



CARDIOLOGÍA DEL ADULTO - TRABAJOS LIBRES

Efecto del consumo de diferentes dosis de café filtrado sobre los niveles plasmáticos de homocisteína y presión arterial en un grupo de voluntarios sanos

Effect of consumption of different doses of filtered coffee on homocysteine plasma levels and blood pressure in a group of healthy volunteers

Premio «Mejor Trabajo Institucional» presentado en el XXII Congreso Colombiano de Cardiología y Cirugía Cardiovascular 2008

Gloria M. Agudelo O., *Nutricionista Dietista*⁽¹⁾; Mauricio Duque R., MD.^(2,3); Claudia M. Velásquez R., *Nutricionista Dietista*⁽¹⁾; Olga L. Cardona H., *Nutricionista Dietista*⁽¹⁾; Myriam Posada J., *Nutricionista Dietista*; Vanesa Pineda S., *Nutricionista Dietista*; Juliana M. Orozco C., *Estudiante Nutrición y Dietética*⁽¹⁾; Leonor E. Suárez F., *Estudiante Nutrición y Dietética*⁽¹⁾; Esteban Echavarría E., MD.⁽⁴⁾

Medellín, Colombia.

No está claro si el consumo de café afecta la presión arterial y los niveles de homocisteína. El objetivo fue determinar el cambio en las concentraciones plasmáticas de homocisteína y presión arterial en un grupo de voluntarios sanos. Se realizó un estudio prospectivo, clínico controlado, en el que se conformaron cuatro grupos de 29 sujetos cada uno, quienes, durante un período de seis semanas, se sometieron al consumo diario de café filtrado. El grupo 1 no consumió café, el grupo 2 consumió 200 mL de café, el grupo 3 400 mL y el 4 600 mL. Antes de la intervención se midieron: presión arterial, homocisteína, índice arterial, ácido fólico eritrocitario y vitaminas B₁₂ y B₆. Al final de la intervención, se tomó la presión arterial y se midió la concentración de homocisteína. Los resultados mostraron grupos sin diferencias significativas en las condiciones basales. Después de la intervención, el cambio en los valores de homocisteína entre los grupos, no mostró diferencia significativa y permanecieron dentro de los valores de referencia ($p = 0,098$). El cambio en los niveles de presión arterial sistólica y diastólica, no fue significativo ($p=0,510$ y $0,430$ respectivamente). En conclusión, el consumo de diferentes dosis de café filtrado, no mostró cambios significativos en los niveles séricos de homocisteína como tampoco en los niveles de presión arterial sistólica y diastólica en un grupo de sujetos sanos normotensos; en el grupo que se abstuvo de tomar café, no disminuyeron de manera significativa los niveles de homocisteína y presión arterial.

PALABRAS CLAVE: homocisteína, presión arterial, café, riesgo cardiovascular.

It is not clear if coffee consumption affects blood pressure and homocysteine levels. The objective of this study was to determine the variations in homocysteine plasma levels and blood pressure in a group of healthy volunteers. A prospective controlled clinical trial was performed; four groups of 29 patients each one were comprised and they were submitted to filtered coffee consumption during a six weeks period.

(1) Escuela de Nutrición y Dietética. Grupo de Investigación Alimentación y Nutrición Humana. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

(2) Cardiología, Clínica Medellín. Medellín, Colombia.

(3) Universidad CES, Postgrados área cardiovascular. Medellín, Colombia.

(4) Clínica Las Américas. Medellín, Colombia.

Correspondencia: Dra. Gloria María Agudelo Ochoa. Escuela de Nutrición y Dietética, Universidad de Antioquia. Cra. 75 N° 65-87. Bloque 44, Oficina 113. Ciudadela Robledo. Medellín, Colombia. Correo electrónico: gmao@quimbaya.udea.edu.co
Dr. Mauricio Duque Ramírez. Cardiología Clínica Medellín. Calle 7°. No. 39-290 Consultorio 1304, Medellín, Colombia. Correo electrónico: mauricioduque@une.net.co

Recibido: 20/11/2007. Aceptado: 30/04/2008.

Group 1 did not consume coffee; group 2 consumed 200mL coffee; group 3 consumed 400 mL and group 4 , 600 mL. Blood pressure, homocysteine levels, arterial index, erythrocyte folic acid and B₁₂ and B₆ vitamins were measured. The outcomes showed no significant differences between the groups in basal conditions. After the intervention, change in homocysteine levels between the groups did not show any significant difference and remained within the reference values ($p = 0,098$). Change in systolic and diastolic arterial pressure levels was not significant ($p = 0,510$ and $0,430$ respectively). In conclusion, different filtered coffee doses consumption didn't show significant changes in homocysteine plasma levels, nor in systolic and diastolic arterial pressure ciphers in a group of healthy normotense subjects; in the group that did not consume coffee, homocysteine levels and blood pressure had no significant decrease in these values.

KEY WORDS: homocysteine, blood pressure, cardiovascular risk.

(Rev Colomb Cardiol 2008; 15: 65-74)

Introducción

La enfermedad cardiovascular constituye una de las primeras causas de morbilidad y mortalidad en la mayoría de países del mundo (1). Para Colombia, la primera causa de muerte en hombres y mujeres mayores de 45 años, es la cardiopatía coronaria; para 2002, en Antioquia, la primera causa de muerte después de los 55 años fue la cardiopatía isquémica, con una tasa de 114 por cada 100.000 habitantes (2). En Medellín, un estudio longitudinal sobre el comportamiento del riesgo cardiovascular en una población de un solo sector de la ciudad, mostró que 81,2% presentaba bajo riesgo de enfermedad cardiovascular, 12,2% riesgo moderado y 6,7% alto riesgo (3).

Entre los nuevos factores de riesgo cardiovascular emerge la homocisteína, un aminoácido producto intermedio del metabolismo de la metionina y la cisteína, la cual es metabolizada por dos vías: trans-sulfuración y remetilación, procesos que requieren vitamina B₆, vitamina B₁₂ y ácido fólico como cofactores (4, 5). El aumento en los niveles de homocisteína como promotor del riesgo de aterosclerosis y trombosis, ha sido tema de muchos estudios en las últimas décadas (6, 7).

