



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ ΚΑΙ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ
ΕΡΕΥΝΑΣ “Ν.Σ. ΧΡΗΣΤΕΑΣ”
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΚΟΝΤΖΟΓΛΟΥ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**«Η επίδραση της καφεΐνης κατά την κυοφορία στο μεταβολικό προφίλ
των απογόνων»**

**Ιωάννα Μαστρολέων
Διαιτολόγος – Διατροφολόγος, Βιολόγος**

Αθήνα, 2020

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

«Η επίδραση της καφεΐνης κατά την κυοφορία στο μεταβολικό προφίλ των απογόνων»

Ιωάννα Μαστρολέων

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Εμμανουήλ Πικουλής – Καθηγητής (Επιβλέπων)

Δέσποινα Περρέα – Ομότιμη Καθηγήτρια

Νικόλαος Καβαντζάς - Καθηγητής

Ημερομηνία αιτήσεως υποψηφίου: 27/02/2015 (Αρ. Πρωτ. 6081)

Ημερομηνία ορισμού 3μελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 03/06/2015

Ημερομηνία Ορισμού Θέματος: 03/07/2015

Κατάθεση 1^{ης} έκθεσης προόδου: 15/07/2016

Κατάθεση 2^{ης} έκθεσης προόδου: 10/07/2017

Κατάθεση 3^{ης} έκθεσης προόδου: 23/07/2018

Ημερομηνία Καταθέσεως Διδακτορικής Διατριβής: 07/12/2020

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή

Εμμανουήλ Πικουλής

Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

Δέσποινα Περρέα

Ομότιμη Καθηγήτρια, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

Νικόλαος Καβαντζάς

Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

Ανδρέας Λάζαρης

Καθηγητής, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

Αφροδίτη Νόννη

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

Χαρίκλεια Γακιοπούλου

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

Ειρήνη Θυμαρά

Επίκουρη Καθηγήτρια, Ιατρική Σχολή, ΕΚΠΑ

Ημερομηνία

23 Δεκεμβρίου 2020

ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ

ΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ, ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ,
ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝ
ΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ, ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙ
ΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ
ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ' ΗΓΗΣΑΣΘ
ΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΞΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗ
Ν ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΑΣΘΑΙ, Κ
ΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ, Κ
ΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΕΥΤΕΡΟΥ ΑΔΕΛΦΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝ
ΕΕΙΝ ΑΡΡΕΣΙ, ΚΑΙ ΔΙΔΑΞΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ,
ΗΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΞΥ
ΓΓΡΑΦΗΣ, ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ
ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣ
ΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΞΑΝ
ΤΟΣ, ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΣΥΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣΙ ΤΕ ΚΑΙ ΝΟ
ΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ, ΙΗΤΡΙΚΩ, ΑΛΛΩ, ΔΕ ΟΥΔΕΜΙ.
ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ὈΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΝΟ
ΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ ΔΗΛΗ
ΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗ, ΕΙΡΞΕΙΝ. ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ
ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ, ΟΥΔΕΥ
ΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΞΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ' ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥ
ΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΪΟΝ ΔΩΣΩ. ΑΓΝΩΣ Δ
Ε ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝ
ΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ. ΟΥ ΤΕΜΕΝ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘ
ΙΩΝΤΑΣ, ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙ ΠΡ
ΗΪΙΟΣ ΤΗΣΔΕ. ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΩ,
ΕΣΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ὈΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤ
ΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΗΣ, Τ
ΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥ
ΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡ
ΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ. Α Δ' ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΗ,
Η ΙΔΩ, Η ΔΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΗΤΗΣ ΚΑΤΑ Β
ΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Δ ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΕΣΘΑΙ
ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ, ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟ
ΙΑΥΤΑ. ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕ
Δ ΠΟΙΕΟΝΤΙ, ΚΑΙ ΜΗ ΞΥΓΧΕΟΝΤΙ, ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘ
ΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ, ΠΑΡΑ Π
ΔΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΔΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙ
ΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΟΥΝΤΙ, ΤΑΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ.

Ιωάννα Μαστρολέων

Διαιτολόγος – Διατροφολόγος, Βιολόγος

Εκπαίδευση και Κατάρτιση

Υποψήφια Διδάκτορας, «Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Έρευνας "Ν.Σ.Χρηστέας"», Ιατρική Σχολή, Ε.Κ.Π.Α. 06/2015-σήμερα

• Θέμα : «Επίδραση της καφεΐνης κατά την κυοφορία στο μεταβολικό προφίλ των απογόνων»

Πτυχίο Διαιτολογίας & Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο 02/2015-07/2018

• Βαθμός πτυχίου: 8,6/10 (Άριστα)

• Πτυχιακή εργασία: «Χρήση του ερωτηματολογίου FINDRISC για τον εντοπισμό οικογενειών υψηλού κινδύνου για διαβήτη τύπου 2»

Πτυχίο Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών 2009-2014

• Βαθμός Πτυχίου: 7,57/10 (Λίαν Καλώς)

Επαγγελματική Εμπειρία

Κλινική Διαιτολόγος – Διατροφολόγος, Ε.Α.Ν.Π. «Μεταξά» 04/2019-σήμερα

Medical Information Specialist Intern, Pfizer 01/2019-04/2019

• Πρόγραμμα Regeneration, 7^{ος} κύκλος

Πρακτική άσκηση στο Ε.Α.Ν.Π. «Μεταξά» 10/2017-03/2018

Πρακτική άσκηση στο Διαιτολογικό γραφείο «Θερμίδα» 03/2018-05/2018

Διατροφική εκπαίδευση παιδιών στο 2ο θερινό σχολείο Πυλών Καρπάθου 07/2017

• Εθελοντική εργασία

Εργαστηριακή Εμπειρία

«Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Έρευνας "Ν.Σ.Χρηστέας"», Ιατρική Σχολή, Ε.Κ.Π.Α. 2011-σήμερα

• Υποψήφια Διδάκτωρ και μέλος της ερευνητικής ομάδας

Πτυχιακή εργασία, Εργαστήριο Νευροβιολογίας, Σ.Θ.Ε., Ε.Κ.Π.Α. 09/2013-11/2014

• Τίτλος πτυχιακής: «Μελέτη της φωσφορυλίωσης της πρωτεΐνης tau»

• Βαθμός: 10/10

• Τεχνικές: Εμπλοτισμός εγκεφαλικού ιστού από επίμυες, Ανοσοσύτρωμα κατά Western, Κυτταροκαλλιέργειες

Πρακτική Άσκηση στο «Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Έρευνας "Ν.Σ.Χρηστέας"», Ιατρική Σχολή, Ε.Κ.Π.Α. 2011-2012

• Τεχνικές: Elisa

Συνέδρια

18^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Λιπιδιολογίας Αθηροσκλήρωσης και Αγγειακής νόσου 10/2015

• Αναρτημένη ανακοίνωση «Η ενδομήτρια έκθεση σε καφεΐνη ως προδιαθεσικός παράγοντας ανάπτυξης μεταβολικού συνδρόμου»

• Βραβείο καλύτερης αναρτημένης εργασίας

13^ο Πανελλήνιο Κτηνιατρικό Συνέδριο 05/2015

• Ελεύθερη ανακοίνωση «Αξιολόγηση μεταβολικών χαρακτηριστικών δύο διαφορετικών ζωικών προτύπων για την έρευνα στο πεδίο του μεταβολικού συνδρόμου»

36^ο επιστημονικό συνέδριο της Ελληνικής Εταιρίας Βιολογικών Επιστημών (Ε.Ε.Β.Ε.) 05/2014

• Αναρτημένη ανακοίνωση «Μελέτης της επίδρασης της στέρησης γλυκόζης και οξυγόνου στην φωσφορυλίωση της tau πρωτεΐνης»

Δημοσιεύσεις

Mastroleon I, Korou LM, Pergialiotis V, et al. Metabolic Response of Adult Male Offspring Rats to Prenatal Caffeine Exposure. *Cureus*. 2020;12(2):e7006. Published 2020 Feb 16. doi:10.7759/cureus.7006

Pergialiotis, V., E. Gkioka, I. Bakoyiannis, **I. Mastroleon**, A. Prodromidou and D. Perrea (2014). "Retention of cervical cerclage after preterm premature rupture of the membranes: a critical appraisal." *Arch Gynecol Obstet*.

Bakoyiannis, I., E. Gkioka, V. Pergialiotis, **I. Mastroleon**, A. Prodromidou, G. D. Vlachos and D. Perrea (2014). "Fetal alcohol spectrum disorders and cognitive functions of young children." *Rev Neurosci* 25(5): 631-639.

Γλώσσες

Ελληνικά: Μητρική Γλώσσα

Αγγλικά: C2 επίπεδο

Γαλλικά: A2 επίπεδο

Ηλεκτρονικοί Υπολογιστές

MS Office

(Word, Excel, PowerPoint)

Social Media

Περίληψη

Η καφεΐνη (1,3,7-τριμεθυλοξανθίνη) αποτελεί συστατικό των τροφίμων και καταναλώνεται παγκοσμίως σε καθημερινή βάση κυρίως λόγω των ιδιαίτερων ψυχοδραστικών ιδιοτήτων της. Περιέχεται σε διάφορα υγρά τρόφιμα, ανάμεσα στα οποία είναι ο καφές, το τσάι, τα αναψυκτικά, τα ενεργειακά ποτά, αλλά και σε στερεά τρόφιμα όπως η σοκολάτα και θεωρείται ένα από τα ευρέως καταναλισκόμενα συστατικά της ανθρώπινης διατροφής.

Η συνεχιζόμενη τάση αύξησης για κατανάλωση καφεΐνης, αλλά και το γεγονός ότι μεταβολίζεται πλήρως από τον ανθρώπινο οργανισμό και συγκεκριμένα σε μεγαλύτερο ποσοστό από το ένζυμο CYP1A2 στο ήπαρ, έχει προκαλέσει ανησυχία στην επιστημονική κοινότητα σχετικά με τις επιδράσεις της στην ανθρώπινη υγεία. Αρκετές μελέτες έχουν διεξαχθεί με στόχο τη διερεύνηση των δυνητικών επιδράσεων της πρόσληψης καφεΐνης στην ανάπτυξη, επιδείνωση ή βελτίωση διαφόρων μεταβολικών νοσημάτων, συμπεριλαμβανομένου και του μεταβολικού συνδρόμου (MetS), το οποίο χαρακτηρίζεται από μια συστάδα μεταβολικών επιπλοκών, ανάμεσα στις οποίες είναι η κοιλιακή παχυσαρκία και η αντίσταση στην ινσουλίνη.

Επιπρόσθετα, έχει βρεθεί ότι η κατανάλωση καφεΐνης κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης ενδέχεται να οδηγήσει σε δυσμενή αποτελέσματα στην εγκυμοσύνη και σε διαταραγμένο μεταβολικό προφίλ στους απογόνους κατά την ενήλικη ζωή τους. Επίσης, το γεγονός ότι κατά την κρίσιμη αυτή περίοδο το συστατικό αυτό φτάνει στην κυκλοφορία του εμβρύου διαπερνώντας ελεύθερα τον πλακούντα και έχοντας χρόνο ημιζωής έως και 100 ώρες, ενισχύει τις ανησυχίες των επιστημόνων. Βάσει των συστάσεων της EFSA και του IOM, ως ανώτατο όριο κατανάλωσης πρέπει να θεωρούνται οι 2 κούπες καφέ ημερησίως, ποσότητα που αντιστοιχεί σε 200 mg καφεΐνης. Παρόλα αυτά, αποτελέσματα μελετών δείχνουν ότι ενδεχομένως ακόμη και η σύσταση αυτή να αποτελεί ένα υψηλό και επικίνδυνο όριο με πιθανές αρνητικές επιπτώσεις τόσο στην εξέλιξη της εγκυμοσύνης όσο και στην υγεία του νεογνού.

Σκοπό της παρούσας διδακτορικής διατριβής αποτέλεσε η μελέτη της επίδρασης της ενδομήτριας έκθεσης στην καφεΐνη στο μεταβολικό προφίλ αρσενικών απογόνων επίμυων (Sprague Dawley) οι οποίοι κατανάλωναν διάλυμα υψηλής περιεκτικότητας σε φρουκτόζη.

Το αρχικό δείγμα της μελέτης αποτέλεσαν 20 θηλυκοί επίμυες ηλικίας 5 μηνών. Ύστερα από το ζευγάρωμα των θηλυκών επίμυων με 6 αρσενικούς της ίδιας ηλικίας και με την εξασφάλιση ενός οιστρικού κύκλου, οι μητέρες χωρίστηκαν σε 2 ομάδες. Την πρώτη ομάδα αποτέλεσαν μητέρες στις οποίες δεν χορηγήθηκε καφεΐνη (ομάδα Α, n=10), ενώ τη δεύτερη ομάδα αποτέλεσαν μητέρες στις οποίες χορηγήθηκε (20 mg/kg καφεΐνης την ημέρα) (ομάδα Β, n=10). Το βασικό δείγμα της μελέτης αποτέλεσαν 40 αρσενικοί απογόνοι, 20 από κάθε ομάδα, οι οποίοι χωρίστηκαν εκ νέου σε 4 ομάδες. Οι ομάδες αυτές αποτελούνταν από απογόνους των μητέρων που δεν έλαβαν καφεΐνη και οι οποίοι καταλάωναν είτε πόσιμο νερό (ομάδα Α1, n=10) είτε διάλυμα φρουκτόζης (ομάδα Α2, n=10) και από απογόνους των μητέρων που έλαβαν καφεΐνη και οι οποίοι καταλάωναν είτε πόσιμο νερό (ομάδα Β1, n=10) είτε διάλυμα φρουκτόζης (ομάδα Β2, n=10). Αναλυτικά, οι μετρήσεις που διεξήχθησαν περιλαμβάνουν το βάρος, την αρτηριακή πίεση και βιοχημικούς δείκτες (γλυκόζη, ολική χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, HDL χοληστερόλη και LDL χοληστερόλη). Επίσης μετρήθηκε η αντίσταση στην ινσουλίνη με τη μέθοδο OGTT, ενώ πραγματοποιήθηκε και ιστοπαθολογική ανάλυση νεφρικών και ηπατικών ιστικών δειγμάτων. Όλες οι μετρήσεις έγιναν κατά την ενηλικίωση των απογόνων (σε ηλικία 10 εβδομάδων), καθώς 1 μήνα και 2 μήνες μετά από αυτή.

Από την επεξεργασία των αποτελεσμάτων βρέθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση ($p<0,05$) στα επίπεδα τριγλυκεριδίων της ομάδας Β2 συγκριτικά με τις υπόλοιπες πειραματικές ομάδες. Επίσης, η προγεννητική έκθεση στην καφεΐνη οδήγησε σε σημαντική αύξηση ($p<0,05$) τόσο της συστολικής όσο και της διαστολικής αρτηριακής πίεσης συγκριτικά με τις ομάδες ελέγχου. Επιπρόσθετα, στους απογόνους των μητέρων που εκτέθηκαν στην καφεΐνη βρέθηκε σημαντικά ($p<0,05$) χαμηλότερο βάρος γέννησης συγκριτικά με τις υπόλοιπες ομάδες.

Αναφορικά με την ιστοπαθολογική ανάλυση, οι ομάδες απογόνων μητέρων που εκτέθηκαν στην καφεΐνη είτε αυτοί καταλάωναν πόσιμο νερό ($p=0,033$) είτε καταλάωναν διάλυμα φρουκτόζης ($p=0,003$) παρουσίασαν στατιστικά υψηλότερο ποσοστό περιπτώσεων με διάμεσο οίδημα νεφρικού ιστού συγκριτικά με τις ομάδες απογόνων μητέρων που δεν εκτέθηκαν στην καφεΐνη. Τέλος, δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στην θολερή εξοίδηση του νεφρικού ή του ηπατικού ιστού μεταξύ των ομάδων.

