθενείς με ΣΝ και 64.762 άτομα ελέγχου Ευρωπαϊκής καταγωγής, προσδιόρισαν 13 νέους γενετικούς τόπους που σχετίζονται με τη ΣΝ, επιπρόσθετα στην επιβεβαίωση των 10 από τους 12 ήδη αναγνωρισμένους τέτοιους τόπους [14]. Συγκεκριμένα, τα αλληλόμορφα κινδύνου των νέων γενετικών τόπων σχετίστηκαν με αύξηση στον στεφανιαίο κίνδυνο κατά 6-17 % ανά αλληλόμορφο. Τα γονίδια *ABO* και *ADAMTS7* βρέθηκε ότι σχετίζονται με την αθηροσκλήρωση, το *CNNM2* με την υψηλή αρτηριακή πίεση και το σύμπλεγμα του γονιδίου *APOA5* με αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων και χοληστερόλης.

Η πλειοψηφία των γενετικών τόπων που σχετίζονται με το ΕΜ βρίσκονται σε περιοχές του γονιδιώματος που δεν είχαν πρότερα εμπλακεί στη στεφανιαία νόσο. Μόνο μια μειοψηφία αυτών των τόπων μεσολαβούν τις επιδράσεις τους μέσω γνωστών παραγόντων κινδύνου. Μια δεύτερη μετά-ανάλυση GWAS μελετών, που περιελάμβανε πάνω από 30.000 ασθενείς και άτομα ελέγχου, κατέδειξε 4 επιπλέον νέους τόπους που σχετίζονται με τη στεφανιαία νόσο σε διάφορες εθνικότητες [15]. Μελέτες γύρω από την πρόωγη εμφάνιση ΕΜ έχουν αναγνωρίσει περισσότερους από 10 γενετικούς τόπους κινδύνου [16]. Ο πιο ισχυρά συσχετισμένος τόπος είναι ο 9p21 [17]. Μια μετά-ανάλυση που πραγματοποιήθηκε από το CARDIoGRAM Consortium (2010) υπέδειξε ότι το SNP rs1333049 στην περιοχή 9p21 αυξάνει τον κίνδυνο για ΕΜ κατά 29 % ανά αλληλόμορφο [18]. Αυτός ο τόπος περιλαμβάνει γονίδια (*CDKN2A* και *CDKN2B*) που εμπλέκονται στον κυτταρικό κύκλο και τον καρκίνο, παρόλο που οι μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNP's) που σχετίζονται με το ΕΜ δεν βρίσκονται κοντά σε αυτά ή σε άλλα γονίδια που κωδικοποιούν

για πρωτεΐνες, αλλά μάλλον σε ένα μόριο μη κωδικού RNA, που καλείται ANRIL (antisense noncoding RNA in the *INK4* locus). Η έκφραση του ANRIL και όχι του *CDKN2B* ή άλλων κοντινών γονιδίων, σχετίζεται με την αθηροσκλήρωση [19]. Τα SNP's του 9p21 σχετίζονται, επιπλέον, με άλλες καρδιαγγειακές παθήσεις, όπως εγκεφαλικό και αορτικό ανεύρυσμα. Το C4D Consortium (2009) προσδιόρισε 5 νέους τύπους, περιλαμβανομένου του γονιδίου της λιπάσης (*LIPA*) [16]. Το CARDIoGRAMplusC4D Consortium (2013) αύξησε τον αριθμό των παραλλαγών που σχετίζονται με τη ΣΝ σε 46 στον Καυκάσιο πληθυσμό [20].

GWAS μελέτες, με δείγματα μεγέθους που υπερβαίνουν τους 10.000 ασθενείς, έχουν ακόμα αναγνωρίσει γενετικούς τύπους που σχετίζονται με μείζονες παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου, όπως υπέρταση, LDL και HDL χοληστερόλη και τριγλυκερίδια, κάπνισμα, ΣΔ2 και παχυσαρκία, αλλά και με άλλους αναγνωρισμένους βιοδείκτες καρδιαγγειακού κινδύνου και προσυμπτωματικής στεφανιαίας νόσου, όπως CRP, ομοκυστεΐνη πλάσματος, ινωδογόνο [21].

1. 4 Διατροφική Πρόσληψη και Καρδιαγγειακά Νοσήματα

Πέρα από το γενετικό υπόβαθρο, σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση καρδιαγγειακών επεισοδίων παίζει και η διατροφή, καθώς επηρεάζει άλλους βιολογικούς παράγοντες κινδύνου, όπως τα επίπεδα των λιπιδίων, την αρτηριακή πίεση και το σωματικό βάρος. Τα τελευταία 40 χρόνια, πλήθος επιδημιολογικών και κλινικών ερευνών έχουν αναδείξει σημαντικούς διατροφικούς παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν τα επίπεδα λιπιδίων ορού, την διαδικασία σχηματισμού αθηρωματικών πλακών και την εμφάνιση ΣΝ. Η Μελέτη των Επτά Χωρών υπήρξε η πρώτη επιστημονική αναζήτηση για συσχέτιση των διατροφικών συνηθειών με την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου [22]. Στη μελέτη αυτή, χώρες με την υψηλότερη πρόσληψη κορεσμένων λιπαρών οξέων και τα υψηλότερα επίπεδα χοληστερόλης ορού εμφάνισαν την υψηλότερη θνησιμότητα λόγω ΣΝ. Από τότε, πολλές μελέτες έχουν διερευνήσει το ρόλο διαφόρων θρεπτικών συστατικών, τροφίμων αλλά και διατροφικών προτύπων σε σχέση με τον κίνδυνο για ΚΝ [23-29]. Σε μια πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση [30], όπου διερευνήθηκε η αιτιολογική σχέση μεταξύ διαφόρων διατροφικών παραγόντων και ΣΝ, βρέθηκαν ισχυρές ενδείξεις για την προστατευτική δράση της αυξημένης πρόσληψης λαχανικών και ξηρών καρπών, καθώς και της

υιοθέτησης της Μεσογειακής Διατροφής. Αντίθετα, ισχυρές ενδείξεις φάνηκε να υπάρχουν για την επιβαρυντική δράση της πρόσληψης trans-λιπαρών οξέων και τροφίμων υψηλού γλυκαιμικού δείκτη ή υψηλού γλυκαιμικού φορτίου. Μέτριας ισχύος ενδείξεις φάνηκε να υποστηρίζουν τον προστατευτικό ρόλο της κατανάλωσης ψαριών, της πρόσληψης ω-3 λιπαρών οξέων, φυλλικού οξέος, προϊόντων ολικής αλέσεως, βιταμινών C, E και β-καροτενίου από τη δίαιτα, της κατανάλωσης φρούτων και διαιτητικών ινών, καθώς και της μέτριας κατανάλωσης αλκοόλ στη ΣΝ. Σε πολλές περιπτώσεις, ωστόσο, τα αποτελέσματα μεταξύ των ερευνών παραμένουν αντιφατικά ως προς την προστατευτική ή μη δράση ορισμένων συστατικών, όπως το β-καροτένιο, η α-τοκοφερόλη, η βιταμίνη E και τα λιπαρά του πλήρους γάλακτος [31-36]. Επιπλέον, σε παλαιότερες μελέτες επικρατούσε η τάση ότι η κατανάλωση καφέ προκαλεί δυσμενείς επιπτώσεις στο καρδιαγγειακό σύστημα, συμπεριλαμβανομένου αυξημένου κινδύνου για ΕΜ [37, 38]. Ωστόσο, σε μεταγενέστερες αναλύσεις, όταν έγινε προσαρμογή για τον κίνδυνο θνησιμότητας ως προς άλλες σημαντικές μεταβλητές που αφορούν την υγεία (όπως το κάπνισμα, η κατανάλωση αλκοόλ, κορεσμένων λιπαρών, η φυσική δραστηριότητα και ο δείκτης μάζας σώματος), φάνηκε ότι τόσο ο ολικός όσο και ο καρδιαγγειακός κίνδυνος θνησιμότητας ήταν χαμηλότερος στα άτομα που έκαναν τακτική κατανάλωση καφέ [39, 40].

2. ΚΑΦΕΣ

Ο καφές αποτελεί ένα από τα πιο ευρέως διαδεδομένα ροφήματα παγκοσμίως. Παρόλο που επαινείται για το πλούσιο άρωμα και τη γεύση του, οι διεγερτικές επιδράσεις του, που οφείλει στην πλούσια φυτοχημική του σύσταση, παίζουν σημαντικό ρόλο στη δημοτικότητά του [41]. Τα ποικίλα συστατικά του καφέ του αποδίδουν διάφορες οξείες αλλά και μακροπρόθεσμες επιδράσεις στην υγεία του ανθρώπου, άλλοτε ωφέλιμες και άλλοτε επιβλαβείς [42].

2. 1 Μια Σύντομη Ανασκόπηση στο Φυτό του Καφέ

Ο καφές (*Εικόνα 4*) έχει μακρόχρονη ιστορία, αλλά οι πρώτες αξιόπιστες αποδείξεις είτε της κατανάλωσης καφέ είτε της γνώσης του φυτού του καφέ εμφανίζονται στα μέσα του 15^{ου} αιώνα στην Υεμένη [43]. Ήταν στην Αραβία εκεί όπου για πρώτη φορά οι κόκκοι του καφέ καβουρδίστηκαν και παρασκευάστηκαν, με τρόπο παρόμοιο με το σύγχρονο. Τον 17^ο αιώνα, ο καφές καταναλίσκονταν, κυρίως, από τις ανώτερες τάξεις των ευρωπαϊκών χωρών. Εκείνη την εποχή, επικρατούσε η αντίληψη ότι ο καφές διέθετε εκπληκτικά θετικά οφέλη για την υγεία, όπως ότι βοηθούσε στη χώνεψη, θεράπευε πονοκεφάλους, βήχα, φυματίωση, αρθρίτιδα, σκορβούτο και απέτρεπε τις αποβολές. Ωστόσο, πολλοί γιατροί προειδοποιούσαν πως προκαλούσε στειρότητα, ανικανότητα, παράλυση και θνησιγένεια. Τετρακόσια χρόνια αργότερα, ο καφές εξακολουθεί να προκαλεί ασυμφωνία στα επιστημονικά ευρήματα γύρω από τα πιθανά οφέλη και τους κινδύνους που ενέχει για την ανθρώπινη υγεία [44].



Εικόνα 4: Το φυτό του καφέ

Περισσότερες από 70 χώρες καλλιεργούν αυτό το φυτό σήμερα, αλλά η Βραζιλία, η Κολομβία, η Αιθιοπία, η Ινδονησία και το Βιετνάμ είναι οι κυρίαρχοι παραγωγοί [45]. Σημαντικό προϊόν εξαγωγής, ο καφές ήταν στην κορυφή των γεωργικών εξαγωγών για 12 χώρες το 2004 και η έβδομη μεγαλύτερη παγκοσμίως νόμιμη γεωργική εξαγωγή σε αξία το 2005 [46].

Το φυτό του καφέ ανήκει στην οικογένεια *Rubiaceae* και στο γένος *Coffea*. 70 διαφορετικά είδη του γένους *Coffea* είναι καταγεγραμμένα, αλλά τα πιο σημαντικά είναι τα *Coffea Arabica* (arabica coffee) και *Coffea Canephora* (robusta coffee) (Εικόνα 5).



Εικόνα 5: Οι δυο ποικιλίες καφέ, robusta & arabica

Αυτές οι δυο ποικιλίες διαφέρουν ως προς τη γεύση, την εμφάνιση και την περιεκτικότητα σε καφεΐνη. Όλα τα φυτά του καφέ είναι αειθαλείς θάμνοι ή μικρά δέντρα, που μπορεί να φτάσουν μέχρι και 5 m σε ύψος, εάν δεν κλαδευτούν. Τα φύλλα έχουν

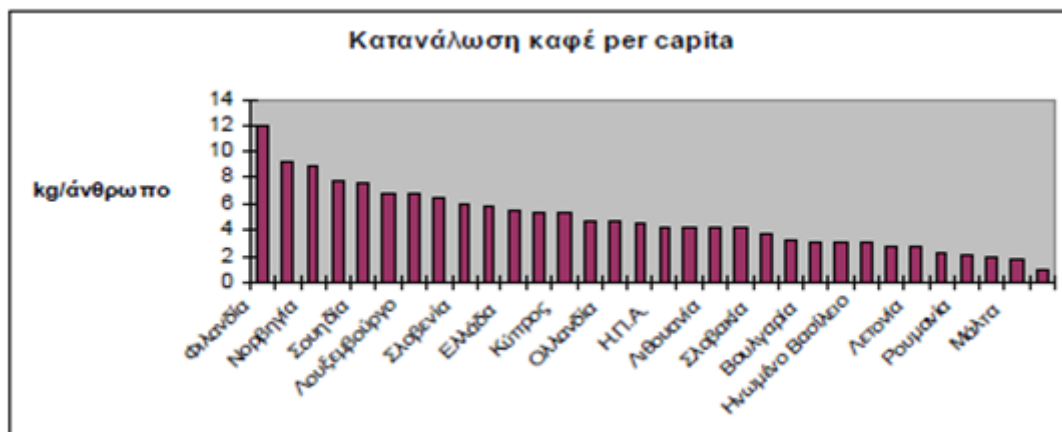
σκούρο πράσινο χρώμα και είναι γυαλιστερά. Σμήνη αρωματικών λευκών λουλουδιών ανθίζουν ταυτόχρονα και ακολουθούνται από οβάλ κόκκους περίπου 1,5 cm [47]. Πράσινοι όταν είναι ανώριμοι, ωριμάζουν σε κίτρινο και στη συνέχεια βυσσινί χρώμα, πριν καταλήξουν μαύροι κατά την ξήρανση. Οι κόκκοι arabica ωριμάζουν σε έξι έως οκτώ μήνες, ενώ οι κόκκοι robusta σε εννέα με έντεκα μήνες [48].

Μια σημαντική πλειονότητα των καταναλωτών προτιμά τον καφέ arabica σε σχέση με τον καφέ robusta [49]. Ο καφές robusta παράγει ένα κατώτερης γεύσης ρόφημα με μεγαλύτερη περιεκτικότητα καφεΐνης και πιο πικρή γεύση. Η περιεκτικότητα σε τοκοφερόλες, επίσης, του καφέ arabica είναι μεγαλύτερη από τον καφέ robusta [50]. Η επεξεργασία του καφέ περιλαμβάνει συλλογή των κόκκων, ξήρανση, καβούρδισμα, άλεσμα και παρασκευή για να αποδώσει τον τελικό καφέ. Η αποκαφεΐνοποίηση και το φιλτράρισμα γίνονται ορισμένες φορές για να απομακρύνουν συστατικά, όπως η καφεΐνη και λιπίδια. Σε όλη αυτή την επεξεργασία ο καφές υφίσταται διάφορες φυσικές και χημικές αλλαγές, όπως στη γεύση και τις αντιοξειδωτικές του ιδιότητες [51, 52].

2. 2 Επιδημιολογία της Κατανάλωσης Καφέ

Η παγκόσμια κατανάλωση καφέ κατά τη χρονιά 2009/10 ανήλθε σε 133,9 εκατομμύρια σακιά, όπου κάθε σακί περιέχει 60 kg καφέ. Πάνω από το 50 % των Αμερικανών ηλικίας 18 και άνω πίνουν καφέ σε ημερήσια βάση, ενώ 30 % του πληθυσμού πίνει καφέ περιστασιακά. Η μέση κατανάλωση καφέ στις ΗΠΑ είναι 3,2 φλιτζάνια/ημέρα, ενώ οι

άνδρες και οι γυναίκες κάνουν παρόμοια κατανάλωση [53]. Η μέση κατά κεφαλή κατανάλωση καφέ στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα ανέρχεται στα 5,1 kg το χρόνο και είναι παρόμοια με αυτή των ΗΠΑ (Εικόνα 6). Η Φινλανδία είναι πρώτη στη λίστα με τις χώρες με την μεγαλύτερη κατά κεφαλή κατανάλωση καφέ παγκόσμια, ενώ η Ελλάδα κατέχει την 11^η θέση, με αντίστοιχη μέση κατανάλωση καφέ που ανέρχεται στα 5,43 kg το χρόνο (περίπου 2,2 φλιτζάνια καφέ/άτομο/ημέρα) [54].



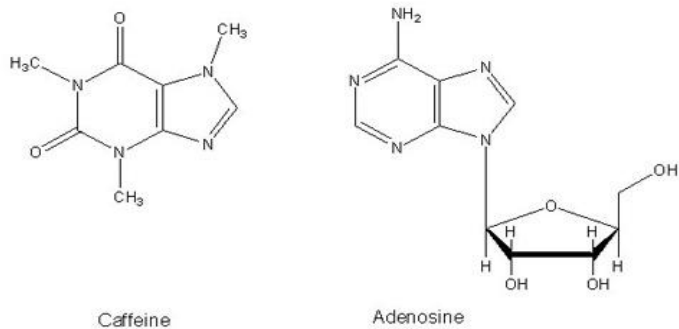
Εικόνα 6: Η παγκόσμια κατά κεφαλή κατανάλωση καφέ σε kg για το έτος 2009/2010. Πηγή: International Coffee Organization

2. 3 Συστατικά του Καφέ

Ο καφές είναι ένα σύνθετο χημικό μίγμα, που περιέχει περισσότερα από χίλια διαφορετικά χημικά συστατικά, όπως υδατάνθρακες, λιπίδια, αζωτούχες ενώσεις, βιταμίνες (όπως νικοτινικό οξύ ή B3), μέταλλα, ιχνοστοιχεία και ανόργανα στοιχεία (όπως σίδηρο, κάλιο, μαγνήσιο, νάτριο, φώσφορο και ασβέστιο), αλκαλοειδή (καφεΐνη, τριγονελλίνη) και φαινολικές ενώσεις [55]. Η καφεΐνη θεωρείται χωρίς αμφιβολία το βασικότερο και πιο ενεργό συστατικό του καφέ.

Η καφεΐνη είναι ένα αλκαλοειδές πουρίνης (1,3,7-τριμεθυλοξανθίνη) που βρίσκεται φυσιολογικά στους κόκκους του καφέ [56]. Είναι μια κρυσταλλική λευκή σκόνη με πικρή γεύση. Απομονώθηκε πρώτη φορά από τον καφέ το 1820. Σε επίπεδα πρόσληψης που σχετίζονται με την κατανάλωση καφέ, η καφεΐνη φαίνεται ότι ασκεί τις περισσότερες

βιολογικές επιδράσεις της μέσω ανταγωνισμού των A_1 και A_{2A} υποτύπων του υποδοχέα της αδενοσίνης (Εικόνα 7) [57]. Η αδενοσίνη είναι ένας ενδογενής νευρορρυθμιστής με ανασταλτικές κυρίως δράσεις. Ο ανταγωνισμός της αδενοσίνης από την καφεΐνη οδηγεί σε επιπτώσεις που είναι



Εικόνα 7: Οι χημικές δομές της καφεΐνης και της αδενοσίνης

γενικά διεγερτικές και περιλαμβάνουν: διέγερση του ΚΝΣ, αύξηση της αρτηριακής πίεσης, αύξηση του μεταβολικού ρυθμού και διούρηση [58]. Η καφεΐνη απορροφάται ταχέως και σχεδόν ολοκληρωτικά στο στομάχι και το λεπτό έντερο και μεταφέρεται σε όλους τους ιστούς, συμπεριλαμβανομένου του εγκεφάλου. Ο μεταβολισμός της συμβαίνει πρωτίστως στο ήπαρ, όπου η δραστηριότητα του ισόμορφου του κυτοχρώματος P450, CYP1A2, είναι υπεύθυνη για σχεδόν το 95 % του αρχικού μεταβολισμού της καφεΐνης [59, 60]. Ορισμένοι γενετικοί παράγοντες επηρεάζουν επίσης την ταχύτητα και την μεταβολική τύχη της καφεΐνης, καθώς οι επιδράσεις της είναι πιο έντονες στα άτομα που εμφανίζουν αργό μεταβολισμό της καφεΐνης [61]. Έχει φανεί ότι για ένα υγιές άτομο 65 kg, η κατανάλωση μιας ποσότητας καφεΐνης της τάξης των 400 mg ημερησίως δεν σχετίζεται με αρνητικά για την υγεία του αποτελέσματα [62]. Κάποιες ομάδες ατόμων, όμως, όπως τα παιδιά και οι έφηβοι, οι ηλικιωμένοι, οι εγκυμονούσες γυναίκες και οι υπερτασικοί, είναι πιθανό να είναι πιο ευαίσθητοι στις αρνητικές επιδράσεις της καφεΐνης. Τα ασφαλή όρια πρόσληψης καφεΐνης φαίνονται στον Πίνακα 2. Αντίφαση εξακολουθεί να υπάρχει, ωστόσο, στο γεγονός ότι υψηλή κατανάλωση καφέ οδηγεί σε αυξημένη πρόσληψη καφεΐνης, η οποία προκαλεί εξάρτηση, και διακοπή αυτής της συνήθειας επιφέρει συμπτώματα συνδρόμου στέρησης [63], όπως πονοκέφαλο, μειωμένη εγρήγορση και συγκέντρωση, καθώς επίσης καταθλιπτική διάθεση και οξυθυμία. Τα ωφέλιμα αποτελέσματα της καφεΐνης, από την άλλη, περιλαμβάνουν βελτιωμένη ψυχοκινητική ταχύτητα [64], διάθεση [65] και εγρήγορση [66]. Σε αρκετές μελέτες οι συμμετέχοντες αναφέρουν υψηλότερα επίπεδα εγρήγορσης και συγκέντρωσης μαζί με αυξημένη διάθεση για δουλειά [65, 67]. Ορισμένοι ερευνητές ερμηνεύουν τα θετικά αποτελέσματα της καφεΐνης με μια αντιστροφή των συμπτωμάτων στέρησης στους συνήθεις χρήστες [68, 69], αλλά αυτός ο ισχυρισμός έχει καταρριφθεί από μελέτες πρόσληψης καφεΐνης σε μη-συνήθεις χρήστες [70, 71]. Είναι, ακόμα, ξεκάθαρο ότι κάποιοι χρήστες βιώνουν αρνητικές

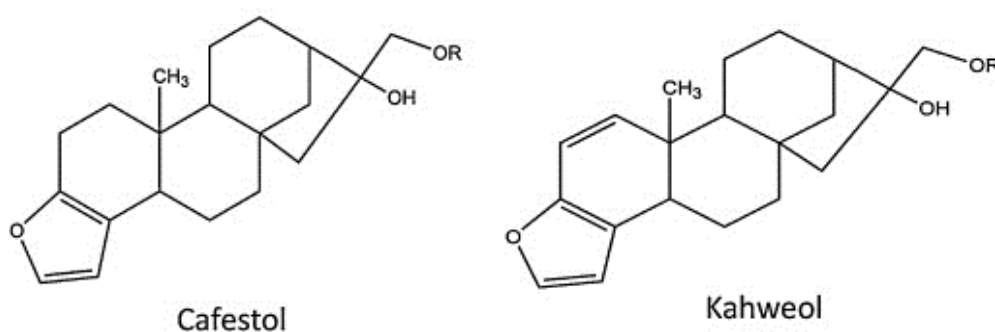
επιδράσεις, όπως αϋπνία, νευρική και δυσφορία [72, 73]. Η κατανάλωση καφεΐνης είναι γνωστό, επίσης, ότι ενέχει ρόλο στην αυτοκτονία [74].

Πίνακας 2: Ασφαλή όρια πρόσληψης καφεΐνης ανά ηλικία. Πηγή Nawrot et al., 2003.

Ηλικιακή ομάδα	Καφεΐνη (mg/ημ)
Υγιείς ενήλικες	400-450
Έγκυες γυναίκες	300
Παιδιά (4-6 ετών)	45

Ο καφές αποτελεί την πλουσιότερη πηγή καφεΐνης [41]. Σε έρευνα που διεξήχθη σχετικά με την πρόσληψη καφεΐνης από διαφορετικές πηγές, βρέθηκε ότι το 70 % της προσλαμβανόμενης καφεΐνης προέρχεται από τον καφέ, ενώ από τα αναψυκτικά και το τσάι είναι, αντίστοιχα, 16 και 12 % [75]. Η συγκέντρωση της καφεΐνης στα διάφορα ροφήματα καφέ ποικίλει. Ένα τυπικό φλιτζάνι καφέ συνήθως παρέχει 120-180 mg καφεΐνης, ενώ ένα φλιτζάνι ντεκαφεϊνέ καφέ περιέχει από 5 ως 15 mg καφεΐνης. Ωστόσο, σε μια πρόσφατη ανάλυση 14 διαφορετικών ποικιλιών καφέ που αγοράστηκαν σε μαγαζιά στις ΗΠΑ βρέθηκε ότι η ποσότητα καφεΐνης στα 240 mL παρασκευασμένου καφέ κυμαινόταν από 72-130 mg [76]. Η καφεΐνη στον καφέ espresso κυμαινόταν από 58-76 mg σε μια μονή δόση. Ενδιαφέρον ήταν το γεγονός ότι η περιεχόμενη καφεΐνη στον ίδιο τύπο καφέ από το ίδιο μαγαζί αγορασμένο σε έξι ξεχωριστές ημέρες ποίκιλε από 130 ως 282 mg ανά μερίδα των 240 mL.

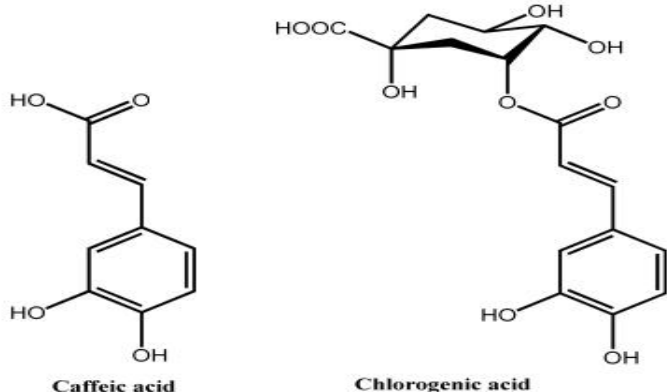
Άλλα συστατικά του καφέ, που έχουν απασχολήσει τους ερευνητές για τα θετικά ή αρνητικά αποτελέσματά τους στην ανθρώπινη υγεία, είναι οι διτερπενοειδείς αλκοόλες, καχεόλη και καφεστόλη (Εικόνα 8), που απομονώθηκαν πρώτη φορά στο έλαιο του καφέ. Η κατανάλωση καφέ έχει συσχετιστεί με υψηλότερα επίπεδα ολικής, LDL χοληστερόλης



Εικόνα 8: Οι χημικές δομές της καφεστόλης και της καχεόλης

ορού και τριγλυκεριδίων σε ορισμένες μελέτες παρατήρησης [77]. Τα διτερπένια αυτά εξάγονται από τον αλεσμένο καφέ κατά την παρασκευή, αλλά απομακρύνονται ως επί το πλείστον από τον καφέ με τα χάρτινα φίλτρα. Ο σκανδιναβικός βρασμένος καφές και ο τούρκικος/ελληνικός καφές περιέχουν σχετικά υψηλά επίπεδα καχεόλης και καφεστόλης (6-12 mg/φλιτζ.), ενώ ο καφές φίλτρου και ο στιγμιαίος καφές περιέχουν χαμηλά επίπεδα (0,2-0,6 mg/φλιτζ.) [78, 79]. Μελέτες σε ασθενείς με ειλεοστομία έχουν δείξει ότι περίπου το 70 % των δυο διτερπενίων στον αφιλτράριστο καφέ απορροφάται εντερικά. Οι μηχανισμοί των επιδράσεων της καχεόλης και της καφεστόλης στον λιποπρωτεϊνικό μεταβολισμό, όμως, παραμένουν αδιευκρίνιστοι. Πέρα από την επίδραση στην συγκέντρωση της χοληστερόλης, ωστόσο, έρευνες έχουν αναδείξει και μια θετική δράση των διτερπενίων αυτών, συγκεκριμένα στο ότι κατέχουν χημειοπροστατευτικές ιδιότητες [80, 81].