Diversos trabajos demuestran una correlación significativa y positiva entre los niveles de homocisteína y la incidencia de cardiopatía coronaria, cerebrovascular y periférica. Su mecanismo de acción aún no es claro, sin embargo, se postula un daño endotelial con expresión de factores aterogénicos, la homocisteinización de las LDL que incrementa su afinidad con receptores de macrófagos y la inhibición de factores anticoagulantes (5-7). El meta-análisis de Boushey que resume once estudios retrospectivos y *cross sectional*, mostró un incre-

mento significativo del riesgo de evento cerebral vascular por cada aumento de 5 $\mu\text{mol/L}$ en el nivel de homocisteína. Los autores sugieren que 10% de todas las enfermedades arteriales coronarias podría explicarse por aumento en la concentración de homocisteína en el plasma (8). En 2000, Christen y colaboradores evaluaron la totalidad de la evidencia de manera cualitativa y encontraron que los resultados de los estudios prospectivos, en general, fueron débiles o ausentes cuando se compararon con los resultados de los estudios retrospectivos o *cross sectional* (9). El incremento en la concentración de homocisteína puede deberse a defectos genéticos o al inadecuado estado de las vitaminas que actúan como cofactores (2,4); otros como edad, género y hábito de fumar, y factores dietarios como el consumo de café podrían contribuir al incremento en sus niveles (10). No es claro cómo el café afecta los niveles de homocisteína; los resultados de diferentes investigaciones son controvertidos y mientras unos muestran correlación positiva entre el consumo de café y las concentraciones plasmáticas de homocisteína (11-13), otros como el estudio de riesgo de aterosclerosis en los Estados Unidos y el ensayo clínico de Mursu, no confirmaron dicha asociación (14, 15). Algunos autores atribuyen el incremento de homocisteína al contenido de cafeína del café; sin embargo, otros estudios hallaron que éste no es el único compuesto responsable y que otras sustancias como el ácido clorogénico y los diterpenos podrían estar involucradas en su aumento (16).

De otro lado, la hipertensión se considera como un factor de riesgo clásico para enfermedad cardiovascular. En Colombia representa el desorden cardiovascular más frecuente, con una prevalencia entre 18% y 20% en

personas entre 15 a 64 años (17, 18). El papel del café en la etiología de la hipertensión, es controvertido en la medida que su consumo se relaciona tanto con el aumento como con la disminución de la presión arterial. Algunos reportan que no tiene ningún efecto y otros afirman que puede influir tanto sobre la presión arterial como sobre el riesgo de evento cerebral vascular (19-23). Nurminen y colaboradores mostraron que en sujetos normotensos, una dosis de cafeína de 200 a 250 mg, equivalente a 2 a 3 tazas de café, incrementaba la presión arterial sistólica de 3 a 14 mm Hg y la diastólica de 4 a 13 mm Hg (24).

El Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos y el Comité conjunto nacional para la prevención, detección, evaluación y tratamiento de la hipertensión, en su más reciente informe, no menciona que el café o a la cafeína sean factores de riesgo para hipertensión (25). La Asociación Americana del Corazón afirma que tomar café con moderación (1 a 2 tazas al día), no parece tener efectos adversos (26).

El objetivo del estudio fue determinar el cambio en las concentraciones plasmáticas de homocisteína y presión arterial en un grupo de voluntarios sanos, sometidos al consumo de diferentes dosis de café filtrado por un período de seis semanas.

Métodos

Tipo de estudio

Estudio prospectivo, clínico controlado, cuya muestra estuvo constituida por adultos sanos voluntarios, asignados de manera aleatoria a uno de los cuatro grupos definidos para el estudio. El tamaño de la muestra por grupo, se calculó en el programa PRIMER.

Para homocisteína se consideró que la diferencia esperada en la concentración plasmática entre los dos grupos extremos, fuera de $1,5 \mu\text{mol/L} \pm 1,5 \mu\text{mol}$ (11, 27), lo que dio al estudio una potencia de 0,9 y un nivel de significancia de 0,05. Se establecieron 29 sujetos por grupo. La muestra para evaluar presión arterial se determinó en el mismo programa PRIMER con nivel de confianza de 95%, potencia de 0,9 y diferencia esperada en los grupos extremos para presión arterial sistólica de $2,04 \pm 1,89$ (20); se requirieron 25 sujetos por grupo. Finalmente, se determinó un número por grupo de 29 sujetos para dar cumplimiento al tamaño de la muestra y evaluar el cambio estadístico.

Criterios de inclusión

Para hacer parte del estudio, los sujetos debían cumplir los siguientes criterios:

- Participación voluntaria en el estudio.
- Edad entre 25 y 55 años.
- Índice de masa corporal entre 18,8 y 30 kg/m².
- No fumar.
- No ser deportistas de alta competencia.
- Ser normotensos ($\leq 120/80$ mm Hg).
- No tener historia y/o diagnóstico de enfermedad cardiovascular (infarto, dislipidemia, insuficiencia cardiaca congestiva, accidente cerebro-vascular, arritmias), diabetes mellitus, cáncer, insuficiencia renal crónica, alteraciones hepáticas, hipotiroidismo, insomnio, úlcera duodenal o gastritis.
- No consumir medicamentos hipotensores, hipolipemiantes, suplementos de vitaminas antioxidantes, antiepilépticos, anti-inflamatorios esteroides y psicofármacos hipnóticos.
- Tener consumo moderado de alcohol (hasta 10 tragos semanales para las mujeres y 15 para los hombres).
- Concentración plasmática de homocisteína $\leq 15,0 \mu\text{mol/L}$ e índice arterial.
- Colesterol total/HDL ≤ 5 .
- Ser bebedores habituales de café (consumo en el último año de tres o más pocillos/día).
- Tener una jornada laboral diurna.
- No ausentarse de la institución mientras durara la intervención.

Se excluyeron aquellos con antecedentes o diagnóstico de trastornos gastrointestinales y arritmias cardíacas, disautonomías, trastornos del sueño y psiquiátricos; así como también aquellos que presentaban síntomas secundarios al consumo de café.