Συμπερασματικά, η παρούσα μελέτη αποτελεί την πρώτη μελέτη που εξέτασε τα αποτελέσματα της προγεννητικής έκθεσης στην καφεΐνη (PCE) σε μοντέλο MetS που προκαλείται από δίαιτα

υψηλής περιεκτικότητας σε φρουκτόζη στην ενήλικη ζωή. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν ξεκάθαρα τις φαινοτυπικές επιδράσεις της PCE στην ανάπτυξη MetS κατά την ενήλικη ζωή. Βέβαια, όπως και σε όλες τις πειραματικές μελέτες, τα αποτελέσματα πρέπει να εξεταστούν κάτω από μια μεταφραστική οπτική και όχι να μεταφερθούν άμεσα στους ανθρώπους.

Abstract

Caffeine (1,3,7-trimethylxanthine) is a food component consumed worldwide on a daily basis mainly due to its special psychoactive properties. It is present in various liquid foods, including coffee, tea, soft drinks, energy drinks, but also in solid foods such as chocolate and it is considered one of the most widely consumed components in human's diet.

The continuing increased trend in caffeine consumption, as well as the fact that it is completely metabolized by the human body and particularly to a greater extent by the enzyme CYP1A2 which is located in the liver, have raised great concern about its effects on human health among the scientific community. Several studies have been conducted in order to investigate the potential effects of caffeine intake on the development, deterioration or improvement of various metabolic diseases, including metabolic syndrome, which is characterized by a cluster of metabolic complications, including abdominal obesity and insulin resistance.

In addition, it has been found that caffeine consumption during pregnancy may lead to adverse effects on pregnancy and a disturbed metabolic profile in the offspring during adulthood. Moreover, the fact that during pregnancy caffeine reaches fetus circulation by freely penetrating the placenta and has a half-life of up to 100 hours further reinforces the concerns of scientists. Based on the recommendations of EFSA and IOM, the maximum consumption should be considered as 2 cups of coffee per day, an amount equivalent to approximately 200 mg of caffeine. However, studies show that even this recommendation may be a high and dangerous limit with possible negative effects on both progress of pregnancy and health of the newborn.

The aim of the present thesis was to investigate the effects of intrauterine caffeine exposure on the metabolic profile of male Sprague Dawley rats after consumption of a high-fructose solution.

Five-month-old female Sprague Dawley rats were matched with males of a respective age. Males were housed with the females for four days to ensure completion of one estrous cycle and were consequently removed. Initiating on entry of the males and up to the day of birth, pregnant rats were administered ad libitum tap water (group A of mothers, control, n=10) or caffeine-enriched water (group B of mothers, n=10), in a concentration estimated to equal a daily caffeine uptake of 20 mg/kg of body weight. The main sample of the study was 40 male offspring, 20

from each group, which were divided into 4 groups. Upon adulthood (10 weeks old), the selected offspring were assigned to four different subgroups: A1 (n=10), males born of control mothers; A2 (n=10), males born of control mothers, receiving a high-fructose water solution (200 g/l) on a daily basis instead of tap water; B1 (n=10), males prenatally exposed to caffeine; B2 (n=10), males prenatally exposed to caffeine which received a high-fructose water solution (200 g/l) daily instead of tap water.

Blood samples of male offspring were collected upon adulthood (T1), one month later (T2), and two months (T3). Measurements included body weight, blood pressure and biochemical indices (glucose, total cholesterol, triglycerides, HDL cholesterol and LDL cholesterol). Insulin resistance was also measured by the OGTT method, while histopathological analysis of renal and hepatic tissue was performed.

The results showed a statistically significant increase ($p < 0.05$) in triglyceride levels in group B2 compared to the other experimental groups. Moreover, prenatal exposure to caffeine led to a significant increase ($p < 0.05$) in both systolic and diastolic blood pressure compared to control groups. In addition, a significantly ($p < 0.05$) lower birth weight was found in the offspring of mothers exposed to caffeine compared to the other groups. Regarding the histopathologic examination, the offspring of mothers exposed to caffeine either in drinking water group ($p = 0.033$) or in the fructose group ($p = 0.003$) had statistically significant higher number of cases with oedema in renal tissue compared to the offspring of mothers not exposed to caffeine. Finally, no differences were observed in renal or hepatic tissue swelling between groups.

In conclusion, this study is the first study to examine the effects of prenatal caffeine exposure (PCE) on a MetS model induced by a high-fructose diet in adulthood. The results of the present study clearly indicated the phenotypic effects of PCE on MetS development in adulthood. Of course, as in all experimental studies, the results should be viewed from a translational point of view and not transmitted directly to humans.

Ευχαριστίες

Το ταξίδι της διδακτορικής διατριβής μου ξεκίνησε αρκετά χρόνια πριν, όταν το 2011, ο Καθηγητής κ. Εμμανουήλ Πικουλής με οδήγησε στο εργαστήριο «Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Έρευνας ‘Ν.Σ. Χρηστέας’» και στην καθηγήτρια κ. Δέσποινα Περρέα για να πραγματοποιήσω την πρακτική μου άσκηση ως φοιτήτρια βιολογίας. Η αγάπη και ο ενθουσιασμός για την έρευνα που επικρατούσε στο εργαστήριο, με κράτησαν εκεί ως και το 2015 που ξεκίνησα την διατριβή μου.

Ξεκινώντας λοιπόν θέλω να ευχαριστήσω την τριμελή επιτροπή μου, τον επιβλέποντα μου Καθηγητή κ. Πικουλή Εμμανουήλ για την συνεχή καθοδήγηση σε όλη την διάρκεια της διατριβής, την Ομότιμη Καθηγήτρια κ. Περρέα Δέσποινα που με δέχτηκε στο εργαστήριο σαν παιδί της και μου έμαθε να αγαπάω την έρευνα και τον Καθηγητή κ. Καβαντζά Νικόλαο για την ιδιαίτερα υποστηρικτική του στάση και την καταλυτική του δράση στην επίλυση οποιουδήποτε προβλήματος εμφανιζόταν. Η βοήθειά τους ήταν ανεκτίμητη και χωρίς αυτήν δεν θα είχα καταφέρει να φτάσω στο τέλος αυτού του ταξιδιού.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω την Κτηνίατρο κ. Λασκαρίνα – Μαρία Κορού, τον Επιστήμονα Βιοπληροφορικής κ. Ιωάννη Βλάχο και τον Γυναικολόγο κ. Βασίλη Περγιαλιώτη για την πολύτιμη συνεργασία και καθοδήγηση τους στην διεκπεραίωση πειραματικών πρωτοκόλλων από τον σχεδιασμό τους ως και την ανάλυση των αποτελεσμάτων. Ήταν πρόθυμοι να με βοηθήσουν οποιαδήποτε στιγμή, όχι μόνο ως συνεργάτες αλλά και ως φίλοι. Ακόμη θα ήθελα να ευχαριστήσω το προσωπικό του εργαστηρίου και συγκεκριμένα τους κ. Παναγιώτη Τσακινόπουλο, κ. Εσμεράλδα Ντούση και κ. Νικόλαο Τσακινόπουλο για την βοήθεια τους στην διεξαγωγή των πειραμάτων.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου και τους φίλους μου, καθώς χωρίς την συνεχή τους υποστήριξη δεν θα είχα καταφέρει τίποτα από όλα αυτά.

Περιεχόμενα

Περίληψη	vi
Abstract.....	ix
Ευχαριστίες.....	xi
Κατάλογος Εικόνων	xv
Κατάλογος Σχημάτων.....	xvi
Κατάλογος Πινάκων	xvii
Συνομογραφίες & Ακρωνύμια	xviii
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	1
Κεφάλαιο 1: Καφεΐνη.....	1
1.1 Γενικά.....	1
1.2 Στατιστικά στοιχεία κατανάλωσης καφεΐνης	2
1.3 Ο καφές ως βασική πηγή καφεΐνης	9
1.3.1 Στατιστικά στοιχεία παραγωγής καφέ.....	10
1.3.2 Καλλιέργεια και επεξεργασία καφέ και ροφημάτων του	11
1.3.3 Χημική σύσταση καφέ.....	17
1.3.4 Περιεκτικότητα σε βιοδραστικά συστατικά	19
1.4 Απορρόφηση & μεταβολισμός της καφεΐνης	23
1.5 Καφεΐνη και υγεία	27
1.5.1 Σωματικό βάρος.....	28
1.5.2 Καρδιαγγειακά νοσήματα.....	30
1.5.3 Αρτηριακή πίεση	32
Κεφάλαιο 2: Διατροφή κατά την εγκυμοσύνη & μετέπειτα ζωή	34
2.1 Θεωρία «ενδομήτριου προγραμματισμού»	34
2.2 Ανεπαρκής διατροφική πρόσληψη κατά την εγκυμοσύνη	36

2.3 Αυξημένη διατροφική πρόληψη κατά την εγκυμοσύνη	38
2.4 Εγκυμοσύνη & καφεΐνη.....	39
2.5 Ενδομήτριο περιβάλλον & Μεταβολικό Σύνδρομο	45
Κεφάλαιο 3: Μεταβολικό σύνδρομο	46
3.1 Γενικά	46
3.2 Ορισμός μεταβολικού συνδρόμου	47
3.3 Επιδημιολογία μεταβολικού συνδρόμου	51
3.4 Παθοφυσιολογία.....	53
3.4.1 Παχυσαρκία	55
3.4.2 Αντίσταση στην ινσουλίνη	56
3.4.3 Δυσλιπιδαιμία	57
3.4.4 Υπέρταση.....	58
3.5. Μεταβολικό σύνδρομο και καφεΐνη	59
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	62
Κεφάλαιο 4: Μεθοδολογία	62
4.1 Υπόθεση εργασίας-Σκοπός της μελέτης.....	62
4.2 Δείγμα.....	63
4.3 Πειραματική Διαδικασία	63
4.3.1 Κώδικας βιοηθικής	63
4.3.2 Σχεδίαση ομάδων διατροφικής παρέμβασης.....	63
4.3.3 Μοντέλο Μεταβολικού Συνδρόμου.....	65
4.3.4 Συνθήκες διαβίωσης	65
4.3.5 Αιμοληψία Διαδικασία αιμοληψίας;.....	66
4.4 Εργαστηριακές μετρήσεις.....	66
4.4.1 Μετρήσεις αρτηριακής πίεσης.....	66

4.4.2 Αναλύσεις βιοχημικών δεικτών.....	67
4.4.3 Δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη (OGTT).....	67
4.4.4 Ιστοπαθολογική ανάλυση.....	67
4.5 Στατιστική ανάλυση.....	68
Κεφάλαιο 5: Αποτελέσματα.....	69
5.1 Κατανάλωση τροφής, ενεργειακή πρόσληψη και σωματικό βάρος.....	69
5.2 Αρτηριακή πίεση.....	71
5.3 Βιοχημικές αναλύσεις.....	72
5.4 Δοκιμασία ανοχής γλυκόζης.....	76
5.5 Αποτελέσματα ιστοπαθολογικής ανάλυσης.....	76
Κεφάλαιο 6: Συζήτηση.....	79
Συμπεράσματα.....	83
Βιβλιογραφία.....	84

Κατάλογος Εικόνων

Εικόνα 1-1: Βοτανική ταξινόμηση του καφέ (16).....	10
Εικόνα 1-2: Τα βασικά στάδια επεξεργασίας των σπόρων του καφέ (18).....	12
Εικόνα 1-3: Η χημική δομή της καφεΐνης (28).....	19
Εικόνα 2-1: Θεωρία του φαινότυπου εξοικονόμησης (the thrifty phenotype hypothesis).....	35
Εικόνα 2-2: Οι επιδράσεις της μητρικής κατανάλωσης καφεΐνης στην εγκυμοσύνη και στο νεογνό.....	41
Εικόνα 2-3: Οι επιδράσεις της μητρικής κατανάλωσης καφεΐνης στην εγκυμοσύνη και στο νεογνό τρωκτικών.....	44
Εικόνα 3-1: Ο παθοφυσιολογικός μηχανισμός του Μεταβολικού Συνδρόμου.....	53
Εικόνα 5-1: Χρώσεις αιματοξυλίνης/ηωσίνης των νεφρικών ιστών (Α, Γ: 100x, Β, Δ: 50x)..	78

Κατάλογος Σχημάτων

Σχήμα 1-1: Μέση πρόσληψη καφεΐνης (mg/d) ανάλογα με το φύλο, από διάφορα καφεϊνούχα ροφήματα (7)	6
Σχήμα 1-2: Μέση πρόσληψη καφεΐνης (mg/kg/d) ανάλογα με το φύλο, από διάφορα καφεϊνούχα ροφήματα (7)	6
Σχήμα 1-3: Οι χώρες με τη μεγαλύτερη παραγωγή καφέ παγκοσμίως (17)	10
Σχήμα 1-4: Οι χώρες με τη μεγαλύτερη κατανάλωση καφέ παγκοσμίως (17)	11
Σχήμα 1-5: Μέση περιεκτικότητα καφεΐνης (mg/100 mL) στα διάφορα ροφήματα καφέ	21
Σχήμα 1-6: Η βιομετατροπή της καφεΐνης στους μεταβολίτες μεθυλοξανθίνης (39).....	25
Σχήμα 4-1: Σχηματική απεικόνιση του πειραματικού πρωτοκόλλου.....	65

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1-1: Μέση πρόσληψη καφεΐνης (mg/d) καφεϊνούχων ροφημάτων ανάλογα με την ηλικία και το είδος του ροφήματος	4
Πίνακας 1-2: Πρόσληψη καφεΐνης από τον γενικό πληθυσμό	7
Πίνακας 1-3: Περιεκτικότητα καρπού καφέ (/100 g) σε μακρο- και μικρο-θρεπτικά συστατικά	18
Πίνακας 3-1: Τα Διαγνωστικά Κριτήρια του Μεταβολικού Συνδρόμου	49
Πίνακας 5-1: Σωματικό βάρος (g) σε κάθε ομάδα απογόνων (A1, A2, B1, B2) που μελετήθηκε στις χρονικές στιγμές T1, T2, T3.....	70
Πίνακας 5-2: Πρόσληψη τροφής (g/ημέρα) και νερού (mL/ημέρα) σε κάθε ομάδα απογόνων που μελετήθηκε στις χρονικές στιγμές T1, T2, T3.....	70
Πίνακας 5-3: Επίπεδα της αρτηριακής πίεσης (συστολική, διαστολική και μέση αρτηριακή πίεση) σε κάθε ομάδα απογόνων (A1, A2, B1, B2) που μελετήθηκε στις χρονικές στιγμές T1, T2, T3.	72
Πίνακας 5-4: Επίπεδα γλυκόζης ορού (mg/dl), ολικής χοληστερόλης (mg/dl), HDL χοληστερόλης (mg/dl), LDL χοληστερόλης (mg/dl), τριγλυκεριδίων (mg/dl) σε κάθε ομάδα ζώου (A1, A2, B1, B2) που μελετήθηκε στις χρονικές στιγμές T1, T2, T3.....	74
Πίνακας 5-5: Επίπεδα γλυκόζης ορού (mg/dl) που καταγράφηκαν ύστερα από τεστ ανοχής στη γλυκόζη (GTT0, GTT30, GTT60, GTT120)	76
Πίνακας 5-6: Ανάλυση της ιστοπαθολογικής εξέτασης των δειγμάτων νεφρικού και ηπατικού ιστού σε σχέση με την παρουσία ή απουσία οιδήματος ή διόγκωσης.....	77

Συντομογραφίες & Ακρωνύμια

AACE	Αμερικανική εταιρεία κλινικών ενδοκρινολόγων
AHA	Αμερικανική καρδιολογική εταιρεία
ANS	Αυτόνομο νευρικό σύστημα
AT2R	Νεφρικός υποδοχέας τύπου 2 της αγγειοτενσίνης II
CGA	Χλωρογενικό οξύ
CHD	Συγγενής καρδιοπάθεια
CQA	Καφεοϋλοκινικό οξύ
CSDs	Ανθρακούχα αναψυκτικά
CVDs	Καρδιαγγειακά νοσήματα
EFSA	Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων
EGCG	Επιγαλλοκατεχίνη
EGIR	Ομάδα για την μελέτη της αντίστασης στην ινσουλίνη
FFA	Ελεύθερα λιπαρά οξέα
FPRNa	Κλασματική επαναρόφηση νατρίου στο εγγύς εσπειραμένο σωληνάριο
HDL	Υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη
HPA	Άξονας υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων
IDF	Παγκόσμια ομοσπονδία διαβήτη
IGF	Διαταραγμένη γλυκόζη νηστείας
IGF-1	Ινσουλινόμορφος αυξητικός παράγοντας
IGT	Διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη

IUGR	Ενδομήτρια καθυστέρηση στην ανάπτυξη
LDL	Χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη
MetS	Μεταβολικό σύνδρομο
MSNA	Δραστηριότητα του μυϊκού συμπαθητικού νεύρου
NAFLD	Μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος
NEFA	Μη εστεροποιημένα λιπαρά οξέα
NHLB	Εθνικό ινστιτούτο καρδιάς, πνεύμονα και αίματος
PCE	Προγεννητική έκθεση στην καφεΐνη
RAS	Σύστημα ρενίνης-αγγειοτενσίνης
SAB	Αυτόματη αποβολή
TG	Τριγλυκερίδια
TNF- α	Παράγοντας νέκρωσης όγκου- α
TRG	Τριγωνελίνη
VLDL	Πολύ χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη
WHO	Παγκόσμιος οργανισμός υγείας
Δ.Μ.Σ.	Δείκτης Μάζας Σώματος
Η.Π.Α.	Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής
Κ.Ν.Σ.	Κεντρικό Νευρικό Σύστημα

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κεφάλαιο 1: Καφεΐνη

1.1 Γενικά

Η καφεΐνη ή αλλιώς 1,3,7-τριμεθυλοξανθίνη, καταναλώνεται εδώ και χιλιάδες χρόνια ανά τον κόσμο και αποτελεί ένα από τα πιο ευρέως καταναλισκόμενα δραστικά συστατικά τροφίμων (1). Το συστατικό αυτό απαντάται σε πάνω από 60 φυτά, όπως για παράδειγμα στους κόκκους του καφέ (coffee beans), στον καρπό κόλα (kola nuts), στους κόκκους κακάο (cacao beans), στο ματέ (yerba mate) και στο γκουαρανά (guarana) (2). Οι ιστορικοί αναφέρουν ότι η κατανάλωσή της χρονολογείται από το 2737 π.Χ., όπου καταναλωνόταν από έναν Κινέζο αυτοκράτορα ως τσάι με ευχάριστο άρωμα. Αρκετά χρόνια αργότερα και συγκεκριμένα τον 9^ο αιώνα μ.Χ., ένας βοσκός της Αιθιοπίας παρατήρησε ότι οι κατσίκες του άρχισαν να συμπεριφέρονται περίεργα και ότι είχαν μεγάλα αποθέματα ενέργειας μετά την κατανάλωση άγριων σπόρων καφέ στην περιοχή όπου βοσκούσαν.

Η χρήση της καφεΐνης στα τρόφιμα και συγκεκριμένα σε αναψυκτικά πραγματοποιήθηκε για πρώτη φορά περί τα τέλη του 1800, στα αναψυκτικά Dr. Pepper, Coca-Cola και Pepsi-Cola. Η παρουσία της στα τρόφιμα, δεν περιορίζεται μόνο στον γνωστό σε όλους καφέ (αποτελεί την πιο συνήθη πηγή πρόσληψης) και στα αναψυκτικά, αλλά επίσης και σε μια σειρά από διάφορα ροφήματα, όπως το τσάι, και σε προϊόντα που περιέχουν κακάο και σοκολάτα καθώς και στα ενεργειακά ποτά (1). Επιπλέον, η παρουσία της καφεΐνης είναι γνωστή και σε μια πλειάδα από φαρμακευτικά σκευάσματα και συμπληρώματα.

Σήμερα, φαίνεται ότι περίπου το 80 % του παγκόσμιου πληθυσμού καταναλώνει κάποιο καφεϊνούχο προϊόν σε καθημερινή βάση, ενώ το 90 % του ενήλικου πληθυσμού της Βόρειας Αμερικής καταναλώνει καφεΐνη καθημερινά (3). Συνολικά, η κατανάλωση καφέ αγγίζει τα 1,6 δισ. κούπες/ημέρα παγκοσμίως, γεγονός που επιβεβαιώνει ότι ο καφές αποτελεί το δεύτερο πιο διάσημο ρόφημα μετά το νερό, και χαρακτηρίζεται ευρέως ως ψυχοδιεγερτικό.

Ένας βασικός λόγος για τον οποίο ο καφές καταναλώνεται τόσο συστηματικά, είναι για τις σημαντικές επιδράσεις που έχει στον εγκέφαλο και το κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ),

προκαλώντας επαγρύπνηση και συνεχή εγρήγορση, δράση που είναι γνωστή εδώ και αιώνες (4). Εξαιτίας αυτού αλλά και βάσει ερευνών, έχει δοθεί ιδιαίτερη αξία στην καφεΐνη από την αθλητική κοινότητα καθώς έχει αποδειχθεί ότι η κατανάλωσή της βελτιώνει την αθλητική απόδοση σε συγκεκριμένου τύπου αθλήματα και κυρίως σε αθλήματα που απαιτούν αντοχή και διάρκεια (5). Ωστόσο, η οξεία υπερβολική πρόσληψη καφεΐνης, μπορεί να οδηγήσει σε δηλητηρίαση και διάφορες ανεπιθύμητες επιδράσεις όπως αϋπνία, αυξημένη διούρηση, σύγχυση, ταχυκαρδία και γαστρεντερικές διαταραχές. Αντιθέτως, η στέρηση της καφεΐνης σε ανθρώπους οι οποίοι καταναλώνουν συστηματικά μεγάλες ποσότητες μπορεί να οδηγήσει σε συμπτώματα στέρησης όπως πονοκέφαλο, αυξημένο αίσθημα κόπωσης και έντονη ευερεθιστότητα. Όλα τα παραπάνω συμπτώματα, ενδεχομένως να αποτελούν και ενδείξεις αυξημένης εξάρτησης από την καφεΐνη. Διάφορες εργαστηριακές μελέτες έχουν δείξει κατά καιρούς ότι η καφεΐνη δρα παρόμοια με άλλες εξαρτησιογόνες ουσίες σχετικά με τις φυσιολογικές και συμπεριφοριστικές επιδράσεις.

Τα τελευταία χρόνια, υπάρχει τεράστιο επιστημονικό ενδιαφέρον για την καφεΐνη ως παράγοντα προάσπισης της υγείας. Οι προτεινόμενες συστάσεις πρόσληψης αναφέρουν ότι πρόσληψη καφεΐνης από 200-400 mg εντός της ημέρας είναι ασφαλής για τους ενήλικες χωρίς να εγκυμονεί κανέναν κίνδυνο για την υγεία. Αρκετές μετα-αναλύσεις και μελέτες κοόρτης, έχουν αναδείξει κατά καιρούς τα σημαντικά οφέλη της μέτριας (3-5 κούπες καφέ/ημέρα) κατανάλωσης καφέ στην προστασία από τα καρδιαγγειακά νοσήματα (CVDs) συγκριτικά με αυτούς που δεν καταναλώνουν καφέ, χωρίς να παρατηρείται επιπλέον όφελος σε υψηλότερες προσλήψεις. Επιπλέον, είναι γνωστό ότι η μέτρια κατανάλωση καφέ μπορεί σχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης συγκεκριμένων τύπων καρκίνου. Τέλος, υψηλή πρόσληψη καφεΐνης έχει φανεί να σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο οστεοπόρωσης, ακράτεια ούρων και αρνητική έκβαση των γεννήσεων (2).

1.2 Στατιστικά στοιχεία κατανάλωσης καφεΐνης

Διάφοροι οργανισμοί υγείας (EFSA, Health Canada και USFDA) έχουν δηλώσει κατά καιρούς ότι ο γενικός πληθυσμός ενηλίκων δεν βρίσκεται σε κίνδυνο σχετικά με την κατανάλωση καφεΐνης και τις πιθανές αρνητικές της επιπτώσεις. Ωστόσο, υπάρχει μια συνεχής ανησυχία

σχετικά με την ενδεχόμενη αύξηση της κατανάλωσης καφεΐνης στα παιδιά, τους εφήβους, τις εγκύους και τις θηλάζουσες και την πιθανότητα εκδήλωσης των παρενεργειών της αυξημένης κατανάλωσης καφεΐνης. Για τον λόγο αυτό, κάποιοι οργανισμοί έχουν θέσει τις ομάδες αυτές στις ομάδες κινδύνου για την εκδήλωση των αρνητικών επιπτώσεων ως αποτέλεσμα της κατανάλωσης καφεΐνης. Επιπλέον, η εμφάνιση όλων αυτών των νέων καφεϊνούχων τροφίμων και ροφημάτων τις τελευταίες δεκαετίες έχει αυξήσει την ανησυχία αυτή ακόμα περισσότερο, καθώς όλες αυτές οι πηγές καφεΐνης καταναλώνονται μαζί με τις κλασικές πηγές όπως ο καφές, το τσάι, η κόλα και η σοκολάτα, ενισχύοντας ακόμη περισσότερο τη συνολική ημερήσια πρόσληψη. Παρόλα αυτά, η μελέτη του κατά πόσο οι πιο σπάνιες αυτές πηγές καφεΐνης επιβαρύνουν τη συνολική πρόσληψη δεν είναι επαρκής, καθώς οι περισσότερες μελέτες επικεντρώνονται στα ποσοστά κατανάλωσης καφεΐνης από λιγότερες πηγές οι οποίες είναι και οι πιο συνηθισμένες στο καταναλωτικό κοινό. Επομένως, είναι σημαντικό να αξιολογηθεί η πρόσληψη καφεΐνης από όλες τις πιθανές πηγές συμπεριλαμβανομένης και της συμβολής των νέων αυτών τροφίμων και ποτών (6).

Στοιχεία με έντονο ενδιαφέρον σχετικά με την κατανάλωση καφεΐνης είναι οι κύριες πηγές της, τα ποσοστά κατανάλωσής της και τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των καταναλωτών. Τρόφιμα που περιέχουν κακάο, όπως είναι η σοκολάτα, συμβάλλουν σε μικρό ποσοστό στη συνολική πρόσληψη καφεΐνης ενώ το μεγαλύτερο ποσοστό καφεΐνης που καταναλώνεται προέρχεται από διάφορα ροφήματα. Τέτοια ροφήματα είναι τα ανθρακούχα αναψυκτικά (CSDs), το τσάι, τα ενεργειακά ποτά και σφηνάκια, κάποια φρούτα ή αρώματα φρούτων και ροφήματα νερού. Οι προσλήψεις καφεΐνης ποικίλουν εξαιτίας των ποικίλων ροφημάτων αλλά και μεταξύ των διαφόρων εθνικών ομάδων. Ο καφές συνήθως περιέχει μεγαλύτερες συγκεντρώσεις καφεΐνης από τα υπόλοιπα ροφήματα και λόγω αυτού συνεισφέρει σημαντικά (θεωρείται η μεγαλύτερη πηγή προέλευσης της καφεΐνης) στη συνολική πρόσληψη καφεΐνης μέσα στην ημέρα (7), πράγμα το οποίο εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό και από την ηλικία. Για παράδειγμα, οι ενήλικες συνηθίζουν να πίνουν κυρίως καφέ, ενώ αντίθετα οι μικρότερες ηλικίες όπως έφηβοι και νεαροί ενήλικες καταναλώνουν κυρίως καφεϊνούχα ενεργειακά ποτά (8). Η πρόσληψη ανθρακούχων αναψυκτικών ξεκινάει συνήθως στις ηλικίες των νηπίων, κορυφώνεται στη νεαρή ενήλικη ζωή και αργότερα παρουσιάζει πτωτική τάση (9).

Αναφορικά με την πρόσληψη καφεΐνης η υφιστάμενη βιβλιογραφία είναι ανεπαρκής και δεν φαίνεται να υπάρχει μια πλήρης τρέχουσα πληθυσμιακή βάση δεδομένων βασισμένη στις προσλήψεις καφεΐνης. Μια μελέτη που διεξήχθη στις ΗΠΑ και σκοπό είχε την παρακολούθηση της πρόσληψης καφεΐνης από τρόφιμα και ροφήματα ήταν η μελέτη Kantar World Panel (KWP). Στη μελέτη αυτή συμμετείχαν 37.602 καταναλωτές καφεΐνης ηλικίας 2 ετών και άνω. Τα στοιχεία συλλέχθηκαν από το 2010 έως το 2011 μέσω χρησιμοποίησης ενός 7ήμερου ηλεκτρονικού ερωτηματολογίου ροφημάτων. Όπως φάνηκε στη μελέτη (**Πίνακας 1-1**), ο καφές, τα ανθρακούχα αναψυκτικά, το τσάι και τα ενεργειακά ποτά συμμετείχαν στο 98 % της ημερήσιας πρόσληψης καφεΐνης. Από αυτούς που κατανάλωναν καφεϊνούχα ροφήματα το 63 % κατανάλωνε ανθρακούχα αναψυκτικά, το 55 % καφέ, το 53 % τσάι, το 14 % σοκολατούχα ροφήματα και το 4 % ενεργειακά ποτά, ενώ λιγότερο από 1 % των συμμετεχόντων κατανάλωνε ενεργειακά σφηνάκια. Επίσης, το ποσοστό των συμμετεχόντων που κατανάλωναν καφεϊνούχα ροφήματα κυμαινόταν από 43 % στις ηλικίες 2-5 ετών έως 100 % στις ηλικίες 65 ετών και άνω. Είναι σημαντικό ότι στην ηλικιακή ομάδα 50-64 ετών η κατανάλωση καφεΐνης παρουσίαζε τη μεγαλύτερη κορυφή (226 mg/d) σε σχέση με τις υπόλοιπες ηλικιακές ομάδες που κατά μέσο όρο παρουσίαζαν κατανάλωση καφεΐνης ίση με 165 mg/d. Όπως φάνηκε, σε όλες τις ηλικιακές ομάδες της μελέτης η μέση κατανάλωση καφεΐνης ήταν κάτω από τα συνιστώμενα όρια ασφαλείας που έχει ορίσει ο οργανισμός υγείας του Καναδά (Health Canada). Κάποιες μικρές διαφορές φάνηκαν να υπάρχουν μεταξύ των 2 φύλων οι οποίες εξαλείφθηκαν όταν έγινε διόρθωση των δεδομένων ως προς το βάρος. Η κατανάλωση καφέ αποτελούσε την κύρια πηγή πρόσληψης καφεΐνης σε όλες τις ηλικιακές ομάδες με ποσοστό 64 % (105 mg/d), ακολουθούσαν τα ανθρακούχα αναψυκτικά με 17 % (27,9 mg/d) και το τσάι επίσης με 17 % (27,9 mg/d), ενώ τα ενεργειακά ποτά συμμετείχαν λιγότερο από 2 % (2,6 mg/d).