Ο καφές αποτελεί πλούσια πηγή μιας ακόμα σημαντικής από διατροφική αξία ομάδας ενώσεων, αυτής των πολυφαινόλων. Οι κύριες πολυφαινόλες που περιέχονται στον καφέ είναι το χλωρογενικό οξύ και το καφεϊκό οξύ (Εικόνα 9). Ο καφές έχει συσχετιστεί με βελτιωμένη ηπατική λειτουργία και λειτουργία λιποκυττάρων, οι οποίες έχουν αποδοθεί στα δυο αυτά οξέα. Σε μια τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή 45 μεσήλικων, μη διαβητικών, υπέρβαρων ενηλίκων, πρόσληψη 5 φλιτζανιών καφέ ημερησίως προκάλεσε αύξηση στα επίπεδα της αντιπονεκτίνης (μιας ορμόνης που μειώνει τον κίνδυνο για ΣΔ2 και αθηροσκλήρωση) και μείωση στα επίπεδα της Α-φετουΐνης, υποδηλώνοντας βελτίωση



Εικόνα 9: Οι χημικές δομές του καφεϊκού και του χλωρογενικού οξέος

στην ηπατική λειτουργία [82]. Αυτές οι πολυφαινόλες, επίσης, αναστέλλουν τη μεθυλίωση του δεοξυριβονουκλεϊκού οξέος (DNA) με δοσο-εξαρτώμενο τρόπο, το οποίο εμποδίζει την απορρύθμιση των ογκοκατασταλτικών πρωτεϊνών και των επιδιορθωτικών ενζύμων του DNA που εμπλέκονται στην καρκινογένεση [53]. Το χλωρογενικό και το καφεϊκό οξύ, αποτελούν αντιοξειδωτικά στη φύση και η παρουσία τους στον καφέ καθυστερεί τη διαδικασία της φλεγμονής, ώστε παρέχουν προστασία από τις επικίνδυνες

επιδράσεις των ελευθέρων ριζών και ενάντια στην ενδοθηλιακή καταστροφή. Ο καφές αποτελεί την πλουσιότερη διαιτητική πηγή του χλωρογενικού και του καφεϊκού οξέος. Ένα φλιτζάνι 200 mL καφέ περιέχει περίπου από 70-350 mg χλωρογενικού οξέος και 35-175 mg καφεϊκού οξέος [83].

Διάφορα μικροθρεπτικά συστατικά που βρίσκονται στον καφέ, όπως μαγνήσιο, κάλιο, νιασίνη και βιταμίνη E, ενδέχεται να συνεισφέρουν στα οφέλη για την υγεία που σχετίζονται με τη χρόνια κατανάλωση καφέ. Σύμφωνα με τα διατροφικά δεδομένα του USDA, ένα φλιτζάνι 240 mL παρασκευασμένου καφέ παρέχει 7 mg μαγνησίου, ενώ 30 mL εσπρέσο παρέχουν 24 mg [84]. Συνεπώς, ένα φλιτζάνι καφέ συνεισφέρει από 1-5 % της συνιστώμενης ημερήσιας πρόσληψης (RDA) για το μαγνήσιο (420 mg/ημ) στους ενήλικες [85]. Αντίστοιχα, ένα φλιτζάνι 240 mL παρασκευασμένου καφέ παρέχει 116 mg καλίου και 30 mL εσπρέσο παρέχουν 34 mg καλίου. Άρα, ένα φλιτζάνι καφέ καλύπτει μόνο το 1-2 % της επαρκούς πρόσληψης (AI) καλίου (4700 mg/ημ.) στους ενήλικες [86]. Η τριγονελλίνη των κόκκων του καφέ απομεθυλιώνεται για να σχηματίσει νικοτινικό οξύ κατά τη διάρκεια του καβουρδίσματος [87]. Ο καφές έχει βρεθεί ότι παρέχει 1-3 mg νικοτινικού οξέος ανά φλιτζάνι. Συνεπώς, ένα φλιτζάνι καφέ θα μπορούσε να παρέχει 6-18 % του RDA της νιασίνης (16 mg/ημ) στους ενήλικες [88]. Αντίθετα, ο καφές δεν φαίνεται να αποτελεί σημαντική διατροφική πηγή πρόσληψης βιταμίνης E, αφού ένα φλιτζάνι παρέχει μόλις 0,2 mg α τοκοφερόλης και 0,2 mg γ τοκοφερόλης, σχεδόν το 0,1 % του RDA για τη βιτ. E στους ενήλικες (15 mg/ημ) [89].

2. 4 Διατροφικές Συνήθειες σε σχέση με την Κατανάλωση Καφέ

Η κατανάλωση καφέ σχετίζεται με διάφορους τρόπους με τις διατροφικές συνήθειες των ατόμων. Ιδιαίτερα στις δυτικές κοινωνίες, ο καφές αποτελεί αναπόσπαστο κομμάτι των ημερήσιων διατροφικών επιλογών και συμπεριφορών του πληθυσμού. Τα αποτελέσματα ερευνών που έχουν γίνει, με σκοπό τη συσχέτιση της κατανάλωσης καφέ με κάποιο ορισμένο διατροφικό πρότυπο, παραμένουν αντιφατικά, καθώς από τη μια προκύπτει ότι ο καφές εντάσσεται σε έναν ισορροπημένο τρόπο διατροφής, που περιλαμβάνει φρούτα, λαχανικά, γαλακτοκομικά και ξηρούς καρπούς, ενώ από την άλλη φαίνεται να σχετίζεται με λιγότερο υγιεινές συνήθειες, όπως αυξημένη κατανάλωση τυροκομικών, γλυκών και

ζάχαρης, και ανθυγιεινές συμπεριφορές, όπως το κάπνισμα και η κατανάλωση αλκοόλ [90-92].

Σχετικά με την κατανάλωση καφέ και την πρόσληψη διαιτητικού λίπους, σε αρκετές μελέτες έχει φανεί ότι άτομα που καταναλώνουν μεγάλες ποσότητες καφέ τείνουν να προσλαμβάνουν και μεγαλύτερες ποσότητες λίπους από την διατροφή τους, ανεξάρτητα από το φύλο και την ηλικία τους [93-97]. Ειδικότερα, έχει βρεθεί μια συσχέτιση μεταξύ αυξημένης κατανάλωσης καφέ και διατροφής πλουσιότερης σε κορεσμένα και φτωχής σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (προτίμηση βουτύρου και σκληρής μαργαρίνης, πλήρους γάλακτος έναντι ημιαποβουτυρωμένου, σκληρών τυριών και μπίικον) [94, 97-100]. Ανάλογη συσχέτιση έχει βρεθεί και όσον αφορά τη διαιτητική χοληστερόλη, μέσω ανάλογων τροφίμων και κυρίως βουτύρου και αυγών [95, 97, 98]. Το αντίστροφο φαινόμενο έχει παρατηρηθεί όταν μειώνεται η κατανάλωση καφέ. Σε μια μελέτη όπου ερευνήθηκε η επίδραση της μείωσης του καφέ στη διατροφή, παρατηρήθηκε βελτίωση των διατροφικών συνηθειών και, κυρίως, μειωμένη κατανάλωση πλήρους γάλακτος [100].

Αν και σε μικρότερο βαθμό, έχει επίσης διερευνηθεί η συσχέτιση μεταξύ διατροφικών συνηθειών και κατανάλωσης ντεκαφεϊνέ ροφημάτων. Αυτό που παρατηρείται είναι ότι η σύσταση της διατροφής των ατόμων που καταναλώνουν ντεκαφεϊνέ ροφήματα καφέ εμφανίζεται μειωμένη σε κορεσμένα λιπαρά οξέα και χοληστερόλη σε σχέση με αυτούς που καταναλώνουν τα παραδοσιακά είδη καφεϊνούχου καφέ, προτείνοντας ότι το βασικό συστατικό του καφέ που επηρεάζει τη διατροφή των καταναλωτών είναι η καφεΐνη. Ενδιαφέρον, ωστόσο, παρουσιάζει το γεγονός ότι η σύσταση της διατροφής που συνοδεύεται από κατανάλωση ντεκαφεϊνέ προϊόντων προσεγγίζει περισσότερο εκείνη που συνοδεύεται από καφεϊνούχα ροφήματα σε κορεσμένα λιπαρά και χοληστερόλη, σε σχέση με αυτήν πλήρως απαλλαγμένη από καφεϊνούχα ροφήματα [95].

Πέρα από την αυξημένη κατανάλωση διατροφικού λίπους, όμως, έχει φανεί και μειωμένη κατανάλωση φρούτων και λαχανικών σε σχέση με την κατανάλωση καφέ [101]. Επιπλέον, η κατανάλωση καφέ φαίνεται να σχετίζεται γραμμικά με την κατανάλωση γευμάτων από εστιατόρια fast food, το οποίο συνεπάγεται αυξημένη ολική προσλαμβανόμενη ενέργεια, αυξημένη πρόσληψη ολικού και κορεσμένου λίπους, υδατανθράκων, προστιθέμενης ζάχαρης κλπ [102]. Σε μια φιλανδική αναδρομική έρευνα, μελετήθηκε η επίδραση της ψυχολογικής διάθεσης στις διατροφικές συνήθειες των ατόμων [103]. Οι εθελοντές της μελέτης χωρίστηκαν σε δυο ομάδες: τους αισιόδοξους και τους απαισιόδοξους. Τα

απαισιόδοξα άτομα φάνηκε ότι συνήθιζαν να προσφεύγουν συχνότερα σε γεύματα fast food, που περιλάμβαναν γλυκά, καραμέλες, σοκολάτες, λουκάνικα και πίτσα, καθώς επίσης κατανάλωναν μεγαλύτερες ποσότητες καφέ.

2. 5 Γενετική Προδιάθεση για Κατανάλωση Καφέ

Γενετικές μελέτες σε διδύμους προτείνουν ότι η εκτιμώμενη κληρονομικότητα της κατανάλωσης καφέ κυμαίνεται από 0,39 ως 0,56 [65, 104, 105]. Οι περισσότερες γενετικές έρευνες έχουν εστιάσει στην καφεΐνη και έχουν περιορίσει τη γονιδιακή έρευνα κυρίως σε πολυμορφισμούς στα *CYP1A2* και *ADORA2A* γονίδια. Η καφεΐνη είναι γνωστό ότι μεταβολίζεται κυρίως από το *CYP1A2* στο ήπαρ, για αυτό και το *CYP1A2* αποτελεί καιρό ένα υποψήφιο γονίδιο για την κατανάλωση καφέ. Ο μεταβολισμός της καφεΐνης από τα ένζυμα του *CYP1A2* δείχνει σημαντική μεταβλητότητα μεταξύ των ατόμων [106, 107], λόγω γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων [108]. Ανάμεσα στους περιβαλλοντικούς παράγοντες, η ηλικία και το φύλο είναι γνωστό ότι επηρεάζουν την κατανάλωση καφέ [109]. Τα πρότυπα κατανάλωσης καφέ μπορεί ακόμα να διαφέρουν από χώρα σε χώρα βάσει της γεωγραφικής τους τοποθεσίας, των θρησκευτικών προτιμήσεων, της διαθεσιμότητας του καφέ και του κόστους του. Ωστόσο, μεγάλες διαφορές παραμένουν μεταξύ των ατόμων ιδίων πληθυσμών, αντιστακώνοντας προφανώς την προτίμηση καφέ που είναι γνωστό ότι επηρεάζεται και από την γενετική ποικιλότητα [109].

Οι Amin et al. το 2012 διεξήγαγαν μια μετά-ανάλυση GWAS μελετών, περιλαμβάνοντας πάνω από 18.000 άτομα, για να προσδιορίσουν κοινές γενετικές παραλλαγές που επηρεάζουν την κατανάλωση καφέ [110]. Έλεγξαν για συσχέτιση πάνω από 2,6 εκατομμύρια πολυμορφισμούς που αφορούν τη συντριπτική πλειοψηφία των κοινών ανθρώπινων γενετικών παραλλαγών. Οι ερευνητές συνδύασαν τα GWAS αποτελέσματα με δεδομένα έκφρασης γονιδίων από κύτταρα διαφορετικά επεξεργασμένα με καφεΐνη, ώστε να αναγνωρίσουν γονίδια, το πρότυπο έκφρασης των οποίων μεταβάλλεται μετά από επεξεργασία με καφεΐνη, και τα οποία φιλοξενούν πολυμορφισμούς που επιδεικνύουν στοιχεία συσχετισμού.

Δυο σημαντικά SNP's, τα rs2470893 και rs2472297, τα οποία είναι σε ισχυρή LD μεταξύ τους και βρίσκονται ανάμεσα στα *CYP1A1* και *CYP1A2* γονίδια, καθώς επίσης η

διαφορετική έκφραση του *CYP1A1* γονιδίου μετά από επεξεργασία με καφεΐνη, απέδειξαν το ρόλο του γενετικού τύπου των *CYP1A1/CYP1A2* στην κατανάλωση καφέ. Η μελέτη τους, επίσης, υπέδειξε σημαντική συσχέτιση του SNP rs382140 στην περιοχή του υποκινητή του γονιδίου *NRCAM* με την κατανάλωση καφέ. Δεδομένα από δυο επιπλέον πρόσφατες μετά-αναλύσεις GWAS μελετών υποστηρίζουν αυτό τον ρόλο των *CYP1A1/CYP1A2* στην πρόσληψη καφεΐνης και την κατανάλωση καφέ [111, 112]. Συγκεκριμένα, οι Sulem et al. το 2011 [112] βρήκαν δυο κύριους πολυμορφισμούς SNP's που σχετίζονται σημαντικά με αυξημένη κατανάλωση καφέ: τον rs2472297-T, που βρίσκεται μεταξύ των *CYP1A1* και *CYP1A2* στη θέση 15q24, και τον rs6968865-T κοντά στον AHR (aryl hydrocarbon receptor) στη θέση 7p21. Η συσχέτιση αυτών των δυο SNP's με την κατανάλωση καφέ φάνηκε και στους καπνιστές και στους μη καπνιστές.

Η μελέτη των Castorena-Torres et al. το 2005 [113] υπέδειξε ότι μια κοινή A→C υποκατάσταση στη θέση 734 του γονιδίου *CYP1A2* μπορεί να προκαλέσει διαταραχή του μεταβολισμού της καφεΐνης. Οι φορείς του παραλλαγμένου *CYP1A2* αλληλόμορφου μεταβολίζουν την καφεΐνη αργά σε σχέση με τα άτομα που είναι ομόζυγα για το *CYP1A2* αργίου τύπου αλληλόμορφο.

Πέρα από τους γενετικούς τύπους των 15q24 και 7p21, το rs382140 κοντά στο γονίδιο *NRCAM* αποτελεί έναν ενδιαφέρον τόπο. Το *NRCAM* κωδικοποιεί για ένα μόριο νευρωνικής κυτταρικής προσκόλλησης, εκφράζεται στον εγκέφαλο και εμπλέκεται σε πολλές πλευρές της ανάπτυξης του νευρικού συστήματος. Παραλλαγές αλληλομόρφων αυτού του γονιδίου έχουν συσχετιστεί με αυτισμό [114] και ευαισθησία στην εξάρτηση [115, 116]. Γενετικές παραλλαγές που αυξάνουν τον κίνδυνο εξάρτησης μπορεί επίσης να επηρεάζουν την κατανάλωση καφέ, καθώς μελέτες διδύμων έχουν δείξει ότι υπάρχει κάποια επικάλυψη στην κληρονομικότητα της κατανάλωσης καφέ με την χρήση νικοτίνης και αλκοόλ [117, 118].

2. 6 Κατανάλωση Καφέ και Καρδιαγγειακός Κίνδυνος

Τις τελευταίες τρεις δεκαετίες πολλές επιδημιολογικές μελέτες έχουν εξετάσει εκτενώς τις επιδράσεις της κατανάλωσης καφέ στην υγεία και ιδιαίτερα στον καρδιαγγειακό κίνδυνο, ωστόσο το ζήτημα παραμένει αμφιλεγόμενο. Οι μελέτες ασθενών-μαρτύρων τείνουν να υποδεικνύουν ότι ο καφές πιθανά αυξάνει τον καρδιαγγειακό κίνδυνο [53]. Επιπρόσθετα,

η κατανάλωση καφέ έχει φανεί να μειώνει τη δραστηριότητα ορισμένων καρδιοπροστατευτικών φαρμάκων, όπως η ατροβαστατίνη [42, 119, 120]. Μελέτες σε διάφορες χώρες, όπως οι ΗΠΑ, η Ιταλία, η Αυστραλία, η Σουηδία και η Κόστα Ρίκα, είναι σύμφωνες με αυτά τα ευρήματα [61, 121-124]. Αντίθετα, οι προοπτικές μελέτες παρατήρησης, που αποτελούν και την πλειοψηφία των μελετών που έχουν γίνει γύρω από τις επιδράσεις της κατανάλωσης καφέ στην ανθρώπινη υγεία, τείνουν να δείχνουν καμία ή αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης καφέ και της καρδιαγγειακής νόσου [125]. Η κατανάλωσή του έχει συσχετιστεί με μια σημαντική μείωση σε χρόνιες ασθένειες όπως ο Παρκινσονισμός, ο ΣΔ και ορισμένοι τύποι καρκίνου. Αυτά τα πιθανά οφέλη αποδίδονται εν μέρει στα αντιοξειδωτικά που περιέχονται στον καφέ, ενώ, επιπλέον, η μέτρια κατανάλωσή του έχει συσχετιστεί με μέτρια μείωση του σωματικού βάρους, αυξημένη ευαισθησία στην ινσουλίνη και μειωμένη φλεγμονή [53]. Δυο μεγάλες προοπτικές μελέτες που δημοσιεύθηκαν το 2006 και διεξήχθησαν στις ΗΠΑ, παρέχουν περαιτέρω επιβεβαίωση σχετικά με την έλλειψη αρνητικών επιπτώσεων της υψηλής κατανάλωσης καφέ στην καρδιαγγειακή υγεία [126, 127]. Στην πραγματικότητα, έχει παρατηρηθεί μια σύγχρονη τάση προς μια προστατευτική επίδραση του καφέ [127]. Συνεπώς, η συσχέτιση μεταξύ κατανάλωσης καφέ και κινδύνου για ΚΝ διαφέρει ανάλογα με τον τύπο σχεδιασμού της μελέτης, με τις μελέτες ασθενών-μαρτύρων να υποστηρίζουν μια θετική συσχέτιση μεταξύ καφέ και ΕΜ και τις προοπτικές μελέτες να μην παρατηρούν καμία ένδειξη για αυξημένο κίνδυνο ΕΜ ή θανατηφόρου ΣΝ.

Μέχρι σήμερα, η εξήγηση για αυτά τα αντιφατικά αποτελέσματα παραμένει ασαφής. Οι αρχικές μελέτες ασθενών-μαρτύρων δεν έκαναν προσαρμογή των αποτελεσμάτων τους ως προς το κάπνισμα και οι καπνιστές είναι πιο πιθανό να πίνουν καφέ. Παρόλα αυτά, οι πιο πρόσφατες μελέτες ασθενών-μαρτύρων βρίσκουν αρνητικές επιδράσεις του καφέ μετά από προσαρμογή ως προς το κάπνισμα ή όταν γίνεται διαστρωμάτωση ως προς το κάπνισμα [61, 121-124]. Στην έρευνα των Hammar et al. [121], η συσχέτιση μεταξύ πρόσληψης καφέ και κινδύνου για ΕΜ εξακολουθούσε να είναι στατιστικά σημαντική μετά από προσαρμογή για το κάπνισμα, παρόλο που ο σχετικός κίνδυνος για ΕΜ από κατανάλωση πάνω από 6 φλιτζάνια ημερησίως σε σχέση με καθόλου κατανάλωση μειώθηκε από 2,74 (95% CI:2,04–3,68) σε 1,93 (95% CI:1,42–2,63) στους άνδρες. Στη μελέτη των Tavani et al. [123], ο σχετικός κίνδυνος για ΕΜ από κατανάλωση 3 με 5 φλιτζάνια καφέ την ημέρα ήταν 1,6 (95% CI:1,0–2,4) στους μη καπνιστές σε σχέση με 3,3 (95% CI:2,1–5,0) στους καπνιστές.

Ένα ακόμα πιθανό πρόβλημα στις μελέτες ασθενών-μαρτύρων είναι η χρήση ομάδων ελέγχου που μπορεί να έχουν επιλεχτεί μεροληπτικά. Για παράδειγμα, στην έρευνα των Tofler et al. [124] χρησιμοποιήθηκαν μάρτυρες που ήδη είχαν σταθερή στεφανιαία νόσο και ίσως έπιναν λιγότερο καφέ λόγω της παρουσίας της ασθένειας. Παρομοίως, στη μελέτη των Tavani et al. [123] χρησιμοποιήθηκαν μάρτυρες που νοσηλεύονταν σε νοσοκομείο. Μια άλλη πιθανή εξήγηση είναι η χρήση καφέ φίλτρου έναντι μη φιλτραρισμένου καφέ σε διαφορετικούς πληθυσμούς. Τα χάρτινα φίλτρα απομακρύνουν τα διτερπένια, καχεόλη και καφεστόλη, οι οποίες αυξάνουν τα επίπεδα χοληστερόλης πλάσματος [128]. Παρόλα αυτά, αρκετές κλινικές δοκιμές έχουν παρατηρήσει ότι ο καφές φίλτρου και πάλι αύξανε την χοληστερόλη πλάσματος, προτείνοντας ότι τα διτερπένια απομακρύνονται μερικώς μόνο από τα φίλτρα [129, 130]. Αρνητική επίδραση του καφέ έχει αναγνωριστεί σε μελέτες ασθενών-μαρτύρων ανεξάρτητα από το αν χρησιμοποιούνταν καφές φίλτρου ή όχι [61, 121]. Σε μια έρευνα στη Σουηδία [121], ο σχετικός κίνδυνος για ΣΝ σε σχέση με κατανάλωση πάνω από 6 φλιτζάνια καφέ φίλτρου ημερησίως ήταν 1,93 (95% CI:1,42-2,63) συγκριτικά με 2,20 (95% CI:1,17-4,15) από κατανάλωση ίδιας ποσότητας μη φιλτραρισμένου καφέ. Σε μια μελέτη στην Κόστα Ρίκα [61], όπου η πλειοψηφία του πληθυσμού καταναλώνει καφέ φίλτρου, ο σχετικός λόγος για κίνδυνο ΕΜ ήταν 1,4 (95% CI:1,05-1,87) για όσους έπιναν τουλάχιστον 4 φλιτζάνια καφέ την ημέρα σε σύγκριση με λιγότερο από 1 φλιτζάνι καφέ την ημέρα.

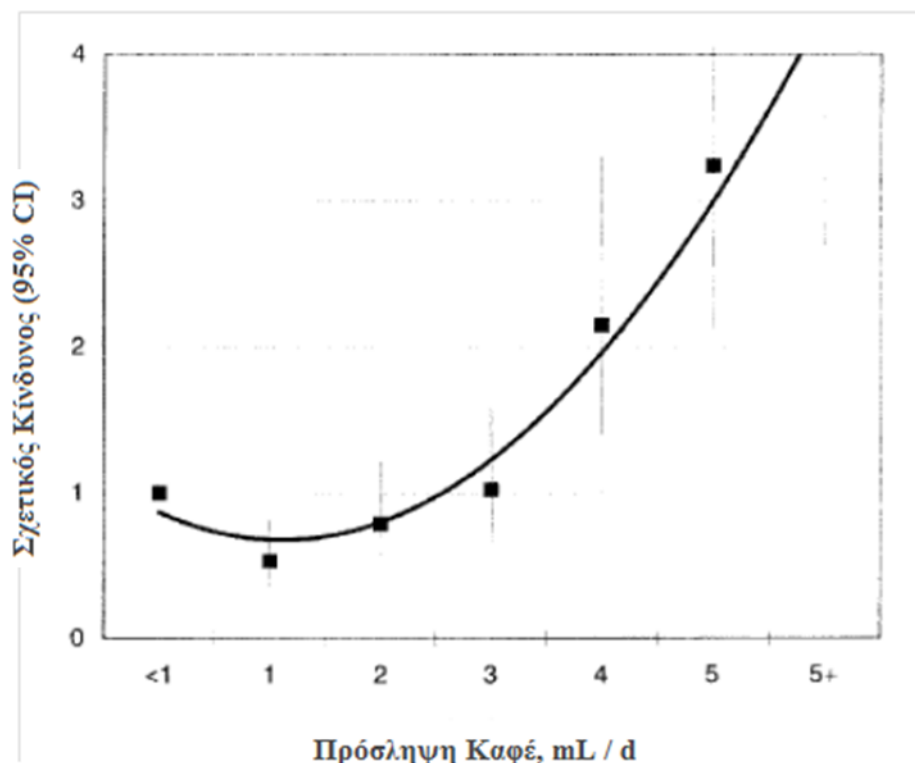
Σαν μια ακόμα εξήγηση για την ασυμφωνία μεταξύ των τύπων των ερευνών έχει προταθεί ότι η κατανάλωση καφέ έχει κυρίως άμεσες ή βραχυπρόθεσμες επιδράσεις, τις οποίες οι προοπτικές μελέτες με παρατεταμένο χρόνο παρακολούθησης είναι πιθανό να χάνουν [131].

Συνολικά, η ασυμφωνία μεταξύ των μελετών έχει αποδοθεί σε διαφορές στα είδη καφέ, στους πληθυσμούς των ερευνών, στη διακύμανση της κατανάλωσης καφέ, σε συγχυτικούς παράγοντες όπως κάπνισμα ή συνήθειες τρόπου ζωής και στην ανακρίβεια των μετρήσεων.

2. 6. 1 Οξείες και Μακροχρόνιες Επιδράσεις της Κατανάλωσης Καφέ

Ενδιαφέρον παρουσιάζει η παρατήρηση συσχετισμών σχήματος U και J ανάμεσα στην πρόσληψη καφέ και στην ΚΝ που έχει βρεθεί σε μελέτες ασθενών-μαρτύρων και προοπτικές μελέτες [40, 126, 132]. Η προστατευτική επίδραση του καφέ φάνηκε ανάμεσα

στα άτομα που συστηματικά έπιναν 1 με 3 φλιτζάνια την ημέρα. Αυτοί οι συσχετισμοί υποδηλώνουν ότι τα άτομα με καθόλου ή περιστασιακή κατανάλωση καφέ είναι πιθανό να βρίσκονται σε υψηλότερο κίνδυνο για καρδιαγγειακές παθήσεις, καθώς ο καφές ενδέχεται να πυροδοτεί την εμφάνιση ΕΜ σε άμεση κατανάλωση [132]. Οι Riksen et al. [42] επιβεβαίωσαν ότι η πρόσληψη καφέ μπορεί να έχει οξεία επίδραση στην πυροδότηση στεφανιαίων συνδρόμων και την αύξηση του μεγέθους του εμφράγματος σε επιλεγμένες ομάδες ασθενών. Παραδόξως, ο καφές δεν φάνηκε να πυροδοτεί ΕΜ ανάμεσα σε βαρείς και χρόνιους πότες. Σε μια μελέτη ασθενών-μαρτύρων στην Ελλάδα, βρέθηκε μια συσχέτιση σχήματος J ανάμεσα στα επίπεδα πρόσληψης καφέ και τον κίνδυνο ανάπτυξης οξέος στεφανιαίου συνδρόμου (εμφράγματος μυοκαρδίου ή ασταθούς στηθάγχης) [133]. Οι πιθανότητες διάγνωσης οξέος στεφανιαίου συνδρόμου ήταν τρεις φορές πιο υψηλές στα άτομα που κατανάλωναν τουλάχιστον 600 mL καφέ ημερησίως, σε σχέση με τα άτομα που δεν έπιναν καφέ, αλλά οι πιθανότητες ήταν σημαντικά χαμηλότερες στα άτομα που κατανάλωναν λιγότερο από 300 mL ημερησίως συγκριτικά με τα άτομα που δεν έπιναν καφέ (Εικόνα 10).