Protocolo del estudio

Los sujetos manifestaron su interés voluntario de participar en el estudio y se citaron para evaluar el cumplimiento de los criterios de inclusión. Para determinar el índice de masa corporal, se tomaron el peso y la estatura según las normas estandarizadas (28). Una vez se seleccionaron, se les explicaron los objetivos del

estudio y firmaron el consentimiento informado. Los cuatro grupos se conformaron en forma aleatoria y la asignación se realizó por bloques pareados por edad y género. Una semana antes de la intervención, se les recomendó no consumir café ni bebidas o alimentos que contuvieran cafeína. La intervención durante el período de seis semanas fue la siguiente:

- **Grupo 1:** no consumió café ni bebidas o alimentos con cafeína.
- **Grupo 2:** consumió 2 pocillos diarios de café (200 mL de café, 12 gramos de café, 80 mg de cafeína).
- **Grupo 3:** consumió 4 pocillos diarios de café (400 mL de café, 24 gramos de café, 160 mg de cafeína).
- **Grupo 4:** consumió 6 pocillos diarios de café (600 mL de café, 48 gramos de café, 240 mg de cafeína).

Durante este período se eliminó el consumo de otras bebidas con cafeína (té, colas, cocoa, chocolate, refrescos energizantes) y alimentos que tuvieran café o chocolate. A todos los sujetos se les recomendó seguir su dieta habitual y se les permitió el consumo de agua, jugos, leche y demás bebidas sin cafeína. Antes del inicio de la intervención (basal) en cada sujeto, se midieron los niveles de homocisteína, colesterol total, c-HDL, ácido fólico eritrocitario, ácido fólico sérico, vitamina B₁₂, vitamina B₆ y presión arterial sistólica y diastólica. Al final de la intervención, en la sexta semana, en todos los individuos se midió nuevamente la concentración plasmática de homocisteína y la presión arterial sistólica y diastólica. En quienes conformaron el grupo 1 se determinaron los niveles plasmáticos de cafeína en las semanas 0, 3 y 6 para verificar el no consumo de la sustancia durante el período del estudio y la adherencia al tratamiento.

Pruebas de laboratorio

Se tomó una muestra de sangre en ayunas a cada uno de los participantes de acuerdo con los protocolos establecidos (29).

Homocisteína: se tomó la muestra en plasma. Para su medición se utilizó el método de ensayo inmunoenzimático por polarización de la fluorescencia (FPIA de la casa comercial Abbott diagnostic y se procesó en un instrumento Axsym plus®). Los valores de referencia definidos para hombres y mujeres fueron de 4,0 – 15,0 $\mu\text{mol/L}$ (30-32).

Ácido fólico eritrocitario: se midió tanto el sérico como el eritrocitario. La muestra para el eritrocitario se tomó en plasma con EDTA y se protegió de la luz. Los niveles séricos y eritrocitarios se midieron con el método de quimioluminiscencia; la determinación del hematocrito se realizó en un contador de células CNS de la casa Beckma Colulter. El valor de referencia del ácido fólico eritrocitario tanto para hombres como para mujeres, se estableció en 175 a 700 ng/mL y el sérico en 3 a 17 ng/mL (33, 34).

Vitamina B₁₂-cianocobalamina: se tomó una muestra en suero. Los niveles séricos de esta vitamina se determinaron con el método de quimioluminiscencia en el equipo i8200 Architect de la casa comercial Abbott. Los valores de referencia se establecieron entre 187-1.059 pg/mL (34-36).

Vitamina B₆: La muestra se obtuvo de plasma EDTA. La medición de los niveles plasmáticos se realizó mediante el método RIA, definiendo como valores normales 18-175 ng/L (37).

Colesterol total y c-HDL: el colesterol total se determinó en plasma por método enzimático (glucosa oxidada); el c-HDL por método enzimático directo. Con los valores de colesterol total y c-HDL se obtuvo el índice arterial que se estableció como aceptable en un valor ≤ 5 (38).

Cafeína: se midió en suero por el método de cromatografía de gases; se esperaban valores no detectables en los individuos del grupo 1, quienes no tomaron café durante las seis semanas de la intervención (39).

Presión arterial: cada participante se ubicó en condiciones de absoluto reposo, en un sitio cómodo y silencioso, sentado con ambos pies totalmente apoyados sobre el suelo y con su espalda contra un respaldo; la vejiga debía estar vacía. Se utilizó un tensiómetro manual de mercurio marca Welch Allyn® y la medición estuvo a cargo de dos enfermeras capacitadas de acuerdo con los protocolos establecidos (40). Los valores de referencia para determinar los niveles normales de presión arterial, fueron ≤ 120 mm Hg de presión arterial sistólica y ≤ 80 mm Hg de diastólica de acuerdo con el Séptimo Reporte del Comité Nacional Conjunto (25).

Preparación y suministro del café

Se utilizó café de Colombia, variedad arábica, molido tipo 2 (tostión media, molienda media), con un

contenido de 40 mg de cafeína por cada seis gramos de café. Para su preparación se empleó el método de filtrado. En la institución se habilitó un sitio para la preparación y suministro de los pocillos de café durante las semanas establecidas según el grupo asignado. Los sujetos de los grupos 2, 3 y 4 recibieron los materiales (cafetera, filtros, recipiente medidor, vasos desechables) y las instrucciones para la preparación de la bebida y la cantidad en gramos de café que deberían tomar el o los días correspondientes al fin de semana. El Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia, aprobó el proyecto antes de su inicio.

Análisis estadístico

La base de datos y el análisis estadístico de la información, se procesaron en el programa SPSS 14,00. La población de estudio se describió por edad, género, índice de masa corporal y niveles de vitaminas mediante variables de tipo cuantitativo y medidas de tendencia central y de dispersión; las variables cualitativas se describieron mediante frecuencias y porcentajes. El análisis estadístico se inició con la evaluación de la normalidad de las variables continuas. El análisis para medir el cambio en las variables de interés después de la intervención entre los grupos, se realizó mediante la prueba de ANOVA para las variables paramétricas y como post-test el de Scheffé; en las no paramétricas, se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis. La correlación entre variables paramétricas se realizó a través de la prueba de correlación de Pearson y entre las no paramétricas por Rho de Spearman. El nivel de significancia definido fue $p < 0,05$ y se plantearon hipótesis de una sola cola.

Resultados

La muestra final la constituyeron 116 sujetos distribuidos así: 30 en el grupo que no consumió café, 29 en el que tomó 200 mL de café, 29 en el que tomó 400 mL y 28 en el que bebió 600 mL (Tabla 1). No se encontró diferencia significativa en la distribución de los grupos de estudio por género ($p=0,984$) ni por edad ($p=0,700$). En la tabla 1 se describen las características generales de los grupos de estudio en condiciones basales. En los sujetos del grupo 1, que no tomaron café, no se detectaron niveles de cafeína en sangre antes de la intervención, como tampoco en las semanas 3 y 6 del estudio, lo que confirma la adherencia al tratamiento.

