



# Efeito das tinturas de café torrado e moído nos níveis séricos de colesterol, triglicerídeos e glicose em ratos diabéticos

Cardoso, L.M.<sup>1</sup>; Oliveira, T.T.<sup>1</sup>; Pinto, A.S.<sup>2</sup>; Chaves, A.R.M.<sup>3</sup>; Leão, M.A.<sup>1</sup>; Costa, M.R.<sup>1</sup>; Fonseca, M.K.A.<sup>1</sup>; Santos, A.<sup>1</sup>; Zatti, R.A.<sup>1,4\*</sup>; Nagem, T.J.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Laboratório Biofármacos, Universidade Federal de Viçosa. Viçosa – MG, Brasil.

<sup>2</sup>Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa. Viçosa – MG, Brasil.

<sup>3</sup>Departamento de Biologia Vegetal, Laboratório de Nutrição e Metabolismo, Universidade Federal de Viçosa. Viçosa - MG, Brasil.

<sup>4</sup>Departamento de Química, Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais, Universidade Federal de Ouro Preto. Ouro Preto – MG, Brasil.

Recebido 23/10/2009 / Aceito 21/09/2010

## RESUMO

**O consumo de café tem sido associado ao menor risco de diabetes tipo 2 (DM2). Evidências epidemiológicas sugerem que o alto consumo de café pode reduzir o risco de diabetes mellitus. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de tinturas de café torrado e moído nos níveis plasmáticos de colesterol, triglicéridos e glicose em ratos diabéticos. A indução do diabetes foi realizada através da administração intraperitoneal de aloxano e as tinturas foram elaboradas utilizando café torrado e moído. Após 30 dias de tratamento, foram realizadas determinações bioquímicas. As tinturas de café solúvel promoveram aumento nos níveis de colesterol e as porcentagens de redução das concentrações de glicose e triacilglicerídeo variaram entre 20 e 24% e entre 51 a 57%, respectivamente. A partir dos resultados obtidos, concluiu-se que os tratamentos com o café solúvel sustentam a hipótese de que o café está associado ao menor risco de DM2.**  
*Palavras-chave:* Tinturas. Café. Diabetes.

## INTRODUÇÃO

Compostos bioativos encontrados naturalmente em frutas e vegetais possuem várias atividades farmacológicas, incluindo atividade antioxidante, anti-inflamatória, antineoplásica, hipoglicemiante, antimicrobiana e antivirais (Jung et al., 2006). O interesse nesses compostos tem aumentado nos últimos anos devido aos seus benefícios à saúde e, em especial, à proteção contra uma variedade de doenças, como as cardiovasculares e alguns tipos de câncer (Ribeiro et al., 2008). Suplementos alimentares enriquecidos com flavonoides reduziram significativamente

os níveis de glicose, colesterol, triglicérides e o índice aterogênico do colesterol hepático. A concentração plasmática de colesterol de alta densidade (HDL-C) foi significativamente maior nos grupos suplementados (Rice-Evans, 2004; Hsiu et al., 2002).

Evidências epidemiológicas sugerem que o alto consumo de café pode reduzir o risco de diabetes mellitus tipo 2 (DM2) (Van Dan, 2006). Experimentos realizados em humanos mostraram risco relativo, representando 0,65 vezes menos desenvolvimento de DM2 para indivíduos que apresentaram maior consumo de café (6-7 xícaras por dia) e 0,72 para o segundo maior consumo (4-6 xícaras por dia), quando comparados ao menor consumo do produto (0 ou  $\leq 2$  xícaras por dia). Os participantes da pesquisa que consumiam de quatro a seis xícaras de café por dia ou seis a sete xícaras ou mais apresentaram entre 28% e 35% a menos de risco de desenvolverem DM2 (Van Dan & Hu, 2005).

A maior parte dos dados sobre os efeitos do consumo de café no metabolismo da glicose é baseada em estudos envolvendo animais e estudos *in vitro*, e a relevância para o desenvolvimento em humanos é ainda obscura. Os resultados sugerem que os efeitos do consumo de café no metabolismo da glicose são biologicamente ativos e que os efeitos do café podem não ser equivalentes aos efeitos deletérios da cafeína (Van Dan, 2006). Várias substâncias presentes no café além da cafeína, como o ácido clorogênico e o magnésio, têm mostrado afetar o metabolismo de glicose em animais e em humanos (Shearer et al., 2003; De Valk, 1999).