Εικόνα 10: Ο συσχετισμός σχήματος J (Odds ratio και 95% CI) μεταξύ της κατανάλωσης καφέ και του κινδύνου ανάπτυξης οξέος στεφανιαίου συνδρόμου στη μελέτη των Panagiotakos et al., 2003

2. 7 Κατανάλωση Καφέ και Ενδιάμεσοι Παράγοντες Καρδιαγγειακού Κινδύνου

2. 7. 1 Καφές και Υπέρταση

Η υπέρταση αποτελεί έναν ισχυρό ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για εγκεφαλικό επεισόδιο και στεφανιαία νόσο. Η κατανάλωση καφέ έχει συσχετιστεί με οξείες αυξήσεις στην αρτηριακή πίεση σε άτομα μη συνηθισμένα στην καφεΐνη, αλλά ασκεί αμελητέες επιπτώσεις στα μακροπρόθεσμα επίπεδα αρτηριακής πίεσης στους συνήθεις καταναλωτές καφέ. Οι οξείες επιδράσεις του καφέ είναι παροδικές, ώστε με τακτική κατανάλωση, αναπτύσσεται ανοχή στην αιμοδυναμική δράση της καφεΐνης [134]. Σε μια πρόσφατη μετά-ανάλυση δέκα τυχαιοποιημένων δοκιμασιών ελέγχου και πέντε προοπτικών μελετών αξιολογήθηκε η αρτηριακή πίεση και η επίπτωση υπέρτασης στους καταναλωτές καφέ. Μη στατιστικά σημαντικές μεταβολές της τάξης των 0,55 mmHg (95% CI:2,46-1,36) στη συστολική και 0,45 mmHg (95% CI:1,52-0,61) στη διαστολική πίεση παρατηρήθηκαν στους πότες καφέ σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Τα ευρήματα που αναλύθηκαν από αυτή τη μεγάλη έρευνα δεν έδειξαν κλινικά σημαντικές επιδράσεις της μακροχρόνιας κατανάλωσης καφέ στην αρτηριακή πίεση ή τον κίνδυνο για υπέρταση [135]. Μελέτες και ανασκοπήσεις που πραγματοποιήθηκαν παλαιότερα έχουν, επίσης, καταλήξει σε παρόμοια συμπεράσματα. Στην Nurses' Health Study, με περισσότερα από 1,4 εκατομμύρια ανθρωποέτη παρακολούθησης, φάνηκε ότι ημερήσια πρόσληψη έως και 6 φλιτζανιών καφέ δεν σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο για υπέρταση [136].

Η καφεΐνη είναι το κύριο συστατικό του καφέ που ευθύνεται για την επίδραση στην αύξηση της αρτηριακής πίεσης, ωστόσο άλλα συστατικά που βρίσκονται στον καφέ μπορεί να αντισταθμίζουν αυτές τις οξείες υπερτασικές επιδράσεις. Μια μελέτη 15 εθελοντών, 6 από τους οποίους ήταν συνήθεις καταναλωτές καφέ και 9 περιστασιακοί, υπέδειξε ότι ενδοφλέβια έγχυση καφεΐνης προκάλεσε παρόμοιες αυξήσεις στην αρτηριακή πίεση στις δυο ομάδες. Σε αντίθεση, η κατανάλωση καφέ αύξησε την αρτηριακή πίεση στους μη-συνήθεις καταναλωτές καφέ και όχι στους συνήθεις, παρόλο που παρατηρήθηκαν συγκρίσιμες αυξήσεις στα επίπεδα της καφεΐνης πλάσματος στις δυο ομάδες μετά την πρόσληψη καφέ. Οι ερευνητές συμπέραναν ότι η καφεΐνη δεν είναι μοναδικά υπεύθυνη για τις καρδιαγγειακές επιδράσεις που σχετίζονται με την βραχυχρόνια και την μακροχρόνια κατανάλωση καφέ [137].

2. 7. 2 Καφές και Λιπίδια Ορού

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, ο καφές περιέχει δύο αλκοόλες, την καφεστόλη και την καχεόλη, που είναι γνωστό ότι έχουν επίδραση στην αύξηση της χοληστερόλης ορού [138]. Οι δυο αυτές αλκοόλες έχει φανεί ότι απομακρύνονται από τον καφέ μέσω των χάρτινων φίλτρων, συνεπώς, ο βραστός καφές έχει μεγάλη περιεκτικότητα σε καφεστόλη και καχεόλη, ενώ ο καφές φίλτρου έχει πολύ μικρότερη περιεκτικότητα σε αυτές.

Η επίδραση του καφέ στα λιπίδια ορού μελετήθηκε σε 107 νέους ενήλικες με φυσιολογικά επίπεδα χοληστερόλης ορού, με χρόνο παρακολούθησης 12 χρόνια. Οι συμμετέχοντες χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες: η πρώτη ομάδα κατανάλωνε 4-6 φλιτζάνια βραστού καφέ την ημέρα, η δεύτερη 4-6 φλιτζάνια καφέ φίλτρου την ημέρα και η τρίτη ομάδα δεν κατανάλωνε καθόλου καφέ, για ένα διάστημα 9 εβδομάδων. Μια σημαντική αύξηση στην ολική χοληστερόλη και μια μη-σημαντική αύξηση στην LDL χοληστερόλη παρατηρήθηκε στην ομάδα των συμμετεχόντων που έπιναν βραστό καφέ. Αντιθέτως, δεν παρατηρήθηκε καμία σημαντική διαφορά στη μεταβολή των επιπέδων της ολικής ή της LDL χοληστερόλης ορού μεταξύ των ατόμων που έπιναν καφέ φίλτρου και αυτών που δεν έπιναν καφέ [139]. Τα αποτελέσματα αυτά επαναλήφθηκαν σε μια μετά-ανάλυση 14 τυχαιοποιημένων δοκιμασιών ελέγχου, όπου η κατανάλωση βραστού καφέ αύξανε δοσο-εξαρτώμενα τη συγκέντρωση ολικής, LDL χοληστερόλης, αλλά και των τριγλυκεριδίων, ενώ η κατανάλωση καφέ φίλτρου προκαλούσε πολύ μικρή αύξηση στην χοληστερόλη ορού [140]. Σε μια μεγάλη πληθυσμιακή μελέτη 132.000 ανδρών και γυναικών από τις Health Professionals Follow-up Study και Nurses' Health Study, χωρίς ιστορικό καρδιαγγειακής νόσου και καρκίνου, βρέθηκε, επίσης, καμία επίδραση του καφέ φίλτρου στα επίπεδα ολικής, LDL και HDL χοληστερόλης [127].

2. 7. 3 Καφές και Ευαισθησία στην Ινσουλίνη

Τα αντιοξειδωτικά που βρίσκονται στον καφέ, όπως το χλωρογενικό οξύ, έχει αναγνωριστεί ότι βελτιώνουν το μεταβολισμό της γλυκόζης και την ευαισθησία στην ινσουλίνη [141]. Η προστατευτική επίδραση του καφέ στον ΣΔ2 δημοσιεύτηκε πρώτη φορά από μια μελέτη σε 17.111 Ολλανδούς άνδρες και γυναίκες ηλικίας 30 ως 60 ετών. Στη μελέτη αυτή, ο σχετικός κίνδυνος για ΣΔ2 ήταν 0,50 (95% CI:0,35-0,72) συγκρίνοντας κατανάλωση <7 φλιτζ/ημέρα έναντι <2 φλιτζ/ημέρα [142]. Αρκετές άλλες μελέτες είναι σύμφωνες με αυτή την πρώτη παρατήρηση. Σε μια πρόσφατη συστηματική

ανασκόπηση όπου αξιολογήθηκαν εννέα προοπτικές μελέτες [143], ο ολικός σχετικός κίνδυνος ΣΔ2 για τη σύγκριση της υψηλότερης κατηγορίας κατανάλωσης καφέ (6-9 φλιτζάνια την ημέρα ανάλογα την έρευνα) σε σχέση με την χαμηλότερη κατηγορία (0-2 φλιτζάνια την ημέρα) ήταν 0,65 (95% CI:0,54-0,78). Στη Φινλανδία, όπου η κατανάλωση καφέ είναι ανάμεσα στις υψηλότερες παγκόσμια, μια έρευνα που παρακολούθησε περισσότερους από 14.000 άνδρες και γυναίκες για περίπου 12 χρόνια, βρήκε ότι οι άνδρες που έπιναν τουλάχιστον 10 φλιτζ. καφέ την ημέρα είχαν 55 % χαμηλότερο κίνδυνο να αναπτύξουν ΣΔ2 από ότι οι άνδρες που έπιναν 2 φλιτζάνια ή λιγότερο, ενώ οι γυναίκες που έπιναν τουλάχιστον 10 φλιτζ. καφέ την ημέρα είχαν χαμηλότερο κίνδυνο για εμφάνιση ΣΔ2 κατά 79 % [144]. Σε μια προοπτική μελέτη περισσότερων από 10.000 διδύμων Φιλανδών, όσοι κατανάλωναν τουλάχιστον 7 φλιτζάνια καφέ ημερησίως είχαν 35 % χαμηλότερο κίνδυνο για ΣΔ2 από όσους κατανάλωναν 2 φλιτζάνια ή λιγότερο [145].

2. 7. 4 Καφές και Κάπνισμα

Το κάπνισμα είναι γνωστό ότι συμβάλλει στον κίνδυνο εμφάνισης ΚΝ και πολύ συχνά σχετίζεται με τη συνήθη κατανάλωση καφέ. Σε σχέση με τους νυν καπνιστές, τα άτομα που έχουν διακόψει το κάπνισμα φαίνεται να καταναλώνουν μέτριες ποσότητες καφέ (ενδιάμεσες μεταξύ καπνιστών και μη καπνιστών), ενώ τείνουν να επιλέγουν πιο συχνά τα ντεκαφεϊνέ ροφήματα [90]. Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι η καφεΐνη και η νικοτίνη, όταν χορηγούνται μαζί, αυξάνουν την αρτηριακή πίεση σε συνθήκες ανάπαυσης, αλλά όχι κατά τη διάρκεια άσκησης [146]. Σε μια πρόσφατη πειραματική μελέτη πάνω στη συνεργική επίδραση καφεΐνης και νικοτίνης, ο συνδυασμός ενός τσιγάρου και 200 mg καφεΐνης (ισοδύναμο με περίπου 2 φλιτζάνια καφέ) είχε επιβλαβείς συνέπειες στη στεφανιαία ροή αίματος και την υγιή καρδιαγγειακή λειτουργία τόσο σε οξεία όσο και σε χρόνια βάση [147].

2. 7. 5 Καφές και Επίπεδα Ομοκυστεΐνης Πλάσματος και Δεικτών Φλεγμονής

Ο καφές σχετίζεται ακόμα με αυξημένα επίπεδα ολικής ομοκυστεΐνης πλάσματος (tHcy) [101], έναν ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για ΚΝ. Αρκετές κλινικές δοκιμασίες ελέγχου έχουν επιβεβαιώσει την αυξητική επίδραση της σχετικά υψηλής κατανάλωσης τόσο του βραστού καφέ όσο και του καφέ φίλτρου στη συγκέντρωση της ομοκυστεΐνης [129, 148, 149]. Κατανάλωση ενός λίτρου μη φιλτραρισμένου καφέ καθημερινά από υγιείς ενήλικες για 2 εβδομάδες αύξανε τις συγκεντρώσεις tHcy πλάσματος νηστείας κατά 10 %,

ενώ κατανάλωση ενός λίτρου καφέ φίλτρου καθημερινά αύξανε τις συγκεντρώσεις tHcy πλάσματος νηστείας κατά 18 % περίπου [149]. Από την άλλη, σε μια μελέτη παρέμβασης, φάνηκε ότι η αποχή από τον καφέ για 6 εβδομάδες επέφερε μείωση στην ολική συγκέντρωση ομοκυστεΐνης πλάσματος [129]. Η παρατήρηση ότι η λήψη καφεΐνης για 2 εβδομάδες σε μορφή κάψουλας αύξανε επίσης την ομοκυστεΐνη πλάσματος, αλλά σε μικρότερο βαθμό από την κατανάλωση καφεΐνης μέσω καφέ, υποδεικνύει ότι η καφεΐνη είναι εν μέρει και όχι κύρια υπεύθυνη για αυτή την επίδραση [150]. Οι Olthof et al. το 2001 [151], πράγματι, απέδειξαν ότι μια επταήμερη αγωγή με χλωρογενικό οξύ αύξανε επίσης τα επίπεδα ομοκυστεΐνης.

Αρκετές μελέτες έχουν διερευνήσει την επίδραση της κατανάλωσης καφέ στη φλεγμονή, που αποτελεί έναν ακόμα παράγοντα που εμπλέκεται στην διαδικασία της αθηροσκλήρωσης. Σε μια πρόσφατη μελέτη ασθενών-μαρτύρων βρέθηκε μια αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης καφεϊνούχου καφέ φίλτρου και δεικτών φλεγμονής, που περιλάμβαναν την C – αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP) και την E – σελεκτίνη, ενώ στα υγιή άτομα της μελέτης μόνο βρέθηκε η ίδια αρνητική συσχέτιση για τον ντεκαφεϊνέ καφέ [127]. Αυτή η παρατήρηση προτείνει ότι η καφεΐνη δεν ευθύνεται για αυτή την αντιφλεγμονώδη επίδραση του καφέ. Σε αντίθεση, οι Zampelas et al. [152] ανέφεραν ότι η μέτρια κατανάλωση καφέ σχετίζεται με υψηλότερη συγκέντρωση δεικτών φλεγμονής, όπως ιντερλευκίνη 6, TNF-A και CRP. Αυτό, ωστόσο, μπορεί να οφειλόταν στο γεγονός ότι σε αυτή τη μελέτη, ένα σημαντικό ποσοστό των συμμετεχόντων κατανάλωναν μη φιλτραρισμένο καφέ, που ενδέχεται να είχε προκαλέσει αύξηση στη συγκέντρωση χοληστερόλης πλάσματος.

2. 8 Αλληλεπίδραση Γονιδίων και Καφέ στον Καρδιαγγειακό Κίνδυνο

Έρευνες έχουν τεκμηριώσει ότι γενετικοί παράγοντες παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη ΚΝ. Ωστόσο, μεγάλο κομμάτι της κληρονομικής προδιάθεσης για ΣΝ φαίνεται να σχετίζεται με κοινές πολυμορφικές παραλλαγές, οι οποίες δεν οδηγούν σε στεφανιαία νόσο στους περισσότερους φορείς, αλλά μπορούν να επηρεάσουν τον κίνδυνο μόνο μετά από έκθεση σε συγκεκριμένους διατροφικούς ή άλλους παράγοντες του τρόπου ζωής [153].

Το 2006, οι Harponen et al. [154] υπέθεσαν ότι ο αυξημένος κίνδυνος στεφανιαίων συνδρόμων που φαίνεται να υπάρχει ανάμεσα στους βαρείς πότες καφεϊνούχου καφέ, μεσολαβείται, εν μέρει έστω, από την αυξημένη δραστηριότητα των ελεύθερων κατεχολαμινών. Η καφεΐνη διεγείρει πιθανά τη δραστηριότητα της ρενίνης πλάσματος, ενώ άμεση κατανάλωση προκαλεί ουσιαστική αύξηση στις συγκεντρώσεις αδρεναλίνης και νοραδρεναλίνης πλάσματος [155]. Οι Harponen et al. εξέτασαν εάν ο λειτουργικός πολυμορφισμός του γονιδίου *COMT* (catechol-O-methyltransferase), που οδηγεί σε διαφορές στο μεταβολισμό των ελεύθερων κατεχολαμινών, επηρεάζει την επίδραση της αυξημένης κατανάλωσης καφέ στον κίνδυνο οξείων στεφανιαίων επεισοδίων, σε μια προοπτική μελέτη μεσήλικων Φιλανδών ανδρών, αρχικά ελεύθερων από συμπτωματική στεφανιαία νόσο. Ο πολυμορφισμός του *COMT* (rs4680) δημιουργείται από την παρουσία γουανίνης ή αδενίνης στο νουκλεοτίδιο 475 που κωδικοποιεί για τη βαλίνη ή τη μεθειονίνη στο κωδικόνιο 158. Τα αποτελέσματα της μελέτης τους έδειξαν μια συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης καφεϊνούχου καφέ και της εμφάνισης θανατηφόρων ή μη στεφανιαίων επεισοδίων που εξαρτάται σημαντικά από το γονότυπο του *COMT*. Στους άνδρες που ήταν είτε ομόζυγοι ως προς το υψηλής δραστηριότητας αλληλόμορφο του *COMT*, είτε ετερόζυγοι (*HH* ή *HL* γονότυπο), η αυξημένη πρόσληψη καφέ δεν αύξανε την εμφάνιση στεφανιαίων επεισοδίων. Στους άνδρες που ήταν ομόζυγοι ως προς το χαμηλής δραστηριότητας αλληλόμορφο (*LL* γονότυπο) η υψηλή κατανάλωση καφέ σχετιζόταν με μια σημαντικά αυξημένη επίπτωση οξέων στεφανιαίων επεισοδίων. Η σχετική υπεροχή στην εμφάνιση των στεφανιαίων συνδρόμων στο χαμηλής δραστηριότητας γονότυπο ήταν πάνω από 2 φορές ανάμεσα σε όσους κατανάλωναν περισσότερο από 6,5 φλιτζάνια καφέ/ημέρα, μετά από προσαρμογή ως προς το κάπνισμα, την ηλικία, το οικογενειακό ιστορικό στεφανιαίας νόσου, τη συγκέντρωση βιταμίνης C πλάσματος, την αρτηριακή πίεση, την LDL και HDL ορού και το σακχαρώδη διαβήτη.

Οι Weggemans et al. το 2001 [156] ήταν οι πρώτοι που ερεύνησαν εάν γενετικοί παράγοντες τροποποιούν τις επιδράσεις της καφεστόλης στην αύξηση χοληστερόλης. Συνδύασαν δεδομένα πάνω στις αποκρίσεις της καφεστόλης από δοκιμασίες ελέγχου με νέα δεδομένα πάνω σε γενετικούς πολυμορφισμούς της απολιποπρωτεΐνης E (*APOE*). Άτομα με τον ομόζυγο γονότυπο *APOE* ε3/ε3 έτειναν να έχουν μεγαλύτερη αύξηση στην LDL χοληστερόλη ως απόκριση στην καφεστόλη, σε σχέση με αυτούς που είχαν είτε το γονότυπο *APOE* ε3/ε4 ή *APOE* ε4/ε4 (rs429358/rs7412). Σε μια επακόλουθη μελέτη μελετήθηκαν κι άλλοι γενετικοί πολυμορφισμοί και βρέθηκε ότι άτομα με το γονότυπο

ApoA1 83CC είχαν μεγαλύτερη αύξηση στην LDL χοληστερόλη ως απόκριση στην καφεστόλη σε σχέση με όσα άτομα είχαν το γονότυπο *ApoA1 83CT*.

Οι Strandhagen et al. το 2004 [157] εξέτασαν κατά πόσο μια υποκατάσταση C→T ενός SNP (rs1801133) στη θέση 677 του *MTHFR* γονιδίου, που κωδικοποιεί για τη μεθυλενο-τετραυδροφολική αναγωγή, τροποποιεί την επίδραση του καφέ φίλτρου στην αύξηση της ομοκυστεΐνης πλάσματος. Συγκριτικά με τους φορείς του C αλληλόμορφου, τα άτομα με τον TT γονότυπο είχαν υψηλότερα επίπεδα ομοκυστεΐνης κατά την έναρξη, εμφάνισαν την πιο έντονη μείωση στην ομοκυστεΐνη πλάσματος κατά την αποχή από τον καφέ και την πιο μεγάλη αύξηση στην ομοκυστεΐνη όταν επανεισάχθηκε ο καφές στη διατροφή. Επιπλέον, ενώ συμπληρωματική αγωγή με φυλλικό οξύ προστατεύει ενάντια στην αύξηση ομοκυστεΐνης λόγω καφέ σε όλων των ειδών τους γονότυπους των ομάδων, αυτή η επίδραση ήταν πιο έντονη ανάμεσα στα άτομα με τον TT γονότυπο.

Οι Cornelis et al. το 2006 [61] υπέδειξαν έναν γενετικό δείκτη του μεταβολισμού της καφεΐνης να σχετίζεται με την αλληλεπίδραση του καφέ στον κίνδυνο εμφάνισης ΕΜ. Όπως είναι γνωστό, οι ποσότητες καφεΐνης που προσλαμβάνονται τυπικά από διατροφικές πηγές μεταβολίζονται από το ένζυμο CYP1A2 του κυτοχρώματος P450. Η μεγάλη διακύμανση στη δραστηριότητα αυτού του ενζύμου είναι κύρια υπεύθυνη για τη γνωστή διατομική ποικιλοότητα στο μεταβολισμό καφεΐνης [106, 158]. Μια A→C υποκατάσταση στη θέση 163 του γονιδίου *CYP1A2* (rs762551) έχει συσχετιστεί με μειωμένη ενζυμική δραστηριότητα, οδηγώντας σε αργό μεταβολισμό καφεΐνης [159]. Οι Cornelis et al. παρατήρησαν αυξημένο κίνδυνο ΕΜ να σχετίζεται με κατανάλωση καφέ μόνο στα άτομα που ήταν φορείς του -163C αλληλόμορφου, το οποίο σχετίζεται με μειωμένο ρυθμό μεταβολισμού καφεΐνης. Σε μεταγενέστερη μελέτη, οι Palatini et al. 2009 [160] υπέδειξαν ότι ο ίδιος πολυμορφισμός (rs762551) ευθύνεται για τον αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης υπέρτασης στους φορείς του «αργού» αλληλόμορφου που καταναλώνουν καφέ.

Η έρευνα των Amin et al. [110] έδειξε, επίσης, ένα κοινό γενετικό υπόβαθρο της κατανάλωσης καφέ με την αρτηριακή πίεση. Το SNP rs6495122, στον γενετικό τόπο των *CPLX3/ULK3* στο χρωμόσωμα 15, φάνηκε να σχετίζεται σημαντικά σε επίπεδο γονιδιώματος με την κατανάλωση καφέ. Σε μια προηγούμενη μετά-ανάλυση είχε φανεί ότι αυτό το SNP σχετίζεται σημαντικά με την αρτηριακή πίεση [161], ενώ υπάρχουν και άλλες ενδείξεις ότι η πρόσληψη καφεΐνης σχετίζεται με αύξηση στην αρτηριακή πίεση, όπως προαναφέρθηκε [162].

Στον αντίποδα, μια μεγάλη επιδημιολογική μελέτη στον Ιαπωνικό πληθυσμό ανέφερε ότι η συνήθης κατανάλωση καφέ σχετίζεται με μειωμένα επίπεδα αρτηριακής πίεσης [163]. Το 2009, λοιπόν, οι Kokaze et al. [164] έστρεψαν το ενδιαφέρον τους στη μελέτη των επιδράσεων στην αρτηριακή πίεση που ενδέχεται να έχει η κατανάλωση καφέ σε σχέση με τον πολυμορφισμό του μιτοχονδριακού DNA κυτοσίνη/αδερίνη (*Mt5178 C/A*). Ο πολυμορφισμός αυτός είναι επίσης γνωστός ως πολυμορφισμός της υπομονάδας 2 -237 της αφυδρογονάσης του NADH λευκίνη/μεθειονίνη (*ND2-237 Leu/Met*) και σχετίζεται με την μακροζωία [165-169]. Έχει βρεθεί ότι σχετίζεται με τα επίπεδα λιπιδίων ορού, γλυκόζης νηστείας πλάσματος, την πνευμονική λειτουργία, την ενδοφθάλμια πίεση και τα επίπεδα των ηλεκτρολυτών ορού [170-173]. Επιπλέον, ο *ND2-237 Leu/Met* πολυμορφισμός μεταβάλλει τις επιδράσεις της πρόσληψης αλκοόλ και του καπνίσματος στα επίπεδα λιπιδίων ορού, στα επίπεδα αρτηριακής πίεσης και στον κίνδυνο εμφάνισης υπέρτασης [171, 174, 175]. Οι Kokaze et al. το 2009 μελέτησαν τις επιδράσεις στη μείωση της αρτηριακής πίεσης που πιθανά έχει η κατανάλωση καφέ ανάμεσα στους δυο διαφορετικούς γονότυπους *ND2-237 Leu* και *ND2-237 Met*. Τα ευρήματά τους έδειξαν ότι ο *ND2-237 Leu/Met* επηρεάζει τα αποτελέσματα της κατανάλωσης καφέ στον κίνδυνο για υπέρταση στους μεσήλικες Ιάπωνες άνδρες. Για τους άνδρες με τον γονότυπο *ND2-237 Leu*, η συνήθης κατανάλωση καφέ μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο υπέρτασης. Στο μηχανισμό με τον οποίο ο συγκεκριμένος πολυμορφισμός μεσολαβεί τις επιδράσεις του θεωρείται ότι εμπλέκονται τα χλωρογενικά οξέα που υπάρχουν στον καφέ. Σε επακόλουθη μελέτη τους, το 2010, οι Kokaze et al. έδειξαν ότι ο ίδιος πολυμορφισμός μεταβάλλει τα επίπεδα λιπιδίων ορού και τον κίνδυνο για εμφάνιση υπερχοληστερολαιμίας. Για τους άνδρες που είχαν το γονότυπο *Mt5178A*, συνήθης κατανάλωση ≥ 1 φλιτζάνι καφέ ημερησίως αύξανε τα επίπεδα της LDL χοληστερόλης ορού και τον κίνδυνο για υπέρ-LDL-χοληστερολαιμία, ενώ η κατανάλωση καφέ δεν φάνηκε να επηρεάζει τα επίπεδα της LDL ορού των ανδρών που είχαν το γονότυπο *Mt5178* [176].

B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα είναι μια πολυπαραγοντική ομάδα διαταραχών, υπεύθυνη για το μεγαλύτερο ποσοστό θανάτων σε ηλικία κάτω των 70 ετών παγκόσμια. Ανάμεσα στους ποικίλους παράγοντες κινδύνου, οι γενετικοί και οι διατροφικοί παράγοντες παίζουν ρόλο-κλειδί στην παθογένεια της στεφανιαίας νόσου και του εμφράγματος του μυοκαρδίου. Οι πιο πρόσφατες έρευνες έχουν εστιάσει το ενδιαφέρον τους στην ανάδειξη γονιδίων και συγκεκριμένων πολυμορφισμών που δρουν ανεξάρτητα και επηρεάζουν τον καρδιαγγειακό κίνδυνο, καθώς επίσης στην αλληλεπίδραση αυτών με περιβαλλοντικούς παράγοντες και παράγοντες του τρόπου ζωής, η έκθεση στους οποίους είναι πιθανό να επηρεάζει το ρόλο των γενετικών παραλλαγών στην ανάπτυξη στεφανιαίων επεισοδίων.