Luego del consumo diario de diferentes dosis de café filtrado, la concentración de homocisteína incrementó en todos los grupos sin diferencia significativa entre ellos ($p=0,098$), además continuó dentro de los valores de referencia (Tabla 2).

El cambio en la concentración de homocisteína no se afectó por los valores del índice de masa corporal en los sujetos de estudio, pues este indicador no cambió en forma significativa durante el tiempo de la intervención en ninguno de los grupos de estudio ($p=0,656$). Por género, el cambio en los niveles de homocisteína entre los grupos tampoco mostró diferencia estadísticamente significativa (Tabla 3). Los niveles de vitamina B₆ y B₁₂ antes de la intervención, fueron normales y sin diferencia significativa entre los grupos (Tabla 1). Los niveles de folato sérico fueron normales en todos los grupos y sin diferencia significativa entre ellos ($p=0,480$).

Tabla 1
CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO ANTES DE LA INTERVENCIÓN.

Variable	Grupo				P
	Cero café n=30	Dos pocillos n=29	Cuatro pocillos n=29	Seis pocillos n=28	
	X±DS	X±DS	X±DS	X±DS	
Edad (años)	38,6±8,3	38,9±8,1	39,6±9,3	40,6±8,7	0,824*
IMC (Kg/m ²)	23,6±2,6	24,5±2,9	25,1±2,5	24,3±2,5	0,223*
Ácido fólico sérico (ng/mL)	6,7±2,4	6,6±2,6	5,9±1,8	7,0±2,6	0,480**
Ácido fólico eritrocitario (ng/mL)	177,3±76,9	146,1±55,9	154,6±69,6	162,5±75,3	0,368**
Vitamina B ₁₂ (pgs/mL)	419,4±122,9	406,7±183,1	443,7±248,5	435,8±191,9	0,834**
Vitamina B ₆ (ng/L)	63,6±24,2	65,2±40,4	64,6±48,5	59±38,1	0,796**
Índice arterial basal (mg/dL)	3,9±0,6	3,8±0,68	3,8±0,8	3,8±0,7	0,860*
Homocisteína basal (μmol/L)	8,43±1,74	8,08±2,32	8,30±1,91	8,93±2,19	0,459*
Presión arterial sistólica basal (mm Hg)	106,3±11,9	105,1±12,4	108,9±10,8	110,0±10,5	0,554**
Presión arterial diastólica basal (mm Hg)	70,3±8,9	69,5±7,8	71,0±9,0	74,3±5,9	0,093**

*Prueba de Anova. ** Prueba de Kruskal-Wallis. IMC: índice de masa corporal.

Tabla 2

CAMBIOS EN LOS NIVELES PLASMÁTICOS DE HOMOCISTEÍNA Y PRESIÓN ARTERIAL EN LOS GRUPOS DE ESTUDIO ANTES Y DESPUÉS DE LA INTERVENCIÓN

Variable	Grupo				P
	Cero café n=30	Dos pocillos n=29	Cuatro pocillos n=29	Seis pocillos n=28	
	X±DS	X±DS	X±DS	X±DS	
Homocisteína basal (μmol/L)	8,43±1,74	8,08±2,32	8,30±1,91	8,93±2,19	0,459*
Homocisteína post-intervención (μmol/L)	9,48±2,96	9,48±2,61	9,79±2,42	10,44±2,4	0,466*
Cambio homocisteína (μmol/L)	1,05±1,96	1,40±1,16	1,48±0,83	1,51±1,58	0,098**
Presión arterial sistólica inicial (mm Hg)	106,3±11,9	105,1±12,4	108,9±10,8	110,0±10,5	0,554**
Presión arterial sistólica final (mm Hg)	105,7±8,6	103,9±9,7	104,8±9,11	105,4±8,8	0,896**
Cambio presión arterial sistólica (mm Hg)	-0,67±12,85	-1,20±10,83	-4,14±12,39	-4,64±12,31	0,510**
Presión arterial diastólica inicial (mm Hg)	70,3±8,9	69,5±7,8	71,0±9,0	74,3±5,9	0,093**
Presión arterial diastólica final (mm Hg)	66,7±8,4	68,3±8,0	67,9±7,3	69,6±6,9	0,601**
Cambio presión arterial diastólica (mm Hg)	-3,67±10,16	-1,21±7,03	-3,10±8,50	-4,64±7,57	0,430**

*Anova. **Kruskall-Wallis.

Tabla 3

CAMBIO EN LOS NIVELES DE HOMOCISTEÍNA POR GÉNERO EN LOS GRUPOS DE ESTUDIO

Variable	Grupo				P
	Cero café n=30	Dos pocillos n=29	Cuatro pocillos n=29	Seis pocillos n=28	
	X±DS	X±DS	X±DS	X±DS	
Cambio homocisteína (μmol/L)					
Hombre	1,67±2,10	1,40±1,32	1,47±0,67	1,76±1,52	0,916
Mujer	0,58±1,76	1,40±1,06	1,50±0,99	1,30±1,65	0,235
p **	0,132	0,996	0,914	0,450	

*Anova de una vía. **Prueba t para muestras independientes.

Respecto al folato eritrocitario, la concentración basal promedio se encontró por debajo de los rangos de referencia en todos los grupos excepto en el que no consumió café, sin diferencia significativa entre ellos ($p=0,368$); los sujetos deficientes en ácido fólico eritrocitario se distribuyeron de manera homogénea entre los grupos, sin diferencia significativa ($p=0,707$).

En ningún grupo, el cambio en la concentración de homocisteína después de la intervención, mostró diferencia significativa entre quienes tuvieron ácido fólico eritrocitario basal deficiente o normal (Tabla 4). Cuando se analizó el aumento en la homocisteína final según la clasificación de los niveles basales de ácido fólico eritrocitario, se encontró aumento de $3 \mu\text{mol/L}$ en 6% de quienes tuvieron deficiencia y en 5,2% de quienes tuvieron un valor normal, sin diferencia significativa entre ellos ($p=0,517$); se encontró un aumento mayor de $5 \mu\text{mol/L}$ en 0,9% tanto en quienes tuvieron deficiencia como en quienes no ($p=0,723$). Después de la intervención, el cambio en la presión arterial sistólica y diastólica

entre los grupos, no mostró diferencia significativa ($p=0,093$ y $0,430$) y continuó dentro de los valores normales de referencia (Tabla 2).