A ingestão de cafeína foi associada à redução da sensibilidade à insulina em estudos metabólicos de curto período (Greer et al., 2001; Bhathena & Velasquez, 2002). Esse efeito ocorre provavelmente pelo fato de a cafeína aumentar a síntese de epinefrina ou antagonizar o receptor de adenosina (Keijzers et al., 2002). A epinefrina, além de sua função como neurotransmissor, também pode influenciar a taxa metabólica, estimulando a secreção de insulina, a glicogenólise e a mobilização de ácidos graxos

*Autor correspondente:* Ricardo Antônio Zatti - Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular - Laboratório Biofármacos - Universidade Federal de Viçosa - Avenida PH Rolfs s/n - Campus Universitário - Casa 26 - Vila Gianetti - Viçosa - Minas Gerais - Brasil - CEP.36570-000 - telefone: (31) 3899-2375 - e-mail: zatti@ef.ufop.br

(Graham et al., 1998). A adenosina diminui a atividade neural e possui efeito vasodilatador, reduzindo a frequência cardíaca, a pressão arterial e a temperatura corporal, além de diminuir a lipólise. Porém, os efeitos da cafeína no DM2 não podem ser extrapolados para o uso crônico do café, pois o estímulo da cafeína no aumento dos níveis de epinefrina diminuem após ingestão contínua (Robinson et al. 2004). Paradoxalmente, a ingestão de cafeína em estudos de intervenção por períodos curtos indica aumento na concentração de glicose pós-prandial (Pizzol et al., 1998; Wachman et al., 1970; Lane et al., 2002).

Recentes descobertas indicaram que a associação inversa do consumo do café e do risco de DM2 podem não ser explicados através do efeito da cafeína no organismo, pois o consumo de café descafeinado também foi associado ao menor risco de diabetes (Salazar-Martinez et al., 2004; Greenberg et al., 2005).

O ácido clorogênico (ACL) é o maior componente do café. Estima-se que a ingestão de ACL é maior nas pessoas que consomem regularmente a bebida (Johnston et al., 2003; Andrade-Cetto & Wiedenfeld, 2001). O ACL é parcialmente absorvido nos intestinos delgado e grosso, sendo posteriormente metabolizado por bactérias. Pesquisas indicam que a ingestão de ACL reduz a concentração de glicose em ratos (Herling et al., 1999; Milder et al., 2005).

O consumo de café descafeinado parece diminuir a absorção de glicose e estimular a secreção do hormônio incretina glucagon-like peptídeo 1. As incretinas são hormônios secretados pelas células endócrinas localizadas no epitélio do intestino delgado. Existem dois hormônios principais: o GLP-1 (glucagon-like peptide-1) e o GIP (glucose-dependent insulinotropic peptide). O GLP-1 é o mais importante na patogenia do DM2, pois estimula a síntese e a secreção de insulina dependente da glicemia, inibe a secreção de glucagon, promove o retardamento do esvaziamento gástrico e diminui o apetite. Os níveis de GLP-1 são baixos no estado de jejum e aumentam com a ingestão de uma refeição mista ou rica em gorduras e carboidratos. Sua secreção ocorre nas células do íleo e cólon e a diminuição do glucagon ocorre apenas no estado pós-prandial, não afetando a ação do glucagon na manutenção da glicemia no estado de jejum. Além disso, a ação do GLP-1 diminui o esvaziamento gástrico, contribuindo para a diminuição da elevação da glicemia no estado pós-prandial. O café também contém numerosos outros compostos, incluindo quantidades substanciais de magnésio, potássio, trigonelina e niacina.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito das tinturas de café solúvel nos níveis séricos de colesterol, triglicerídeos e glicose em ratos diabéticos.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório Biofármacos do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa (UFV) e aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF). Foram utilizados 60 ratos da raça Wistar com 45 dias de idade, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Viçosa. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em grupos (Quadro 1) e acondicionados em gaiolas coletivas (n=6), com

temperatura controlada entre 22°-24° C e fotoperíodo de 12 horas. Durante os primeiros cinco dias, os animais ficaram em processo de adaptação na área experimental. O regime alimentar foi constituído de ração comercial e água *ad libitum*.