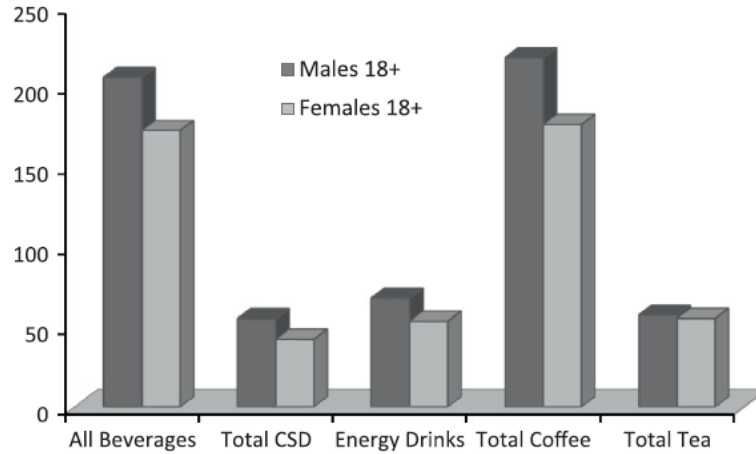
Πίνακας 1-1: Μέση πρόσληψη καφεΐνης (mg/d) καφεϊνούχων ροφημάτων ανάλογα με την ηλικία και το είδος του ροφήματος (7)

Ηλικιακή ομάδα	Δείγμα (n)	Καφεϊνούχα ροφήματα	Καφές	Ανθρακούχα αναψυκτικά	Τσάι	Ενεργειακά ποτά
Σύνολο	37.602	164,5	105,4	27,9	27,9	2,6
2-5	732	23,7	6,1	6,6	9,7	0,3

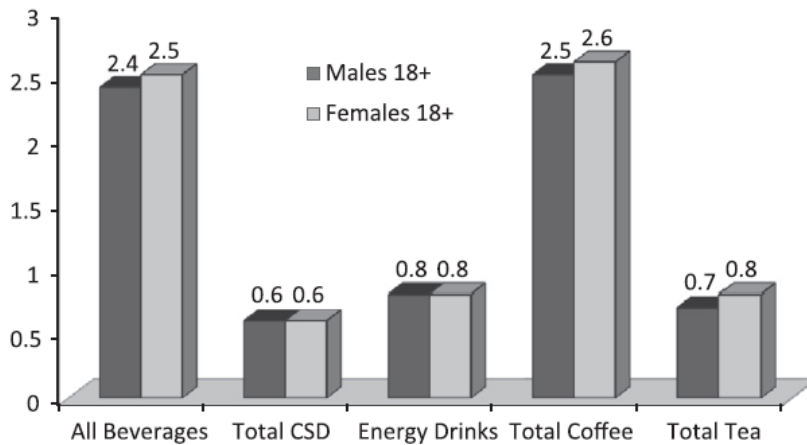
6-12	1.768	36,6	7,8	14,7	11,5	1,9
13-17	1.772	83,2	24,3	28,2	23,8	6,1
18-24	1.178	122,1	60,1	31,4	23,1	6,2
25-34	4.155	137,3	80,1	31,5	21,3	3,6
35-49	9.128	199,1	126,3	37,6	31,8	2,5
50-64	12.691	225,5	158,6	28	37,1	1,3
≥ 65	8.178	207,3	158,7	15,7	31,7	0,9

Όσον αφορά τα ενεργειακά ποτά, είναι άξιο να αναφερθεί ότι αυτά καταναλώνονταν περισσότερο στις ηλικίες 13-24 έτη. Ανάμεσα σε όλες τις ηλικιακές ομάδες, το σοκολατούχο γάλα, το κακάο και τα ενεργειακά σφηνάκια συμμετείχαν περίπου στο 1-2 % της συνολικής πρόσληψης καφεΐνης. Επιπρόσθετα, στα παιδιά και τους εφήβους οι κύριες πηγές πρόσληψης καφεΐνης ήταν τα αναψυκτικά και ακολουθούσαν το τσάι και ο καφές, ενώ στα άτομα 18 ετών και άνω αυτό αντιστράφηκε με τον καφέ να έχει τον πρώτο λόγο στη συνολική πρόσληψη καφεΐνης.

Με την πάροδο των χρόνων, φαίνεται ότι υπάρχει μια τάση για αύξηση της κατανάλωσης καφεΐνης. Έχει παρατηρηθεί ότι τα έτη 1999-2010 η συνολική κατανάλωση καφεΐνης αυξήθηκε σταδιακά από 120 mg/d το 1999 στα 165 mg/d το 2010, δηλαδή αύξηση που αντιστοιχεί σε μισό φλιτζάνι καφέ επιπλέον. Σχετικά με τη συνεισφορά στη συνολική πρόσληψη καφεΐνης, παρατηρήθηκε αύξηση στη πρόσληψη καφέ (από 53 σε 54 %), μείωση στα ανθρακούχα αναψυκτικά (από 29 σε 17 %), ενώ η πρόσληψη καφεΐνης από το τσάι παρέμεινε σταθερή. Επομένως, η αντικατάσταση αυτή των ανθρακούχων αναψυκτικών με καφέ, πιθανότατα συνεισφέρει στην ελαφρά αύξηση στην κατανάλωση καφεΐνης από το 1999 έως το 2010 (7).



Σχήμα 1-1: Μέση πρόσληψη καφεΐνης (mg/d) ανάλογα με το φύλο, από διάφορα καφεϊνούχα ροφήματα (7)



Σχήμα 1-2: Μέση πρόσληψη καφεΐνης (mg/kg/d) ανάλογα με το φύλο, από διάφορα καφεϊνούχα ροφήματα (7)

Στην Ασία και συγκεκριμένα στη νοτιοκορεάτικη μελέτη KNHNES 2010-2012 (**Πίνακας 1-2**), φάνηκε ότι ο μέσος όρος κατανάλωσης καφεΐνης των 21.573 Νοτιοκορεατών που συμμετείχαν στη μελέτη ήταν 66,75 mg/d (77,24 mg/d για τους άνδρες και 58,23 mg/d για τις γυναίκες). Η κατανάλωση καφεΐνης σε ενήλικες 19 ετών και άνω φάνηκε να είναι στα 81,91 mg/d. Είναι επίσης χαρακτηριστικό ότι η ηλικιακή ομάδα 30-49 ετών παρουσίασε την υψηλότερη τάση για κατανάλωση καφεΐνης με συνολικό μέσο όρο κατανάλωσης τα 101,83 mg/d (10).

Πίνακας 1-2: Πρόσληψη καφεΐνης από τον γενικό πληθυσμό των Νοτιοκορεατών (10)

Συνολική μέση πρόσληψη καφεΐνης (mg/d)

Ηλικιακές ομάδες	mg/d	mg/kg/day
Όλες οι ηλικίες	67,75	1,15
Άνδρες	77,24	1,20
Γυναίκες	58,23	1,09
<3	1,38	0,11
3-5	4,4	0,25
6-8	6,97	0,26
9-11	7,53	0,19
12-14	10,05	0,19
15-18	30,04	0,52
19-29	66,19	1,03
30-49	101,83	1,55
50-64	77,05	1,22
65-74	56,53	0,94
≥ 75	44,81	0,82
<i>Ενήλικοι</i>	81,91	1,30

Αναφορικά με την Ευρώπη, η Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA) συνδύασε δεδομένα από διάφορες μελέτες σχετικά με την εξαγωγή συμπερασμάτων για την κατανάλωση καφεΐνης από τον ευρωπαϊκό πληθυσμό. Συγκεκριμένα, τα δεδομένα που συλλέχθηκαν αφορούσαν 39 ευρωπαϊκές έρευνες που πραγματοποιήθηκαν το διάστημα μεταξύ 1997 και 2012 σε 22 διαφορετικές χώρες και συμπεριλάμβαναν 66.531 άτομα. Τα στοιχεία αυτά αφορούσαν ηλικίες νηπίων (12-35 μηνών), παιδιών (3-9 ετών), εφήβων (10-17 ετών), ενηλίκων (18-64 ετών), ηλικιωμένων (65-74 ετών) καθώς και υπερηλίκων (≥ 75 ετών). Η ελάχιστη και μέγιστη πρόσληψη καφεΐνης ήταν 0,3-30,3 mg (0,0-2,1 mg/kg ΣΒ) για τα νήπια, 3,5-47,1 mg (0,2-2,0 mg/kg ΣΒ) για τα παιδιά, 17,6-69,5 mg (0,4-1,4 mg/kg ΣΒ) για τους εφήβους, 36,5-319,4 mg (0,5-4,3 mg/kg ΣΒ) για τους ενήλικες, 22,6-362,1 mg (0,3-4,8 mg/kg ΣΒ) για τους ηλικιωμένους και 21,8-416,8 mg (0,3-6,0 mg/kg ΣΒ) για τους υπερηλίκους.

Στην ομάδα των ενηλίκων, των ηλικιωμένων και των υπερηλίκων φαίνεται ότι την πιο συχνή και σημαντική πηγή πρόσληψης καφεΐνης αποτελούσε ο καφές με ποσοστό συμμετοχής 40-94 %. Ωστόσο, φάνηκε ότι δεν ισχύει το ίδιο σε χώρες όπως η Ιρλανδία και το Ηνωμένο Βασίλειο στις οποίες κύρια πηγή πρόσληψης καφεΐνης αποτελεί το τσάι σε ποσοστά 59 % και 57 % αντίστοιχα. Επιπλέον, τα ροφήματα τύπου κόλα, τα σοκολατούχα ροφήματα και τα ενεργειακά ποτά φάνηκε να συνεισφέρουν σε αμελητέες ποσότητες στην πρόσληψη καφεΐνης στις ηλικιακές ομάδες των ενηλίκων και των ηλικιωμένων. Στην ομάδα των εφήβων, οι κύριες πηγές καφεΐνης διαφέρουν ανάμεσα στις χώρες, με κύρια ροφήματα να είναι η κόλα, ο καφές, το τσάι, και η σοκολάτα. Η συνεισφορά των ενεργειακών ποτών στη συνολική κατανάλωση καφεΐνης στην Ευρώπη σε γενικές γραμμές ήταν ελάχιστη, με τις μεγαλύτερες προσλήψεις να παρατηρούνται στο Ηνωμένο Βασίλειο (11 %), στην Ολλανδία (8,1 %) και στο Βέλγιο (5,3 %). Για τα νήπια, οι κύριες πηγές καφεΐνης ήταν η σοκολάτα και το τσάι (εκτός από το Βέλγιο στο οποίο η κύρια πηγή ήταν τα ροφήματα τύπου κόλα). Για τα παιδιά 3-10 ετών την κύρια πηγή καφεΐνης αποτέλεσε η σοκολάτα, με το τσάι και την κόλα να ακολουθούν, ενώ τα ενεργειακά ποτά δε συμμετείχαν παρά μόνο ελάχιστα στη συνολική πρόσληψη καφεΐνης στην ηλικιακή αυτή ομάδα (11).

Αναφορικά με τα παιδιά, σε άλλη μελέτη (Knight et al., 2006) συγκρίθηκε η κατανάλωση καφεΐνης σε παιδιά ηλικίας 1-5 ετών από τον Καναδά και τις ΗΠΑ. Τα δεδομένα συλλέχθηκαν από δείγμα 658 παιδιών από μεγάλη εθνική μελέτη του Καναδά το 2001 και από 619 παιδιά από εθνική μελέτη των ΗΠΑ του 1999. Το 36 % των παιδιών στον Καναδά και το 58 % των παιδιών στις ΗΠΑ κατανάλωναν κάποιο καφεϊνούχο ρόφημα. Παράλληλα, η μέση ημερήσια πρόσληψη καφεΐνης ανερχόταν στα 6,7 mg για τον Καναδά και περίπου το διπλάσιο (13,5 mg) για τις ΗΠΑ. Η 90^η εκ. θέση κατανάλωσης καφεΐνης ήταν 26,7 mg/d για τα παιδιά στον Καναδά και 37,3 mg/d για τα παιδιά στις ΗΠΑ. Η μελέτη αυτή εκτός από τη μέση κατανάλωση καφεΐνης έδειξε ότι τα ανθρακούχα αναψυκτικά ήταν η βασική πηγή κατανάλωσης καφεΐνης ενώ δεύτερη πηγή ήταν το τσάι χωρίς ωστόσο η μέση κατανάλωση να ξεπερνάει τα ανώτερα επιτρεπόμενα όρια που έχει ορίσει ο οργανισμός Health Canada (12).

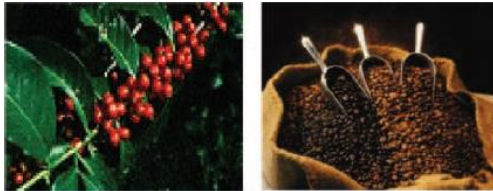
Για τις εγκύους και τις θηλάζουσες, οι οποίες θεωρούνται ομάδες ιδιαίτερης ανησυχίας σχετικά με την κατανάλωση καφεΐνης, δεν υπάρχουν αρκετά επιδημιολογικά δεδομένα ως προς την κατανάλωση καφεΐνης. Στις 39 μελέτες που περιλαμβάνει η αναφορά της EFSA, μόνο μια

μελέτη εστιάζει στην κατανάλωση καφεΐνης από εγκύους, η οποία πραγματοποιήθηκε σε 1002 γυναίκες της Λετονίας, και έδειξε ότι η μέση ημερήσια πρόσληψη καφεΐνης ήταν 109 mg. Σε μια μικρότερη μελέτη στην Ελλάδα, φάνηκε ότι 65 θηλάζουσες γυναίκες είχαν μέση πρόσληψη καφεΐνης 31 mg/d. Αν και δεν υπάρχουν αρκετά επιδημιολογικά στοιχεία και στις 2 μελέτες φάνηκε ότι η μέση ημερήσια κατανάλωση δεν ξεπερνούσε το ανώτατο όριο ασφαλείας (200 mg/d) που έχει οριστεί από την EFSA.

1.3 Ο καφές ως βασική πηγή καφεΐνης

Το δέντρο του καφέ ανήκει στην οικογένεια Rubiaceae, του γένους *Coffea*. Από τα 80 και περισσότερα είδη καφέ που έχουν αναγνωρισθεί μόνο 2 παρουσιάζουν ιδιαίτερη οικονομική σημαντικότητα. Το πιο διαδεδομένο είδος καφέ είναι το *Coffea arabica* ή Arabica coffee, που καταλαμβάνει το 70 % της παγκόσμιας αγοράς, ενώ το υπόλοιπο 30 % καταλαμβάνει το *Coffea canephora* ή Robusta coffee (Εικόνα 1-1). Τα 2 αυτά είδη διαφέρουν σε πολλά σημεία, όπως το ιδανικό κλίμα ανάπτυξης, τη σύστασή τους και τη φυσική τους όψη. Δεκαετίες τώρα, ο καφές αποτελεί ένα από τα πιο εμπορικοποιημένα και καταναλισκόμενα ροφήματα στον κόσμο, όπως αποδεικνύεται από το έτος 2010 όπου η παραγωγή του άγγιξε τα 8,1 εκ. τόνους (500 δισ. κούπες) (13), ενώ, όπως φαίνεται το 2018, η παραγωγή αυτή άγγιξε τα 9,5 εκ. τόνους (14). Οι χώρες με τη μεγαλύτερη κατανάλωση καφέ είναι οι ΗΠΑ, η Βραζιλία, η Γερμανία, η Ιαπωνία και η Ιταλία. Ωστόσο, η κατά κεφαλήν κατανάλωση καφέ είναι μεγαλύτερη σε χώρες της Βόρειας Ευρώπης όπως η Φιλανδία, η Νορβηγία, η Δανία και η Σουηδία, με ποσότητες που φτάνουν τα 8 kg ανά έτος, δηλαδή ποσότητες κάτι περισσότερο από διπλάσιες σε σχέση με τις ΗΠΑ και τη Βραζιλία (13). Διάφορες αιτίες εμπλέκονται στη συνεχόμενη αύξηση της ζήτησης και της κατανάλωσης του καφέ μεταξύ των οποίων είναι η επιλογή καλύτερων ποικιλιών και καλύτερης ποιότητας καφέ, πιο βελτιωμένες πρακτικές γεωργίας, η δημιουργία καταστημάτων που εξειδικεύονται στον καφέ και οι ολοένα και περισσότερο αυξανόμενες πληροφορίες σχετικά με τις θετικές επιδράσεις που προσφέρει η συστηματική κατανάλωση καφέ στην υγεία. Εξάλλου, εξαιτίας των ιδιαίτερων συστατικών του όπως είναι τα αντιοξειδωτικά αλλά και των θετικών επιδράσεων στην υγεία, ο καφές συγκαταλέγεται στα «λειτουργικά» τρόφιμα. Τόσο το χαρακτηριστικό του άρωμα όσο και η γεύση του είναι στοιχεία που τον καθιστούν ως ένα μοναδικό ρόφημα με σχεδόν χιλιάδες πτητικές ενώσεις που απαντώνται σε αυτόν (15).