Ο καφές αποτελεί το πιο διαδεδομένο ρόφημα παγκοσμίως, με γνωστά οφέλη αλλά και κινδύνους για την υγεία. Πέρα από την καφεΐνη, το βασικό και πιο διεγερτικό συστατικό του, περιέχει πλήθος άλλων χημικών συστατικών, που του προσδίδουν σημαντικές ιδιότητες. Η εξατομικευμένη προτίμηση για κατανάλωση καφέ επηρεάζεται αποδεδειγμένα τόσο από γενετικούς όσο και από περιβαλλοντικούς παράγοντες.

Η παρούσα πτυχιακή εργασία αποτελεί μέρος της μελέτης THISEAS (The Hellenic study of Interactions between SNP's and Eating in Atherosclerosis Susceptibility). Σκοπός της είναι η μελέτη της αλληλεπίδρασης μεταξύ της κατανάλωσης καφέ και πολυμορφισμών γονιδίων που έχει φανεί ότι επηρεάζουν τον κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου και εμφράγματος του μυοκαρδίου σε προγενέστερες μελέτες, εκτός Ελλάδας, καθώς επίσης η μελέτη της αλληλεπίδρασης μεταξύ παραγόντων του τρόπου ζωής και διατροφικών παραγόντων με πολυμορφισμούς γονιδίων που προδιαθέτουν την προτίμηση για κατανάλωση καφέ.

2. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

2. 1 Δείγμα της Μελέτης

Το δείγμα της μελέτης αποτελούν 302 ασθενείς με ΣΝ ή/και ΕΜ και 482 μάρτυρες. Η συλλογή του δείγματος πραγματοποιήθηκε από:

- i. τα Κέντρα Ανοιχτής Προστασίας Ηλικιωμένων (Κ.Α.Π.Η) των Καλλιθέας, Μοσχάτου και Νέας Σμύρνης
- ii. τα νοσηλευτικά ιδρύματα Ωνάσειο Καρδιολογικό Κέντρο, ΓΝΑ Αττικό, ΓΝΑ Νίκαια και Ευρωκλινική Αθηνών
- iii. τα δημοτικά ιατρεία Καλλιθέας.

Η συμμετοχή των εξεταζόμενων στην μελέτη ήταν εθελοντική ύστερα από ενυπόγραφη συναίνεσή τους. Ο σχεδιασμός και η διεξαγωγή της συγκεκριμένης μελέτης είχε την έγκριση της Επιτροπής Βιοηθικής του Χαροκόπειου Πανεπιστημίου. Τα κριτήρια επιλογής της ομάδας των ασθενών και της ομάδας ελέγχου φαίνονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 3).

Πίνακας 3: Χαρακτηριστικά του δείγματος της μελέτης

Χαρακτηριστικά	Ομάδες
	Ομάδα Ασθενών
Γενικά χαρακτηριστικά	- Ασθενείς με ΣΝ, οι οποίοι δεν έχουν υποστεί ΕΜ στο παρελθόν - Ασθενείς που έχουν υποστεί ΕΜ ή ασταθή στηθάγχη, ως πρώτη εκδήλωση ΣΝ
Κριτήρια επιλογής	- Στένωση ≥ 50 % σε ένα ή περισσότερα στεφανιαία αγγεία, που προσδιορίζεται με στεφανιογραφικό έλεγχο 1^η διάγνωση ΣΝ εντός του τελευταίου μήνα 1^ο επεισόδιο ΕΜ εντός του τελευταίου μήνα
	Ομάδα Ελέγχου
Γενικά χαρακτηριστικά	- Άνδρες >24 ετών - Γυναίκες >24 ετών
Κριτήρια επιλογής	- Απουσία στένωσης στεφανιαίων αγγείων, μετά από στεφανιογραφικό έλεγχο ή αρνητική δοκιμασία κόπωσης ή απουσία ιστορικού και συμπτωμάτων ΣΝ - Απουσία άλλων καρδιολογικών παθήσεων - Ελεύθερο ιστορικό καρκίνου

2. 2 Συλλογή Στοιχείων

Η συλλογή των στοιχείων της μελέτης πραγματοποιήθηκε κατά τη διάρκεια συνεντεύξεων από ειδικά εκπαιδευμένο προσωπικό και αφορούσαν:

- Ατομικό και οικογενειακό ιατρικό ιστορικό
- Δημογραφικά στοιχεία
- Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά
- Εκτίμηση επιπέδου φυσικής δραστηριότητας
- Δεδομένα τρόπου ζωής και διατροφικές συνήθειες

Από ιατρούς πραγματοποιήθηκε αιμοληψία μετά από δωδεκάωρη νηστεία. Απομονώθηκε βιολογικό υλικό (DNA, πλάσμα/ορός) και πραγματοποιήθηκαν βασικές εργαστηριακές αναλύσεις βιομορίων.

2. 2. 1 Ατομικό και Οικογενειακό Ιατρικό Ιστορικό

Από τους συμμετέχοντες λήφθηκε αναλυτικό ιατρικό ιστορικό, λήφθηκε το πόρισμα της στεφανιογραφίας και έγινε αναλυτική καταγραφή της φαρμακευτικής αγωγής, πριν και κατά τη διάρκεια της νοσηλείας. Επιπλέον, λήφθηκε αναλυτικό οικογενειακό ιστορικό (για τους 1^{ου} βαθμού συγγενείς) για τη ΣΝ, καθώς και για ΣΔ, υπέρταση, θρόμβωση, υπερχοληστερολαιμία και καρκίνο.

2. 2. 2 Δημογραφικά Στοιχεία

Για κάθε συμμετέχοντα της μελέτης συμπληρώθηκε ερωτηματολόγιο που αφορούσε σε δημογραφικούς παράγοντες, όπως ημερομηνία γέννησης, κοινωνικοοικονομικό επίπεδο, κάπνισμα κ.ά.

2. 2. 3 Ανθρωπομετρικά Χαρακτηριστικά

Οι ανθρωπομετρικοί δείκτες που μετρήθηκαν στους εθελοντές ήταν:

- Ύψος: Το ύψος μετρήθηκε στο πλησιέστερο 0,5 cm με σταθερό κατακόρυφο αναστημόμετρο και μετρήθηκε από την κορυφή του κρανιακού θόλου μέχρι το επίπεδο των πελμάτων. Οι εξεταζόμενοι τοποθετούνταν στο αναστημόμετρο όρθιοι, χωρίς παπούτσια και κάλτσες, με τις πτέρνες ενωμένες, τα γόνατα ίσια, τους ώμους χαλαρούς και τις παλάμες να ακουμπούν στους μηρούς. Οι πτέρνες, οι

γλουτοί, το θωρακικό κύρτωμα της σπονδυλικής στήλης και η οπίσθια επιφάνεια του κρανίου να εφάπτονται στον κατακόρυφο άξονα του οργάνου. Σε αυτή τη θέση, οι εξεταζόμενοι έπαιρναν μια αργή και βαθιά εισπνοή, ώστε να εκταθεί η σπονδυλική στήλη, και την κρατούσαν μέχρι να ολοκληρωθεί η μέτρηση.

- ο Βάρος: Το σωματικό βάρος των εθελοντών μετρήθηκε με ηλεκτρονικό ζυγό ακριβείας στο πλησιέστερο 0,5 kg με ελαφρύ ρουχισμό και χωρίς παπούτσια. Οι εξεταζόμενοι τοποθετούνταν στο ζυγό όρθιοι, ακίνητοι στο κέντρο της πλατφόρμας του ζυγού και ζητήθηκε να κοιτάζουν μπροστά χωρίς να στηρίζονται κάπου.
- ο Δείκτης Μάζας Σώματος (ΔΜΣ): Ο ΔΜΣ υπολογίστηκε με τον τύπο $\Delta\text{ΜΣ} = \text{Βάρος (kg)} / \text{Ύψος}^2 (\text{m}^2)$. Με βάση την τιμή ΔΜΣ, οι εθελοντές χαρακτηρίστηκαν ως λιποβαρείς ($\Delta\text{ΜΣ} < 18,5 \text{ kg/m}^2$), φυσιολογικού βάρους ($18,5 \text{ kg/m}^2 < \Delta\text{ΜΣ} < 24,9 \text{ kg/m}^2$), υπέρβαροι ($25,0 \text{ kg/m}^2 < \Delta\text{ΜΣ} < 29,9 \text{ kg/m}^2$) ή παχύσαρκοι ($\Delta\text{ΜΣ} > 30,0 \text{ kg/m}^2$).
- ο Αρτηριακή Πίεση: Η αρτηριακή πίεση μετρήθηκε στο αριστερό χέρι έχοντας τα άτομα σε καθιστή θέση και σε ήρεμη κατάσταση. Η τιμή της συστολικής πίεσης αντιστοιχούσε στην τιμή που έδειχνε το πιεσόμετρο στον πρώτο ήχο. Η τιμή της διαστολικής πίεσης αντιστοιχούσε στην τιμή που έδειχνε το πιεσόμετρο όταν ο ήχος σταματούσε να ακούγεται ρυθμικός και ακουγόταν συνεχόμενος.

2. 2. 4 Εκτίμηση Επιπέδου Φυσικής Δραστηριότητας

Η αξιολόγηση της φυσικής δραστηριότητας πραγματοποιήθηκε μέσω ενός σύντομου αυτό-αναφερόμενου ερωτηματολογίου (HPAQ ή Harokopio Physical Activity Questionnaire), το οποίο καταγράφει τις δραστηριότητες της προηγούμενης εβδομάδας. Το HPAQ εξετάζει το χρόνο που ξοδεύτηκε σε ελαφριάς, μετρίου και υψηλής έντασης δραστηριότητες, ενώ επιπλέον καταγράφει και τις ώρες ύπνου. Το ερωτηματολόγιο βασίζεται στα μεταβολικά ισοδύναμα (Metabolic Equivalent Task – MET) όλων των δραστηριοτήτων της προηγούμενης εβδομάδας, συμπεριλαμβανομένων των δραστηριοτήτων στη δουλειά, στον ελεύθερο χρόνο και στη ξεκούραση – ύπνο, επιτρέποντας έτσι την πρόβλεψη του μέσου επιπέδου φυσικής δραστηριότητας [177]. Η εκτίμηση της φυσικής δραστηριότητας για κάθε εθελοντή εκφράστηκε σε MET-λεπτά /εβδομάδα.

2. 2. 5 Δεδομένα Τρόπου Ζωής και Διατροφικές Συνήθειες

Διατροφική αξιολόγηση έγινε μόνο στους ασθενείς με πρώτη εμφάνιση εμφράγματος μυοκαρδίου ή πρώτη διάγνωση στεφανιαίας νόσου, καθώς και στην ομάδα ελέγχου. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε ήταν το Ερωτηματολόγιο Συχνότητας Κατανάλωσης Τροφίμων (Food Frequency Questionnaire ή FFQ). Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται συχνά για τη διερεύνηση του ρόλου συστατικών της δίαιτας σε χρόνια νοσήματα. Με τα ερωτηματολόγια συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων αξιολογείται η συχνότητα, και κάποιες φορές η ποσότητα, κατανάλωσης τροφίμων και ποτών κατά τη διάρκεια ενός ορισμένου χρονικού διαστήματος (συνήθως κατά τη διάρκεια του τελευταίου έτους) [178].

Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν δύο FFQ. Το πρώτο FFQ που χρησιμοποιήθηκε συντάχθηκε ειδικά για τους σκοπούς της μελέτης THISEAS, σύμφωνα με αντίστοιχα ερωτηματολόγια που υπάρχουν στη διεθνή βιβλιογραφία, καθώς δεν υπήρχε κάποιο διαθέσιμο ερωτηματολόγιο για τον Ελληνικό πληθυσμό. Με το ερωτηματολόγιο που δημιουργήθηκε αξιολογήθηκε η συχνότητα και η ποσότητα κατανάλωσης 172 τροφίμων και ποτών κατά τη διάρκεια του τελευταίου έτους. Οι ερωτώμενοι κλήθηκαν να συμπληρώσουν αν η συχνότητα κατανάλωσης για κάθε τρόφιμο ή ποτό ήταν: ποτέ, σπάνια, 1-3 φορές/μήνα, 1-2 φορές/εβδομάδα, 3-4 φορές/εβδομάδα, 5-6 φορές/εβδομάδα, καθημερινά και πόσες φορές την ημέρα. Για τον προσδιορισμό της ποσότητας κατανάλωσης χρησιμοποιήθηκαν τυπικές αποδεκτές μερίδες μετρημένες σε συχνά χρησιμοποιούμενες μεζούρες (π.χ. ένα φλιτζάνι γάλα), ενώ σε κάποια τρόφιμα για τον προσδιορισμό της ποσότητας χρησιμοποιήθηκαν φωτογραφίες με βάση τη μερίδα που ορίζεται από την αγορανομία. Έτσι, φωτογραφήθηκαν τρεις ποσότητες: μισή μερίδα, μία μερίδα και μιάμιση μερίδα, και οι ερωτώμενοι κλήθηκαν να συμπληρώσουν την ποσότητα που συνήθως κατανάλωναν. Για τα εποχιακά τρόφιμα, ζητήθηκε από τους εθελοντές να συμπληρώσουν τους μήνες κατανάλωσης /έτος.

Το δεύτερο ερωτηματολόγιο περιλάμβανε 40 ερωτήσεις σχετικά με τη συχνότητα κατανάλωσης βασικών ομάδων τροφίμων (γαλακτοκομικά προϊόντα, κόκκινο κρέας, πουλερικά, ψάρια, επεξεργασμένα και μη επεξεργασμένα δημητριακά, φρούτα, λαχανικά, αναψυκτικά, γρήγορο φαγητό, αλκοόλ, τσάι, καφές).

Συγκεκριμένα, η αξιολόγηση της κατανάλωσης καφέ από τους εθελοντές, στο πρώτο FFQ, έγινε ως εξής: οι εθελοντές κλήθηκαν να σημειώσουν πόσες φορές κατανάλωναν καφέ το

μήνα/την εβδομάδα/την ημέρα και πόσες μερίδες κατανάλωναν κάθε φορά, όπου η μερίδα αντιστοιχούσε σε ένα μέσο φλιτζάνι καφέ ≈ 200 mL. Στο δεύτερο FFQ, οι εθελοντές σημείωσαν πόσες φορές την εβδομάδα, πόσα φλιτζάνια και τι είδος καφέ κατανάλωναν, ανάμεσα σε ελληνικό, νεσκαφέ/καπουτσίνο και καφέ φίλτρου.

2. 2. 6 Αιμοληψία και Εργαστηριακές Αναλύσεις

Η αιμοληψία πραγματοποιήθηκε ύστερα από 12ωρη νηστεία. Η εργαστηριακή ανάλυση περιελάμβανε πλήρη εξέταση αίματος, καθώς και εκτίμηση των επιπέδων βιομορίων, όπως γλυκόζης, ινσουλίνης, ολικής χοληστερόλης, LDL χοληστερόλης, HDL χοληστερόλης, τριγλυκεριδίων.

2. 2. 7 Αξιολόγηση Παραγόντων Κινδύνου

Οι παρακάτω παράγοντες κινδύνου KN αξιολογήθηκαν για όλους τους εθελοντές, σύμφωνα με τα αναφερόμενα κριτήρια:

Υπερχοληστερολαιμία: ολική χοληστερόλη ≥ 200 mg/dL, ή/και LDL χοληστερόλη > 130 mg/dL, ή/και χορήγηση υπολιπιδαιμικής αγωγής.

Υπέρταση: συστολική αρτηριακή πίεση > 140 mmHg ή/και διαστολική αρτηριακή πίεση > 90 mmHg ή/και χορήγηση αντιυπερτασικής αγωγής.

Σακχαρώδης Διαβήτης: γλυκόζη νηστείας ≥ 126 mg/dL ή/και σάκχαρο αίματος ≥ 200 mg/dL 2 ώρες μετά τη χορήγηση 75g γλυκόζης ή/και χορήγηση αντιδιαβητικής αγωγής.

Ιστορικό Καπνίσματος: για τους σκοπούς της μελέτης, ως μη καπνιστές θεωρήθηκαν τα άτομα που δεν είχαν καπνίσει ποτέ ή όσοι είχαν διακόψει το κάπνισμα έξι μήνες τουλάχιστον πριν τη νοσηλεία. Στους καπνιστές αξιολογήθηκε τόσο ο αριθμός των τσιγάρων/ημέρα καθώς και τα χρόνια καπνίσματος.

Οικογενειακό Ιστορικό ΣΝ: αξιολογήθηκε το ιστορικό εμφράγματος μυοκαρδίου στον πατέρα σε ηλικία < 55 έτη ή/και στη μητέρα σε ηλικία < 65 έτη.

2. 3 Απομόνωση DNA

Η απομόνωση DNA έγινε από λευκοκύτταρα περιφερικού αίματος, από ολικό αίμα όγκου 3 mL με τη μέθοδο NaCl [179]. Το δείγμα αίματος, μετά την λήψη, τοποθετήθηκε σε φιαλίδιο που περιείχε Na₂EDTA ως αντιπηκτικό.

2. 3. 1 Αρχή της Μεθόδου

Η μέθοδος χρησιμοποιεί τα εμπύρηντα κύτταρα του αίματος ως πηγή DNA. Η εκχύλιση και ο καθαρισμός του DNA περιλαμβάνουν τα εξής στάδια:

- Ωσμωτική λύση των ερυθροκυττάρων και συλλογή των εμπύρηνων λευκών αιμοσφαιρίων.
- Διάσπαση των κυτταρικών μεμβρανών των λευκοκυττάρων και συλλογή των πυρήνων με φυγοκέντριση.
- Λύση των πυρηνικών μεμβρανών.
- Επώαση του πυρηνικού υλικού με πρωτεΐνάση για την άμεση καταστροφή των νουκλεασών.
- Απομάκρυνση της πρωτεΐνάσης και των πρωτεϊνών παρουσία κορεσμένου διαλύματος NaCl.
- Κατακρήμνιση του DNA που βρίσκεται στο διάλυμα αυτό με προσθήκη αλκοόλης.
- Διάλυση σε αποσταγμένο νερό.

2. 4 Γονοτύπηση σε Μικροσυστοιχίες - METABOCHIP

Το Metabochip αποτελεί μια μικροσυστοιχία γονοτύπησης από την Illumina. Ο σχεδιασμός της μικροσυστοιχίας επιτρέπει τον οικονομικά αποδοτικό έλεγχο ~200.000 πολυμορφισμών ανά δείγμα. Οι πολυμορφισμοί που αναλύονται από το Metabochip έχουν αναγνωριστεί ως σημαντικοί γενετικοί δείκτες μεταβολικών και καρδιαγγειακών νοσημάτων, μέσω μετά-αναλύσεων μελετών σάρωσης ολικού γονιδιώματος.

Το Metabochip υποστηρίζει τη γονοτυπική ανάλυση πολυμορφισμών, οι οποίοι έχουν επιλεγεί με βάση τα παρακάτω κριτήρια [180]:

1. Σημαντική συσχέτιση με μεταβολικά και καρδιαγγειακά νοσήματα και χαρακτηριστικά σε GWA μετά-αναλύσεις. Τα νοσήματα και χαρακτηριστικά περιλαμβάνουν το διαβήτη τύπου 2, τα επίπεδα γλυκόζης νηστείας και γλυκόζης 2ωρου, τα επίπεδα HbA1c, την ηλικία διάγνωσης διαβήτη τύπου 2, το έμφραγμα μυοκαρδίου, τη στεφανιαία αγγειακή νόσο, τα επίπεδα ολικής χοληστερόλης, LDL-C, HDL-C και τριγλυκεριδίων, τις τιμές του δείκτη μάζας σώματος, της περιφέρειας μέσης και του λόγου περιφέρειας μέσης/γλουτών, του ύψους, του ποσοστού σωματικού λίπους, του αριθμού αιμοπεταλίων, του μέσου όγκου αιμοπεταλίων και του αριθμού λευκών κυττάρων.
2. Σημαντικότητα γενετικών περιοχών σε επίπεδο ολικού γονιδιώματος από μετά-αναλύσεις.
3. Σημαντική συσχέτιση σε επίπεδο ολικού γονιδιώματος με οποιοδήποτε ανθρώπινο χαρακτηριστικό.
4. Ιδιαίτερο ερευνητικό ενδιαφέρον για τα διεθνή Consortia μετά-αναλύσεων.
5. Ικανότητα επισήμανσης (tag) αριθμού αντιγράφων πολυμορφισμών (Copy Number Polymorphisms – CNPs) και κοινών πολυμορφισμών στην περιοχή HLA, πολυμορφισμών που επισημαίνουν το X και Y χρωμόσωμα, καθώς και το μιτοχονδριακό DNA.

3. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η ανάλυση και επεξεργασία των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS 21.0. Οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέσος όρος $\pm$ τυπική απόκλιση (Standard Deviation – SD), ενώ οι κατηγορικές μεταβλητές ως απόλυτες τιμές και ποσοστά (%). Για τη σύγκριση κατηγορικών μεταβλητών εφαρμόστηκε ο έλεγχος χ^2 του Pearson, ενώ για τη σύγκριση συνεχών μεταβλητών ο έλεγχος T-test του Student και η ανάλυση διακύμανσης One-Way ANOVA. Ο έλεγχος των συσχετίσεων πραγματοποιήθηκε με μοντέλα πολλαπλής λογαριθμικής παλινδρόμησης (Binary/Multinomial Logistic Regression), από τα οποία προέκυψαν οι σχετικοί λόγοι (Odds Ratios – OR) για κάθε εξεταζόμενη μεταβλητή. Όλοι οι έλεγχοι πραγματοποιήθηκαν σε επίπεδο σημαντικότητας 95 % και στατιστικά σημαντικές θεωρήθηκαν οι τιμές με $p < 0,05$.

Η ανάλυση των γενετικών δεδομένων πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πρόγραμμα PLINK 1.07 [181]. Για τον έλεγχο συσχέτισης και αλληλεπίδρασης μεταξύ των πολυμορφισμών γονιδίων με τις μεταβλητές εφαρμόστηκαν μοντέλα πολλαπλής γραμμικής και λογαριθμικής παλινδρόμησης, χρησιμοποιώντας το προσθετικό γενετικό μοντέλο ανάλυσης (Additive Genetic Model) και ελέγχοντας για πιθανούς συμπαράγοντες. Η συχνότητα των μελετώμενων πολυμορφισμών στο δείγμα συγκρίθηκε με την αναμενόμενη συχνότητα στον πληθυσμό σύμφωνα με την ισορροπία Hardy-Weinberg (HWE). Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας διορθώθηκε κατά Bonferroni και εκτιμήθηκε εντέλει σε επίπεδο $p = 0,01$.

Γ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Το δείγμα της μελέτης αποτελούσαν 784 άτομα, από τα οποία τα 302 ήταν ασθενείς και τα 482 μάρτυρες. Στον Πίνακα 4 παρουσιάζονται τα περιγραφικά χαρακτηριστικά του συνόλου του δείγματος, καθώς και των ασθενών και μαρτύρων συγκριτικά. Η μέση ηλικία των συμμετεχόντων ήταν $57,8 \pm 13,5$ έτη, ενώ οι ασθενείς είχαν μεγαλύτερο μέσο όρο ηλικίας σε σχέση με τους μάρτυρες ($p < 0,001$). Το 56,4 % των εθελοντών αποτελούσαν άνδρες, ενώ μεταξύ των ασθενών το 79,5 % και μεταξύ των μαρτύρων το 41,9 % ήταν άνδρες. Ο μέσος ΔΜΣ κυμαινόταν στα πλαίσια του υπέρβαρου για όλες τις κατηγορίες συμμετεχόντων (δείγμα: $28 \pm 4,3 \text{ kg/m}^2$, ασθενείς: $27,7 \pm 4 \text{ kg/m}^2$, μάρτυρες: $28,3 \pm 4,6 \text{ kg/m}^2$), ενώ οι μάρτυρες είχαν μεγαλύτερη φυσική δραστηριότητα ($14535,3 \pm 2943,6 \text{ MET min/wk}$ έναντι $13519,3 \pm 3307 \text{ MET min/wk}$, $p < 0,001$) και μικρότερη ενεργειακή πρόσληψη ($1703,4 \pm 828,2 \text{ kcal/d}$ έναντι $2106,7 \pm 911,5 \text{ kcal/d}$, $p < 0,001$) από τους ασθενείς. Ως εκ τούτου, οι τελευταίοι είχαν και μεγαλύτερη πρόσληψη μακροθρεπτικών συστατικών – υδατανθράκων, πρωτεϊνών, λίπους – καθώς και αλκοόλ ($p < 0,001$). Όπως αναμενόταν, επιπλέον, οι ασθενείς εμφάνισαν μεγαλύτερα ποσοστά και στους υπόλοιπους παράγοντες κινδύνου των ΚΝ: 80,5 % των ασθενών είχαν δυσλιπιδαιμία έναντι 73,4 % των μαρτύρων ($p = 0,03$), 68,9 % των ασθενών είχαν υπέρταση έναντι 43,6 % των μαρτύρων ($p < 0,001$), 36,8 % των ασθενών είχαν σακχαρώδη διαβήτη έναντι 10,6 % των μαρτύρων ($p < 0,001$), 33,8 % των ασθενών είχαν οικογενειακό ιστορικό ΚΝ έναντι 22,6 % των μαρτύρων ($p < 0,001$) και 41,4 % των ασθενών ήταν νυν καπνιστές έναντι 23,9 % των μαρτύρων ($p < 0,001$). Τέλος, οι ασθενείς φάνηκε ότι συνηθίζουν να πίνουν περισσότερο καφέ από τους μάρτυρες, καθώς η μέση ημερήσια πρόσληψη καφέ ήταν $1,7 \pm 1,4$ φλιτζάνια για τους πρώτους έναντι $1,3 \pm 1,1$ φλιτζάνια για τους τελευταίους ($p < 0,001$), όπου ένα φλιτζάνι αντιστοιχούσε σε ποσότητα 240 mL καφέ φίλτρου/στιγμιαίου ή 60 mL καφέ εσπρέσο/ελληνικό.