Quadro 1: Constituição dos Grupos Experimentais

GRUPO	TRATAMENTO	DOSE (mL)
G1	Ração + Aloxano	-
G2	Ração	-
G3	Ração + Aloxano + Café Torrado e Moído	0,5
G4	Ração + Aloxano + Café Torrado e Moído	1,0
G5	Ração + Aloxano + Café Torrado e Moído	2,0

A indução do diabetes foi realizada através da administração intraperitoneal de aloxano (Sigma Aldrich®) a 15% p/v diluído em solução de NaCl a 0,9%. Para a indução, os animais permaneceram em jejum por 16 horas e receberam o aloxano na dose de 60mg/Kg. A administração foi realizada com o animal de cabeça para baixo, de modo que as vísceras ficassem comprimidas na região cranial do abdômen. Sete dias após a indução, 30 animais da população total de induzidos foram sacrificados, após período de jejum de 12 horas, para confirmação do diabetes por meio da dosagem de glicose sanguínea.

Foi elaborada uma tintura de café torrado e moído da variedade Catuaí Vermelho (*Coffea arabica* L.), sendo preparada através da mistura de 30 g do café torrado e moído diluído em 70 mL de água + 30 mL de álcool cereais. A solução foi armazenada em vidro âmbar por sete dias, com agitação diária. Após esse período, foi filtrada e administrada aos animais.

Os animais foram tratados por via oral (gavage) diariamente, durante 30 dias, sendo as administrações realizadas em horário fixo, à exceção do grupo 1 (controle) e do grupo 2 (diabético), que não receberam tratamento. Ao final do tratamento, todos os animais foram eutanasiados, utilizando-se os anestésicos Cloridrato de Tiletamina + Cloridrato de Zolazepan 125 mg por via intramuscular, na dose de 20 mg/kg de peso corporal. Foram coletadas amostras de sangue (aproximadamente 5 mL) por punção cardíaca e, em seguida, efetuadas as determinações séricas de glicose, colesterol e triglicerídeos utilizando kits da marca BIOCLIN e equipamento de determinação bioquímica multiparamétrico (Alizé) da Biomérieux.

Na análise estatística, cada tratamento foi comparado ao grupo diabético não tratado pelo teste de Dunnett, considerando 5% de significância.

## RESULTADOS

Observou-se que, sete dias após a administração de aloxano, os 30 animais sacrificados apresentaram níveis séricos de glicose de 340,9 mg/dL em média, representando uma elevação de, aproximadamente, 70%. Confirmada a hiperglicemia, os demais animais foram submetidos aos tratamentos descritos no Quadro 1.

Os resultados dos níveis séricos de colesterol, triglicerídeos e glicose, após 30 dias de tratamento, estão descritos na Tabela 1.

Os tratamentos com café torrado e moído aumentaram os níveis de colesterol, sendo que apenas no grupo 3, ou seja, do Aloxano + Café torrado e moído (0,5 mL), o resultado não foi estatisticamente significativo. Entretanto, o aumento nas concentrações séricas de colesterol não foram suficientes para o desenvolvimento de hipercolesterolemia.

Em relação aos triglicerídeos, observou-se que o grupo 3 reduziu os níveis de triglicérides em 51% e o grupo 5 (Aloxano + torrado e moído- 2,0 mL) em 57%, sendo estes resultados estatisticamente significativos.

Para o parâmetro glicose, todos os grupos tratados com as tinturas de Café torrado e moído apresentaram percentagens de redução da glicemia entre 20-24% (Tabela 1).