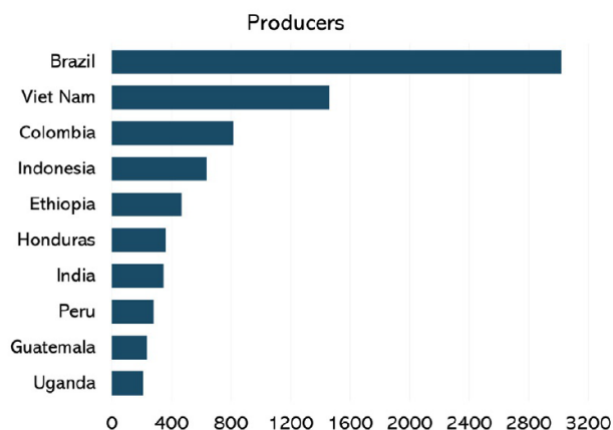
Kingdom: *Plantae*
Division: *Magnoliophyta*
Class: *magnoliopsida*
Order: *Gentianales*
Family: *Rubiaceae*
Genus: *Coffea*
Species: *Arabica; Canephora*



Εικόνα 1-1: Βοτανική ταξινόμηση του καφέ (16)

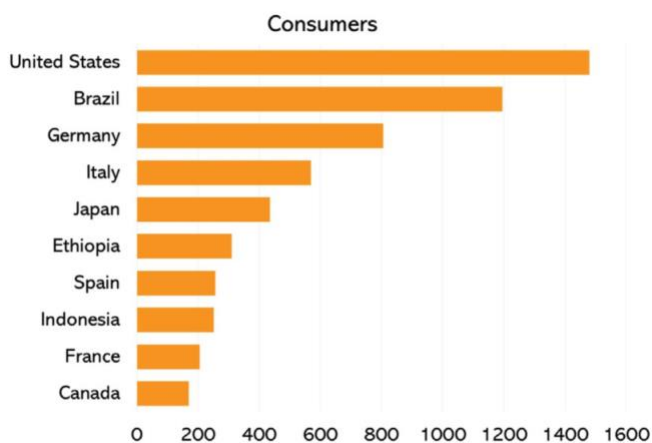
1.3.1 Στατιστικά στοιχεία παραγωγής καφέ

Η παγκόσμια παραγωγή πράσινων καρπών καφέ άγγιξε τα 9,2 εκ. τόνους το 2016 και τα 9,5 εκ τόνους το 2018. Η εμπορική αξία του καφέ στη παγκόσμια αγορά το 2016 ξεπέρασε τα 30 δισ. δολάρια. Η χώρα με τη μεγαλύτερη παραγωγή καφέ στον κόσμο είναι η Βραζιλία με ετήσια παραγωγή 3 εκ. τόνους και ακολουθούν το Βιετνάμ, η Κολομβία και η Ινδονησία, καταλαμβάνοντας το 63 % της συνολικής παραγωγής (**Σχήμα 1-3**). Ο παραγόμενος καφές, εξάγεται χωρίς να έχει υποστεί οποιαδήποτε επεξεργασία. Το 50 % από τους παραγόμενους σπόρους εισάγεται από τις ΗΠΑ, τη Γερμανία, την Ιταλία και την Ιαπωνία. Παρόλο που πολλοί από τους εισαγόμενους σπόρους καφέ προορίζονται για την εγχώρια αγορά, κάποιες χώρες επανεξάγουν ένα μέρος τους είτε ωμών είτε κατόπιν επεξεργασίας σε άλλες χώρες. Για παράδειγμα, η Γερμανία, ενώ δεν συμμετέχει στην παραγωγή καφέ, αποτελεί τον πέμπτο μεγαλύτερο εξαγωγέα πράσινων σπόρων καφέ.



Σχήμα 1-3: Οι χώρες με τη μεγαλύτερη παραγωγή καφέ παγκοσμίως (17)

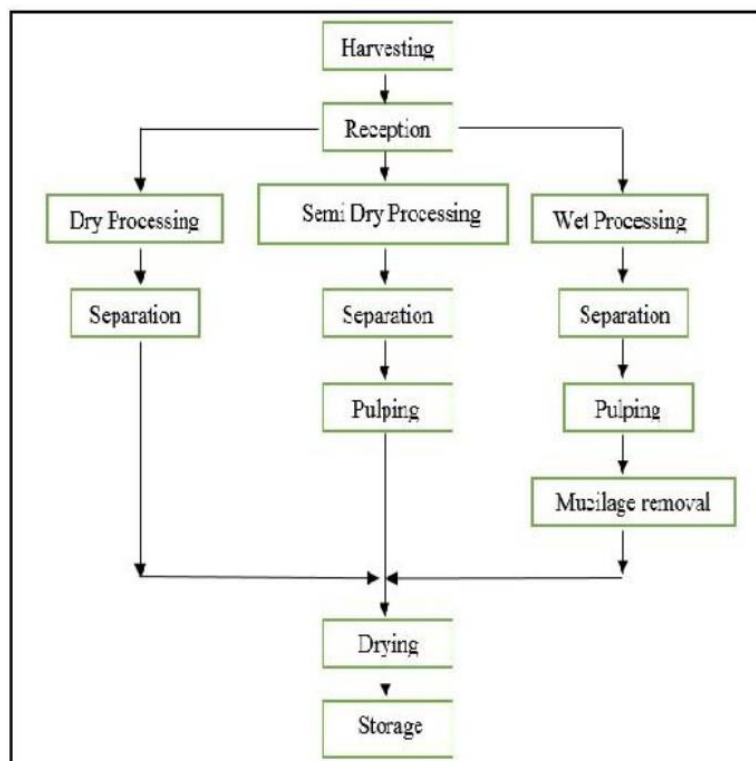
Αναφορικά με την κατανάλωση καφέ, η παγκόσμια ετήσια κατά κεφαλήν κατανάλωση καφέ αγγίζει τα 1,3 kg. Οι ΗΠΑ και η Βραζιλία καταλαμβάνουν το 28 % της παγκόσμιας κατανάλωσης ίση με 4,5-5,8 kg τον χρόνο ανά άτομο (Σχήμα 1-4). Επιπλέον, οι χώρες με τη μεγαλύτερη κατά κεφαλήν κατανάλωση καφέ είναι χώρες της Βόρειας Ευρώπης, όπως η Φινλανδία, η Σουηδία και η Ισλανδία (6 kg τον χρόνο ανά άτομο) (17).



Σχήμα 1-4: Οι χώρες με τη μεγαλύτερη κατανάλωση καφέ παγκοσμίως (17)

1.3.2 Καλλιέργεια και επεξεργασία καφέ και ροφημάτων του

Η διαδικασία της μεταφοράς των καρπών του καφέ στον καταναλωτή μετά τη συγκομιδή ως ρόφημα, είναι κάτι που απαιτεί μια σειρά από βήματα. Η καλή ποιότητα του καφέ εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τον σωστό έλεγχο των βημάτων αυτών. Μετά τη συγκομιδή, οι καρποί του καφέ υποβάλλονται σε πρωτογενή επεξεργασία για τον διαχωρισμό των σπόρων. Η δευτερογενής επεξεργασία, που περιλαμβάνει την αποκαφεϊνοποίηση ή την κατεργασία με ατμό, πραγματοποιείται πριν το ψήσιμο, ενώ μετά το ψήσιμο ο καφές αλέθεται και συσκευάζεται ή υποβάλλεται σε περαιτέρω επεξεργασία για την παραγωγή στιγμιαίου καφέ.



Εικόνα 1-2: Τα βασικά στάδια επεξεργασίας των σπόρων του καφέ (18)

Πράσινο καφέ

Ένα βασικό στάδιο για την παραγωγή καλής ποιότητας καφέ είναι οι καλές μέθοδοι συγκομιδής. Καθώς η διαδικασία καλλιέργειας και επεξεργασίας είναι σημαντική για την ποιότητα του καφέ, ο βαθμός ωριμότητας των καρπών αλλά και η αποφυγή της επιμόλυνσης με μούχλα κατά τη συγκομιδή, την ξήρανση και την αποθήκευση είναι καίριας σημασίας (13). Η διαδικασία της συγκομιδής των καρπών του καφέ μπορεί να πραγματοποιηθεί με 3 τρόπους:

- ✓ συλλογή των καρπών με το χέρι
- ✓ απογύμνωση του κλαδιού
- ✓ μηχανική συγκομιδή

Η κάθε μέθοδος παρουσιάζει τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματά της. Η μέθοδος συλλογής των καρπών με το χέρι είναι η καλύτερη συγκριτικά με τις υπόλοιπες ως προς την ποιότητα των σπόρων, όσον αφορά τη γεύση και την υγεία τους. Ωστόσο, είναι εξαιρετικά χρονοβόρα, αν λάβει και κανείς υπόψιν ότι οι καρποί δεν ωριμάζουν ταυτόχρονα, και επιπλέον έχει αυξημένο

κόστος. Σχετικά με τη μέθοδο απογύμνωσης του κλαδιού εγκυμονεί ο κίνδυνος να συλλεχθούν ανώριμοι, ώριμοι και υπερώριμοι σπόροι μαζί και με τα φύλλα. Η μηχανική συγκομιδή γίνεται ανακινώντας τα δέντρα ή μέσω μιας συσκευής χτένας που απογυμνώνει τα κλαδιά, ωστόσο η μέθοδος αυτή έχει αρκετά ελαττώματα καθώς μπορεί να αναμειχθούν πέτρες, κλαδιά και τσόφλια μαζί με τους καρπούς (19).

Το επόμενο στάδιο μετά τη συγκομιδή περιλαμβάνει την απομάκρυνση της πούλπας μέσω χρήσης υγρών ή ξηρών μεθόδων. Στις ξηρές μεθόδους (ξήρανση στον ήλιο ή ξηραντές αέρα) ο σπόρος εκτίθεται μέχρι η υγρασία να φτάσει περίπου στο 10-12 %. Μετά την ξήρανση οι καρποί καθαρίζονται και αποφλοιώνονται, ενώ παράλληλα απομακρύνεται το δέρμα και η πούλπα και παραμένει ένα κολλώδες υλικό στην επιφάνεια του καρπού. Για την παραλαβή καλής ποιότητας καφέ, οι σπόροι ταξινομούνται και διαχωρίζονται σε καλής και κακής ποιότητας. Γενικότερα, η υγρή επεξεργασία θεωρείται ότι παράγει καλύτερης ποιότητας αφέψημα. Πριν την αποφλοιώση και τον διαχωρισμό των σπόρων, αυτοί συγκεντρώνονται για επιλογή σε μια δεξαμενή επίπλευσης, αφού έχει προηγηθεί μούλιασμα και ζύμωση. Η ζύμωση των ενζύμων αποβάλλει το ασημί χρώμα των σπόρων και προκαλεί μείωση του pH (pH=4,5), ενώ στη συνέχεια οι σπόροι πλένονται, γυαλίζονται και ξηραίνονται ενδεδειχώς.

Η βασική διαφορά μεταξύ των διαδικασιών επεξεργασίας είναι ότι στην υγρή επεξεργασία οι σπόροι του καφέ διαχωρίζονται από την πούλπα και τη φλούδα τους πριν την ξήρανση. Μια εναλλακτική μέθοδος που έχει αναπτυχθεί στη Βραζιλία είναι η φυσική επεξεργασία των σπόρων, η οποία συνδυάζει μέρος της υγρής και ξηρής κατεργασίας. Αυτό που ουσιαστικά συμβαίνει στη μέθοδο αυτή είναι ότι το πλύσιμο και η επιλογή των σπόρων γίνεται σε δεξαμενή επίπλευσης χωρίς να έχει προηγηθεί ζύμωση. Οι σπόροι του καφέ που επεξεργάζονται με τέτοιου είδους διαδικασίες συνήθως χρησιμοποιούνται σε μείγματα καφέ εσπρέσο επειδή τείνουν να προσθέτουν μεγαλύτερο όγκο στο ρόφημα, σε σχέση με την υγρή επεξεργασία, διότι οι πολυσακχαρίτες στον ασημί φλοιό δεν ζυμώνονται και διατηρούνται στον σπόρο. Αφού οι σπόροι ξηρανθούν, ο καφές μετριέται σε μέγεθος, βαθμολογείται και μηχανικά ή χειροκίνητα και/ή ηλεκτρονικά ταξινομείται για ανίχνευση και απομάκρυνση των ελαττωματικών σπόρων. Οι καλοί πράσινοι σπόροι είναι έτοιμοι για ψήσιμο ενώ οι υπόλοιποι υποβάλλονται σε αποκαφεϊνοποίηση, άτμιση ή αποθήκευση πριν το ψήσιμό τους (13).

Αποκαφεϊνοποιημένος καφές

Η παραγωγή και διαθεσιμότητα καλής ποιότητας αποκαφεϊνοποιημένου (decaffeinated) καφέ έχει αποτελέσει άλλη μια επιλογή για τους καταναλωτές και κυρίως για ανθρώπους με προβλήματα υγείας ή για όσους βρίσκονται σε αναζήτηση για έναν πιο υγιεινό τρόπο ζωής (20). Η συνεχής αυτή αναζήτηση για έναν καλύτερο τρόπο ζωής είναι και η αιτία για την αύξηση της αγοράς του αποκαφεϊνοποιημένου καφέ (13). Η αποκαφεϊνοποίηση του καφέ πραγματοποιείται πριν από το ψήσιμο του σπόρου. Οι ελάχιστα δαπανηρές αυτές μέθοδοι εκχύλισης χρησιμοποιούν οργανικό διαλύτη και νερό/ατμό πριν και μετά την εκχύλιση για να πλύνουν τους σπόρους και να ανοίξουν οι πόροι τους. Μετά την απομάκρυνση της καφεΐνης οι σπόροι ξηραίνονται προκειμένου να αποκτήσουν υγρασία παρόμοια με τα επίπεδα πριν την επεξεργασία (21).

Η ποσότητα της καφεΐνης που εκχυλίζεται από τους σπόρους καφέ αποτελεί ένα χρήσιμο συστατικό για τη χρήση του σε διάφορα εμπορικά προϊόντα όπως τα ροφήματα τύπου κόλα και κάποιες φαρμακευτικές ουσίες. Κατά τη διαδικασία της αποκαφεϊνοποίησης χάνονται συστατικά κλειδιά που αποδίδουν άρωμα στον καφέ. Παρόλα αυτά, για να λυθεί αυτό το πρόβλημα έχουν δημιουργηθεί συσκευές που επαναφέρουν τα συστατικά που χάθηκαν κατά την εκχύλιση ή διαφορετικά το άρωμα προστίθεται εξωγενώς με σκοπό ο καφές να αποκτήσει το επιθυμητό άρωμα. Ιδιαίτερης σημασίας είναι η ανησυχία που προκύπτει ύστερα από την αποκαφεϊνοποίηση του καφέ για την ποσότητα διχλωρομεθάνιου που απομένει. Ωστόσο, εξαιτίας του χαμηλού σημείου βρασμού (40 °C) που έχει η ουσία αυτή και των υψηλών θερμοκρασιών που χρησιμοποιούνται κατά την επεξεργασία των σπόρων, παραμένουν ελάχιστες ποσότητες διχλωρομεθάνιου, περίπου 100 φορές χαμηλότερες από τα όρια που έχουν θέσει διάφοροι οργανισμοί (13).

Καφές επεξεργασμένος με ατμό

Πριν το ψήσιμό του, ο καφές μπορεί να υποβάλλεται σε επεξεργασία με ατμό προκειμένου να γίνει λιγότερο ερεθιστικός για το στομάχι. Η επεξεργασία αυτή καθιστά αυτού του είδους τον καφέ πιο αποδεκτό από τους καταναλωτές με προβλήματα του γαστρεντερικού συστήματος. Για τον λόγο αυτό, οι καφέδες αυτοί ονομάζονται «φιλικό για το στομάχι». Η αιτία όμως για την οποία το στομάχι αποδέχεται καλύτερα αυτόν τον καφέ είναι η απώλεια της περιεκτικότητάς του σε χλωρογενικά οξέα κατά την επεξεργασία με ατμό (13). Επίσης, κατά

την επεξεργασία με ατμό περιορίζονται συστατικά όπως η καφεόλη, η πυρογαλλόλη και η υδροκινόνη, ενώ βελτιώνεται και το άρωμά του (22).