Discusión

Las enfermedades cardiovasculares y el accidente cerebral vascular, constituyen la primera causa de mortalidad tanto en hombres como en mujeres, en todas las razas y en la mayoría de los países del mundo. Entre los nuevos factores de riesgo cardiovascular emerge el incremento en la concentración de homocisteína plasmática, el cual se atribuye, entre otros factores, al consumo de café (10, 12, 13, 15).

La asociación entre el consumo de café y el riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular, ha sido tema de estudio de muchos investigadores en los últimos años; aunque la controversia continúa, la mayoría de los trabajos no logran mostrar un aumento en el riesgo de morbimortalidad por enfermedad cardiovascular dado

por el consumo de café filtrado (41-45). No es claro cómo el café afecta los niveles de homocisteína; los resultados de diferentes investigaciones son controvertidos y mientras unos muestran correlación positiva (11-13) otros no confirman tal asociación (14, 15).

Los estudios que se diseñaron con el fin de determinar la asociación entre el consumo de café y las concentraciones de homocisteína, difieren de manera considerable en el tipo de café utilizado, la forma de preparación, la cantidad total consumida, el tipo de estudio y el tiempo de la intervención, factores que dificultan su comparación. Al igual que los trabajos de Christensen y Urgert (11, 27), este estudio utilizó café filtrado, mientras que Gruebben utilizó café hervido sin filtrar (12). Con respecto al tipo de café, se utilizó variedad Arábica, con menor contenido de cafeína, mientras otros usaron la variedad Robusta, que es más fuerte, o mezclas de ambas (12) y otros no especifican (27). La cantidad y concentración utilizadas también marca una diferencia; mientras este trabajo cuidó no someter a los sujetos de estudio a dosis inusuales de café y se diseñaron tres intervenciones con cantidades y concentraciones muy semejantes a las que habitualmente utilizan los consumidores, otros suministraron porciones y concentraciones de café filtrado que no son las que suele tomar la población general (11, 12).

En este estudio, el cambio en las concentraciones séricas de homocisteína no fue significativo entre los grupos ($p=0,098$), lo cual se asemeja a los resultados de Mursu y colaboradores quienes no mostraron incremento significativo en los niveles de homocisteína después de una intervención por tres semanas en sujetos sanos (15). A diferencia de este último, este estudio fue aleatorizado; los grupos fueron comparables por edad, género, índice arterial e índice de masa corporal y la intervención fue por un período mayor. En un estudio

clínico controlado no ciego, Christensen y colaboradores encontraron que los adultos saludables que se abstuvieron de tomar un promedio diario de cuatro pocillos de café filtrado durante seis semanas, reducían las concentraciones de homocisteína plasmática en $1,08 \mu\text{mol/L}$ (27).

En este trabajo, en los sujetos del grupo que se abstuvo de tomar café por seis semanas, la concentración plasmática de homocisteína no disminuyó y, por el contrario, aumentó de modo significativo en un valor de $1,05 \mu\text{mol/L}$ ($p=0,006$), pero la concentración se mantuvo dentro de los valores de referencia; estos resultados contrastan con los de Christensen y sugieren que el café filtrado variedad Arábica en las dosis utilizadas, no fue el responsable de este aumento y que podrían involucrarse otros factores. Otro estudio de Christensen asegura que el aumento de homocisteína en $5 \mu\text{mol/L}$, se asocia con un riesgo relativo de infarto del miocardio de 1,57. Este autor estableció, además, que el aumento promedio de homocisteína plasmática por taza de café consumida, era de $0,22 \mu\text{mol/L}$. De acuerdo con estos hallazgos, sería necesario consumir 23 pocillos de café al día para aumentar la homocisteína en $5 \mu\text{mol/L}$ y el riesgo de morir por infarto en 1,57, lo cual es muy distante a la realidad (46).

En el estudio de Urgert y colaboradores concluyen que tomar grandes cantidades de café filtrado, incrementaba las concentraciones de homocisteína total en sujetos saludables, pero afirmar que esto aumenta el riesgo de enfermedad cardiovascular, aun no es posible. Los autores aclaran que las dosis de cafeína utilizada en este estudio, fueron muy altas (1.100 mg de cafeína/L) equivalentes a 10 ó 15 pocillos de café regular, las cuales no son las que se consumen en forma usual (11). En nuestro estudio, la máxima concentración de cafeína

Tabla 4
CAMBIO EN LOS NIVELES PLASMÁTICOS DE HOMOCISTEÍNA FINAL SEGÚN CLASIFICACIÓN DE LOS NIVELES DE ÁCIDO FÓLICO ERITROCITARIO BASAL EN CADA GRUPO DE ESTUDIO

Variable	Grupo				P
	Cero café n=30	Dos pocillos n=29	Cuatro pocillos n=29	Seis pocillos n=28	
	X±DS	X±DS	X±DS	X±DS	
Clasificación de los niveles de ácido fólico eritrocitario basal					
Deficiente	0,98±1,64	1,37±1,01	1,62±0,87	1,53±1,58	0,488
Normal	1,14±2,38	1,46±1,52	1,23±0,74	1,50±1,65	0,951
P*	0,833	0,857	0,247	0,955	
IC 95%	-1,66;1,35	-1,06;0,89	-0,28;1,05	-1,23;1,30	

**Anova de un factor. *† para muestras pareadas.

fue de 240 mg y correspondió al grupo 4; el incremento en la concentración de homocisteína no fue significativo entre los grupos y como se anotó antes, se registró un aumento en el grupo que no tomó café.

Algunos autores atribuyen los incrementos de homocisteína al contenido de cafeína del café; sin embargo, en otros estudios se observa que la cafeína no es el único compuesto responsable y que sustancias tales como el ácido clorogénico y los diterpenos, pueden verse involucrados en ese incremento (47). En este estudio se utilizó café filtrado, proceso que aseguraría que los diterpenos fueran atrapados en el papel filtro y, por lo tanto, no influyeran en los cambios en la concentración de homocisteína (48). En el estudio que desarrollaron Verhoef y colaboradores, para determinar la o las sustancias del café responsables de los incrementos de homocisteína en plasma, se concluyó que la cafeína era parcialmente responsable de los aumentos y que existen otros compuestos en el café, no investigados por ellos, que contribuyeron al aumento de la homocisteína plasmática (49).