Tabela 1: Valores médios de colesterol, triglicérides e glicose (unidade: mg/dL) em soro de ratos com diabetes tratados com tintura de Café torrado e moído

	CONTEÚDO	% VARIÇÃO	CONTEÚDO	% VARIÇÃO	CONTEÚDO	% VARIÇÃO
Tratamentos	COLESTEROL		TRIGLICERÍDEOS		GLICOSE	
Ração + Aloxano (n=6)	93,40 A	0	104,03 A	0	343,36 A	0
Ração (n=6)	103,68 B	+11	102,61 A	-1	112,83 B	-67
Café torrado e moído (0,5 mL) (n=6)	96,92 A	+4	51,27 B	-51	276,38 B	-20
Café torrado e moído (1,0 mL) (n=6)	105,17 B	+13	109,14 A	+5	275,15 B	-20
Café torrado e moído (2,0 mL) (n=6)	115,70 B	+24	45,22 B	-57	260,99 B	-24

Observação: Letras iguais não diferem estatisticamente, pelo teste de Dunnett a 5% de significância, o grupo diabético não tratado (G1)

## DISCUSSÃO

Alguns trabalhos demonstraram que o café pode influenciar fatores de risco cardiovascular, incluindo os níveis de colesterol (Thelle, 1995; Urget & Katan, 1997; El-Khairi et al., 1990) e homocisteína séricos (De Bree et al., 2002; Greenland, 1993). Vários estudos prospectivos mostraram aumento do risco de doença coronariana em pessoas que consomem alta quantidade de café. Entretanto, outros trabalhos não fazem tal correlação (Beynen, 1996).

Thelle (1995) demonstrou significativa correlação positiva entre o consumo de café e os níveis séricos de colesterol. A relação café-colesterol foi altamente significativa depois de ajustados a idade, o índice de massa corporal (IMC), a atividade física, o tabagismo e o consumo de álcool, sendo que o nível de colesterol foi de  $5,56 \pm 0,05$  mmol/L (média  $\pm$  erro padrão) em homens que consumiam menos de um copo de café/dia e  $6,23 \pm 0,03$  mmol/L naqueles que consumiam mais de nove copos/dia. Para as mulheres, na mesma base de comparação, os valores encontrados foram  $5,32 \pm 0,05$  e  $5,92 \pm 0,04$  mmol/L, respectivamente.

Um extenso estudo clínico usando frações purificadas de cafestol e caveol, misturas de ésteres dos diterpenos e triacilgliceróis purificados do óleo de café, afirma que o cafestol e possivelmente o caveol são responsáveis pela elevação de taxa de colesterol no organismo humano. O mecanismo desta ação é desconhecido, porém acompanhado por alterações na função enzimática do fígado, que provocam aumento da produção de VLDL, LDL e apoproteína-B (De Ross et al., 2001). Todavia, a forma em que a bebida de café é ingerida é fundamental para que haja esse efeito, uma vez que, se filtrada, o cafestol e o caveol ficam retidos na borra de filtração. De Roos et al., (2001) constataram que, para cada 10 mg de cafestol ingeridos por dia, ocorre acréscimo em

0,13 mmol/L do colesterol do soro em modelos animais. Em humanos, aproximadamente 80% desse aumento se encontram, principalmente, na forma de LDL colesterol e o restante em VLDL colesterol (Urget & Katan, 1997). Porém, cabe ressaltar que alguns estudos não identificam a propriedade hipercolesterolêmica do café (Mennen et al., 2002; Lopes-Ridaura et al., 2004). Adicionalmente, o café contém substâncias antioxidantes, como o ácido clorogênico e o ácido cafeico, que diminuem a oxidação do LDL, minimizando problemas cardiovasculares (Andrade-Cetto & Wiedenfeld, 2001).

A redução dos níveis de triglicerídeos pode ser explicada pelo metabolismo normal de um indivíduo, em que parte da glicose é metabolizada para o tecido adiposo, e pela influência da insulina para a síntese de triacilglicerol. Havendo redução de glicose, possivelmente as concentrações de triglicerídeos também decrescem.