Πίνακας 4: Περιγραφικά Χαρακτηριστικά Δείγματος, Ασθενών & Μαρτύρων

Χαρακτηριστικά	Δείγμα μελέτης (N= 784)	Ασθενείς (N= 302)	Μάρτυρες (N= 482)	p-value cases vs controls
Ηλικία (mean ±SD, y)	57,8 ± 13,5	62,8 ± 11,2	54,6 ± 13,8	<0,001
Φύλο (άνδρες, %)	442 (56,4)	240 (79,5)	202 (41,9)	<0,001
ΔΜΣ (mean ±SD, kg/m ²)	28 ± 4,3	27,7 ± 3,9	28,3 ± 4,6	0,04
Κάπνισμα (ναι, %)	240 (31,1)	125 (41,4)	115 (23,9)	<0,001
Φυσική Δραστηριότητα (mean ±SD, METs min/wk)	14169,2 ± 3115,6	13519,3 ± 3307	14535,3 ± 2943,6	<0,001
Ενεργειακή Πρόσληψη (mean ±SD, kcal/d)	1838,2 ± 877,2	2106,7 ± 911,5	1703,4 ± 828,2	<0,001
Πρωτεϊνική Πρόσληψη (mean ±SD, g/d)	81,9 ± 35,4	90,1 ± 36,6	77,8 ± 34	<0,001
Πρόσληψη Υδατ/κων (mean ±SD, g/d)	203,9 ± 101	229,5 ± 98,8	191,1 ± 99,7	<0,001
Πρόσληψη Λίπους (mean ±SD, g/d)	72 ± 36,9	81,3 ± 38	67,4 ± 35,5	<0,001
Σακχαρώδης Διαβήτης (ναι, %)	162 (20,7)	111 (36,8)	51 (10,6)	<0,001
Υπέρταση (ναι, %)	418 (53,7)	208 (68,9)	210 (43,6)	<0,001
Δυσλιπιδαιμία (ναι, %)	597 (76,2)	243 (80,5)	354 (73,4)	0,03
Οικογενειακό Ιστορικό ΚΝ (ναι, %)	211 (28,8)	102 (33,8)	109 (22,6)	<0,001
Πρόσληψη Καφεΐνης μέσω καφέ (mean ±SD, mg/d)	81,2 ± 72,6	94 ± 74,8	75,2 ± 70,8	<0,001
Κατανάλωση Καφέ (mean ±SD, cups/d)	1,5 ± 1,2	1,7 ± 1,4	1,3 ± 1,1	<0,001
Πρόσληψη Αλκοόλ (mean ±SD, g/d)	8,5 ± 17,4	13 ± 23,3	6,3 ± 13	<0,001

2. ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ

Η κατανομή του πληθυσμού ως προς την κατανάλωση καφέ έγινε με δυο τρόπους:

1. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία [164, 176], τα άτομα χωρίστηκαν σε τρεις κατηγορίες που αντιστοιχούσαν σε ελαφριά, μέτρια και υψηλή κατανάλωση καφέ, δηλαδή <1 , $1-3$ και >3 φλιτζάνια/ημέρα, αντίστοιχα.
2. Βάσει της μέσης ημερήσιας κατανάλωσης καφέ του δείγματος, τα άτομα χωρίστηκαν σε αυτούς που έπιναν $<1,5$ ή $\geq 1,5$ φλιτζάνια/ημέρα, ώστε οι κατηγορίες να είναι περισσότερο ομοιογενείς.

Στους παρακάτω πίνακες (Πίνακας 5, 6, 7, και 8) παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά των ασθενών και των μαρτύρων ως προς τις παραπάνω κατηγοριοποιήσεις. Συγκρίνοντας τις ομάδες μεταξύ τους, αλλά και τις διαφορετικές κατηγοριοποιήσεις κατανάλωσης καφέ, προκύπτουν τα εξής αποτελέσματα:

- ✓ Το φύλο δεν φαίνεται να επηρεάζει την κατανάλωση καφέ.
- ✓ Ο ΔΜΣ βρέθηκε στατιστικά σημαντικός παράγων μόνο στην ομάδα των μαρτύρων στην 2η κατηγοριοποίηση ($p=0,02$), όπου αυξημένη κατανάλωση καφέ φαίνεται να σχετίζεται με μεγαλύτερο ΔΜΣ κατά μία μονάδα.
- ✓ Μεγαλύτερη κατανάλωση καφέ βρέθηκε να κάνουν άτομα μικρότερης ηλικίας, ειδικότερα για την ομάδα των ασθενών άτομα κοντά στη διάμεσο ηλικία του δείγματος (median age= 59 y) και για την ομάδα των μαρτύρων άτομα ακόμα νεαρότερα.
- ✓ Πολύ ισχυρή συσχέτιση βρέθηκε ανάμεσα στην κατανάλωση καφέ και τη συνήθεια του καπνίσματος, όπου σε όλες τις περιπτώσεις ($p<0,001$), όσο αυξανόταν η κατανάλωση καφέ μέσα στην ημέρα, αυξανόταν και το ποσοστό των νυν καπνιστών.
- ✓ Αντίθετα, στην περίπτωση της κατανάλωσης αλκοόλ, βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μόνο στην ομάδα των ασθενών ($p=0,001$), για τους οποίους φάνηκε ότι με την αύξηση της κατανάλωσης καφέ αυξάνεται και η μέση πρόσληψη αλκοόλ της ημέρας.
- ✓ Αυξημένη κατανάλωση καφέ φαίνεται ότι σχετίζεται και με περισσότερη φυσική δραστηριότητα ανά εβδομάδα, αφού και για τις δυο κατηγορίες των δυο ομάδων αυτή η συσχέτιση ήταν στατιστικά σημαντική.

- ✓ Όσον αφορά την ημερήσια ενεργειακή πρόσληψη και την πρόσληψη μακροθρεπτικών συστατικών, τα αποτελέσματα ανά κατηγορία κατανάλωσης καφέ για κάθε ομάδα ήταν διαφορετικά: στους μεν ασθενείς, η ενεργειακή πρόσληψη αυξανόταν με την αύξηση της κατανάλωσης καφέ, αλλά στην πρώτη κατηγορία αυτή η συσχέτιση ήταν οριακά σημαντική ($p= 0,05$) σε σχέση με τη δεύτερη ($p= 0,005$). Επιπλέον, η κατανάλωση πρωτεϊνών, υδατανθράκων και λιπαρών δεν βρέθηκε να σχετίζεται στατιστικά σημαντικά με την κατανάλωση καφέ στην πρώτη (τριπλή) κατηγοριοποίηση σε αντίθεση με τη δεύτερη, στην οποία όσοι κατανάλωναν $\geq 1,5$ φλιτζ. καφέ την ημέρα προσλάμβαναν και περισσότερες πρωτεΐνες, υδατάνθρακες και λιπαρά μέσα στην ημέρα ($p= 0,02$, $p= 0,04$ και $p= 0,01$, αντίστοιχα). Στους δε μάρτυρες, τόσο η συνολική ενεργειακή πρόσληψη όσο και η πρόσληψη μακροθρεπτικών συστατικών σχετίστηκε σημαντικά με την κατανάλωση καφέ μόνο στην πρώτη περίπτωση. Εκεί φάνηκε ότι όσοι είχαν μέτρια κατανάλωση καφέ ανά ημέρα (1-3 φλιτζ.) κατανάλωναν περισσότερες πρωτεΐνες ($p< 0,001$), υδατάνθρακες ($p= 0,003$), λιπαρά ($p< 0,001$) αλλά και ολική ενέργεια ($p< 0,001$) σε σχέση με αυτούς που είχαν ελαφριά ή υψηλή κατανάλωση καφέ.
- ✓ Τέλος, δεν βρέθηκαν ιδιαίτερα σημαντικά αποτελέσματα στη συσχέτιση της κατανάλωσης καφέ με τα ποσοστά δυσλιπιδαιμίας, υπέρτασης, σακχαρώδη διαβήτη και οικογενειακού ιστορικού ΚΝ σε καμία από τις δυο κατηγοριοποιήσεις και για τις δυο ομάδες εθελοντών.

Πίνακας 5: Χαρακτηριστικά Ασθενών ως προς την 1η Κατηγοριοποίηση Κατανάλωσης Καφέ (N= 302)

Χαρακτηριστικά Κατηγορία Κατ/σης Καφέ	<1 cup/d (N= 66)	1-3 cups/d (N= 212)	>3 cups/d (N= 24)	p-value between groups
Ηλικία (mean ±SD, y)	66,3 ± 11,4	62,4 ± 11	56,1 ± 9,9	<0,001
Φύλο (άνδρες, %)	54 (81,8)	165 (77,9)	21 (87,5)	0,5
ΔΜΣ (mean ±SD, kg/m ²)	27,2 ± 3,7	27,8 ± 4	27,8 ± 3,9	0,6
Κάπνισμα (ναι, %)	11 (16,7)	96 (45,3)	18 (75,0)	<0,001
Φυσική Δραστηριότητα (mean ±SD, METs min/wk)	12676,4 ± 2523,2	13339,2 ± 3055,1	17166 ± 4628,6	<0,001
Ενεργειακή Πρόσληψη (mean ±SD, kcal/d)	1951,4 ± 925	2102,4 ± 886,9	2494,9 ± 981,7	0,05
Πρωτεϊνική Πρόσληψη (mean ±SD, g/d)	86,7 ± 37,9	89,2 ± 35,3	104,8 ± 41,1	0,2
Πρόσληψη Υδατ/κων (mean ±SD, g/d)	206,4 ± 98,1	232,9 ± 99	257,1 ± 92,9	0,06
Πρόσληψη Λίπους (mean ±SD, g/d)	75,6 ± 35,7	81,1 ± 37,7	95,3 ± 43,5	0,2
Σακχαρώδης Διαβήτης (ναι, %)	30 (45,5)	74 (34,9)	7 (29,2)	0,2
Υπέρταση (ναι, %)	45 (68,2)	145 (68,4)	18 (75,0)	0,9
Δυσλιπιδαιμία (ναι, %)	47 (71,2)	174 (82,1)	22 (91,7)	0,05
Οικογενειακό Ιστορικό ΚΝ (ναι, %)	15 (22,7)	78 (36,8)	9 (37,5)	0,03
Πρόσληψη Καφεΐνης μέσω καφέ (mean ±SD, mg/d)	14,7 ± 16,8	93,3 ± 39,9	266,1 ± 81,5	<0,001
Πρόσληψη Αλκοόλ (mean ±SD, g/d)	6,7 ± 14	12,8 ± 22,5	28,4 ± 36,6	0,001

Πίνακας 6: Χαρακτηριστικά Ασθενών ως προς την 2η Κατηγοριοποίηση Κατανάλωσης Καφέ (N= 302)

Χαρακτηριστικά Κατηγορία Κατ/σης Καφέ	<1,5 cup/d (N= 143)	≥1,5 cups/d (N= 159)	p-value between groups
Ηλικία (mean ±SD, y)	66,4 ± 10,3	59,5 ± 11	<0,001
Φύλο (άνδρες, %)	107 (74,8)	133 (83,6)	0,06
ΔΜΣ (mean ±SD, kg/m ²)	27,5 ± 3,9	27,8 ± 4	0,5
Κάπνισμα (ναι, %)	31 (22,1)	94 (60,6)	<0,001
Φυσική Δραστηριότητα (mean ±SD, METs min/wk)	12483,2 ± 2514,7	14523,4 ± 3664,2	<0,001
Ενεργειακή Πρόσληψη (mean ±SD, kcal/d)	1938,6 ± 861,6	2264 ± 932,1	0,005
Πρωτεϊνική Πρόσληψη (mean ±SD, g/d)	84,4 ± 34,9	95,4 ± 37,5	0,02
Πρόσληψη Υδατ/κων (mean ±SD, g/d)	215,7 ± 99,4	242,4 ± 97	0,04
Πρόσληψη Λίπους (mean ±SD, g/d)	74,7 ± 35,2	87,5 ± 39,6	0,01
Σακχαρώδης Διαβήτης (ναι, %)	56 (39,4)	55 (34,6)	0,4
Υπέρταση (ναι, %)	104 (73,2)	104 (65,8)	0,2
Δυσλιπιδαιμία (ναι, %)	109 (76,2)	134 (84,3)	0,08
Οικογενειακό Ιστορικό ΚΝ (ναι, %)	43 (33,6)	59 (45)	0,06
Πρόσληψη Καφεΐνης μέσω καφέ (mean ±SD, mg/d)	39,6 ± 24,7	142,5 ± 71	<0,001
Πρόσληψη Αλκοόλ (mean ±SD, g/d)	7,9 ± 13,3	17,8 ± 29	0,001

Πίνακας 7: Χαρακτηριστικά Μαρτύρων ως προς την 1η Κατηγοριοποίηση Κατανάλωσης Καφέ (N= 482)

Χαρακτηριστικά Κατηγορία Κατ/σης Καφέ	<1 cup/d (N= 155)	1-3 cups/d (N= 293)	>3 cups/d (N= 34)	p-value between groups
Ηλικία (mean ±SD, y)	56,9 ± 14,8	54,1 ± 13,4	49 ± 11,5	0,006
Φύλο (άνδρες, %)	65 (41,9)	122 (41,6)	15 (44,1)	1
ΔΜΣ (mean ±SD, kg/m ²)	27,7 ± 4,4	28,6 ± 4,6	28,2 ± 4,8	0,1
Κάπνισμα (ναι, %)	18 (11,8)	81 (28,0)	16 (47,1)	<0,001
Φυσική Δραστηριότητα (mean ±SD, METs min/wk)	13941,8 ± 2779,8	14741,4 ± 2971,7	15437,9 ± 3034,7	0,005
Ενεργειακή Πρόσληψη (mean ±SD, kcal/d)	1529,6 ± 664,1	1821,8 ± 879,7	1474,9 ± 878,8	<0,001
Πρωτεϊνική Πρόσληψη (mean ±SD, g/d)	69,9 ± 27,6	82,7 ± 35,9	71,2 ± 36,6	<0,001
Πρόσληψη Υδατ/κων (mean ±SD, g/d)	176,6 ± 85,8	202,9 ± 105,3	156,1 ± 94,6	0,003
Πρόσληψη Λίπους (mean ±SD, g/d)	59,5 ± 28	72,6 ± 38,4	57,4 ± 31,7	<0,001
Σακχαρώδης Διαβήτης (ναι, %)	20 (12,9)	29 (9,9)	2 (5,9)	0,4
Υπέρταση (ναι, %)	69 (44,5)	132 (45,7)	9 (26,5)	0,1
Δυσλιπιδαιμία (ναι, %)	119 (76,8)	209 (71,6)	26 (76,5)	0,5
Οικογενειακό Ιστορικό ΚΝ (ναι, %)	29 (19,3)	72 (24,9)	8 (23,5)	0,4
Πρόσληψη Καφεΐνης μέσω καφέ (mean ±SD, mg/d)	11,5 ± 17,4	88,9 ± 35,5	248 ± 94,2	<0,001
Πρόσληψη Αλκοόλ (mean ±SD, g/d)	4,6 ± 10	7,2 ± 13,8	6,2 ± 16,5	0,1

Πίνακας 8: Χαρακτηριστικά Μαρτύρων ως προς την 2η Κατηγοριοποίηση Κατανάλωσης Καφέ (N= 482)

Χαρακτηριστικά Κατηγορία Κατ/σης Καφέ	<1,5 cup/d (N= 259)	≥1,5 cups/d (N= 223)	p-value between groups
Ηλικία (mean ±SD, y)	56,6 ± 14,2	52,3 ± 13	0,001
Φύλο (άνδρες, %)	101 (39)	101 (45,3)	0,2
ΔΜΣ (mean ±SD, kg/m ²)	27,8 ± 4,3	28,8 ± 4,9	0,02
Κάπνισμα (ναι, %)	39 (15,4)	76 (34,2)	<0,001
Φυσική Δραστηριότητα (mean ±SD, METs min/wk)	14181,2 ± 2895,3	14945,2 ± 2952,6	0,01
Ενεργειακή Πρόσληψη (mean ±SD, kcal/d)	1718,4 ± 779,4	1685,9 ± 882,9	0,7
Πρωτεϊνική Πρόσληψη (mean ±SD, g/d)	76,9 ± 32,5	78,8 ± 35,7	0,6
Πρόσληψη Υδατ/κων (mean ±SD, g/d)	197,2 ± 93,8	184,1 ± 105,8	0,2
Πρόσληψη Λίπους (mean ±SD, g/d)	67,1 ± 34,2	67,6 ± 37	0,9
Σακχαρώδης Διαβήτης (ναι, %)	31 (12)	20 (9)	0,3
Υπέρταση (ναι, %)	120 (46,7)	90 (40,7)	0,2
Δυσλιπιδαιμία (ναι, %)	192 (74,1)	162 (73)	0,8
Οικογενειακό Ιστορικό ΚΝ (ναι, %)	49 (19,5)	60 (27)	0,05
Πρόσληψη Καφεΐνης μέσω καφέ (mean ±SD, mg/d)	28,2 ± 25,1	129,7 ± 67,7	<0,001
Πρόσληψη Αλκοόλ (mean ±SD, g/d)	5,6 ± 12,7	7,1 ± 13,3	0,2

3. ΕΛΕΓΧΟΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΩΝ

Αρχικά, ελέγχθηκε η συσχέτιση της κατανάλωσης καφέ (και για τις δυο κατηγοριοποιήσεις) με τη νόσο και τους ενδιάμεσους παράγοντες κινδύνου ξεχωριστά, συγκεκριμένα με τη ΣΝ και το ΕΜ (ασθενείς – μάρτυρες), τη δυσλιπιδαιμία, την υπέρταση, τον σακχαρώδη διαβήτη και το κάπνισμα. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν ήταν τα εξής:

- Τα άτομα που καταναλώνουν μέτρια ποσότητα καφέ (1–3 φλιτζ./ημέρα) είχαν 70 % μεγαλύτερη πιθανότητα να εμφανίσουν ΣΝ ή ΕΜ σε σχέση με τα άτομα που καταναλώνουν ελαφριά ποσότητα (<1 φλιτζ./ημέρα) (OR: 1,7, 95% CI: 1,21 – 2,38, $p=0,002$).
- Δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στις διαφορετικές ποσότητες κατανάλωσης καφέ και στην εμφάνιση δυσλιπιδαιμίας.
- Ομοίως, ο καφές δεν βρέθηκε να επηρεάζει μεμονωμένα την εμφάνιση υπέρτασης αλλά
- Ούτε και την ανάπτυξη σακχαρώδη διαβήτη.
- Αντιθέτως, ισχυρή θετική συσχέτιση βρέθηκε να υπάρχει μεταξύ της κατανάλωσης καφέ και του καπνίσματος: τα άτομα που καταναλώνουν περισσότερο καφέ (μέτρια ή υψηλή κατανάλωση) φάνηκε ότι έχουν διπλάσια πιθανότητα να είναι καπνιστές σε σχέση με αυτούς που κάνουν ελαφριά κατανάλωση ($p<0,001$).

Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκαν έλεγχοι με μοντέλα πολλαπλής λογαριθμικής παλινδρόμησης, ώστε να ελεγχθεί, αφενός, η αλληλεπίδραση της κατανάλωσης καφέ με ποικίλους παράγοντες ως προς την εμφάνιση ΚΝ ή παραγόντων κινδύνου αυτών και, αφετέρου, η αλληλεπίδραση παραγόντων ως προς την προτίμηση κατανάλωσης καφέ. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν είναι τα παρακάτω:

- Ως προς την προτίμηση για κατανάλωση καφέ

Η ηλικία και το φύλο φάνηκε ότι δεν επηρεάζουν την προτίμηση των ατόμων για κατανάλωση καφέ. Τα άτομα που καπνίζουν είχαν διπλάσια πιθανότητα να κάνουν υψηλή κατανάλωση καφέ ($p<0,001$) – είτε με την τριπλή κατηγοριοποίηση κατανάλωσης καφέ (<1, 1-3, >3 φλιτζ./ημέρα) είτε με τη διπλή (< ή $\geq 1,5$ φλιτζ./ημέρα), μετά από προσαρμογή

των αποτελεσμάτων ως προς τους παραπάνω τρεις παράγοντες. Η επίδραση αυτή είχε την ίδια ισχύ και σε μετέπειτα έλεγχο με περισσότερους συμπαράγοντες [ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, φυσική δραστηριότητα, ενεργειακή πρόσληψη, κατάσταση υγείας (ασθενείς – μάρτυρες), πρόσληψη αλκοόλ]. Οι ασθενείς (cases) είχαν διπλάσια πιθανότητα να πίνουν 1-3 φλιτζ. καφέ/ημέρα σε σχέση με <1 φλιτζ. ($p = 0,007$) συγκριτικά με τους μάρτυρες (controls), με προσαρμογή των αποτελεσμάτων ως προς ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, κάπνισμα, φυσική δραστηριότητα, ενεργειακή πρόσληψη, πρόσληψη αλκοόλ. Στον ίδιο έλεγχο, ωστόσο, με σύγκριση των δυο κατηγοριών καφέ (< ή $\geq 1,5$ φλιτζ./ημέρα), δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της κατάστασης υγείας με την κατανάλωση καφέ.

- Ως προς την εμφάνιση ΚΝ (ΣΝ ή ΕΜ)

Οι άνδρες είχαν διπλάσια πιθανότητα να εμφανίσουν ΚΝ σε σχέση με τις γυναίκες ($p < 0,001$). Η επίδραση του φύλου φάνηκε να παραμένει ίδια μετά από προσαρμογή των αποτελεσμάτων ως προς ηλικία, ΔΜΣ, κατανάλωση καφέ, ενεργειακή πρόσληψη και φυσική δραστηριότητα. Η αύξηση της ηλικίας και του ΔΜΣ δεν βρέθηκε να επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό τον κίνδυνο για ΚΝ (OR, 95% CI: 1,07, 1,05 – 1,09 και 0,9, 0,86 – 0,95, αντίστοιχα, $p < 0,001$). Τα άτομα που πίνουν $\geq 1,5$ φλιτζ. καφέ/ημέρα είχαν 54 % μεγαλύτερη πιθανότητα να εμφανίσουν ΚΝ σε σχέση με τα άτομα που πίνουν <1,5 φλιτζ./ημέρα (OR, 95% CI: 1,54, 1,05 – 2,27, $p = 0,03$), με προσαρμογή των αποτελεσμάτων ως προς ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, ενεργειακή πρόσληψη, φυσική δραστηριότητα, πρόσληψη αλκοόλ. Ο κίνδυνος αυξήθηκε κατά 10 % (OR, 95% CI: 1,64, 1,14 – 2,38, $p = 0,008$) όταν έγινε προσαρμογή και ως προς το ιστορικό υπέρτασης, δυσλιπιδαιμίας και σακχαρώδη διαβήτη. Αντίστοιχα, βρέθηκε ότι τα άτομα που καταναλώνουν 1-3 φλιτζ. καφέ/ημέρα ($p < 0,001$) ή >3 φλιτζ./ημέρα ($p = 0,006$) είχαν διπλάσια πιθανότητα να εμφανίσουν ΚΝ σε σχέση με όσους πίνουν <1 φλιτζ. καφέ ημερησίως. Λαμβάνοντας και το κάπνισμα ως συμπαράγοντα, η κατανάλωση καφέ < ή $\geq 1,5$ φλιτζ. ανά ημέρα δεν είχε πλέον στατιστικά σημαντική επίδραση στην εμφάνιση ΚΝ. Αντίθετα, για τα άτομα που πίνουν 1-3 φλιτζ. καφέ/ημέρα βρέθηκε και πάλι ότι είχαν μεγαλύτερη πιθανότητα να εμφανίσουν ΣΝ ή ΕΜ σε σχέση με τα άτομα που πίνουν <1 φλιτζ./ημέρα (OR, 95% CI: 1,7, 1,1 – 2,6, $p = 0,02$).

- Ως προς την εμφάνιση Υπέρτασης

Το φύλο δεν βρέθηκε να επηρεάζει στατιστικά σημαντικά τον κίνδυνο ανάπτυξης υπέρτασης. Επιπλέον, η αύξηση της ηλικίας και του ΔΜΣ φάνηκε ότι αυξάνουν

στατιστικά σημαντικά αλλά σε μικρό βαθμό τον κίνδυνο για υπέρταση (OR, 95% CI: 1,06, 1,04 – 1,07 και 1,15, 1,1 – 1,2, αντίστοιχα, $p < 0,001$), με προσαρμογή των αποτελεσμάτων ως προς φύλο, κατάσταση υγείας, κάπνισμα, κατανάλωση καφέ. Οι ασθενείς βρέθηκε ότι είχαν διπλάσια πιθανότητα να εμφανίσουν υπέρταση σε σχέση με τους μάρτυρες ($p < 0,001$), με προσαρμογή των αποτελεσμάτων για ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, κάπνισμα, ενώ η κατανάλωση καφέ δεν βρέθηκε να επηρεάζει στατιστικά σημαντικά την εμφάνιση υπέρτασης σε κανέναν έλεγχο.

- Ως προς την εμφάνιση Δυσλιπιδαιμίας

Το φύλο δεν βρέθηκε να επηρεάζει στατιστικά σημαντικά την εμφάνιση δυσλιπιδαιμίας. Επίσης, η αύξηση της ηλικίας και του ΔΜΣ φάνηκε ότι αυξάνουν σε μικρό ποσοστό τον κίνδυνο για δυσλιπιδαιμία (OR, 95% CI: 1,03, 1,02 – 1,05, $p < 0,001$ και 1,07, 1,03 – 1,12, $p = 0,002$, αντίστοιχα). Η επίδραση αυτή εξακολουθούσε να είναι ίδια κι έπειτα από προσαρμογή των αποτελεσμάτων για το φύλο, την πρόσληψη λίπους, την ενεργειακή πρόσληψη και τη φυσική δραστηριότητα. Όσον αφορά την κατανάλωση καφέ, τα άτομα που καταναλώνουν >3 φλιτζ. την ημέρα βρέθηκε ότι έχουν διπλάσια πιθανότητα να εμφανίσουν δυσλιπιδαιμία σε σχέση με τα άτομα που πίνουν <1 φλιτζ. καφέ την ημέρα ($p = 0,03$), με προσαρμογή των αποτελεσμάτων ως προς ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, πρόσληψη λίπους και ενεργειακή πρόσληψη. Ανάλογη επίδραση δεν παρατηρήθηκε στις συγκρίσεις των υπολοίπων επιμέρους κατηγοριών κατανάλωσης καφέ, ούτε των δύο κατηγοριών $< \text{ή} \geq 1,5$ φλιτζ./ημέρα, ενώ βρέθηκε στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση όταν εξετάστηκε η κατανάλωση καφέ σαν συνεχής μεταβλητή «φλιτζάνια ανά ημέρα»: αύξηση της κατανάλωσης κατά ένα φλιτζάνι, φάνηκε ότι αυξάνει τον κίνδυνο ανάπτυξης δυσλιπιδαιμίας κατά 22 % (OR, 95% CI: 1,22, 1,04 – 1,44, $p = 0,02$), έπειτα από προσαρμογή των αποτελεσμάτων για ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, πρόσληψη λίπους, ενεργειακή πρόσληψη, κατάσταση υγείας, οικογενειακό ιστορικό ΚΝ.

- Ως προς την εμφάνιση Σακχαρώδη Διαβήτη

Το φύλο δεν φάνηκε να επηρεάζει στατιστικά σημαντικά τον κίνδυνο για σακχαρώδη διαβήτη, ενώ η αύξηση της ηλικίας και του ΔΜΣ φάνηκε να τον αυξάνουν σε μικρό ποσοστό (OR, 95% CI: 1,04, 1,02 – 1,07, $p < 0,001$ και 1,1, 1,04 – 1,16, $p = 0,001$, αντίστοιχα). Οι ασθενείς βρέθηκε, επίσης, ότι έχουν διπλάσια πιθανότητα να εμφανίσουν ΣΔ σε σχέση με τους μάρτυρες ($p < 0,001$). Αντίθετα, μια «τάση» για προστατευτική επίδραση της κατανάλωσης καφέ στην εμφάνιση ΣΔ φάνηκε να υπάρχει στην εξής

περίπτωση: τα άτομα που καταναλώνουν 1-3 φλιτζ. καφέ ανά ημέρα φάνηκε ότι είχαν 36 % μικρότερη πιθανότητα να εκδηλώσουν ΣΔ σε σχέση με όσους καταναλώνουν <1 φλιτζ. (OR, 95% CI: 0,64, 0,40- 1,03, $p= 0,07$), με προσαρμογή των αποτελεσμάτων ως προς ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, κατάσταση υγείας, ενεργειακή πρόσληψη και πρόσληψη υδατανθράκων. Καμία άλλη στατιστικά σημαντική συσχέτιση δεν παρατηρήθηκε για τις υπόλοιπες κατηγορίες κατανάλωσης καφέ.

4. ΓΕΝΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Στον *Πίνακα 9* παρουσιάζονται οι πολυμορφισμοί γονιδίων που αναφέρονται στη διαθέσιμη βιβλιογραφία ότι αλληλεπιδρούν με τον καφέ, είτε ευνοώντας την προδιάθεση για κατανάλωση του, είτε αυξάνοντας τον κίνδυνο εμφάνισης ΚΝ ή ενδιάμεσων παραγόντων αυτών (όπως υπέρταση, δυσλιπιδαιμία, κ.ά.). Ταυτόχρονα, παρατίθενται τα γονίδια/γενετικοί τόποι στους οποίους ανήκει κάθε πολυμορφισμός, καθώς και οι λειτουργίες αυτών. Για την εκπόνηση της παρούσας εργασίας ελέγχθηκε ποιοι από τους πολυμορφισμούς αυτούς είχαν γονοτυπηθεί με επιτυχία από το MetaboChip στα πλαίσια της μελέτης THISEAS, από την οποία προέρχεται και ο πληθυσμός του δείγματος. Σκοπός ήταν η μελέτη της ύπαρξης ή μη παρόμοιας αλληλεπίδρασης των πολυμορφισμών με την κατανάλωση καφέ στον πληθυσμό με αυτήν που αναφέρεται στη βιβλιογραφία.

Σε 48 άτομα η γενετική ανάλυση απέτυχε, απέμειναν, επομένως, 736 γονότυποι τελικά προς ανάλυση. Από τα SNP's του *Πίνακα 9*, τρία βρέθηκε ότι υπήρχαν στο δείγμα της παρούσας μελέτης, ενώ για δυο επιπλέον επιλέχθηκαν proxy SNP's για εξέταση. Συγκεκριμένα, βρέθηκαν τα rs2472297, rs6495122 και rs4680 και proxies βρέθηκαν για το SNP rs6869865 το rs6968554 και για το rs762551 το rs11072505. Στον *Πίνακα 10* παρουσιάζονται οι τελικοί πολυμορφισμοί που χρησιμοποιήθηκαν για ανάλυση, το χρωμόσωμα στο οποίο ανήκουν, το ελάσσων και το μείζον αλληλόμορφο (minor – major allele, αντίστοιχα), καθώς και η συχνότητα του ελάσσονος αλληλομόρφου (minor allele frequency) στο δείγμα της μελέτης.

Πίνακας 9: Χαρακτηριστικά των πολυμορφισμών (SNP's) προς εξέταση και αλληλεπίδραση αυτών σε σχέση με τον καφέ

SNP	Γονίδιο / Γενετικός Τύπος	Λειτουργία Γονιδίου / Γενετικού τύπου	Αλληλεπίδραση Πολυμορφισμού με τον Καφέ
rs2470893	<i>CYP1A1/CYP1A2</i>	Μεταβολισμός καφεΐνης	Προδιάθεση προτίμησης για κατανάλωση καφέ
rs2472297	<i>CYP1A1/CYP1A2</i>	Μεταβολισμός καφεΐνης	Προδιάθεση προτίμησης για κατανάλωση καφέ
rs1801133	<i>MTHFR</i>	Επεξεργασία αμινοξέων	Αύξηση επιπέδων ομοκυστεΐνης πλάσματος
rs6869865	<i>AHR</i>	Μεταβολισμός ξενοβιοτικών	Προδιάθεση προτίμησης για κατανάλωση καφέ
rs6495122	<i>CPLX3/ULK3</i>	Κωδικοποίηση πρωτεϊνών	Αύξηση επιπέδων αρτηριακής πίεσης αίματος
rs382140	<i>NRCAM</i>	Ανάπτυξη νευρικού συστήματος	Προδιάθεση προτίμησης για κατανάλωση καφέ
rs429358	<i>APOE</i>	Σύνθεση Απολιποπρωτεΐνης E	Αύξηση επιπέδων LDL χοληστερόλης ορού
rs762551	<i>CYP1A2</i>	Μεταβολισμός καφεΐνης	Αυξημένος κίνδυνος EM & αρτηριακής υπέρτασης
rs4680	<i>COMT</i>	Μεταβολισμός ελεύθερων κατεχολαμινών	Αυξημένα στεφανιαία επεισόδια
rs7412	<i>APOE</i>	Σύνθεση Απολιποπρωτεΐνης E	Αύξηση επιπέδων LDL χοληστερόλης ορού

Πίνακας 10: Χαρακτηριστικά των τελικών πολυμορφισμών που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη

SNP	Chr	A ₁	A ₂	MAF (%)
rs6968554	7	A	G	39
rs2472297	15	A	G	8
rs11072505	15	A	G	34
rs6495122	15	C	A	45
rs4680	22	A	G	48

Συντομογραφίες: chr → chromosome, A₁ → minor allele, A₂ → major allele, MAF → minor allele frequency

Για κάθε πολυμορφισμό ελέγχθηκε εάν η συχνότητα τους στο δείγμα συμφωνούσε με την αναμενόμενη συχνότητα τους στον πληθυσμό βάσει της ισορροπίας Hardy-Weinberg, η οποία και επαληθεύτηκε για όλους. Στον *Πίνακα 11* παρατίθενται οι συχνότητες των διαφορετικών γονοτύπων για κάθε πολυμορφισμό στο δείγμα, εντός των ασθενών και εντός των μαρτύρων.

Πίνακας 11: Συχνότητα των γονοτύπων κάθε πολυμορφισμού στο ολικό δείγμα, στους ασθενείς και τους μάρτυρες χωριστά (%)

SNP (mm/Mm/MM)*	Συχνότητα Γονοτύπων		
	Δείγμα Μελέτης (N= 736)	Ασθενείς (N= 282)	Μάρτυρες (N= 454)
rs6968554 (AA/GA/GG)	102/375/259 (13,9/51/35,1)	36/144/102 (12,8/51,1/36,1)	66/231/157 (14,5/50,9/34,6)
rs2472297 (AA/GA/GG)	6/104/626 (0,8/14,1/85,1)	3/35/244 (1,1/12,4/86,5)	3/69/382 (0,7/15,2/84,1)
rs11072505 (AA/GA/GG)	85/327/324 (11,5/44,5/44)	28/126/128 (9,9/45,7/45,4)	57/201/196 (12,6/44,3/43,1)
rs6495122 (CC/AC/AA)	143/376/217 (19,4/51,1/29,5)	63/142/77 (22,3/50,4/27,3)	80/234/140 (17,6/51,5/30,9)
rs4680 (AA/GA/GG)	181/346/209 (24,6/47/28,4)	72/132/78 (25,5/46,8/27,7)	109/214/131 (24/47,1/28,9)

*m → ελάσσων (minor) αλληλόμορφο, M → μείζον (major) αλληλόμορφο

Στη συνέχεια, ελέγχθηκε η επίδραση κάθε πολυμορφισμού ως προς τη νόσο, δηλαδή την εμφάνιση ΣΝ και ΕΜ. Όπως φαίνεται στον *Πίνακα 12* κανένας πολυμορφισμός δεν βρέθηκε να έχει στατιστικά σημαντική επίδραση (main effect) στον κίνδυνο ανάπτυξης ΚΝ.

Πίνακας 12: Κύρια επίδραση (main effect) των πολυμορφισμών ως προς την εμφάνιση ΣΝ και ΕΜ (διόρθωση ως προς συγχυτικούς παράγοντες)

Διόρθωση ως προς:

		Ηλικία, φύλο, ΔΜΣ			Ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, κάπνισμα			Ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, κάπνισμα, ΦΔ		
		Beta score	S.E.	p-value	Beta score	S.E.	p-value	Beta score	S.E.	p-value
rs6968554	Για κάθε Α αλληλόμορφο	-0,0749	0,1321	0,57	-0,0768	0,1344	0,57	-0,0611	0,143	0,67
rs2472297	Για κάθε Α αλληλόμορφο	-0,2138	0,2367	0,37	-0,2018	0,2401	0,40	-0,1408	0,2487	0,57
rs11072505	Για κάθε Α αλληλόμορφο	-0,1815	0,1325	0,17	-0,1902	0,1356	0,16	-0,2178	0,1419	0,12
rs6495122	Για κάθε C αλληλόμορφο	0,1438	0,1246	0,25	0,1292	0,1269	0,31	0,1945	0,134	0,15
rs4680	Για κάθε Α αλληλόμορφο	-0,0363	0,1208	0,76	-0,0745	0,1235	0,55	-0,0526	0,1297	0,68

Συντομογραφίες: ΦΔ → φυσική δραστηριότητα

Έπειτα, ερευνήθηκε η επίδραση κάθε πολυμορφισμού στην προτίμηση των ατόμων για κατανάλωση καφέ. Από τους πέντε πολυμορφισμούς κανείς δεν βρέθηκε να έχει στατιστικά σημαντική επίδραση, εκτός από τον rs2472297 του γενετικού τόπου των *CYP1A1/CYP1A2*, ο οποίος φάνηκε να έχει μια «τάση» να επηρεάζει την προτίμηση για κατανάλωση καφέ ($p=0,05$), έπειτα από προσαρμογή των αποτελεσμάτων για την ηλικία, το φύλο, το ΔΜΣ, την κατάσταση υγείας και το κάπνισμα. Κάθε Α αλληλόμορφο του rs2472297 φάνηκε να αυξάνει την κατανάλωση καφέ κατά 0,23 φλιτζάνια την ημέρα. Προσθέτοντας την πρόσληψη αλκοόλ στους συγχυτικούς παράγοντες, η τάση για επίδραση του rs2472297 έγινε πιο σημαντική ($p=0,03$) και κάθε Α αλληλόμορφο φάνηκε να αυξάνει την κατανάλωση καφέ κατά 0,26 φλιτζάνια την ημέρα. Λαμβάνοντας και τη φυσική δραστηριότητα ως συμπαράγοντα στη συνέχεια, ωστόσο, αυτή η τάση φάνηκε να μειώνεται ($p=0,08$). Στον Πίνακα 13 παρουσιάζονται αναλυτικά τα αποτελέσματα της επίδρασης του παραπάνω SNP στην κατανάλωση καφέ.

Στη συνέχεια, ερευνήθηκε η αλληλεπίδραση των πολυμορφισμών με την κατανάλωση καφέ στην εμφάνιση ΣΝ και ΕΜ. Κανένα από τα SNP δεν βρέθηκε και πάλι να έχει στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση με τον καφέ, με προσαρμογή των αποτελεσμάτων για ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, κάπνισμα, φυσική δραστηριότητα, ενεργειακή πρόσληψη (Πίνακας 14).

Το rs4680 του γονιδίου *COMT* φάνηκε να έχει «τάση» θετικής συσχέτισης με την εμφάνιση υπέρτασης. Συγκεκριμένα, με συμπαράγοντες τους ηλικία, φύλο, ΔΜΣ και κατάσταση υγείας, βρέθηκε μια θετική συσχέτιση με επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας $p=0,05$. Ωστόσο, δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των SNP και της κατανάλωσης καφέ στον κίνδυνο εμφάνισης υπέρτασης (Πίνακας 15).

Όσον αφορά στην επίδραση των πολυμορφισμών στην εμφάνιση σακχαρώδη διαβήτη, βρέθηκε θετική, στατιστικά σημαντική, συσχέτιση με το SNP rs11072505 του γενετικού τόπου του *CYP1A2* ($p=0,01$), με προσαρμογή των αποτελεσμάτων για ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, κατάσταση υγείας. Ωστόσο, όταν στη συνέχεια ελέγχθηκε η αλληλεπίδραση του συγκεκριμένου αλλά και των υπολοίπων πολυμορφισμών με την κατανάλωση καφέ στην εμφάνιση διαβήτη, κανένα SNP δεν έδωσε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα (Πίνακας 16).

Τελευταία ερευνήθηκε η ύπαρξη συσχέτισης των πολυμορφισμών με την εμφάνιση δυσλιπιδαιμίας. Εξετάζοντας την κύρια επίδραση τους (main effect) στη δυσλιπιδαιμία,

βρέθηκε «τάση» για θετική συσχέτιση του SNP rs4680 του γονιδίου *COMT* ($p= 0,04$), έπειτα από προσαρμογή των αποτελεσμάτων για ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, πρόσληψη λίπους, ενεργειακή πρόσληψη, κατάσταση υγείας. Μελετώντας, στην πορεία, την αλληλεπίδραση κάθε πολυμορφισμού με την κατανάλωση καφέ στην εμφάνιση δυσλιπιδαιμίας, βρέθηκε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση του rs6495122 του γενετικού τόπου των *CPLX3/ULK3* ($p= 0,01$). Στον Πίνακα 17 παρουσιάζονται αναλυτικά τα παραπάνω αποτελέσματα. Όπως φαίνεται, η αλληλεπίδραση της κατανάλωσης καφέ με την ύπαρξη ενός C αλληλομόρφου στο γονότυπο αύξησε την πιθανότητα εμφάνισης δυσλιπιδαιμίας κατά 0,62, μετά από προσαρμογή για ποικίλους συμπαραγόντες ($p= 0,01$).

Με σκοπό την περαιτέρω διερεύνηση του παραπάνω ευρήματος, εξετάστηκε, στην πορεία, η επίδραση των πολυμορφισμών στους τρεις βασικούς δείκτες του λιπιδαιμικού προφίλ – ολική χοληστερόλη, LDL χοληστερόλη και τριγλυκερίδια πλάσματος – καθώς και η αλληλεπίδρασή τους με την κατανάλωση καφέ στη μεταβολή των επιπέδων αυτών των δεικτών στο αίμα. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται αναλυτικά στους Πίνακες 18, 19 και 20. Παρόλο που, όπως και για τη δυσλιπιδαιμία, κανένας πολυμορφισμός δεν βρέθηκε να επιδρά στα επίπεδα των τριών δεικτών, η αλληλεπίδραση των rs6968554 και rs6495122 με την κατανάλωση καφέ φάνηκε ότι προκαλεί στατιστικά σημαντική αύξηση στην ολική και LDL χοληστερόλη αίματος.

Πίνακας 13: Επίδραση των πολυμορφισμών στην προτίμηση των ατόμων για κατανάλωση καφέ (διόρθωση ως προς συγχυτικούς παράγοντες)

Διόρθωση ως προς:

		Ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, CADstatus		Ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, CADstatus, κάπνισμα		Ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, CADstatus, κάπνισμα, ΦΔ		Ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, CADstatus, αλκοόλ		Ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, CADstatus, αλκοόλ, ΦΔ	
		Beta score	p-value	Beta score	p-value	Beta score	p-value	Beta score	p-value	Beta score	p-value
rs6968554	Για κάθε A αλληλόμορφο	-0,0061	0,93	-0,0211	0,8	-0,0328	0,6	0,0005	0,9	-0,0039	0,9
rs2472297	Για κάθε A αλληλόμορφο	0,2275	0,06	0,2325	0,05	0,2065	0,08	0,2566	0,03	0,2119	0,08
rs11072505	Για κάθε A αλληλόμορφο	-0,0334	0,63	-0,0257	0,7	-0,0536	0,4	-0,0542	0,4	-0,0573	0,4
rs6495122	Για κάθε C αλληλόμορφο	0,0241	0,72	0,01837	0,8	0,0165	0,8	0,0444	0,5	0,0439	0,5
rs4680	Για κάθε A αλληλόμορφο	-0,0765	0,23	-0,09101	0,15	-0,0781	0,2	-0,0826	0,2	-0,0886	0,2

Συντομογραφίες: CADstatus → κατάσταση υγείας (ασθενείς-μάρτυρες), ΦΔ → φυσική δραστηριότητα

Πίνακας 14: Αλληλεπίδραση των πολυμορφισμών με την κατανάλωση καφέ ως προς την εμφάνιση ΚΝ (διόρθωση ως προς συγχυτικούς παράγοντες)

Διόρθωση ως προς:

		Ηλικία, φύλο, ΔΜΣ		Ηλικία, φύλο, κάπνισμα		Ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, ΦΔ		Ηλικία, φύλο, ΕΠ		Ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, ΦΔ, κάπνισμα	
		Beta score	p-value	Beta score	p-value	Beta score	p-value	Beta score	p-value	Beta score	p-value
rs6968554	Για κάθε Α αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	0,3329	0,2	0,3611	0,1	0,4439	0,08	0,3549	0,2	0,4026	0,1
rs2472297	Για κάθε Α αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	0,0646	0,9	0,0317	0,9	0,1957	0,7	0,2275	0,7	0,1662	0,7
rs11072505	Για κάθε Α αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	0,1307	0,6	0,1527	0,6	0,0471	0,9	0,0852	0,7	0,0077	0,9
rs6495122	Για κάθε C αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	0,0727	0,8	-0,0307	0,9	0,1351	0,6	0,1238	0,6	0,0935	0,7
rs4680	Για κάθε Α αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	-0,0382	0,9	-0,1068	0,7	-0,0688	0,8	-0,2449	0,3	-0,0893	0,7

Συντομογραφίες: ΦΔ → φυσική δραστηριότητα, ΕΠ → ενεργειακή πρόσληψη

Πίνακας 15: Επίδραση των πολυμορφισμών στην εμφάνιση Υπέρτασης (διόρθωση ως προς συγχυτικούς παράγοντες)

		Διόρθωση ως προς:					
		Ηλικία, φύλο		Ηλικία, φύλο, ΔΜΣ		Ηλικία, φύλο, CADstatus	
		Beta score	p-value	Beta score	p-value	Beta score	p-value
rs6968554	Για κάθε A αλληλόμορφο	0,0546	0,7	0,0717	0,6	0,0658	0,6
	Για κάθε A αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	-0,1987	0,2	-0,1936	0,4	-0,2678	0,2
	Για κάθε A αλληλόμορφο	-0,0820	0,7	-0,0388	0,9	-0,0670	0,8
rs2472297	Για κάθε A αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	0,2022	0,2	0,2908	0,5	0,3206	0,4
	Για κάθε A αλληλόμορφο	-0,1634	0,2	-0,1254	0,3	-0,1537	0,2
	Για κάθε A αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	-0,1910	0,2	-0,0783	0,7	-0,1723	0,4
rs11072505	Για κάθε C αλληλόμορφο	0,1236	0,3	0,1093	0,4	0,1108	0,4
	Για κάθε C αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	0,1945	0,2	0,2327	0,3	0,2564	0,3
	Για κάθε A αλληλόμορφο	0,2059	0,07	0,2297	0,05	0,2142	0,05
rs6495122	Για κάθε A αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	0,2080	0,1555	-0,03025	0,8889	0,04279	0,8374
	Για κάθε A αλληλόμορφο	0,2059	0,07	0,2297	0,05	0,2142	0,05
	Για κάθε A αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	0,2080	0,1555	-0,03025	0,8889	0,04279	0,8374
rs4680	Για κάθε A αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	0,2080	0,1555	-0,03025	0,8889	0,04279	0,8374
	Για κάθε A αλληλόμορφο	0,2059	0,07	0,2297	0,05	0,2142	0,05
	Για κάθε A αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	0,2080	0,1555	-0,03025	0,8889	0,04279	0,8374

Συντομογραφίες: CADstatus → κατάσταση υγείας (ασθενείς-μάρτυρες)

Πίνακας 16: Επίδραση των πολυμορφισμών στην εμφάνιση Σακχαρώδη Διαβήτη (διόρθωση ως προς συγχυτικούς παράγοντες)

		Διόρθωση ως προς:					
		Ηλικία, φύλο, CADstatus		Ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, CADstatus		Ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, CADstatus, ΦΔ	
		Beta score	p-value	Beta score	p-value	Beta score	p-value
rs6968554	Για κάθε A αλληλόμορφο	0,0556	0,7	0,0745	0,6	-	-
	Για κάθε A αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	-	-	-0,1397	0,6	-0,1131	0,7
rs2472297	Για κάθε A αλληλόμορφο	0,171	0,5	0,1539	0,5	-	-
	Για κάθε A αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	-	-	-0,0346	0,9	0,1807	0,7
rs11072505	Για κάθε A αλληλόμορφο	0,3326	0,02	0,3775	0,01	-	-
	Για κάθε A αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	-	-	0,0335	0,9	0,2056	0,5
rs6495122	Για κάθε C αλληλόμορφο	-0,2071	0,1	-0,2348	0,1	-	-
	Για κάθε C αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	-	-	0,0708	0,8	0,0724	0,8
rs4680	Για κάθε A αλληλόμορφο	0,2172	0,1	0,234	0,09	-	-
	Για κάθε A αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	-	-	-0,0649	0,8	-0,1249	0,7

Συντομογραφίες: CADstatus → κατάσταση υγείας (ασθενείς-μάρτυρες), ΦΔ → φυσική δραστηριότητα

Πίνακας 17: Επίδραση των πολυμορφισμών στην εμφάνιση Δυσλιπιδαιμίας (διόρθωση ως προς συγχυτικούς παράγοντες)

Διόρθωση ως προς:									
		Ηλικία, φύλο, ΔΜΣ		Ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, ΕΠ, %πρόσληψη λίπους		Ηλικία, φύλο, CADstatus, ΕΠ, %πρόσληψη λίπους		Ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, CADstatus, ΦΔ	
		Beta score	p-value	Beta score	p-value	Beta score	p-value	Beta score	p-value
rs6968554	Για κάθε A αλληλόμορφο	-0,0205	0,9	0,0002	0,9	-0,020	0,9	-	-
	Για κάθε A αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	0,3291	0,2	0,2899	0,2	0,2303	0,3	0,3726	0,1
rs2472297	Για κάθε A αλληλόμορφο	-0,1212	0,6	-0,2032	0,4	-0,2065	0,4	-	-
	Για κάθε A αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	0,3152	0,4	0,3737	0,4	0,3973	0,3	0,5687	0,2
rs11072505	Για κάθε A αλληλόμορφο	-0,1831	0,2	-0,1704	0,2	-0,1872	0,2	-	-
	Για κάθε A αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	-0,143	0,6	-0,2168	0,4	-0,2406	0,3	-0,1717	0,5
rs6495122	Για κάθε C αλληλόμορφο	0,0896	0,5	0,1391	0,3	0,1413	0,3	-	-
	Για κάθε C αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	0,5866	0,02	0,6179	0,02	0,6219	0,01	0,6188	0,01
rs4680	Για κάθε A αλληλόμορφο	0,153	0,2	0,248	0,06	0,2569	0,05	-	-
	Για κάθε A αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	-0,3011	0,2	-0,312	0,2	-0,3434	0,2	-0,309	0,2

Συντομογραφίες: CADstatus → κατάσταση υγείας (ασθενείς-μάρτυρες), ΦΔ → φυσική δραστηριότητα, ΕΠ → ενεργειακή πρόσληψη

Πίνακας 18: Επίδραση των πολυμορφισμών στα επίπεδα Ολικής Χοληστερόλης αίματος (διόρθωση ως προς συγχυτικούς παράγοντες)

Διόρθωση ως προς:							
		Ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, CADstatus		Ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, CADstatus, %πρόσληψη λίπους, ΕΠ		Ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, CADstatus, %πρόσληψη λίπους, ΕΠ, ΦΔ, ΥΑ	
		Beta score	p-value	Beta score	p-value	Beta score	p-value
rs6968554	Για κάθε A αλληλόμορφο	0,3126	0,9	0,3906	0,9	-1,546	0,5
	Για κάθε A αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	5,613	0,001	-	-	6,161	0,0007
	Για κάθε A αλληλόμορφο	2,131	0,6	1,837	0,7	2,716	0,5
rs2472297	Για κάθε A αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	2,395	0,4	-	-	2,186	0,5
	Για κάθε A αλληλόμορφο	-0,1926	0,9	-0,3924	0,9	1,063	0,7
rs11072505	Για κάθε A αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	-0,1934	0,9	-	-	-1,355	0,5
	Για κάθε C αλληλόμορφο	-0,8653	0,7	-0,0495	0,9	0,6424	0,8
rs6495122	Για κάθε C αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	4,677	0,009	-	-	5,476	0,004
	Για κάθε A αλληλόμορφο	3,412	0,1	2,72	0,2	3,734	0,1
rs4680	Για κάθε A αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	-2,436	0,2	-	-	-0,2364	0,9

Συντομογραφίες: CADstatus → κατάσταση υγείας (ασθενείς-μάρτυρες), ΦΔ → φυσική δραστηριότητα, ΥΑ → υπολιπιδαιμική αγωγή, ΕΠ → ενεργειακή πρόσληψη

Πίνακας 19: Επίδραση των πολυμορφισμών στα επίπεδα Τριγλυκεριδίων αίματος (διόρθωση ως προς συγχυτικούς παράγοντες)

Διόρθωση ως προς:							
		Ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, CADstatus		Ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, CADstatus, ΕΠ, ΥΑ		Ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, CADstatus, ΕΠ, %πρόσληψη λίπους, ΥΑ	
		Beta score	p-value	Beta score	p-value	Beta score	p-value
rs6968554	Για κάθε A αλληλόμορφο	-2,042	0,6	-7,038	0,04	-7,125	0,04
	Για κάθε A αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	1,808	0,5	-	-	1,756	0,5
	Για κάθε A αλληλόμορφο	7,061	0,4	4,169	0,5	4,55	0,5
rs2472297	Για κάθε A αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	-0,9105	0,8	-	-	-1,357	0,8
	Για κάθε A αλληλόμορφο	0,4273	0,9	-1,445	0,7	-1,637	0,6
	Για κάθε A αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	-1,122	0,7	-	-	-0,6267	0,8
rs11072505	Για κάθε C αλληλόμορφο	-0,0992	1	0,2706	0,9	0,8082	0,8
	Για κάθε C αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	4,22	0,1	-	-	4,047	0,1
	Για κάθε A αλληλόμορφο	0,712	0,9	-0,8224	0,8	-1,12	0,7
rs4680	Για κάθε A αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	-1,943	0,5	-	-	-1,889	0,5

Συντομογραφίες: CADstatus → κατάσταση υγείας (ασθενείς-μάρτυρες), ΥΑ → υπολιπιδαιμική αγωγή, ΕΠ → ενεργειακή πρόσληψη

Πίνακας 20: Επίδραση των πολυμορφισμών στα επίπεδα LDL Χοληστερόλης αίματος (διόρθωση ως προς συγχυτικούς παράγοντες)

Διόρθωση ως προς:

		Ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, CADstatus		Ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, CADstatus, ΥΑ		Ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, CADstatus, ΕΠ, %πρόσληψη λίπους, ΥΑ		Ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, CADstatus, ΕΠ, %πρόσληψη λίπους, ΦΔ, ΥΑ	
		Beta score	p-value	Beta score	p-value	Beta score	p-value	Beta score	p-value
rs6968554	Για κάθε Α αλληλόμορφο	0,4255	0,8	-	-	0,2907	0,9	-0,2979	0,9
	Για κάθε Α αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	3,983	0,01	4,414	0,007	5,185	0,001	-	-
	Για κάθε Α αλληλόμορφο	-0,09395	0,9	-	-	1,457	0,7	-0,2259	1
rs2472297	Για κάθε Α αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	1,563	0,6	2,563	0,3	2,391	0,4	-	-
	Για κάθε Α αλληλόμορφο	-0,4399	0,8	-	-	0,9207	0,7	-0,0989	1
rs11072505	Για κάθε Α αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	0,4393	0,8	-0,8414	0,7	-0,4289	0,8	-	-
	Για κάθε C αλληλόμορφο	-0,3162	0,9	-	-	0,8814	0,7	1,191	0,6
rs6495122	Για κάθε C αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	3,488	0,03	4,024	0,02	3,869	0,02	-	-
	Για κάθε Α αλληλόμορφο	3,489	0,09	-	-	3,161	0,1	3,664	0,07
rs4680	Για κάθε Α αλληλόμορφο * κατανάλωση καφέ	-1,243	0,5	0,5591	0,8	0,5615	0,8	-	-

Συντομογραφίες: CADstatus → κατάσταση υγείας (ασθενείς-μάρτυρες), ΥΑ → υπολιπιδαιμική αγωγή, ΕΠ → ενεργειακή πρόσληψη, ΦΔ → φυσική δραστηριότητα

Δ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα τελευταία χρόνια έχει αποδειχθεί ότι γενετικοί και διατροφικοί παράγοντες αποτελούν σημαντικούς παράγοντες κινδύνου για χρόνιες ασθένειες, ανάμεσα στις οποίες τα ΚΝ κατέχουν τα υψηλότερα ποσοστά θνησιμότητας παγκοσμίως. Πλήθος ερευνών έχουν αναδείξει γονίδια και συγκεκριμένους πολυμορφισμούς που είτε δρουν ανεξάρτητα και επηρεάζουν τον καρδιαγγειακό κίνδυνο, είτε αλληλεπιδρούν με εξωτερικούς παράγοντες (περιβάλλον και τρόπος ζωής), η έκθεση στους οποίους επηρεάζει το ρόλο των γενετικών παραλλαγών στην εμφάνιση των ΚΝ.