Grubben y colaboradores, encontraron que el consumo de café no filtrado rico en diterpenos (kahweol y cafestol) por dos semanas, aumentó en 10% (de 12,8 a 14 mmol/L) las concentraciones de homocisteína plasmática. En vista de que nuestro estudio utilizó café filtrado, estos hallazgos no son comparables con los que reportan Grubben y colaboradores, pero sugieren que el café no filtrado podría aumentar la homocisteína más que el filtrado (12).

Por género, se encontró que el cambio en la homocisteína no fue significativo en los diferentes grupos; aunque fue consistente con lo que reportaron otros autores, las concentraciones de homocisteína fueron significativamente más altas en hombres que en mujeres (14, 50). Las deficiencias de vitamina B₆, B₁₂ y ácido fólico eritrocitario, parecen ser determinantes en el aumento en la concentración de homocisteína y sus niveles se correlacionan de forma inversa (7, 51). El suplemento de ácido fólico tiene mayor efecto en disminuir la homocisteína en comparación con las vitaminas B₁₂ y B₆ (52). Al saber de la relación entre la deficiencia de ácido fólico eritrocitario y el aumento en la homocisteína, después de la intervención se esperaban mayores incrementos en los sujetos que iniciaron el estudio con deficiencia de AFI en los grupos que bebieron café. Sin embargo, en ninguno de los grupos, el cambio en la concentración de homocisteína después de

la intervención, mostró diferencia significativa entre quienes tuvieron ácido fólico basal deficiente o normal. El umbral de riesgo de los valores de homocisteína es variable y los niveles recomendados están entre 12 y 18 $\mu\text{mol/L}$ (6, 52, 53). Según recientes meta-análisis que se basan en estudios prospectivos, el aumento de 5 $\mu\text{mol/L}$ en la concentración plasmática de homocisteína, se asocia con 20% de incremento en el riesgo de evento cerebral vascular (54, 55). En este estudio, en 13 sujetos se presentaron aumentos por encima de 3 $\mu\text{mol/L}$ y en dos individuos del grupo que no tomó café, se vieron incrementos mayores a 5 $\mu\text{mol/L}$. Por tanto, en este trabajo los cambios en las concentraciones de homocisteína no representan clínicamente un riesgo para los sujetos sanos que consumieron café filtrado.

Con respecto a la presión arterial, los resultados del estudio no mostraron cambios significativos entre grupos después del consumo de diferentes dosis de café filtrado por un período de seis semanas en sujetos normotensos. Los estudios epidemiológicos generaron hallazgos contradictorios con relación al efecto del café sobre los niveles de la presión arterial. El efecto hemodinámico del café y la cafeína no se ha estudiado lo suficiente; no obstante, se especula que el bloqueo de los receptores de adenosín y la inhibición de las enzimas fosfodiesterasas, podrían ser los mecanismos responsables del efecto cardiovascular (24).

En la interpretación de los resultados, entre otros aspectos, es necesario tener en cuenta el tipo de estudio, la clase y cantidad de café utilizado, su preparación, el tiempo de intervención, el género y las patologías de las poblaciones estudiadas, además de la tolerancia que al parecer desarrollan algunas personas al consumo usual de café (56). En un meta-análisis de estudios clínicos aleatorizados, Noordzij y colaboradores compararon el efecto de la cafeína pura vs. el consumo de café por más de siete días sobre la presión arterial. Encontraron que la cafeína elevaba la presión arterial tanto sistólica como diastólica dos o tres veces más que el café. Los autores explican que este resultado puede deberse a que el café tiene otras sustancias como potasio, magnesio y ácido clorogénico que pueden ejercer un efecto protector en el sistema cardiovascular. En el mismo meta-análisis compararon los estudios en los cuales los sujetos se sometieron a altas dosis de cafeína (>410 mg/día) contra quienes consumieron dosis bajas (<410 mg/día) y encontraron incrementos significativos tanto en la presión arterial sistólica como en la diastólica en quienes consumieron altas dosis de cafeína pero no en quienes

consumieron bajas dosis (20). Estos resultados pueden ser consistentes con nuestro estudio si se tiene en cuenta que en éste el máximo consumo de cafeína fue de 240 mg/día, correspondiente al grupo que tomó seis pocillos de café al día.

Estudios experimentales reportan una modesta disminución de la presión arterial cuando de la dieta se eliminaron o se reemplazaron las bebidas con cafeína (57-59). James afirma que una de las razones de los hallazgos contradictorios entre los estudios experimentales y epidemiológicos relacionados con los efectos de la cafeína sobre la presión arterial, se debe al hecho de que en los segundos, el efecto depende del tiempo transcurrido entre el más reciente consumo de cafeína y la toma de la presión arterial. Contrario a lo que se observa en otros trabajos, en este estudio los sujetos del grupo control que se abstuvieron de tomar café, no mostraron una disminución significativa en la presión arterial sistólica y diastólica. Por ser consumidores usuales de café, se esperaba que al eliminar su consumo por un período de tiempo de seis semanas, los niveles de presión arterial mostraran una disminución significativa, situación que no se presentó. La adherencia al tratamiento se evaluó mediante la medición de los niveles de cafeína en sangre, los cuales fueron negativos en los tres momentos. En un estudio con una intervención de dos semanas, Racik y colaboradores no encontraron cambios significativos en la presión arterial de sujetos normotensos sometidos al consumo de cinco tazas de café instantáneo (300 mg de cafeína/día) respecto a quienes se abstuvieron de tomar café; en hipertensos mayores con y sin tratamiento, sugieren que el consumo de cinco tazas de café instantáneo/día, aumenta la presión arterial (60).

Conclusiones

Los hallazgos de este estudio permiten concluir que el consumo de café filtrado en dosis hasta de seis tazas/día, equivalentes a 240 mg de cafeína, no produjo cambios significativos en las concentraciones plasmáticas de homocisteína ni en la presión arterial sistólica o diastólica en sujetos sanos normotensos.