A redução dos níveis de glicose pode ser atribuída às substâncias presentes no café, como ácido clorogênico (ACL), trigonelina, cafeína, lignina e minerais. Estudos têm demonstrado que o ácido clorogênico pode afetar o metabolismo de glicose em animais e em humanos. A alta ingestão de ácido quínico, produto do ácido clorogênico formado após torrefação do café, também foi capaz de aumentar a sensibilidade à insulina em ratos (Shearer et al., 2003).

Vários mecanismos têm sido propostos para explicar os efeitos benéficos do ACL no metabolismo da glicose. O ACL pode diminuir a absorção da glicose no intestino por inibir a glicose-6-fosfato traanslocase 1, reduzir o gradiente de sódio e aumentar os níveis de GLP-1 (De Roos et al., 2001). Estudos *in vitro* e com animais utilizando o ACL mostraram que esse composto é capaz de inibir a produção hepática de glicose por inibir a glicose-6-fosfatase (Thelle, 1995). Além disso, a sua ação hipoglicemiante estaria relacionada ao fato de o ACL possuir uma ação

antioxidante. O ACL pode, ainda, atuar como um quelador de metais, mudando a composição corporal dos tecidos moles de ratos e aumentando a composição de magnésio no fígado. A alta ingestão de magnésio está associada ao menor risco de DM2 e doses farmacológicas à melhor sensibilidade à insulina. O magnésio é cofator de várias enzimas envolvidas nos processos de fosforilação, que são essenciais para o metabolismo da glicose. Finalmente, o ACL pode inibir a formação de composto N-nitroso no trato gastrointestinal, que parecem favorecer o aparecimento do DM2 por possuírem toxicidade às células beta do pâncreas (Van Dan & Feskens, 2002).

As ligninas presentes no café podem afetar o metabolismo de glicose através de suas ações antioxidantes e antiestrogênicas (Bhathena & Velasquez, 2002). O consumo de café também tem sido associado a menores níveis de enzimas hepáticas, que favorecem o desenvolvimento do diabetes (Van Dan & Feskens, 2002).

Outro mecanismo sugerido, baseado em estudos sobre os efeitos do café no DM2, está relacionado à inibição da 11 $\beta$ -HSD1, enzima responsável pela conversão do cortisona a cortisol. No metabolismo animal, o nível de cortisol aumenta consideravelmente pela manhã e o seu excesso pode favorecer o desenvolvimento do DM2 e da síndrome metabólica. O cortisol, assim como o glucagon, age como um antagonista fisiológico da insulina, promovendo a quebra de moléculas de carboidratos, lipídeos e proteínas, mobilizando, dessa maneira, as reservas energéticas. Isso aumenta a glicemia e a produção de glicogênio pelo fígado. Adicionalmente, o cortisol aumenta a pressão sanguínea e inibe as doenças autoimunes e a formação óssea (Van Dan & Feskens, 2002).

É importante ressaltar que os constituintes do café podem variar dependendo da parte da planta utilizada e do processo de torrefação do grão. Muitas substâncias são formadas e degradadas durante o processo de torrefação do café e não estão presentes no café *in natura*. Dependendo da temperatura final de torrefação, que pode alcançar 230° C, ocorre decréscimo de algumas substâncias, potencialmente responsáveis pelo efeito hipoglicemiante, como a cafeína, a trigonelina e o ácido clorogênico. Apesar de termicamente estável, durante a torrefação ocorre decréscimo nas concentrações de cafeína. A trigonelina também é parcialmente degradada e ocorre a decomposição do ácido clorogênico com formação do aroma volátil, material polimérico (melanoidina) e CO<sub>2</sub>.

A partir dos resultados obtidos, concluiu-se que os tratamentos com o Café torrado e moído aumentaram os níveis de colesterol e reduziram significativamente, em diferentes proporções, os parâmetros de glicose e triacilglicerol em ratos diabéticos induzido por aloxano. Esses dados sustentam a hipótese de que o café está associado ao menor risco de DM2.

A tintura do Café torrado e moído apresentou-se como promissor agente com atividade hipoglicemiante. É interessante que seja analisada a composição química dessas tinturas para facilitar a compreensão dos mecanismos do café no metabolismo de glicose. Estudos adicionais (trabalhos de intervenção por períodos maiores e ensaios biológicos de toxicologia) são necessários para garantir a segurança e reforçar os dados encontrados neste trabalho.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG – e à Rede Mineira de Toxicologia e Farmacologia.