Η κατανάλωση καφέ αποτελεί μια παγκόσμια συνήθεια του τρόπου ζωής, εξαρτώμενη αποδεδειγμένα από περιβαλλοντικούς και γενετικούς παράγοντες, η οποία έχει μελετηθεί για τα οφέλη και τους κινδύνους που κρύβει για την υγεία, αλλά και τα ΚΝ ειδικότερα.

Η παρούσα εργασία είχε σκοπό, αφενός, τη μελέτη πολυμορφισμών γονιδίων που έχει φανεί ότι αλληλεπιδρούν με εξωτερικούς παράγοντες προδιαθέτοντας την εξατομικευμένη προτίμηση για κατανάλωση καφέ και, αφετέρου, τη μελέτη πολυμορφισμών που έχει φανεί ότι αλληλεπιδρούν με τον καταναλωθέντα καφέ επηρεάζοντας τον κίνδυνο εμφάνισης ΣΝ και ΕΜ.

Το δείγμα της μελέτης αποτελούσαν 784 άτομα, 302 ασθενείς με ΕΜ ή/και ΣΝ και 482 υγιείς ως προς ΚΝ και καρκίνο. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η ομάδα των ασθενών είχε μεγαλύτερο μέσο όρο ηλικίας από την ομάδα των μαρτύρων, ενώ είχε και μεγαλύτερο ποσοστό ανδρών συμμετεχόντων. Τα παραπάνω, σε συνδυασμό με το εύρημα ότι περισσότεροι ασθενείς είχαν οικογενειακό ιστορικό ΚΝ, έρχονται σε συμφωνία με το γεγονός ότι το φύλο, η ηλικία και το οικογενειακό ιστορικό αποτελούν μη τροποποιήσιμους παράγοντες κινδύνου για τα ΚΝ [8]. Όπως αναμενόταν, οι ασθενείς φάνηκε ότι είχαν λιγότερη φυσική δραστηριότητα αλλά μεγαλύτερη ενεργειακή πρόσληψη, συμπεριλαμβανομένης της μεγαλύτερης πρόσληψης μακροθρεπτικών συστατικών και αλκοόλ. Επιπλέον, στην ομάδα των ασθενών μεγαλύτερο ποσοστό των ατόμων ήταν νυν καπνιστές σε σχέση με αυτή των μαρτύρων. Ακόμα, οι ασθενείς είχαν κατά υψηλότερα ποσοστά ΣΔ, υπέρταση και δυσλιπιδαιμία. Λαμβάνοντας υπόψη τους κυριότερους παράγοντες κινδύνου των ΚΝ, όπως αναφέρονται και από τον WHO [1], τα παραπάνω ευρήματα είναι απόλυτα δικαιολογημένα. Όσον αφορά την μέση κατανάλωση

καφέ του δείγματος ανά ημέρα, ήταν ίση με 1,5 ($\pm 1,2$) φλιτζάνι/ημέρα, των ασθενών ήταν 1,7 ($\pm 1,4$), ενώ των μαρτύρων ήταν ίση με 1,3 ($\pm 1,1$). Είναι φανερό ότι οι ασθενείς καταναλώνουν ελαφρώς μεγαλύτερη ποσότητα καφέ ημερησίως, ποσότητα που πλησιάζει την μέση ημερήσια κατανάλωση καφέ ανά άτομο στον ελληνικό πληθυσμό.

Μελετώντας το δείγμα της εργασίας ανά κατηγορίες κατανάλωσης καφέ, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η κατανάλωση καφέ δεν επηρεάζεται από το φύλο, αλλά άτομα μικρότερης ηλικίας τείνουν να καταναλώνουν περισσότερο καφέ ημερησίως σε σχέση με τα άτομα μεγαλύτερης ηλικίας, όπως έχει φανεί και σε άλλες μελέτες [182]. Επίσης, άτομα που καπνίζουν βρέθηκε ότι έχουν διπλάσια πιθανότητα να καταναλώνουν περισσότερο καφέ μέσα στην ημέρα, ανεξάρτητα από την ηλικία, το φύλο, το ΔΜΣ, την κατάσταση της υγείας τους, την ενεργειακή πρόσληψη και τη φυσική τους δραστηριότητα, αποδεικνύοντας τα ευρήματα πολλών άλλων μελετών που συνδέουν στενά τη συνήθεια του καπνίσματος με αυτή της κατανάλωσης καφέ [183, 184]. Στην ομάδα των ασθενών φάνηκε ότι όσο αυξανόταν η ημερήσια κατανάλωση καφέ, αυξανόταν και η ημερήσια ενεργειακή πρόσληψη, σε αντίθεση με την ομάδα των μαρτύρων, όπου παρατηρήθηκε το αντίθετο αποτέλεσμα. Σύμφωνα με άλλες έρευνες, έχει φανεί ότι αυξημένη κατανάλωση καφέ από γυναίκες και υπέρβαρα/παχύσαρκα άτομα ίσως προκαλεί μείωση της ημερήσιας προσλαμβανόμενης ενέργειας [185], αλλά κάτι τέτοιο δεν φαίνεται να ισχύει για τους άνδρες και τα άτομα φυσιολογικού βάρους. Δεδομένου ότι ο ΔΜΣ σε όλες τις κατηγορίες κυμαινόταν στα πλαίσια του υπέρβαρου, είναι επομένως πιθανό η αντίφαση αυτή να οφείλεται στο γεγονός ότι στην ομάδα των ασθενών συμμετείχαν πολύ περισσότεροι άνδρες σε σχέση με την ομάδα των μαρτύρων, όπου το 58,1 % ήταν γυναίκες. Επίσης, στην ομάδα των ασθενών, σε αντίθεση με την ομάδα των μαρτύρων, φάνηκε να υπάρχει σύνδεση της συνήθειας κατανάλωσης καφέ με την πρόσληψη αλκοόλ: αύξηση της μέσης ημερήσιας κατανάλωσης καφέ συνδεόταν με αύξηση της μέσης ημερήσιας πρόσληψης αλκοόλ. Σύμφωνα με πολλές άλλες έρευνες, τα άτομα που καταναλώνουν συστηματικά καφέ τείνουν να καταναλώνουν επίσης αλκοόλ [183, 184], ενώ η αυξημένη πρόσληψη αλκοόλ συνδέεται με τον κίνδυνο εμφάνισης ΚΝ [10].

Τα αποτελέσματα της μελέτης της επίδρασης της κατανάλωσης καφέ στην υγεία ανέδειξαν ότι όταν ένα άτομο πίνει περισσότερο καφέ μέσα στην ημέρα (μέτρια ή υψηλή κατανάλωση) έχει μεγαλύτερο κίνδυνο να εμφανίσει ΚΝ, ανεξάρτητα από ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, ενεργειακή πρόσληψη, φυσική δραστηριότητα και το εάν έχει ΣΔ, υπέρταση και δυσλιπιδαιμία. Το εύρημα αυτό είναι σύμφωνο με τα ευρήματα άλλων μελετών ασθενών-

μαρτύρων (όπως η παρούσα), που θέλουν την κατανάλωση καφέ να συνδέεται με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο [53]. Όταν, όμως, εξετάστηκε και το κάπνισμα σαν συγχυτικός παράγοντας η επίδραση αυτή φάνηκε να αναιρείται, όπως προτείνει η Cornelis et al. [61]. Καμία συσχέτιση δεν βρέθηκε μεταξύ της κατανάλωσης καφέ και του κινδύνου εμφάνισης υπέρτασης. Το αποτέλεσμα αυτό συμφωνεί με τις σύγχρονες έρευνες που γίνονται γύρω από τον καφέ ή/και την καφεΐνη σε σχέση με την αρτηριακή πίεση, οι οποίες δείχνουν ότι η μακροχρόνια κατανάλωση καφέ ασκεί αμελητέες επιπτώσεις στα μακροπρόθεσμα επίπεδα αρτηριακής πίεσης, καθώς αναπτύσσεται ανοχή και, συνεπώς, δεν σχετίζεται με την εμφάνιση υπέρτασης [134-136]. Αυξημένος κίνδυνος για δυσλιπιδαιμία βρέθηκε για τα άτομα που κάνουν υψηλή κατανάλωση καφέ (>3 φλιτζ./ημέρα) σε σχέση με χαμηλή (<1 φλιτζ./ημέρα), αλλά όχι για μέτρια κατανάλωση (1-3 φλιτζ./ημέρα). Επιπλέον, αυξημένος κίνδυνος για εμφάνιση δυσλιπιδαιμίας φάνηκε να υπάρχει και όταν αυξανόταν η συνεχής μεταβλητή «φλιτζάνια καφέ ανά ημέρα», ανεξάρτητα από ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, κατάσταση υγείας, πρόσληψη λίπους και ενεργειακή πρόσληψη. Ωστόσο, δεδομένου ότι δεν υπήρχαν στοιχεία για το είδος του καφέ που κατανάλωναν οι εθελοντές, δεν μπορούν να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα, καθώς είναι γνωστό ότι ο καφές φίλτρου δεν επηρεάζει τα λιπίδια ορού συγκριτικά με τον βραστό καφέ, αφού τα χάρτινα φίλτρα απομακρύνουν τις αλκοόλες καφεόλη και καφεστόλη που είναι υπεύθυνες για αυτή την επίδραση του καφέ [140]. Όσον αφορά τον κίνδυνο ανάπτυξης ΣΔ, βρέθηκε ότι με μέτρια κατανάλωση καφέ (1-3 φλιτζ./ημέρα) υπάρχει μια μάλλον προστατευτική επίδραση σε σχέση με την χαμηλή κατανάλωση (<1 φλιτζ./ημέρα), εύρημα που συμβαδίζει με τις αναφορές της βιβλιογραφίας ότι συστατικά του καφέ βελτιώνουν το μεταβολισμό της γλυκόζης και την ευαισθησία στην ινσουλίνη [141-143]. Συγκρίνοντας, ωστόσο, την υψηλή κατανάλωση καφέ με τη χαμηλή, δεν προέκυψαν στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα.

Εξετάζοντας τη συχνότητα των αλληλομόρφων κάθε πολυμορφισμού στο δείγμα της μελέτης, κανένα δεν απέκλινε από την ισορροπία Hardy-Weinberg. Για το αλληλόμορφο A του SNP rs6968554 η συχνότητα στο δείγμα ήταν 39 %, σε συμφωνία με τη συχνότητα στον Ευρωπαϊκό πληθυσμό που είναι 43,4 % [186]. Για τα αλληλόμορφα A του SNP rs2472297 και C του rs6495122 η συχνότητα στο δείγμα ήταν 8 % και 45 %, αντίστοιχα, και στον Ευρωπαϊκό πληθυσμό είναι 20,8 % και 50 %, αντίστοιχα, ενώ στη GWAS μετά-ανάλυση των Amin et al. [110] η συχνότητα των αλληλομόρφων ήταν 17-31 % για το rs2472297 και 36-46 % για το rs6495122 σε Ευρωπαϊκό πληθυσμό. Για το αλληλόμορφο

A του SNP rs4680 η συχνότητα στο δείγμα ήταν 48 %, σε συμφωνία με τη συχνότητα στον Ευρωπαϊκό πληθυσμό που είναι 47,8 % [186], καθώς επίσης και με την έρευνα των Harponen et al. [154], όπου η συχνότητα του αλληλομόρφου ήταν 50 % σε Φινλανδικό πληθυσμό. Για το αλληλόμορφο A του SNP rs11072505 η συχνότητα στο δείγμα ήταν 34 % και στον Ευρωπαϊκό πληθυσμό είναι 34,2 % [186].

Από τους πολυμορφισμούς της μελέτης, κανένας δεν βρέθηκε να σχετίζεται στατιστικά σημαντικά με τον κίνδυνο εμφάνισης ΚΝ, αλλά ούτε να αλληλεπιδρά με την κατανάλωση καφέ στην αύξηση του καρδιαγγειακού κινδύνου.

Τάση για συσχέτιση με την προτίμηση για κατανάλωση καφέ φάνηκε να έχει το SNP rs2472297 του γενετικού τόπου των *CYP1A1/CYP1A2*, ανεξάρτητα από ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, κάπνισμα, κατανάλωση αλκοόλ και την κατάσταση υγείας των ατόμων. Για κάθε σπάνιο A αλληλόμορφο του rs2472297 στο γονότυπο, η κατανάλωση καφέ αυξάνεται κατά 0,26 φλιτζ./ημέρα. Το ίδιο SNP είχε βρεθεί ότι εμπλέκεται ισχυρά στην προδιάθεση των ατόμων για κατανάλωση καφέ σε μετά-ανάλυση GWAS ερευνών [110], επομένως, αποτελεί αξιοσημείωτο εύρημα για περαιτέρω διερεύνηση.

Τάση για συσχετισμό με την εμφάνιση υπέρτασης παρουσίασε το rs4680 του γονιδίου *COMT*, χωρίς όμως να αλληλεπιδρά με τον καφέ σε μετέπειτα έλεγχο. Παρόλα αυτά, σε άλλες μελέτες έχειδειχθεί ότι άτομα που είτε είναι ομόζυγα για το αλληλόμορφο κινδύνου, είτε ετερόζυγα, έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο να εμφανίσουν υπέρταση [187], καθώς επίσης πως κι άλλοι διατροφικοί παράγοντες, όπως το αλκοόλ και το τσάι, αλληλεπιδρούν με το συγκεκριμένο πολυμορφισμό στην εμφάνιση υπέρτασης [188, 189]. Επομένως, χρειάζεται να διερευνηθεί περαιτέρω το συγκεκριμένο εύρημα σε μεταγενέστερη μελέτη.

Το rs11072505 φάνηκε ότι σχετίζεται θετικά με την εκδήλωση ΣΔ, αλλά δεν παρουσίασε αλληλεπίδραση με την κατανάλωση καφέ. Για το συγκεκριμένο SNP υπάρχει κενό στη βιβλιογραφία ως προς τη λειτουργία και το ρόλο του στην υγεία. Ωστόσο, το συγκεκριμένο SNP επιλέχθηκε ως proxy για το rs762551, το οποίο έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζει την ταχύτητα μεταβολισμού της καφεΐνης στον οργανισμό και, άρα, ενέχει ρόλο στις επιδράσεις του καφέ στην υγεία και ιδιαίτερα στη ΣΝ και το ΕΜ [61, 160], κάτι το οποίο δεν μπόρεσε να επαληθευτεί στα πλαίσια της παρούσας μελέτης.

Μελετώντας την επίδραση των πολυμορφισμών στην εμφάνιση δυσλιπιδαιμίας, προέκυψε ένα SNP με θετική συσχέτιση, το rs6495122 του γενετικού τόπου των *CPLX3/ULK3*. Παρόλο που το SNP δεν φάνηκε να έχει κύρια επίδραση στην εκδήλωση δυσλιπιδαιμίας, όταν μελετήθηκε σε συνάρτηση με την κατανάλωση καφέ αλλά και σε αλληλεπίδραση με αυτήν, φάνηκε να παίζει ρόλο στην εμφάνιση της. Μέχρι σήμερα, το rs6495122 έχει μελετηθεί για το ρόλο του στη γενετική προδιάθεση των ατόμων για προτίμηση στην κατανάλωση καφέ, ενώ έχει φανεί ότι συνδέεται με την εμφάνιση υπέρτασης [110].

Θέλοντας να εξεταστεί περαιτέρω το παραπάνω εύρημα, πραγματοποιήθηκε ανάλυση της επίδρασης των πολυμορφισμών στα επίπεδα των τριών βασικών δεικτών δυσλιπιδαιμίας, ολική και LDL χοληστερόλη αίματος και τριγλυκερίδια. Βρέθηκε και πάλι στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση του rs6495122 με την κατανάλωση καφέ στην αύξηση των επιπέδων της ολικής και LDL χοληστερόλης, χωρίς ωστόσο να φαίνεται πως υπάρχει κύρια επίδραση του πολυμορφισμού στα επίπεδά τους. Εκτός από το rs6495122, όμως, ισχυρή αλληλεπίδραση με την κατανάλωση καφέ εμφάνισε και το rs6968554 (proxy SNP του rs6869865 του γονιδίου AHR) ως προς την αύξηση των επιπέδων της ολικής και LDL χοληστερόλης, χωρίς και πάλι να φαίνεται κύρια επίδραση του πολυμορφισμού στα επίπεδά τους. Σύμφωνα με τους Wang et al. (2014) [190, 191], είναι πιθανό να υπάρχει μια *γονίδιο × περιβάλλον* αλληλεπίδραση στη νόσο, χωρίς ωστόσο να υπάρχει κύρια επίδραση του γονιδίου. Επομένως, πρόκειται για σημαντικά ευρήματα που πρέπει να διερευνηθούν παραπάνω, ώστε να αποσαφηνιστεί ο ρόλος του καφέ στην εμφάνιση σημαντικών προβλημάτων υγείας.

Περιορισμό της παρούσας εργασίας αποτελεί, αρχικά, το σχετικά μικρό δείγμα της, δεδομένου ότι πρόκειται για μελέτη που στοχεύει στη συσχέτιση του γονότυπου με τον φαινότυπο (KN). Ίσως καλύτερα αποτελέσματα να είχαν αναδειχθεί σε μελέτη GWAS, όπου περιλαμβάνονται πιο ευρύ σύνολο γενετικών παραλλαγών και μεγαλύτερο δείγμα πληθυσμού. Επιπλέον, η κατανομή των ατόμων στις τρεις κατηγορίες κατανάλωσης καφέ – χαμηλή, μέτρια, υψηλή – δεν ήταν ομοιογενής, ώστε είναι πιθανό να επηρέασε τα αποτελέσματα. Τέλος, στην παρούσα εργασία δεν υπήρχαν δεδομένα για τον τύπο καφέ που κατανάλωναν οι συμμετέχοντες, άρα δεν μπορούν να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα για τις ακριβείς επιδράσεις της κατανάλωσης καφέ, εφόσον διαφορετικά συστατικά του καφέ ευθύνονται για τις εκάστοτε επιρροές του.

Συνολικά, είναι φανερό ότι η κατανάλωση καφέ παίζει κάποιον ρόλο στην εξέλιξη των ΚΝ, άλλοτε επιβαρυντικό και άλλοτε προστατευτικό. Χρειάζεται να διερευνηθούν περαιτέρω και πιο διεξοδικά οι συνθήκες και οι προϋποθέσεις κάτω από τις οποίες συμβαίνει αυτό, καθώς επίσης να ληφθεί υπόψη η γενετική ποικιλότητα του πληθυσμού και ο ρόλος της στην αλληλεπίδραση με τη διατροφή και τον σύγχρονο τρόπο ζωής.

E. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. WHO. *Cardiovascular diseases (CVDs)*. March 2013; Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>.
2. WHO. *Global status report on noncommunicable diseases 2010*. 2011.
3. Mathers, C.D. and D. Loncar, *Projections of Global Mortality and Burden of Disease from 2002 to 2030*. PLoS Med, 2006. **3**(11): p. e442.
4. Nichols M, T.N., Luengo-Fernandez R, Leal J, Gray A, Scarborough P, Rayner M *European Cardiovascular Disease Statistics*. 2012, European Heart Network Brussels, European Society of Cardiology: Sophia Antipolis.
5. WHO, *whostat2007.pdf*. 2005, World Health Organization.
6. Παναγιωτάκος, Δ. and Γ. Κουρλαμπά, *Επιδημιολογία των παραγόντων κινδύνου στην Ελλάδα*, Κ. Επιδημιολογία, Editor. 2005.
7. WHO, *Noncommunicable diseases country profiles 2011*, W.H. Organization, Editor. 2011, World Health Organization. p. 209.
8. Elisaf, M., *The treatment of coronary heart disease: an update. Part 1: An overview of the risk factors for cardiovascular disease*. Curr Med Res Opin, 2001. **17**(1): p. 18-26.
9. Harjai, K.J., *Potential new cardiovascular risk factors: left ventricular hypertrophy, homocysteine, lipoprotein(a), triglycerides, oxidative stress, and fibrinogen*. Ann Intern Med, 1999. **131**(5): p. 376-86.
10. Dimitriou, M. and G.Z. Dedoussis, *Gene–Diet Interactions in Cardiovascular Disease*. Current Nutrition Reports, 2012. **1**(3): p. 153-160.
11. Venter, J.C., et al., *The sequence of the human genome*. Science, 2001. **291**(5507): p. 1304-51.
12. Parikh, N.I., et al., *Parental occurrence of premature cardiovascular disease predicts increased coronary artery and abdominal aortic calcification in the Framingham Offspring and Third Generation cohorts*. Circulation, 2007. **116**(13): p. 1473-81.
13. Lohmueller, K.E., et al., *Meta-analysis of genetic association studies supports a contribution of common variants to susceptibility to common disease*. Nat Genet, 2003. **33**(2): p. 177-82.

14. Schunkert, H., et al., *Large-scale association analysis identifies 13 new susceptibility loci for coronary artery disease*. Nat Genet, 2011. **43**(4): p. 333-8.
15. *A genome-wide association study in Europeans and South Asians identifies five new loci for coronary artery disease*. Nat Genet, 2011. **43**(4): p. 339-44.
16. Kathiresan, S., et al., *Genome-wide association of early-onset myocardial infarction with single nucleotide polymorphisms and copy number variants*. Nat Genet, 2009. **41**(3): p. 334-41.
17. McPherson, R., et al., *A common allele on chromosome 9 associated with coronary heart disease*. Science, 2007. **316**(5830): p. 1488-91.
18. Preuss, M., et al., *Design of the Coronary ARtery DIsease Genome-Wide Replication And Meta-Analysis (CARDIoGRAM) Study: A Genome-wide association meta-analysis involving more than 22 000 cases and 60 000 controls*. Circ Cardiovasc Genet, 2010. **3**(5): p. 475-83.
19. Visel, A., et al., *Targeted deletion of the 9p21 non-coding coronary artery disease risk interval in mice*. Nature, 2010. **464**(7287): p. 409-12.
20. Deloukas, P., et al., *Large-scale association analysis identifies new risk loci for coronary artery disease*. Nat Genet, 2013. **45**(1): p. 25-33.
21. O'Donnell, C.J. and E.G. Nabel, *Genomics of Cardiovascular Disease*. New England Journal of Medicine, 2011. **365**(22): p. 2098-2109.
22. Keys, A., *Coronary heart disease in seven countries*. Circulation., 1970. **41**(No. 1): p. 186-195.
23. Dauchet, L., et al., *Fruit and vegetable consumption and risk of coronary heart disease: a meta-analysis of cohort studies*. J Nutr, 2006. **136**(10): p. 2588-93.
24. Daviglus, M.L., et al., *Dietary vitamin C, beta-carotene and 30-year risk of stroke: results from the Western Electric Study*. Neuroepidemiology, 1997. **16**(2): p. 69-77.
25. Daviglus, M.L., et al., *Fish consumption and risk of coronary heart disease. What does the evidence show?* Eur Heart J, 1997. **18**(12): p. 1841-2.
26. Daviglus, M.L., et al., *Fish consumption and the 30-year risk of fatal myocardial infarction*. N Engl J Med, 1997. **336**(15): p. 1046-53.
27. Hoffmann, K., et al., *A dietary pattern derived to explain biomarker variation is strongly associated with the risk of coronary artery disease*. Am J Clin Nutr, 2004. **80**(3): p. 633-40.

28. Howard, B.V., et al., *Low-fat dietary pattern and risk of cardiovascular disease: the Women's Health Initiative Randomized Controlled Dietary Modification Trial*. Jama, 2006. **295**(6): p. 655-66.
29. Laaksonen, D.E., et al., *Prediction of cardiovascular mortality in middle-aged men by dietary and serum linoleic and polyunsaturated fatty acids*. Arch Intern Med, 2005. **165**(2): p. 193-9.
30. Mente, A., et al., *A systematic review of the evidence supporting a causal link between dietary factors and coronary heart disease*. Arch Intern Med, 2009. **169**(7): p. 659-69.
31. Hennekens, C.H., et al., *Lack of effect of long-term supplementation with beta carotene on the incidence of malignant neoplasms and cardiovascular disease*. N Engl J Med, 1996. **334**(18): p. 1145-9.
32. Ness, A.R., *Commentary: Beyond beta-carotene-antioxidants and cardiovascular disease*. Int J Epidemiol, 2001. **30**(1): p. 143-4.
33. Ness, A.R., G.D. Smith, and C. Hart, *Milk, coronary heart disease and mortality*. J Epidemiol Community Health, 2001. **55**(6): p. 379-82.
34. Rapola, J.M., et al., *Randomised trial of alpha-tocopherol and beta-carotene supplements on incidence of major coronary events in men with previous myocardial infarction*. Lancet, 1997. **349**(9067): p. 1715-20.
35. Virtamo, J., et al., *Effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of primary nonfatal myocardial infarction and fatal coronary heart disease*. Arch Intern Med, 1998. **158**(6): p. 668-75.
36. Yusuf, S., et al., *Vitamin E supplementation and cardiovascular events in high-risk patients. The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators*. N Engl J Med, 2000. **342**(3): p. 154-60.
37. *COFFEE DRINKING AND ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION*. The Lancet, 1972. **300**(7790): p. 1278-1281.
38. Jick, H., et al., *Coffee and myocardial infarction*. N Engl J Med, 1973. **289**(2): p. 63-7.
39. Freedman, N.D., et al., *Association of Coffee Drinking with Total and Cause-Specific Mortality*. New England Journal of Medicine, 2012. **366**(20): p. 1891-1904.
40. Kleemola, P., et al., *Coffee consumption and the risk of coronary heart disease and death*. Arch Intern Med, 2000. **160**(22): p. 3393-400.