Καφές μουσώνων (monsooned coffee)

Ο καφές που έχει εκτεθεί στους μουσώνες αποτελεί ένα ειδικό είδος καφέ παγκοσμίως που παρασκευάζεται μόνο στην Ινδία. Το ιδιαίτερο χαρακτηριστικό που αφορά την παραγωγή του είναι η έκθεση των σπόρων καφέ τόσο Arabica όσο και Robusta στους μουσώνες στις περιοχές της δυτικής ακτής της Νότιας Ινδίας, όπως η περιοχή Μαλαμπάρ. Με την έκθεση στο κλίμα αυτό που επικρατεί συγκεκριμένους μήνες του χρόνου οι σπόροι χωρίς να έχουν πλυθεί και σε στερεή κατάσταση υποβάλλονται σε ζύμωση. Οι σπόροι εκτίθενται στον υγρό αέρα των μουσώνων για 6-7 εβδομάδες σε ανοιχτές αποθήκες. Η υγρασία που προσλαμβάνουν οι υγροσκοπικοί εκ φύσεως σπόροι, μπορεί να φτάνει από 10 % έως και 16 %. Θεωρείται ότι οι καφέδες αυτοί παρουσιάζουν εμφανή διαφορετικά χημικά, φυσικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά σε σχέση με τον φυσικό καφέ (23). Η έκθεση στην υψηλή υγρασία της θάλασσας και στον αέρα των μουσώνων προκαλεί διόγκωση των σπόρων και μεταβάλλει το χρώμα τους σε ήπιο κίτρινο. Η εξαγωγή του καφέ αυτού πραγματοποιείται σε διάφορες χώρες ανάμεσα στις οποίες είναι χώρες της Ασίας, της Ευρώπης, της Αφρικής και της Βόρειας Αμερικής. Είναι γνωστό ότι ο καφές αυτός έχει χαρακτηριστικά ενός καφέ ήπιας οξύτητας, με ευχάριστο άρωμα και γεύση (13).

Ψήσιμο του καφέ (καβούρδισμα)

Το άρωμα του πράσινου καφέ είναι αρκετά διαφορετικό από ότι στην πραγματικότητα πιστεύεται. Το άρωμα και η γεύση του καφέ είναι χαρακτηριστικά που σχηματίζονται κατά το καβούρδισμα των σπόρων (13). Το ψήσιμο αποτελεί το πιο κρίσιμο κομμάτι της επεξεργασίας του καθώς τόσο οι συνθήκες ψησίματος όσο και ο στενός έλεγχος της θερμοκρασίας που αναπτύσσεται αποτελούν σημαντικούς παράγοντες. Η διαδικασία του καβουρδίσματος σταματάει όταν οι σπόροι αρχίσουν να βγάζουν πλούσιο άρωμα αλλά και όταν αναπτυχθεί το κατάλληλο σε όλους τους σπόρους χρώμα. Η έκταση των αντιδράσεων που πραγματοποιούνται εξαρτάται από τον ρυθμό (που εξαρτάται από τη θερμοκρασία και τη συγκέντρωση της αντιδρούσας ουσίας) και τη διάρκειά τους (24).

Παρόλο που το ψήσιμο σαν διαδικασία επεξεργασίας φαίνεται κάτι απλό, αντιθέτως, η χημεία της γεύσης που αναπτύσσεται κατά το ψήσιμο είναι κάτι πολύ πιο περίπλοκο και όχι απόλυτα κατανοητό. Οι υψηλές θερμοκρασίες που υποβάλλονται οι σπόροι είναι και η αιτία που εξελίσσονται μια σειρά από φυσικές και χημικές μεταβολές. Οι πιο κοινοί φούρνοι που συνήθως χρησιμοποιούνται τόσο για οικιακή χρήση όσο και σε επίπεδο βιομηχανίας είναι οι φούρνοι τύπου τυμπάνου (drum roasters) στους οποίους οι σπόροι υπόκεινται σε άμεση επαφή με τη φωτιά και/ή με μια καυτή επιφάνεια. Επίσης, οι πιο καινούριοι φούρνοι που έχουν δημιουργηθεί είναι αυτοί του τύπου ρευστοποιημένης κλίνης (fluid bed roasters) όπου οι σπόροι έρχονται σε επαφή με καυτά αέρια. Οι θερμοκρασίες που απαιτούνται για το καβούρδισμα του καφέ εξαρτώνται από τον τύπο του φούρνου. Παρόλα αυτά οι θερμοκρασίες που συνήθως χρησιμοποιούνται είναι 210-240 °C. Οι χημικές αντιδράσεις που αφορούν μεταβολές στο άρωμα και τη γεύση πυροδοτούνται γύρω στους 190 °C, με πιο σημαντικές τις αντιδράσεις Maillard (13).

Εκχύλιση καφέ (coffee brewing)

Μια ακόμη παράμετρος που επηρεάζει τη χημική σύσταση του καφέ είναι η μέθοδος εκχύλισης. Οι πιο γνωστές μέθοδοι εκχύλισης καφέ παγκοσμίως είναι το φιλτράρισμα, ο βραστός καφές, ο ηλεκτρικός παρασκευαστής καφέ, η μηχανή εσπρέσο, ο ιταλικός παρασκευαστής καφέ και η Γαλλική πρέσα (13). Η πιο διάσημη μέθοδος εκχύλισης είναι η εκχύλιση με φίλτρο αλλά τα τελευταία χρόνια εξίσου δημοφιλής έχει γίνει και ο εσπρέσο. Συνήθως για την εκχύλιση του καφέ χρησιμοποιείται ζεστό νερό και οι ειδικοί πάνω στον τομέα του καφέ συνιστούν οι θερμοκρασίες να μην ξεπερνούν τους 90-95 °C. Ορισμένοι άνθρωποι ωστόσο ακολουθούν διαφορετικές πρακτικές και συνηθίζουν να βράζουν τον καφέ για μερικά λεπτά πριν τον φιλτράρουν. Σε κάθε περίπτωση, όμως, οι τεχνικές που εφαρμόζονται, όπως για παράδειγμα ο λόγος καφέ/νερό, η θερμοκρασία του νερού και η πίεσή του, συμβάλλουν σημαντικά στη διαφορετική χημική σύσταση του εκχυλίσματος (25).

1.3.3 Χημική σύσταση καφέ

Οι επιδράσεις του καφέ στην υγεία, είτε αυτές είναι θετικές είτε αρνητικές, προέρχονται από τα ιδιαίτερα συστατικά που περιέχει τα οποία είτε δεν βρίσκονται στη δίαιτα του ανθρώπου είτε τα παρέχει ο καφές σε τέτοιες ποσότητες ώστε οι υπόλοιπες πηγές να μη μπορούν να συγκριθούν μαζί του. Η σύσταση του πράσινου καφέ έχει μελετηθεί εκτενώς και είναι γνωστό ότι χαρακτηριστικά όπως γενετικοί παράγοντες, συγκεκριμένα είδη καφέ και ο βαθμός ωρίμανσης των σπόρων επηρεάζουν σημαντικά τη περιεκτικότητα του σε διάφορα χημικά συστατικά (26). Παράλληλα, εξωτερικοί παράγοντες όπως η σύσταση του εδάφους, το κλίμα, οι γεωργικές πρακτικές και οι συνθήκες αποθήκευσης επιδρούν στη φυσιολογία και στη χημική σύσταση του καφέ, σε μικρότερο, ωστόσο, βαθμό. Επομένως, σε περίπτωση σύγκρισης των συστατικών καφέ, οι παράγοντες αυτοί δεν πρέπει να παραλείπονται. Η γεύση του καφέ υψηλής ποιότητας μπορεί να διαφέρει σε μεγάλο βαθμό συγκριτικά με άλλα δείγματα του ίδιου είδους και μιας ποικιλίας που μεγαλώνει σε διαφορετικές περιοχές.

Τα 2 διαφορετικά και πιο γνωστά είδη καφέ (*C. arabica* και *C. canephora*) μπορεί να διαφέρουν σημαντικά στη σύστασή τους (**Πίνακας 1-3**). Ο καφές Robusta περιέχει περισσότερα αντιοξειδωτικά συστατικά, καφεΐνη και υδατοδιαλυτά στερεά. Ο καφές Arabica παρέχει καλύτερη ποιότητα καφέ με εξαιρετικό άρωμα και πιο έντονη γεύση συγκριτικά με τον καφέ Robusta. Επομένως, είναι εμφανές ότι ο καφές Robusta φτάνει κατά το ήμισυ τα χαρακτηριστικά του καφέ Arabica (13).

Όσον αφορά την περιεκτικότητα σε διάφορα συστατικά, ο πράσινος καφές είναι πλούσιος σε υδατάνθρακες καθώς καταλαμβάνουν περίπου το 60 % του ξηρού του βάρους. Σε αυτούς περιέχονται τόσο διαλυτοί όσο και αδιάλυτοι πολυσακχαρίτες, μονοσακχαρίτες (π.χ. γλυκόζη, γαλακτόζη κ.α.), δισακχαρίτες και ολιγοσακχαρίτες. Κάποιοι από τους μονοσακχαρίτες βρίσκονται κυρίως στη φλούδα του σπόρου και στο περικάρπιο κυρίως λόγω επιμολύνσεων παρά ως συστατικό του σπόρου. Τα λιπίδια απαντώνται σε ποσοστό 8-18 % του ξηρού βάρους των σπόρων με την ποικιλία Arabica να παρουσιάζει μεγαλύτερες συγκεντρώσεις λιπιδίων σε σχέση με την ποικιλία Robusta. Από αυτά, ένα μεγάλο ποσοστό αποτελείται από τριγλυκερίδια (75 %) και όλο το υπόλοιπο από στερόλες, λιπαρά οξέα (π.χ. λινελαϊκό, λινολενικό, ελαϊκό, παλμιτικό, στεατικό, αραχιδονικό κ.α.), καφεστόλη και καχεόλη. Οι πρωτεΐνες, τα πεπτίδια αλλά και τα ελεύθερα αμινοξέα καταλαμβάνουν το 9-16 % του ξηρού βάρους του πράσινου

καφέ. Τα κύρια αμινοξέα που απαντώνται είναι η ασπαραγίνη, το γλουταμινικό οξύ, η αλανίνη, το ασπαρτικό οξύ και η λυσίνη. Επιπλέον, ο καφές περιέχει και σημαντικά ποσοστά σε καφεΐνη, τριγωνελλίνη, θεοβρωμίνη και θεοφυλλίνη. Επιπλέον, αυξημένη είναι η περιεκτικότητα των πολυφαινολών (6-10 %) του πράσινου καφέ οι οποίες απαντώνται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στην ποικιλία Robusta.

Πίνακας 1-3: Περιεκτικότητα καρπού καφέ (/100 g) σε μακρο- και μικρο-θρεπτικά συστατικά

Συστατικά	Coffea arabica	Coffea canephora
Υδατάνθρακες		
<i>Σακχαρόζη</i>	6,0-9,0	0,9-4,0
<i>Ανάγοντα σάκχαρα</i>	0,1	0,4
<i>Πολυσακχαρίτες</i>	34-44	48-55
<i>Λιγνίνη</i>	3,0	3,0
<i>Πηκτίνη</i>	2,0	2,0
Αζωτούχες ενώσεις		
<i>Πρωτεΐνες/πεπτίδια</i>	10,0-11,0	11,0-15,0
<i>Ελεύθερα αμινοξέα</i>	0,5	0,8-1,0
<i>Καφεΐνη</i>	0,9-1,3	1,5-2,5
<i>Τριγωνελλίνη</i>	0,6-2,0	0,6-0,7
Λιπίδια		
<i>Λάδι καφέ (τριγλυκερίδια με μη σαπυνοποιήσιμες στερόλες/τοκοφερόλες)</i>	15,0-17,0	7,0-10,0
<i>Διτερπένια (ελεύθερα και εστεροποιημένα)</i>	0,5-1,2	0,2-0,8
Ανόργανα στοιχεία	3,0-4,2	4,4-4,5
Οξέα και εστέρες		
<i>Χλωρογενικά οξέα</i>	4,1-7,9	6,1-11,3
<i>Αλειφατικά οξέα</i>	1,0	1,0
<i>Κινικό οξύ</i>	0,4	0,4

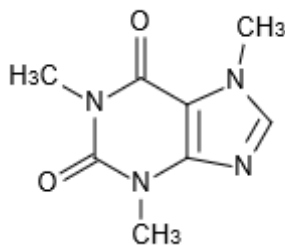
(13)

1.3.4 Περιεκτικότητα σε βιοδραστικά συστατικά

Ο καφές περιέχει μια σειρά από βιοδραστικά συστατικά τα οποία συμβάλλουν σημαντικά τόσο στη γεύση των ροφημάτων του καφέ όσο και στις διάφορες επιδράσεις τους στην ανθρώπινη υγεία (13).

Καφεΐνη

Η καφεΐνη ή αλλιώς 1,3,7-τριμεθυλοξανθίνη (**Εικόνα 1-3**), είναι ένα αλκαλοειδές που ανήκει στις πουρίνες, έχει μοριακό βάρος 194.1906 g/mol και μοριακή δομή τριμεθυλοξανθίνης. Η καθαρή καφεΐνη είναι λευκή, με τη μορφή prisματικών κρυστάλλων και άοσμη με ελαφρώς πικρή γεύση και ελαφρώς όξινο pH (pH 6,9). Το χημικό αυτό συστατικό είναι εξαιρετικά ευδιάλυτο στο νερό καθώς επίσης και σε μια σειρά από μη πολικούς οργανικούς διαλύτες (27). Εξαιτίας του ότι κατά τη βιοσύνθεσή της δεν ενσωματώνεται κάποιο αμινοξύ, ορισμένοι στη βιβλιογραφία την αναφέρουν και ως ψευδοαλκαλοειδές. Η καφεΐνη είναι το πιο άφθονο αλκαλοειδές στα τρόφιμα, με τον καφέ να αποτελεί την πιο πλούσια πηγή .



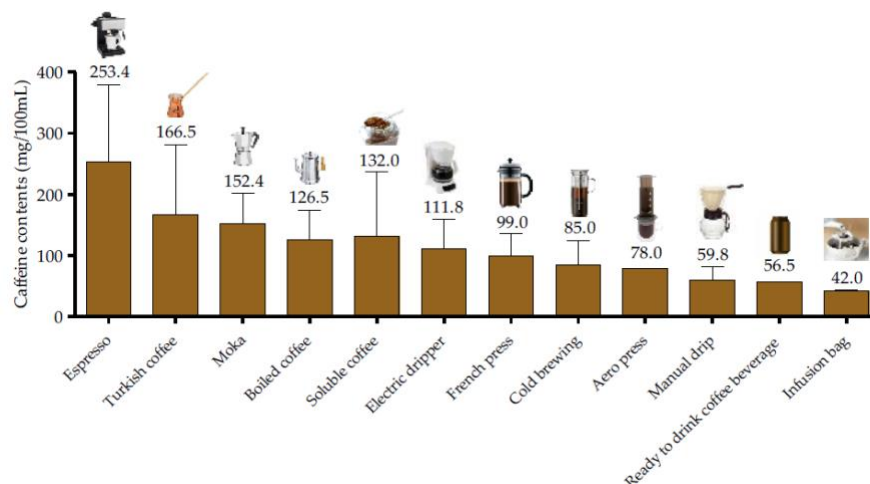
Εικόνα 1-3: Η χημική δομή της καφεΐνης (28)

Η περιεκτικότητα των πράσινων σπόρων καφέ σε καφεΐνη παρουσιάζει διακυμάνσεις. Η περιεκτικότητα του είδους *C. Arabica* κυμαίνεται από 0,7 έως 1,7 g/100 g ξηρού βάρους, ενώ του είδους *C. Canephora* ποικίλει και κυμαίνεται από 1,4 έως 3,3 g/100 g ξηρού βάρους. Σε γενικές γραμμές οι σπόροι *C. Canephora* περιέχουν 40-70 % περισσότερη καφεΐνη συγκριτικά με τους σπόρους *C. Arabica*. Ο γενετικός παράγοντας αποτελεί την κύρια αιτία από την οποία εξαρτάται η περιεκτικότητα των ακατέργαστων πράσινων σπόρων σε καφεΐνη, ειδικότερα μεταξύ των ειδών, και σε μικρότερο βαθμό μεταξύ των ποικιλιών. Η επίδραση του περιβάλλοντος, οι γεωργικές πρακτικές και η επεξεργασία μετά τη συγκομιδή των σπόρων φαίνεται να επηρεάζουν λιγότερο την περιεκτικότητα των σπόρων σε μεθυλοξανθίνες σε σύγκριση με τα γονίδια και τη δευτερογενή διεργασία της αποκαφεΐνοποίησης. Επιπρόσθετα, η

τελική περιεκτικότητα του καφέ σε καφεΐνη διαφέρει από το αρχικό προϊόν που είναι οι σπόροι, συγκριτικά με την περιεκτικότητα του ροφήματος που τελικά φτάνει στον καταναλωτή.