## ABSTRACT

Effect of tincture of ground roasted coffee on plasma levels of cholesterol, triglycerides and glucose in diabetic rats

**The consumption of coffee has been associated with a lower risk of type 2 diabetes (DM). Epidemiological evidence suggests that high consumption of coffee may reduce the risk of diabetes. The aim of this study was to assess the effects of a tincture (hydroethanolic extract) of roasted and ground coffee on plasma levels of cholesterol, triglycerides and glucose in diabetic rats. The diabetes was induced by intraperitoneal administration of alloxan. The induced diabetic rats were then treated for 30 days by gavage with various doses of the coffee tincture. After the treatment, biochemical blood tests were carried out on the rats. The coffee tincture provoked moderately increased levels of cholesterol, but the concentrations of glucose and triglycerides were reduced by 20-24% and 51-57%, respectively. From these results, it was concluded that the treatment with coffee extract supports the hypothesis that coffee is associated with a lower risk of type 2 DM.**

*Keywords:* Tinctures. Coffee. Diabetes.

## CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

## REFERÊNCIAS

- Andrade-Cetto A, Wiedenfeld H. Hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* on streptozotocin diabetic rats. *J Ethnopharmacol.* 2001; 78:145-9.
- Beynen AC. Boiled coffee fails to raise cholesterol in hamsters and rats. *Br J Nutr.* 1996; 76:755-64.
- Bhathena SJ, Velasquez MT. Beneficial role of dietary phytoestrogens in obesity and diabetes. *Am J Clin Nutr.* 2002; 76:1191-201.
- De Bree A, Verschuren WM, Kromhout D, Kluijtmans LA, Blom HJ. Homocysteine determinants and the evidence to what extent homocysteine determines the risk of coronary heart disease. *Pharmacol Rev.* 2002; 54:599–618.
- De Roos B, Caslake MJ, Stalenhoef AFH, Bedford D, Demacker PNM, Katan MB. The coffee diterpene cafestol increases plasma triacylglycerol by increasing the production rate of large VLDL apolipoprotein B in healthy normolipidemic subjects. *Am J Clin Nutr.* 2001; 73:45-52.