41. Belay, A., et al., *Measurement of caffeine in coffee beans with UV/vis spectrometer*. Food Chemistry, 2008. **108**(1): p. 310-315.
42. Riksen, N.P., G.A. Rongen, and P. Smits, *Acute and long-term cardiovascular effects of coffee: implications for coronary heart disease*. Pharmacol Ther, 2009. **121**(2): p. 185-91.
43. Weinberg, B.A. and B.K. Bealer, *The World of Caffeine: The Science and Culture of the World's Most Popular Drug*. Vol. 1. 2001, New York Routledge. 394.
44. Pendergrast, M., *Uncommon Grounds: The History of Coffee and how it Transformed Our World*. Vol. 1. 1999, New York: Basic Books. 458.
45. ICO, *Total production of exporting countries 2012*, International Coffee Organization.
46. *FAOSTAT Core Trade Data (commodities/years)*. 2007, FAO Statistics Division.
47. Duke, J.A., *Handbook of energy crops: Coffea arabica L*. 1983, Purdue University: Indiana, United States of America.
48. Pradeepkumar, T., *Management of Horticultural Crops*. Horticulture Science Series, ed. P.K.V. Peter. Vol. 11. 2008, New Delhi, India New India Publishing Agency 999.
49. CTA, *The profile of Ethiopian Coffee*. 2003, Coffee and Tea Authority: Addis Ababa, Ethiopia.
50. Alves, R.C., et al., *Discrimination between arabica and robusta coffee species on the basis of their tocopherol profiles*. Food Chemistry, 2009. **114**(1): p. 295-299.
51. Parras, P., et al., *Antioxidant capacity of coffees of several origins brewed following three different procedures*. Food Chemistry, 2007. **102**(3): p. 582-592.
52. Sacchetti, G., et al., *Effect of roasting degree, equivalent thermal effect and coffee type on the radical scavenging activity of coffee brews and their phenolic fraction*. Journal of Food Engineering, 2009. **90**(1): p. 74-80.
53. Patil, H., C.J. Lavie, and J.H. O'Keefe, *Cuppa joe: friend or foe? Effects of chronic coffee consumption on cardiovascular and brain health*. Mo Med, 2011. **108**(6): p. 431-8.
54. ICO, *Importing Members Consumption; Calendar years 2000 – 2010*. 2011, International Coffee Organization.
55. Lang, R., et al., *Quantitative investigation of trigonelline, nicotinic acid, and nicotinamide in foods, urine, and plasma by means of LC-MS/MS and stable isotope dilution analysis*. J Agric Food Chem, 2008. **56**(23): p. 11114-21.

56. Spiller, M.A., *The Chemical Components of Coffee*. In: *Caffeine*, ed. G.A. Spiller. 1998, Boca Raton, Florida: CRC Press.
57. James, J.E., *Critical Review of Dietary Caffeine and Blood Pressure: A Relationship That Should Be Taken More Seriously*. *Psychosomatic Medicine*, 2004. **66**(1): p. 63-71.
58. Carrillo, J. and J. Benitez, *Clinically Significant Pharmacokinetic Interactions Between Dietary Caffeine and Medications*. *Clinical Pharmacokinetics*, 2000. **39**(2): p. 127-153.
59. Crews, H.M., L. Olivier, and L.A. Wilson, *Urinary biomarkers for assessing dietary exposure to caffeine*. *Food Addit Contam*, 2001. **18**(12): p. 1075-87.
60. Krul, C. and G. Hageman, *Analysis of urinary caffeine metabolites to assess biotransformation enzyme activities by reversed-phase high-performance liquid chromatography*. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 1998. **709**(1): p. 27-34.
61. Cornelis, M.C., et al., *Coffee, CYP1A2 genotype, and risk of myocardial infarction*. *Jama*, 2006. **295**(10): p. 1135-41.
62. Nawrot, P., et al., *Effects of caffeine on human health*. *Food Addit Contam*, 2003. **20**(1): p. 1-30.
63. Lee, K.J., J.H. Choi, and H.G. Jeong, *Hepatoprotective and antioxidant effects of the coffee diterpenes kahweol and cafestol on carbon tetrachloride-induced liver damage in mice*. *Food Chem Toxicol*, 2007. **45**(11): p. 2118-25.
64. Mitchell, P.J. and J.R. Redman, *Effects of caffeine, time of day and user history on study-related performance*. *Psychopharmacology (Berl)*, 1992. **109**(1-2): p. 121-6.
65. Silverman, K., G.K. Mumford, and R.R. Griffiths, *Enhancing caffeine reinforcement by behavioral requirements following drug ingestion*. *Psychopharmacology (Berl)*, 1994. **114**(3): p. 424-32.
66. Horne, J.A. and L.A. Reyner, *Counteracting driver sleepiness: effects of napping, caffeine, and placebo*. *Psychophysiology*, 1996. **33**(3): p. 306-9.
67. Fredholm, B.B., et al., *Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute to its widespread use*. *Pharmacol Rev*, 1999. **51**(1): p. 83-133.
68. James, J.E., *Does caffeine enhance or merely restore degraded psychomotor performance?* *Neuropsychobiology*, 1994. **30**(2-3): p. 124-5.
69. James, J.E., *Caffeine and psychomotor performance revisited*. *Neuropsychobiology*, 1995. **31**(4): p. 202-3.

70. Christopher, G., D. Sutherland, and A. Smith, *Effects of caffeine in non-withdrawn volunteers*. Hum Psychopharmacol, 2005. **20**(1): p. 47-53.
71. Rogers, P.J., N.J. Richardson, and C. DERNONCOURT, *Caffeine use: is there a net benefit for mood and psychomotor performance?* Neuropsychobiology, 1995. **31**(4): p. 195-9.
72. Childs, E., et al., *Association between ADORA2A and DRD2 polymorphisms and caffeine-induced anxiety*. Neuropsychopharmacology, 2008. **33**(12): p. 2791-800.
73. Evans, S.M. and R.R. Griffiths, *Dose-related caffeine discrimination in normal volunteers: individual differences in subjective effects and self-reported cues*. Behav Pharmacol, 1991. **2**(4 And 5): p. 345-356.
74. Klatsky, A.L., M.A. Armstrong, and G.D. Friedman, *Coffee, tea, and mortality*. Ann Epidemiol, 1993. **3**(4): p. 375-81.
75. Frary, C.D., R.K. Johnson, and M.Q. Wang, *Food sources and intakes of caffeine in the diets of persons in the United States*. J Am Diet Assoc, 2005. **105**(1): p. 110-3.
76. McCusker, R.R., B.A. Goldberger, and E.J. Cone, *Caffeine content of specialty coffees*. J Anal Toxicol, 2003. **27**(7): p. 520-2.
77. Thelle, D.S., S. Heyden, and J.G. Fodor, *Coffee and cholesterol in epidemiological and experimental studies*. Atherosclerosis, 1987. **67**(2-3): p. 97-103.
78. Gross, G., E. Jaccaud, and A.C. Huggett, *Analysis of the content of the diterpenes cafestol and kahweol in coffee brews*. Food Chem Toxicol, 1997. **35**(6): p. 547-54.
79. Urgert, R., et al., *Levels of the Cholesterol-Elevating Diterpenes Cafestol and Kahweol in Various Coffee Brews*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1995. **43**(8): p. 2167-2172.
80. Matijasevich, A., I.S. Santos, and F.C. Barros, *Does caffeine consumption during pregnancy increase the risk of fetal mortality? A literature review*. Cadernos de Saúde Pública, 2005. **21**: p. 1676-1684.
81. Pardo Lozano, R., et al., *[Caffeine: a nutrient, a drug or a drug of abuse]*. Adicciones, 2007. **19**(3): p. 225-38.
82. Wedick, N.M., et al., *Effects of caffeinated and decaffeinated coffee on biological risk factors for type 2 diabetes: a randomized controlled trial*. Nutr J, 2011. **10**: p. 93.

83. Clifford, M.N., *Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence and dietary burden*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1999. **79**(3): p. 362-372.
84. USDA, *Nutrient Database for Standard Reference*. 2004, U.S. Department of Agriculture and Agricultural Research Service.
85. *Magnesium*. In: *Dietary Reference Intakes: Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride*. 1997, Institute of Medicine: Washington D.C. p. 190-249.
86. *Potassium*. In: *Dietary Reference Intakes for Water, Potassium, Sodium, Chloride, and Sulfate*. 2004, Institute of Medicine: Washington, D. C. p. 173–246.
87. Adrian, J. and R. Frangne, *Synthesis and availability of niacin in roasted coffee*. Adv Exp Med Biol, 1991. **289**: p. 49-59.
88. *Niacin*. In: *Dietary Reference Intakes: Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B-6, Vitamin B-12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline*. 1998, Institute of Medicine: Washington D.C. p. 123–149.
89. *Vitamin E*. In: *Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids*. 2000, Institute of Medicine: Washington D.C. p. 95–185.
90. Kubo Shlonsky, A., A.L. Klatsky, and M.A. Armstrong, *Traits of persons who drink decaffeinated coffee*. Ann Epidemiol, 2003. **13**(4): p. 273-9.
91. Pala, V., et al., *Associations between dietary pattern and lifestyle, anthropometry and other health indicators in the elderly participants of the EPIC-Italy cohort*. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2006. **16**(3): p. 186-201.
92. Rezazadeh, A., B. Rashidkhani, and N. Omidvar, *Association of major dietary patterns with socioeconomic and lifestyle factors of adult women living in Tehran, Iran*. Nutrition, 2010. **26**(3): p. 337-41.
93. Aro, A., et al., *Coffee and tea consumption, dietary fat intake and serum cholesterol concentration of Finnish men and women*. J Intern Med, 1989. **226**(2): p. 127-32.
94. Lindahl, B., et al., *Coffee drinking and blood cholesterol--effects of brewing method, food intake and life style*. J Intern Med, 1991. **230**(4): p. 299-305.
95. Puccio, E.M., et al., *Clustering of atherogenic behaviors in coffee drinkers*. Am J Public Health, 1990. **80**(11): p. 1310-3.
96. Schwarz, B., H.P. Bischof, and M. Kunze, *Coffee, tea, and lifestyle*. Prev Med, 1994. **23**(3): p. 377-84.

97. Solvoll, K., et al., *Coffee, dietary habits, and serum cholesterol among men and women 35-49 years of age*. Am J Epidemiol, 1989. **129**(6): p. 1277-88.
98. Haffner, S.M., et al., *Coffee consumption, diet, and lipids*. Am J Epidemiol, 1985. **122**(1): p. 1-12.
99. Jacobsen, B.K. and D.S. Thelle, *The Tromso Heart Study: is coffee drinking an indicator of a life style with high risk for ischemic heart disease?* Acta Med Scand, 1987. **222**(3): p. 215-21.
100. Wei, M., et al., *The impact of changes in coffee consumption on serum cholesterol*. J Clin Epidemiol, 1995. **48**(10): p. 1189-96.
101. Nygard, O., et al., *Coffee consumption and plasma total homocysteine: The Hordaland Homocysteine Study*. Am J Clin Nutr, 1997. **65**(1): p. 136-43.
102. Bowman, S.A. and B.T. Vinyard, *Fast food consumption of U.S. adults: impact on energy and nutrient intakes and overweight status*. J Am Coll Nutr, 2004. **23**(2): p. 163-8.
103. Kelloniemi, H., E. Ek, and J. Laitinen, *Optimism, dietary habits, body mass index and smoking among young Finnish adults*. Appetite, 2005. **45**(2): p. 169-76.
104. Laitala, V.S., J. Kaprio, and K. Silventoinen, *Genetics of coffee consumption and its stability*. Addiction, 2008. **103**(12): p. 2054-61.
105. Vink, J.M., A.S. Staphorsius, and D.I. Boomsma, *A genetic analysis of coffee consumption in a sample of Dutch twins*. Twin Res Hum Genet, 2009. **12**(2): p. 127-31.
106. Gu, L., et al., *Biotransformation of caffeine, paraxanthine, theobromine and theophylline by cDNA-expressed human CYP1A2 and CYP2E1*. Pharmacogenetics, 1992. **2**(2): p. 73-7.
107. Kalow, W. and B.K. Tang, *The use of caffeine for enzyme assays: a critical appraisal*. Clin Pharmacol Ther, 1993. **53**(5): p. 503-14.
108. Rasmussen, B.B., et al., *The interindividual differences in the 3-demethylation of caffeine alias CYP1A2 is determined by both genetic and environmental factors*. Pharmacogenetics, 2002. **12**(6): p. 473-8.
109. Luciano, M., et al., *The genetics of tea and coffee drinking and preference for source of caffeine in a large community sample of Australian twins*. Addiction, 2005. **100**(10): p. 1510-7.

110. Amin, N., et al., *Genome-wide association analysis of coffee drinking suggests association with CYP1A1/CYP1A2 and NRCAM*. Mol Psychiatry, 2012. **17**(11): p. 1116-29.
111. Cornelis, M.C., et al., *Genome-wide meta-analysis identifies regions on 7p21 (AHR) and 15q24 (CYP1A2) as determinants of habitual caffeine consumption*. PLoS Genet, 2011. **7**(4): p. e1002033.
112. Sulem, P., et al., *Sequence variants at CYP1A1-CYP1A2 and AHR associate with coffee consumption*. Hum Mol Genet, 2011. **20**(10): p. 2071-7.
113. Castorena-Torres, F., et al., *CYP1A2 phenotype and genotype in a population from the Carboniferous Region of Coahuila, Mexico*. Toxicol Lett, 2005. **156**(3): p. 331-9.
114. Sakurai, T., et al., *Association analysis of the NrCAM gene in autism and in subsets of families with severe obsessive-compulsive or self-stimulatory behaviors*. Psychiatr Genet, 2006. **16**(6): p. 251-7.
115. Ishiguro, H., et al., *NrCAM in addiction vulnerability: positional cloning, drug-regulation, haplotype-specific expression, and altered drug reward in knockout mice*. Neuropsychopharmacology, 2006. **31**(3): p. 572-84.
116. Matzel, L.D., et al., *Neuronal cell adhesion molecule deletion induces a cognitive and behavioral phenotype reflective of impulsivity*. Genes Brain Behav, 2008. **7**(4): p. 470-80.
117. Swan, G.E., D. Carmelli, and L.R. Cardon, *The consumption of tobacco, alcohol, and coffee in Caucasian male twins: a multivariate genetic analysis*. J Subst Abuse, 1996. **8**(1): p. 19-31.
118. Swan, G.E., et al., *Smoking and alcohol consumption in adult male twins: genetic heritability and shared environmental influences*. J Subst Abuse, 1990. **2**(1): p. 39-50.
119. Taylor Sarah R. , D.-A.B., *"To sip or not to sip: the potential health risks and benefits of coffee drinking"*. Nutrition & Food Science, 2007. **37**(6): p. 406-418.
120. Ye, Y., et al., *Caffeinated coffee blunts the myocardial protective effects of statins against ischemia-reperfusion injury in the rat*. Cardiovasc Drugs Ther, 2008. **22**(4): p. 275-82.
121. Hammar, N., et al., *Association of boiled and filtered coffee with incidence of first nonfatal myocardial infarction: the SHEEP and the VHEEP study*. J Intern Med, 2003. **253**(6): p. 653-9.

122. Palmer, J.R., et al., *Coffee consumption and myocardial infarction in women*. Am J Epidemiol, 1995. **141**(8): p. 724-31.
123. Tavani, A., et al., *Alcohol, smoking, coffee and risk of non-fatal acute myocardial infarction in Italy*. Eur J Epidemiol, 2001. **17**(12): p. 1131-7.
124. Tofler, O.B., et al., *Coffee and coronary heart disease*. Heart Lung Circ, 2001. **10**(3): p. 116-20.
125. Higdon, J.V. and B. Frei, *Coffee and health: a review of recent human research*. Crit Rev Food Sci Nutr, 2006. **46**(2): p. 101-23.
126. Andersen, L.F., et al., *Consumption of coffee is associated with reduced risk of death attributed to inflammatory and cardiovascular diseases in the Iowa Women's Health Study*. Am J Clin Nutr, 2006. **83**(5): p. 1039-46.
127. Lopez-Garcia, E., et al., *Coffee consumption and coronary heart disease in men and women: a prospective cohort study*. Circulation, 2006. **113**(17): p. 2045-53.
128. De Roos, B., et al., *Absorption and urinary excretion of the coffee diterpenes cafestol and kahweol in healthy ileostomy volunteers*. J Intern Med, 1998. **244**(6): p. 451-60.
129. Christensen, B., et al., *Abstention from filtered coffee reduces the concentrations of plasma homocysteine and serum cholesterol--a randomized controlled trial*. Am J Clin Nutr, 2001. **74**(3): p. 302-7.
130. Fried, R.E., et al., *The effect of filtered-coffee consumption on plasma lipid levels. Results of a randomized clinical trial*. Jama, 1992. **267**(6): p. 811-5.
131. LaCroix, A.Z., et al., *Coffee consumption and the incidence of coronary heart disease*. N Engl J Med, 1986. **315**(16): p. 977-82.
132. Happonen, P., S. Voutilainen, and J.T. Salonen, *Coffee drinking is dose-dependently related to the risk of acute coronary events in middle-aged men*. J Nutr, 2004. **134**(9): p. 2381-6.
133. Panagiotakos, D.B., et al., *The J-shaped effect of coffee consumption on the risk of developing acute coronary syndromes: the CARDIO2000 case-control study*. J Nutr, 2003. **133**(10): p. 3228-32.
134. O'Keefe, J.H., et al., *Effects of habitual coffee consumption on cardiometabolic disease, cardiovascular health, and all-cause mortality*. J Am Coll Cardiol, 2013. **62**(12): p. 1043-51.

135. Steffen, M., et al., *The effect of coffee consumption on blood pressure and the development of hypertension: a systematic review and meta-analysis*. J Hypertens, 2012. **30**(12): p. 2245-54.
136. Winkelmayr, W.C., et al., *Habitual caffeine intake and the risk of hypertension in women*. Jama, 2005. **294**(18): p. 2330-5.
137. Corti, R., et al., *Coffee acutely increases sympathetic nerve activity and blood pressure independently of caffeine content: role of habitual versus nonhabitual drinking*. Circulation, 2002. **106**(23): p. 2935-40.
138. Urgert, R. and M.B. Katan, *The cholesterol-raising factor from coffee beans*. Annu Rev Nutr, 1997. **17**: p. 305-24.
139. Bak, A.A.A. and D.E. Grobbee, *The Effect on Serum Cholesterol Levels of Coffee Brewed by Filtering or Boiling*. New England Journal of Medicine, 1989. **321**(21): p. 1432-1437.
140. Jee, S.H., et al., *Coffee consumption and serum lipids: a meta-analysis of randomized controlled clinical trials*. Am J Epidemiol, 2001. **153**(4): p. 353-62.
141. van Dam, R.M., *Coffee and type 2 diabetes: from beans to beta-cells*. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2006. **16**(1): p. 69-77.
142. van Dam, R.M. and E.J. Feskens, *Coffee consumption and risk of type 2 diabetes mellitus*. Lancet, 2002. **360**(9344): p. 1477-8.
143. van Dam, R.M. and F.B. Hu, *Coffee consumption and risk of type 2 diabetes: a systematic review*. Jama, 2005. **294**(1): p. 97-104.
144. Tuomilehto, J., et al., *Coffee consumption and risk of type 2 diabetes mellitus among middle-aged Finnish men and women*. Jama, 2004. **291**(10): p. 1213-9.
145. Carlsson, S., et al., *Coffee consumption and risk of type 2 diabetes in Finnish twins*. Int J Epidemiol, 2004. **33**(3): p. 616-7.
146. Smits, P., L. Temme, and T. Thien, *The cardiovascular interaction between caffeine and nicotine in humans*. Clin Pharmacol Ther, 1993. **54**(2): p. 194-204.
147. Vlachopoulos, C., et al., *Smoking and caffeine have a synergistic detrimental effect on aortic stiffness and wave reflections*. J Am Coll Cardiol, 2004. **44**(9): p. 1911-7.
148. Grubben, M.J., et al., *Unfiltered coffee increases plasma homocysteine concentrations in healthy volunteers: a randomized trial*. Am J Clin Nutr, 2000. **71**(2): p. 480-4.

149. Urgert, R., et al., *Heavy coffee consumption and plasma homocysteine: a randomized controlled trial in healthy volunteers*. Am J Clin Nutr, 2000. **72**(5): p. 1107-10.
150. Verhoef, P., et al., *Contribution of caffeine to the homocysteine-raising effect of coffee: a randomized controlled trial in humans*. Am J Clin Nutr, 2002. **76**(6): p. 1244-8.
151. Olthof, M.R., et al., *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. **73**(3): p. 532-8.
152. Zampelas, A., et al., *Associations between coffee consumption and inflammatory markers in healthy persons: the ATTICA study*. Am J Clin Nutr, 2004. **80**(4): p. 862-7.
153. Cornelis, M.C. and A. El-Sohemy, *Coffee, caffeine, and coronary heart disease*. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2007. **10**(6): p. 745-51.
154. Happonen, P., et al., *Catechol-o-methyltransferase gene polymorphism modifies the effect of coffee intake on incidence of acute coronary events*. PLoS One, 2006. **1**: p. e117.
155. Robertson, D., et al., *Effects of caffeine on plasma renin activity, catecholamines and blood pressure*. N Engl J Med, 1978. **298**(4): p. 181-6.
156. Weggemans, R.M., et al., *Apoprotein E genotype and the response of serum cholesterol to dietary fat, cholesterol and cafestol*. Atherosclerosis, 2001. **154**(3): p. 547-55.
157. Strandhagen, E., 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. **13**(6): p. 811-5.
158. Tantcheva-Poor, I., et al., *Estimation of cytochrome P-450 CYP1A2 activity in 863 healthy Caucasians using a saliva-based caffeine test*. Pharmacogenetics, 1999. **9**(2): p. 131-44.
159. Sachse, C., et al., *Functional significance of a C-->A polymorphism in intron 1 of the cytochrome P450 CYP1A2 gene tested with caffeine*. Br J Clin Pharmacol, 1999. **47**(4): p. 445-9.
160. Palatini, P., et al., *CYP1A2 genotype modifies the association between coffee intake and the risk of hypertension*. J Hypertens, 2009. **27**(8): p. 1594-601.

161. Levy, D., et al., *Genome-wide association study of blood pressure and hypertension*. Nat Genet, 2009. **41**(6): p. 677-87.
162. Nurminen, M.L., et al., *Coffee, caffeine and blood pressure: a critical review*. Eur J Clin Nutr, 1999. **53**(11): p. 831-9.
163. Wakabayashi, K., et al., *Habitual coffee consumption and blood pressure: A study of self-defense officials in Japan*. Eur J Epidemiol, 1998. **14**(7): p. 669-73.
164. Kokaze, A., et al., *NADH Dehydrogenase Subunit-2 237 Leu/Met Polymorphism Modulates the Effects of Coffee Consumption on the Risk of Hypertension in Middle-Aged Japanese Men*. Journal of Epidemiology, 2009. **19**(5): p. 231-236.
165. Alexe, G., et al., *Enrichment of longevity phenotype in mtDNA haplogroups D4b2b, D4a, and D5 in the Japanese population*. Hum Genet, 2007. **121**(3-4): p. 347-56.
166. De Benedictis, G., et al., *Mitochondrial DNA inherited variants are associated with successful aging and longevity in humans*. Faseb j, 1999. **13**(12): p. 1532-6.
167. Ivanova, R., et al., *Mitochondrial genotype associated with French Caucasian centenarians*. Gerontology, 1998. **44**(6): p. 349.
168. Niemi, A.K., et al., *A combination of three common inherited mitochondrial DNA polymorphisms promotes longevity in Finnish and Japanese subjects*. Eur J Hum Genet, 2005. **13**(2): p. 166-70.
169. Tanaka, M., et al., *Mitochondrial genotype associated with longevity*. Lancet, 1998. **351**(9097): p. 185-6.
170. Kokaze, A., et al., *Longevity-associated NADH dehydrogenase subunit-2 polymorphism and serum electrolyte levels in middle-aged obese Japanese men*. Mech Ageing Dev, 2005. **126**(6-7): p. 705-9.
171. Kokaze, A., et al., *Longevity-associated mitochondrial DNA 5178 C/A polymorphism and its interaction with cigarette consumption are associated with pulmonary function in middle-aged Japanese men*. J Hum Genet, 2007. **52**(8): p. 680-5.
172. Kokaze, A., et al., *Association of the mitochondrial DNA 5178 A/C polymorphism with serum lipid levels in the Japanese population*. Hum Genet, 2001. **109**(5): p. 521-5.
173. Kokaze, A., et al., *Longevity-associated mitochondrial DNA 5178 A/C polymorphism is associated with intraocular pressure in Japanese men*. Clin Experiment Ophthalmol, 2004. **32**(2): p. 131-6.

174. Kokaze, A., et al., *Longevity-associated mitochondrial DNA 5178 C/A polymorphism is associated with fasting plasma glucose levels and glucose tolerance in Japanese men*. Mitochondrion, 2005. **5**(6): p. 418-25.
175. Kokaze, A., et al., *Longevity-associated mitochondrial DNA 5178 A/C polymorphism and blood pressure in the Japanese population*. J Hum Hypertens, 2004. **18**(1): p. 41-5.
176. Kokaze, A., et al., *Combined effect of longevity-associated mitochondrial DNA 5178 C/A polymorphism and coffee consumption on the risk of hyper-LDL cholesterolemia in middle-aged Japanese men*. J Hum Genet, 2010. **55**(9): p. 577-81.
177. Kollia, M., et al., *Development, validity and reliability of the Harokopio Physical Activity Questionnaire in Greek adults*, in *8th Panhellenic Congress on Nutrition and Dietetics*. 2006: Athens p. 130-1.
178. Cade, J., et al., *Development, validation and utilisation of food-frequency questionnaires - a review*. Public Health Nutr, 2002. **5**(4): p. 567-87.
179. Miller, S.A., D.D. Dykes, and H.F. Polesky, *A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells*. Nucleic Acids Res, 1988. **16**(3): p. 1215.
180. Voight, B.F., et al., *The metabochip, a custom genotyping array for genetic studies of metabolic, cardiovascular, and anthropometric traits*. PLoS Genet, 2012. **8**(8): p. e1002793.
181. Purcell, S., et al., *PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses*. Am J Hum Genet, 2007. **81**(3): p. 559-75.
182. Rodenburg, E.M., et al., *CYP1A2 and coffee intake and the modifying effect of sex, age, and smoking*. Am J Clin Nutr, 2012. **96**(1): p. 182-7.
183. Cornelis, M.C., *Coffee intake*. Prog Mol Biol Transl Sci, 2012. **108**: p. 293-322.
184. Hewlett, P. and A. Smith, *Correlates of daily caffeine consumption*. Appetite, 2006. **46**(1): p. 97-9.
185. Gavrieli, A., et al., *Effect of different amounts of coffee on dietary intake and appetite of normal-weight and overweight/obese individuals*. Obesity (Silver Spring), 2013. **21**(6): p. 1127-32.
186. NCBI. dbSNP. 2014 10/05/2014]; Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?SITE=NcbiHome&submit=Go>.

187. Annerbrink, K., et al., *Catechol O-methyltransferase val158-met polymorphism is associated with abdominal obesity and blood pressure in men*. Metabolism, 2008. 57(5): p. 708-11.
188. Miller, R.J., et al., *The impact of the catechol-O-methyltransferase genotype on vascular function and blood pressure after acute green tea ingestion*. Mol Nutr Food Res, 2012. 56(6): p. 966-75.
189. Stewart, S.H., et al., *COMT genotype influences the effect of alcohol on blood pressure: results from the COMBINE study*. Am J Hypertens, 2009. 22(1): p. 87-91.
190. Wang, M., et al., *Discovering pure gene-environment interactions in blood pressure genome-wide association studies data: a two-step approach incorporating new statistics*. BMC Proceedings, 2014. 8(Suppl 1): p. S62.
191. Wang, M.H., et al., *Four pairs of gene-gene interactions associated with increased risk for type 2 diabetes (CDKN2BAS-KCNJ11), obesity (SLC2A9-IGF2BP2, FTO-APOA5), and hypertension (MC4R-IGF2BP2) in Chinese women*. Meta Gene, 2014. 2(0): p. 384-391.