Λόγω της θερμικής σταθερότητας της καφεΐνης, το καβούρδισμα του καφέ φαίνεται να επηρεάζει ελάχιστα την αποσύνθεσή της και άρα την περιεκτικότητά της στον καφέ. Οι ελάχιστες ποσότητες καφεΐνης που μπορεί να χάνονται κατά το καβούρδισμα οφείλονται στην εξάχνωση της καφεΐνης. Επίσης, ενώ στις χώρες του Δυτικού κόσμου ο εμπορικός ψημένος αλεσμένος καφές σε γενικές γραμμές απαρτίζεται από σπόρους *C. Arabica* και κατά ένα μικρό ποσοστό από *C. Canephora*, σε κάποιες χώρες είναι πιθανό ο στιγμιαίος καφές να παράγεται κυρίως από σπόρους *C. Canephora* με αποτέλεσμα τη μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε υδατοδιαλυτά στερεά στο ρόφημα. Το γεγονός αυτό εξηγεί και τα μεγαλύτερα ποσοστά καφεΐνης που συχνά παρατηρούνται στους ανασυσταμένους στιγμιαίους καφέδες που αγοράζονται σε χώρες όπως η Βραζιλία.

Το περιεχόμενο σε καφεΐνη του εκχυλισμένου καφέ είναι στενά συνδεδεμένο με τις διεγερτικές του ιδιότητες ενώ συνεισφέρει κατά περίπου 10 % στην πικρότητά του. Η τελική ποσότητα σε καφεΐνη που προσλαμβάνει ο καταναλωτής εξαρτάται από όλους τους παράγοντες που επηρεάζουν την περιεκτικότητα των σπόρων σε καφεΐνη, συμπεριλαμβανομένης της σύστασης του μείγματος που εξαρτάται κυρίως από τους γενετικούς παράγοντες, τον βαθμό της ωριμότητας και τη μέθοδο που χρησιμοποιείται για την εκχύλιση του καφέ, η οποία μπορεί να διαφέρει αρκετά ανάλογα με τις κοινωνικές και πολιτισμικές συνήθειες της κάθε χώρας. Η καφεΐνη εκχυλίζεται εύκολα με τις πιο συνήθεις μεθόδους ζεστής εκχύλισης. Οι μέθοδοι φιλτραρίσματος και αφέψησης τείνουν να εκχυλίζουν περισσότερο από τις μεθόδους εμβάπτισης οι οποίες έχουν χαμηλή ισχύ εκχύλισης. Ωστόσο, εκτός από τις μεθόδους εκχύλισης για την εξαγωγή της καφεΐνης, πολύ σημαντικό ρόλο διαδραματίζουν επίσης και η αναλογία του νερού προς τη σκόνη καφέ, η θερμοκρασία του νερού, το μέγεθος των σωματιδίων του καφέ και η διάρκεια της εκχύλισης. Συνεπώς, η περιεκτικότητα σε καφεΐνη διαφέρει ανάμεσα στα διάφορα είδη καφέ με διαφορετικά χαρακτηριστικά παρασκευής (**Σχήμα 1-5**) (28).



Σχήμα 1-5: Μέση περιεκτικότητα καφεΐνης (mg/100 mL) στα διάφορα ροφήματα καφέ

Χλωρογενικό οξύ

Διάφορες πολυφαινόλες, όπως και τα χλωρογενικά οξέα, απαντώνται στον καφέ και θεωρούνται αντιοξειδωτικοί παράγοντες. Το χλωρογενικό οξύ (CGA) είναι μια από τις πιο γνωστές ενώσεις πολυφαινολών και προσλαμβάνεται από τους ανθρώπους με τη μορφή ροφημάτων. Είναι μια ομάδα δευτερογενών φαινολικών μεταβολιτών που παράγονται σε συγκεκριμένα είδη φυτών όπως το τσάι, το κακάο και ο καφές (29). Επιπλέον, οι ενώσεις αυτές συμβάλλουν σε μεγάλο βαθμό στη γεύση και συγκεκριμένα στην οξύτητα και την πικρότητα ενώ παράλληλα συμβάλλουν και στην στυπτικότητα (30) αλλά και στο χρώμα του (31). Το καφεόυλοκινικό οξύ (CQA) θεωρείται ότι είναι μια από τις πιο σημαντικές πολυφαινόλες που απαντώνται στις οικογένειες των Asteraceae και Lamiaceae οι οποίες παρουσιάζουν αφθονία στον καφέ και είναι γνωστές ως CGA. Ωστόσο, ο όρος CGA αντιπροσωπεύει όλο το φάσμα των εστέρων του υδροξυ-κινναμωμικού οξέος μαζί με το κινικό οξύ, συμπεριλαμβανομένων των κουμαρόυλοκινικών οξέων και των φερουλόυλο-, καφεόυλο- και δικαφεόυλο- κινικών οξέων. Επιπρόσθετα, υπάρχουν αρκετές ισομερείς μορφές CGA για κάθε υποομάδα και διαφορετικά εκχυλίσματα καφέ συχνά περιλαμβάνουν διαφορετικά CGAs. Το πιο διαθέσιμο ισομερές στον καφέ είναι το 3-CQA με τους κόκκους του καφέ να περιέχουν 6-12 % του συνολικού καφέ σε μάζα, στο ισομερές αυτό, δηλαδή στους πράσινους κόκκους καφέ η 3-CQA καταλαμβάνει το 76-84 % της συνολικής περιεκτικότητας σε CGA. Τα άλλα 2 πιο γνωστά ισομερή είναι το 4-CQA (κρυπτοχλωρογενικό οξύ) και το 5-CQA (νεοχλωρογενικό οξύ) (29).

Τριγωνελλίνη

Η τριγωνελλίνη (TRG) ή N-μέθυλο νικοτινικό οξύ, είναι μια αζωτούχος ένωση και αλκαλοειδές της πυριδίνης που προέρχεται από τη μεθυλίωση του αζώτου του νικοτινικού οξέος (νιασίνη) (32). Η τριγωνελλίνη απαντάται στον πράσινο καφέ σε ποσοστό περίπου 1-3 % του ξηρού του βάρους και συμβάλλει έμμεσα στον σχηματισμό συστατικών που προσδίδουν άρωμα στον καφέ (33), με τους σπόρους Arabica να παρουσιάζουν ελαφρώς μεγαλύτερα ποσοστά συγκριτικά με τον καφέ Robusta. Κατά το ψήσιμο του καφέ η τριγωνελλίνη αποικοδομείται μερικώς σε νικοτινικό οξύ και σε παράγωγα πυριδίνης. Τα επίπεδα τριγωνελλίνης στον καβουρδισμένο καφέ κυμαίνονται από 0,2-0,9 mg/g αλεσμένου καφέ. Αυτό οφείλεται τόσο στην ποικιλία του καφέ όσο και στον βαθμό του ψησίματος. Τα ποσοστά στο εκχύλισμα καφέ εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τη διαδικασία παρασκευής και παρουσιάζουν εύρος 40-110 mg ανά κούπα καφέ (26).

Καφεστόλη & Καχεόλη

Η καφεστόλη και η καχεόλη αποτελούν φυσικά διτερπένια τα οποία εκχυλίζονται από τους σπόρους του καφέ (34). Αποτελούν άλατα ή εστέρες κορεσμένων (κυρίως) και ακόρεστων λιπαρών οξέων και υπολογίζεται ότι αποτελούν το 20 % του λιπιδικού κλάσματος του καφέ. Υψηλότερες ποσότητες από τα διτερπένια αυτά παρατηρούνται στον C. Arabica και λιγότερες στον C. Canephora (13). Η παρουσία τους στον άφιλτρο καφέ όπως ο τούρκικος καφές, έχει κυρίως τη μορφή λιπαρών εστέρων. Μια κούπα άφιλτρου καφέ περιέχει περίπου 3-6 mg καφεστόλης και καχεόλης. Η μόνη διαφορά που παρουσιάζουν τα συστατικά αυτά στη χημική τους δομή είναι ότι η καχεόλη έχει έναν επιπλέον διπλό δεσμό. Πρόσφατες μελέτες επιβεβαίωσαν ότι οι ενώσεις αυτές συμβάλλουν αποτελεσματικά στην αύξηση των τριγλυκεριδίων και της LDL στο πλάσμα, γεγονός που μπορεί να αποτελεί κίνδυνο για την πρόκληση CVDs (34).

Μελανοϊδίνες

Ο καφές αποτελεί μια από τις κυριότερες πηγές σε μελανοϊδίνες στη διατροφή του ανθρώπου. Υπολογίζεται ότι η καθημερινή πρόσληψη του μέσου καταναλωτή σε μελανοϊδίνες κυμαίνεται

σε 1,5-1,6 g. Οι μελανοϊδίνες είναι πολυμερείς ενώσεις υψηλού μοριακού βάρους, καφέ χρώματος οι οποίες παράγονται κατά το τελευταίο στάδιο της αντίδρασης Maillard. Είναι υπεύθυνες τόσο για το χρώμα και τη γεύση όσο και για την υφή των τροφίμων που υποβάλλονται σε υψηλές θερμοκρασίες. Ο ασημένιος φλοιός του καφέ αποτελεί καλή πηγή μελανοϊδινών με διάφορες δράσεις σχετικά με την προάσπιση της ανθρώπινης υγείας (35). Παρόλο που οι μελανοϊδίνες, ως προϊόντα του ψησίματος του καφέ, δεν συγκαταλέγονται στον στενό όρο των διαιτητικών ινών, διάφορες *in vivo* μελέτες έχουν δείξει ότι συμπεριφέρονται σαν διαιτητικές ίνες διότι δεν πέπτονται σε μεγάλο βαθμό από τον εντερικό αυλό του ανθρώπου αλλά υφίστανται ζύμωση (26).

1.4 Απορρόφηση & μεταβολισμός της καφεΐνης

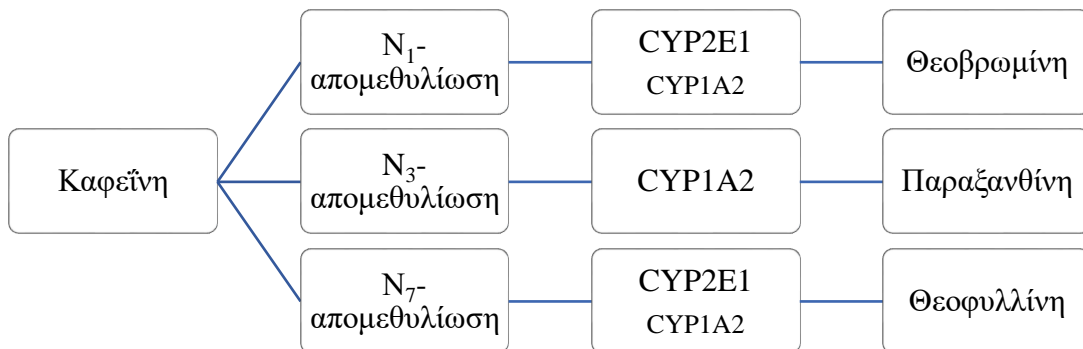
Η καφεΐνη σχετίζεται με αρκετές βιολογικές δράσεις στον ανθρώπινο οργανισμό. Οι περισσότερες από αυτές αφορούν τη βελτίωση της λειτουργίας του εγκεφάλου και του ΚΝΣ. Ωστόσο, οι βιολογικές αυτές δράσεις εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τη βιομετατροπή της καφεΐνης στον οργανισμό. Σε έρευνα του 1850 που ίσως αποτελεί και την πρώτη μελέτη του μεταβολισμού της καφεΐνης, παρατηρήθηκε ότι δεν ανιχνεύτηκαν ποσότητες καφεΐνης στα ούρα. Αργότερα σε άλλες έρευνες και συγκεκριμένα το 1895 έγινε η παρατήρηση ότι οι μεγάλες δόσεις καφεΐνης που κατανάλωναν ζωικά πρότυπα σκύλων και κουνελιών, οδήγησαν στην απέκκριση μονο-μεθυλοξανθίνων, δείχνοντας ότι οι πεπτώμενες μεθυλοξανθίνες υπόκεινται σε απομεθυλίωση. Με την πάροδο των χρόνων, διενεργήθηκαν αρκετές μελέτες σχετικά με τον μεταβολισμό και τη φαρμακοκινητική της καφεΐνης. Οι περισσότερες από τις μελέτες χρησιμοποιούσαν καθαρή καφεΐνη με τη μορφή διαλύματος, κάψουλας ή ταμπλέτας. Επιπλέον, σχετικά με τη βιοδιαθεσιμότητα της καφεΐνης είναι γνωστό ότι ζωικά πρότυπα όπως οι σκύλοι, τα ποντίκια και οι αρουραίοι παρουσιάζουν παρόμοια βιοδιαθεσιμότητα μεταξύ τους.

Η απορρόφησή της καφεΐνης στον οργανισμό ξεκινάει στον στόμαχο όπου απορροφάται κατά 20 % και συνεχίζει στο λεπτό έντερο στο οποίο απορροφάται το υπόλοιπο 80 % (28). Ωστόσο, μελέτες αναφέρουν ότι η απορρόφηση της καφεΐνης ξεκινάει από το στόμα και συγκεκριμένα από το βλεννογόνο του στόματος και όχι από τον στόμαχο (36). Επιπλέον, η απορρόφησή της από τον εντερικό αυλό είναι πλήρης με τη βιοδιαθεσιμότητά της να φτάνει ακόμα και το 100

% . Ύστερα από την κατανάλωση καφεΐνης, ο χρόνος που απαιτείται προκειμένου η συγκέντρωσή της στο πλάσμα να φτάσει τα μέγιστα επίπεδα είναι 30-120 λεπτά (27), ενώ οι μέγιστες συγκεντρώσεις της στο αίμα είναι περίπου 8-10 mg/L (37). Ο χρόνος που απαιτείται για την κορύφωση των συγκεντρώσεων της καφεΐνης στο πλάσμα εξαρτάται από την κινητικότητα της γαστρεντερικής οδού, τη φυσιολογία του ατόμου, αλλά και τη πηγή της καφεΐνης (π.χ. σύσταση του τροφίμου, όγκος, αν είναι υγρό ή στερεό ή αν είναι κάψουλα ή τσίγλα) (28). Σε κάθε περίπτωση όμως, η παράλληλη πρόσληψη φαγητού μπορεί να δρα καθυστερώντας την απορρόφησή της (27). Μετά την πρόσληψή της, η καφεΐνη διανέμεται γρήγορα στους περισσότερους ιστούς (μέση κατανομή όγκου 0,6-1,0 L/kg) και στα σωματικά υγρά όπως η χολή, το μητρικό γάλα, το σάλιο, το σπέρμα, ο ιδρώτας και τα ούρα, ενώ έχει την ικανότητα να διαπερνά με άνεση τόσο τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό όσο και τον πλακούντα. Μελέτες έχουν δείξει ότι οι συγκεντρώσεις καφεΐνης στο σάλιο είναι μικρότερες κατά 20-40 % συγκριτικά με το πλάσμα. Επιπλέον, η μειωμένη ικανότητα του πλάσματος να δεσμεύει πρωτεΐνες σε συνδυασμό με τις σχετικά υδρόφοβες ιδιότητες της καφεΐνης έχει ως αποτέλεσμα να διαπερνά όλες τις κυτταρικές μεμβράνες και να διευκολύνει την διαπέρασή της από τους ενδοκυττάριους φραγμούς, συμπεριλαμβανομένου του πλακούντα (μητέρα-έμβryo-μητέρα). Ο τρόπος διάχυσης της καφεΐνης στον οργανισμό συνήθως δεν μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια της ζωής αλλά μπορεί να διαφέρει μεταξύ ανδρών και γυναικών, με τις γυναίκες ωστόσο να έχουν μεγαλύτερα ποσοστά διάχυσης. Επιπρόσθετα, η κατανάλωση μεγάλων ποσοτήτων καφεΐνης ενδέχεται να οδηγήσει σε κορεσμό του μεταβολισμού της καθώς φαίνεται ότι σε προσλαμβανόμενες δόσεις των 70-100 mg παρατηρείται γραμμική φαρμακοκινητική, ενώ δόσεις καφεΐνης 250-500 mg μπορεί να έχουν ως αποτέλεσμα τις αυξημένες συγκεντρώσεις στο πλάσμα και μη γραμμική κινητική και παρατεταμένο χρόνο υποδιπλασιασμού (28).