Así mismo, en los sujetos del grupo que se abstuvo de tomar café, ni los niveles plasmáticos de homocisteína como tampoco los de presión arterial sistólica y diastólica, disminuyeron significativamente con respecto a los otros grupos que tomaron diferentes dosis de café filtrado.

De otra parte, se necesitan investigaciones de mayor duración y en sujetos hipertensos.

Bibliografía

1. López JP. Bioquímica del endotelio vascular: implicaciones fisiológicas y clínicas. 5ª ed. Medellín: Horizonte impresores Ltda.; 2001. p. 21-34; 75-86; 215-226.
2. Aristizábal D. Factores de riesgo en cardiopatía isquémica. En: Tópicos selectos en enfermedades cardíacas y vasculares. 1ª ed. Medellín: Cardiología, Clínica Medellín; 2006. p. 36.
3. Jaramillo N. Homocisteína como factor de riesgo cardiovascular emergente. En: Factores de riesgo cardiovascular, mitos y realidades. 1ª ed. Medellín: Marín Vieco Ltda; 2004. p 253-281.
4. Gropper S, Smith J, Groff J. The water soluble vitamins. In: Advanced Nutrition and Human Metabolism. 4ª ed. Belmont: Thomson Wadsworth; 2005. p. 306.
5. Fowler B. Homocysteine: overview of biochemistry, molecular biology, and role in disease processes. *Sem Vasc Med* 2005; 52: 77-86.
6. Padrón M del C, Colina VL, Quero ZR. La homocisteína como factor de riesgo en la enfermedad cardiovascular. *Arch Ven Farmac Terap* 2005; 24 (1): 13-22.
7. Kaul S, Zadeh A and Shah P. Homocysteine hypothesis for atherothrombotic cardiovascular disease. *JACC* 2006; 48 (5): 914-23.
8. Boushey CJ, Beresford SAA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *J Am Med Assoc* 1995; 74: 1049-1057.
9. Christen WG, Ajani U, Glynn R, Hennekens C. Blood levels of homocysteine and increased risk of cardiovascular disease: causal or casual? *Arch Intern Med* 2000; 160: 422-434.
10. De Bree A, Verschuren M, Kromhout D, Kluijtmans L, Blom H. Homocysteine determinants and the evidence to what extent homocysteine determines the risk of coronary heart disease. *Pharmacol Rev* 2002; 54: 599-618.
11. Urgert R, Vliet TV, Zock PL, Katan MB. Heavy coffee consumption and plasma homocysteine: a randomized controlled trial in healthy volunteers. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 1107-1110.
12. Grubben MJ, Borres GH, Blom HJ, Broekhuizen R, De Jong R, Van Rijn L, et al. Unfiltered coffee increases plasma homocysteine concentrations in healthy volunteers: a randomized trial. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 480-484.
13. Nygard O, Refsum H, Ueland PM, Stensvold I, Nordrehaug JE, Kvale G, et al. Coffee consumption and plasma total homocysteine: The Hordaland homocysteine study. *Am J Clin Nutr* 1997; 65: 136-143.
14. Nieto J, Comstock GW, Chambless LE, Malinow RM. Coffee consumption and plasma homocysteine: results from the atherosclerosis risk in Communities Study. *Am J Clin Nutr* 1997; 66: 1475-7 (letters).
15. Mursu J, Voutilainen S, Nurmi T, Alfthan G, Virtanen J, Rissanen T, et al. The effects of coffee consumption on lipid peroxidation and plasma total homocysteine concentrations: a clinical trial. *Free Radic Biol Med* 2005; 38: 527-534.
16. Rodriguez I, Klein L. Boiled or filtered coffee? Effects of coffee and caffeine on cholesterol, fibrinogen and C reactive protein. *Toxicol Rev* 2006; 25 (1): 55-69.
17. Bautista L, Vera-Cala L, Villamil L, Silva S, Pena I, Luna L. Risk factors associated with the prevalence of arterial hypertension in adults in Bucaramanga, Colombia. *Rev Salud Pública Mex* 2002; 44 (5): 399-405.
18. Diago J. Enfermedades crónicas no transmisibles: una propuesta para desarrollar a nivel municipal. Bogotá: Ministerio de Salud, Colombia; 1994.
19. Corti R, Binggeli C, Sudano I, Spieker L, Hanseler E, Ruschitzka F, et al. Coffee acutely increases sympathetic nerve activity and blood pressure independently of caffeine content. Role of habitual versus non habitual drinking. *Circulation* 2002; 106: 2935-2940.
20. Noordzij M, Uiterwaal C, Arends L, Kok F, Grobbee D, Geleijnse J. Blood pressure response to chronic intake of coffee and caffeine: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Hypertens* 2005; 23: 921-928.
21. Klag M, Wang N, Meoni L, et al. Coffee intake and risk of hypertension. The Johns Hopkins Precursors Study. *Arch Intern Med* 2002; 162: 657-62.
22. LaCroix AZ, Mead LA, Liang KY, Thomas CB, Pearson TA. Coffee consumption and the incidence of coronary heart disease. *N Engl J Med* 1986; 315: 977-982.
23. Tversdal A, Stensvold I, Solvoll K, Foss OP, Lund-Larsen P, Bjartveit K. Coffee consumption and death from coronary heart disease in middle aged Norwegian men and women. *BMJ* 1990; 300: 566-569.