- De Valk HW. Magnesium in diabetes mellitus. *Neth J Med*. 1999; 54(4):139-46.
- El-Khairi L, Ueland PM, Nygard O, Refsum H, Vollset SE. Lifestyle and cardiovascular disease risk factors as determinants of total cysteine in plasma: the Hordaland Homocysteine Study. *Am J Clin Nutr*. 1990; 70:1016-24.
- Graham TE, Hibbert E, Sathasivam P. Metabolic and exercise endurance effects of coffee and caffeine ingestion. *J Appl Physiol* 2008; 85: 883-889.
- Greenberg JA, Axen KV, Schnoll R, Boozer CN. Coffee, tea and diabetes: the role of weight loss and caffeine. *Int J Obes*. 2005; 29:1121-9.
- Greenland S. A meta-analysis of coffee, myocardial infarction, and coronary death. *Epidemiology* 1993; 4:366-74.
- Greer F, Hudson R, Ross R, Graham T. Caffeine ingestion decreases glucose disposal during a hyperinsulinemic-euglycemic clamp in sedentary humans. *Diabetes* 2001; 50: 2349-54.
- Herling AW, Burger H, Schubert G, Hemmerle H, Schaefer H, Kramer W. Alterations of carbohydrate and lipid intermediary metabolism during inhibition of glucose-6-phosphatase in rats. *Eur J Pharmacol*. 1999; 386:75-82.
- Hsiu SL, Huang TY, Hou YC, Chin DH, Chao PDL. Comparison of metabolic pharmacokinetics of naringin and naringenin in rabbits. *Life Sci*. 2002; 70:1481-89.
- Johnston KL, Clifford MN, Morgan LM. Coffee acutely modifies gastrointestinal hormone secretion and glucose tolerance in humans: glycemic effects of chlorogenic acid and caffeine. *Am J Clin Nutr*. 2003; 78:728-33.
- Jung UJ, M Lee YB, Park MA, MS Choi. Effect of citrus flavonoids on lipid metabolism and glucose-regulating enzyme mRNA levels in type-2 diabetic mice. *Int J Biochem & Cell Biol*. 2006; 38:1134-45.
- Keijzers GB, De Galan BE, Tack CJ, Smits P. Caffeine can decrease insulin sensitivity in humans. *Diabetes Care* 2002; 25:364-369.
- Lane JD, Pieper CF, Phillips-Bute BG, Bryant JE, Kuhn CM. Caffeine affects cardiovascular and neuroendocrine activation at work and home. *Psychosom Med*. 2002; 64:595-603.
- Lopez-Ridaura R, Willett WC, Rimm EB, Liu S, Stampfer MJ, Manson JE. Magnesium intake and risk of type 2 diabetes in men and women. *Diabetes Care* 2004; 27:134-40.
- Mennen LI, De Courcy GP, Guillard JC, Ducros V, Bertrais S, Nicolas JP, Maurel M, Zarebska M, Favier A, Franchisseur C, Hercberg S, Galan P. Homocysteine, cardiovascular disease risk factors, and habitual diet in the French Supplementation with Antioxidant Vitamins and Minerals Study. *Am J Clin Nutr*. 2002; 76:1279 - 89.
- Milder IE, Arts IC, Van De Putte B, Venema DP, Hollman PC. Lignan contents of Dutch plant foods: a database including lariciresinol, pinoresinol, secoisolariciresinol and matairesinol. *Br J Nutr*. 2005; 93:393-402.
- Pizzoli A, Tikhonoff V, Paleari CD, Russo E, Mazza A, Ginocchio G, Onesto C, Pavan L, Casiglia E, Pessina AC. Effects of caffeine on glucose tolerance: A placebo-controlled study. *Eur J Clin Nutr*. 1998; 52(11):846-849.
- Ribeiro IS, Rocha J, Sepodes B, Mota-Filipe H, Ribeiro MH. Effect of naringin enzymatic hydrolysis towards naringenin on the anti-inflammatory activity of both compounds. *J Molec Catalysis B: Enzymatic* 2008; 52-53:13-18.
- Rice-Evans C. Flavonoids and isoflavones: absorption, metabolism, and bioactivity. *Free Radic Biol Med*. 2004; 36: 827-8.
- Robinson LE, Savani S, Battram DS, McLaren DH, Sathasivam P, Graham TE. Caffeine ingestion before an oral glucose tolerance test impairs blood glucose management in men with type 2 diabetes. *J Nutr*. 2004; 134:2528-33.
- Salazar-Martinez E, Willett WC, Ascherio A, Manson JE, Leitzmann MF, Stampfer MJ. Coffee consumption and risk for type 2 diabetes mellitus. *Ann Intern Med*. 2004; 140: 1-8.
- Shearer J., Farah A, Paulis T, Bracy DP, Pencek RR, Graham TE. Quinides of roasted coffee enhance insulin action in conscious rats. *J Nutr*. 2003; 133:3529-32.
- Thelle DS. Coffee, tea and coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol*. 1995; 6(1):25-7.
- Urgert R, Katan MB. The cholesterol-raising factor from coffee beans. *Annu Rev Nutr*. 1997; 17:305-24.
- Van Dan RM. Coffee and type 2 diabetes: From beans to beta-cells. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2006; 16: 69-77.
- Van Dan RM, Feskens EJ. Coffee consumption and risk of type 2 diabetes mellitus. *Lancet* 2002; 360:1477-88.
- Van Dan RM, HU FB. Coffee Consumption and Risk of Type 2 Diabetes. *Jama* 2005; 294(1):63-88.
- Wachman A, Rs Hattner RS, B George B, Bernstein DS. Effects of decaffeinated and nondecaffeinated coffee ingestion on blood glucose and plasma radioimmunoreactive insulin responses to rapid intravenous infusion of glucose in normal man. *Metabolism* 1970; 19(7):539-46.