24. Nurminen MI, Niiyyynen L, Korpela R, Vapaatalo H. Coffee, caffeine and blood pressure: a critical review. *Eur J Clin Nutr* 1999; 53: 831-839.
25. The Seventh Report of The Joint National Committee on prevention, detection, evaluation and treatment of high blood pressure. National Institutes of Health, National Heart, Lung, and Blood Institute. May 2003.
26. American Heart Association. New Advice on Dietary Approaches to Prevent and Treat Hypertension. Disponible en: <http://www.medscape.com/viewarticle/523827> [Fecha de consulta: octubre 10 de 2006].
27. Christensen B, Mosdol A, Retterstol L, Landaas S, Thelle D. Abstention from filtered coffee reduces the concentrations of plasma homocysteine and serum cholesterol-a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2001; 74: 302-7.
28. Lohman T G, Roche A F, Martorell R. Anthropometric standardization. Referent Manual. Champaign. Human Kinetics Books 1988: 171.
29. College of American Pathologists. CAP Laboratory Patient Safety Plan. Disponible en: <http://www.cap.org/apps/cap.portal>. [Fecha de consulta: agosto 10 de 2006].
30. Malinow MR. Plasma homocysteine and arterial occlusive diseases: a mini-review. *Clin Chem* 1995; 41: 173-6.
31. Malinow MR. Homocysteine species as components of plasma redox thiol status. *Clin Chem* 1995; 41: 340-2.
32. Boushey CJ, Beresford SAA, Omenn GS, et al. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. *JAMA* 1995; 274: 1049-57.
33. Tietz L. *Textbook of Clinical Chemistry*, 2° ed. Philadelphia: WB Saunders; 1994. p. 2056.
34. Green R, Miller JW. Folate deficiency beyond megaloblastic anemia: hyperhomocysteinemia and other manifestations of dysfunctional folate status. *Semin Hematol* 1999; 36: 47-64.
35. Powell DW, Silverstein FE. *Textbook of gastroenterology*. Philadelphia: J.B. Lippincott Company; 1991. p. 1:410-46.
36. Zittoun J, Zittoun R. Modern clinical testing strategies in cobalamin and folate deficiency. *Semin Hematol* 1999; 36: 35-46.
37. Fell G, Talwar D. Assessment of status. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 1998; 1 (6): 491-497.
38. Múnera A. Manejo de las dislipidemias en prevención primaria y secundaria. En: *Tópicos selectos en enfermedades cardíacas y vasculares 2006*. 1° ed. Medellín: Cardiología Clínica Medellín; 2006. p. 54.
39. Routh JI, Shane NA, Arredondo EG, Paul WD. Determination of caffeine in serum and urine. *Clin Chem* 1969; 15: 661-668.
40. Pickering T, Hall J, Appel L, Falkner B, Graves J, Hill M, et al. Recommendations for blood pressure measurement in humans and experimental animals. Part 1: Blood pressure measurement in humans. A statement for professionals from the subcommittee of professional and public education of the American Heart Association Council on High Blood Pressure Research. *Circulation* 2005; 111: 697-716.
41. García E, Van Dam R, Willett W, Rimm E, Manson J, Stampfer M, et al. Coffee consumption and coronary heart disease in men and women: a prospective cohort study. *Circulation* 2006; 113: 2045-2053.
42. Kawachi I, Colditz G, Stone C. Does coffee drinking increase the risk of coronary heart disease? Results from a meta-analysis. *Br Heart J* 1994; 72 (3): 269-275.
43. García E, Van Dam R, Qi L, Hu F. Coffee consumption and markers of inflammation and endothelial dysfunction in healthy and diabetic women. *Am J Clin Nutr* 2006; 84: 888-893.
44. Woodward M, Tunstall-Pedoe H. Coffee and tea consumption in the Scottish Heart Health Study follow up: conflicting relation with coronary risk factors, coronary disease, and all cause mortality. *J Epidemiol Community Health* 1999; 53: 481-487.
45. Willett W, Stampfer M, Manson J, Colditz G, Rosner B, Speizer F, Hennekens C. Coffee consumption and coronary heart disease in women. A ten-year follow up. *JAMA* 1996; 275: 458-462.
46. Christensen B, Landaas S, Stensvold I. Whole blood folate, homocysteine in serum, and risk of first myocardial infarction. *Atherosclerosis* 1999; 147: 317-326.
47. Olthof MR, Hollman PC, Zock PL, Katan MB. Consumption of high doses of chlorogenic acid, present in coffee, or of black tea increases plasma total homocysteine concentrations in humans. *Am J Clin Nutr* 2001; 73: 532-538.
48. Gross G, Jaccaud E, Huggett AC. Analysis of the content of the diterpenes cafestol and kahweol in coffee brews. *Food Chem Toxicol* 1997; 35: 547-54.
49. Verhoef P, Wilrike P, Trinette V, Urgert R and Martijn K. Contribution of caffeine to the homocysteine-raising effect of coffee: a randomized controlled trial in humans. *Am J Clin Nutr* 2002; 76: 1244-1248.
50. Mennen L, de Courcy GP, Guillaud JC, Ducros V, Bertrais S, Nicolas J P, et al. Homocysteine, cardiovascular disease risk factors, and habitual diet in the French supplementation with antioxidant vitamins and minerals study. *Am J Clin Nutr* 2002; 76 (6): 1279-1289.
51. Booth G, Wang E. Preventive health care, 2000 update: screening and management of hyperhomocysteinemia for the prevention of coronary artery disease events. *CMAJ* 2000; 163 (1): 21-29.
52. Moat SJ, Lang D, McDowell I, Clarke Z, Madhavan A, Lewis M, et al. Folate, homocysteine, endothelial function and cardiovascular disease. *J Nut Biochem* 2004; 15: 64-79.
53. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Zeimbekis A, Chrysohoou C, Stefanadis C. The association between lifestyle-related factors and plasma homocysteine levels in healthy individuals from the « ATTICA » study. *Int J Cardiol* 2005; 98: 471-477.
54. Ueland PM, Refsum H, Beresford, Vollser S. The controversy over homocysteine in cardiovascular risk. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 324-332.
55. Ford E, Smith S, Stroup D, Steimberg K, Mueller P, Thacker S. Homocysteine and cardiovascular disease: a systematic review of the evidence with special emphasis on case-control studies and nested case control studies. *Int J Epidemiol* 2000; 31: 59-70.
56. James J. Critical review of dietary caffeine and blood pressure: a relationship that should be taken more seriously. *Psychosomatic Medicine* 2004; 66: 63-71.
57. James JE. Chronic effects of habitual caffeine consumption on laboratory and ambulatory blood pressure levels. *J Cardiovasc Res* 1994; 1: 159-64.
58. James JE. Caffeine and blood pressure: habitual use is a preventable cardiovascular risk factor. *Lancet* 1997; 349: 279-81.
59. Van Dusseldorp M, Smits P, Thien T, Katan MB. Effect of decaffeinated versus regular coffee on blood pressure: a 12-week, double-blind trial. *Hypertension* 1989; 14: 563-9.
60. Rakic V, Burke V and Beilin L. Effects of coffee on ambulatory blood pressure in older men and women: a randomized controlled trial. *Hypertension* 1999; 33: 869-873.