Το όργανο κλειδί για τον μεταβολισμό της καφεΐνης είναι το ήπαρ και το κυτόχρωμα P450 (CYP1A2) το οποίο βρίσκεται μόνο στο ήπαρ καθώς συμμετέχει κατά 90 % στον μεταβολισμό της καφεΐνης και των μεταβολιτών της. Στο ήπαρ, η καφεΐνη υποβάλλεται σε μια σειρά από διαδοχικές απομεθυλιώσεις και C8 οξείδωση (38). Εκεί, πραγματοποιείται η μετατροπή περίπου του 95 % της ποσότητάς της σε παραξανθίνη (85 %), θεοβρωμίνη (10 %) και θεοφυλλίνη (5 %), ενώ λιγότερο από το 2 % παραμένει αμετάβλητη και αποβάλλεται στα ούρα (27) (**Σχήμα 1-6**). Ο λόγος για τον οποίο ένα τόσο μικρό ποσοστό αποβάλλεται από τα ούρα

είναι ότι ο 98 % της καφεΐνης που προσλαμβάνεται επαναροφάται από τους νεφρούς. Για την μετατροπή της καφεΐνης σε θεοφυλλίνη και θεοβρωμίνη υπεύθυνο είναι το CYP2E1 (38).



Σχήμα 1-6: Η βιομετατροπή της καφεΐνης στους μεταβολίτες μεθυλοξανθίνης (39)

Η ταχύτητα του μεταβολισμού της καφεΐνης παρουσιάζει διατομική μεταβλητότητα εξαιτίας της διαφορετικής δράσης των ενζύμων του CYP. Η μεγάλη διατομική μεταβλητότητα της δράσης του CYP1A2 προκύπτει λόγω παραγόντων όπως το φύλο, η φυλή, διάφοροι πολυμορφισμοί στα γονίδια και περιβαλλοντικές επιδράσεις (κάπνισμα ή έκθεση σε χημικά). Χαρακτηριστικά παραδείγματα υψηλής δραστηριότητας του CYP1A2 είναι το άρρεν φύλο σε σύγκριση με το θήλυ και η λευκή φυλή συγκριτικά με τη μαύρη. Επιπλέον, η δραστηριότητα των ενζύμων αυξάνεται με το κάπνισμα αλλά και με τη μέτρια κατανάλωση καφεΐνης (τουλάχιστον 3 κούπες καφέ).

Ο χρόνος ημιζωής της καφεΐνης στους ενήλικες είναι περίπου 3-5 ώρες, ωστόσο δεν ισχύει το ίδιο για τους μη καταναλωτές καφεΐνης, στους οποίους ο χρόνος αυτός είναι διπλάσιος. Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν τον χρόνο ημιζωής μπορεί να είναι το φύλο, η λήψη αντισυλληπτικών, συγκεκριμένες βιολογικές περιόδους, όπως η εγκυμοσύνη και το κάπνισμα. Ο χρόνος ημιζωής είναι 20-30 % μικρότερος στο γυναικείο απ' ό,τι στο ανδρικό φύλο, 30-50 % μικρότερος στους καπνιστές σε σχέση με τους μη καπνιστές, σχεδόν διπλάσιος σε γυναίκες που λαμβάνουν αντισυλληπτικά εκ στόματος και ιδιαίτερα αυξημένος (έως και 15 ώρες) στις εγκύους που βρίσκονται στο τελευταίο τρίμηνο της εγκυμοσύνης (27).

Μελέτη έχει δείξει ότι η δραστηριότητα του CYP1A2 στην αρχή, στη μέση και στο τέλος της εγκυμοσύνης, είναι μειωμένη κατά 35 %, 50 % και 52 % αντίστοιχα σε σύγκριση με 4-6 εβδομάδες μετά τον τοκετό (40). Επίσης, σε άλλη μελέτη η οποία έρχεται σε συμφωνία με την παραπάνω μελέτη, φάνηκε ότι οι συγκεντρώσεις καφεΐνης στον ορό αυξήθηκαν από 2,35 µg/mL στην πρώιμη περίοδο της εγκυμοσύνης σε 4,12 µg/mL έως το τελευταίο τρίμηνο (36 εβδομάδες) (41). Όσον αφορά τα νεογνά, ο χρόνος ημιζωής της καφεΐνης έχει υπολογιστεί ότι είναι 100 ώρες. Υψηλές συγκεντρώσεις καφεΐνης έχουν βρεθεί σε πρόωρα βρέφη γυναικών που κατανάλωναν συστηματικά μεγάλες ποσότητες. Η καφεΐνη διαχέεται ταχύτατα στην κυκλοφορία του εμβρύου με μια διατήρηση του ισοζυγίου μεταξύ μητέρας και εμβρύου. Με τον ίδιο τρόπο η καφεΐνη περνά στο μητρικό γάλα αλλά οι συγκεντρώσεις της είναι μικρότερες στο γάλα συγκριτικά με τον όρο του αίματος. Επιπρόσθετα, οι συγκεντρώσεις καφεΐνης στα ούρα και στο αίμα του ομφάλιου λώρου των εγκύων αντανακλά την πρόσληψη τη στιγμή της δειγματοληψίας και όχι τα επίπεδα καθ' όλη τη διάρκεια της εγκυμοσύνης (38). Επιπλέον, στα νεογνά 8-9 μηνών υπάρχει μειωμένη ικανότητα μεταβολισμού της καφεΐνης. Η απέκκριση από τα ούρα αγγίζει το 85 % της προσλαμβανόμενης ποσότητας, ενώ η καφεΐνη απεκκρίνεται αμετάβλητη.

Αναφορικά με τους καπνιστές, σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε 178 εθελοντές, εκ των οποίων οι 19 ήταν καπνιστές, φάνηκε ότι ο αριθμός των τσιγάρων που κάπνιζαν την ημέρα και τα επίπεδα κοτινίνης ούρων σχετίζονταν σημαντικά με την ενζυμική δραστηριότητα του P450-1A2 (CYP1A2) υποδεικνύοντας την ύπαρξη μια δοσο-εξαρτώμενης σχέσης (42). Σε μια πιο πρόσφατη μελέτη 12 υγείων ανδρών, τακτικών καπνιστών, ύστερα από περίοδο όπου κάπνιζαν 20 τσιγάρα την ημέρα, φάνηκε επίσης ότι το κάπνισμα ενισχύει το μεταβολισμό της καφεΐνης μέσω ενίσχυσης της δράσης του CYP1A2 (43).

Αναφορικά με την επίδραση των γονιδίων στον μεταβολισμό της καφεΐνης, έχει φανεί ότι το CYP1A2 διανέμεται πολυμορφικά στον ανθρώπινο πληθυσμό. Ο πολυμορφισμός CYP1A2*1F χαρακτηρίζει τον φαινότυπο που ονομάζεται «αργός μεταβολιστής» (slow metabolizer) της καφεΐνης, ο οποίος προκαλεί μείωση της δραστηριότητας του ενζύμου και οδηγεί σε επέκταση της διάρκειας παραμονής της καφεΐνης στη συστηματική κυκλοφορία. Αντίθετα με τους αργούς μεταβολιστές, οι ομοζυγώτες (AA) είναι γρήγοροι μεταβολιστές (rapid metabolizers) της καφεΐνης για το αλληλόμορφο CYP1A2*1A. Επομένως τα άτομα αυτά παρουσιάζουν

μικρότερα επίπεδα καφεΐνης πλάσματος και άρα μικρότερη έκθεση στην καφεΐνη. Ωστόσο, οι ομοζυγώτες (CC γονότυπος) θεωρούνται αργοί μεταβολιστές. Παρόλα αυτά, οι διαφορές στο CYP1A2 των γρήγορων και αργών μεταβολιστών καφεΐνης απαιτούν περαιτέρω έρευνα. Η σημαντικότητα που δίνεται στον φαινότυπο των ατόμων σχετικά με τη δραστηριότητα του CYP1A2 σε δείγματα πλάσματος, σάλιου και ούρων αυξάνεται σημαντικά ολοένα και περισσότερο, καθώς έχει παρατηρηθεί ότι αυτό το χαρακτηριστικό μπορεί να έχει επίδραση στον μεταβολισμό των ατόμων γεγονός που μπορεί να τους καθιστά πιο ευάλωτους ως προς την ανάπτυξη συγκεκριμένων νοσημάτων. Για παράδειγμα, ο αργός μεταβολισμός της καφεΐνης μπορεί να είναι η αιτία για την εμφάνιση ανεπιθύμητων ενεργειών και για την πιθανή πρόκληση αρτηριακής υπέρτασης (28).

1.5 Καφεΐνη και υγεία

Η επίδραση της κατανάλωσης καφεΐνης στην ανθρώπινη υγεία έχει μελετηθεί αρκετά, με τα αποτελέσματα να είναι πολλές φορές αντικρουόμενα. Καθώς ο καφές αποτελεί το ρόφημα με την μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε καφεΐνη συγκριτικά με άλλα ροφήματα, πολλά δεδομένα στηρίζονται στη μελέτη της κατανάλωσης καφέ και της επίδρασης στην υγεία (44). Αρκετές είναι οι επιδημιολογικές μελέτες που υποστηρίζουν ότι η συστηματική πρόσληψη καφέ έχει συνδεθεί με διάφορα οφέλη για την υγεία, όπως συμβαίνει με την περίπτωση της επίδρασης στο νευρικό σύστημα. Κάποια από τα οφέλη είναι η μείωση του κινδύνου για τη νόσο του Πάρκινσον και για τη νόσο Αλτσχάιμερ. Επιπλέον, εκτός από τις επιδράσεις που αφορούν το νευρικό σύστημα, κάποια άλλα οφέλη μπορεί να σχετίζονται με την ηπατική λειτουργία, τον έλεγχο του σωματικού βάρους (μέσω αύξησης του μεταβολικού ρυθμού, της κατανάλωσης ενέργειας, της οξείδωσης των λιπιδίων, της λιπολυτικής και θερμογενετικής δράσης) και η μείωση του κινδύνου για εμφάνιση συγκεκριμένων ειδών καρκίνου όπως ο καρκίνος του ενδομητρίου, του προστάτη, του παχέος εντέρου και του ήπατος (45). Επίσης, αρκετές είναι οι μελέτες που υποστηρίζουν τη σημαντική σχέση της κατανάλωσης καφέ με τον μειωμένο κίνδυνο για εμφάνιση σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, καθώς έχει βρεθεί ότι για κάθε επιπρόσθετη κούπα καφέ που καταναλώνεται, ο κίνδυνος για εμφάνιση διαβήτη μειώνεται κατά 7 % (46). Σχετικά με την επίδραση της κατανάλωσης καφέ στο καρδιαγγειακό σύστημα, τα αποτελέσματα είναι διφορούμενα.

Αντίθετα με τα πιθανά οφέλη της κατανάλωσης καφέ, η κατανάλωση καφέ έχει ενοχοποιηθεί για μια σειρά από αρνητικές επιδράσεις, όπως για οστική απώλεια, χαμηλότερη οστική πυκνότητα και κατάγματα (σε καταναλωτές μεγάλων ποσοτήτων) και αυξημένη αρτηριακή πίεση. Σχετικά με τις εγκύους, τα έως τώρα επιδημιολογικά στοιχεία προτείνουν να περιορίζεται η κατανάλωση καφεΐνης στην περίοδο της εγκυμοσύνης διότι εγκυμονεί ο κίνδυνος για περιορισμένη ανάπτυξη του εμβρύου και πιθανές αυτόματες αποβολές (SAB), σε καθημερινή πρόσληψη καφεΐνης που αγγίζει τα 300 mg (45).

1.5.1 Σωματικό βάρος

Η αυξημένη επίπτωση της παχυσαρκίας είναι ένα ανησυχητικό ιατρικό πρόβλημα που αντιμετωπίζουν ιδιαίτερα οι ανεπτυγμένες χώρες. Η παχυσαρκία θεωρείται σημαντικός παράγοντας κινδύνου για την ανάπτυξη διαφόρων παθολογικών καταστάσεων όπως τα στεφανιαία νοσήματα, η υπέρταση, ο διαβήτης, η αναπνευστική δυσλειτουργία, η οστεοαρθρίτιδα και συγκεκριμένοι τύποι καρκίνου. Οι παράγοντες που συνήθως ενοχοποιούνται για την εμφάνιση της παχυσαρκίας είναι η μειωμένη φυσική δραστηριότητα και η αυξημένη πρόσληψη ενέργειας. Επομένως, η μείωση του σωματικού βάρους μπορεί να επιτευχθεί μέσω της αύξησης της φυσικής δραστηριότητας και/ή της μείωσης της ενεργειακής πρόσληψης. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι μείωση 5-10 % του σωματικού βάρους έχει σημαντικές ευεργετικές επιδράσεις στην υγεία καθώς αποτελεί και έναν πιο ρεαλιστικό στόχο. (47).

Πλήθος ανασκοπήσεων και μετα-αναλύσεων έχουν δείξει ότι η πρόσληψη καφεΐνης σχετίζεται με την προαγωγή της υγείας και σημαντικά χαμηλότερο δείκτη θνησιμότητας. Υπάρχουν ενδείξεις ότι οι καταναλωτές καφέ παρουσιάζουν συνήθως χαμηλότερο ΔΜΣ συγκριτικά με τους μη καταναλωτές. Επιπλέον, φαίνεται να υπάρχει αρνητική συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης καφέ και της αύξησης του σωματικού βάρους μακροχρόνια, ενώ έχει φανεί ότι η υψηλή πρόσληψη καφεΐνης ως αυτούσιο συστατικό επιδρά στην απώλεια βάρους (48). Η καφεΐνη έχει φανεί ότι αυξάνει τη λιπολυτική δραστηριότητα, την κυτταρική θερμογένεση, την απελευθέρωση νορεπινεφρίνης και τη δραστηριότητα της αδρεναλίνης μέσω της δράσης ως ανταγωνιστής των υποδοχέων αδενosίνης. Επιπλέον, μελέτες έχουν δείξει ότι η καφεΐνη

αυξάνει τον μεταβολικό ρυθμό ηρεμίας και επιταχύνει την κατανάλωση ενέργειας έως και 13 % (49).

Σε παλαιότερη προοπτική μελέτη, η οποία διεξήχθη την περίοδο 1986-1998 και συμμετείχαν 18.417 άνδρες και 39.740 γυναίκες, τα αποτελέσματα στον 12ετή επανέλεγχο έδειξαν ότι οι συμμετέχοντες που είχαν αυξήσει την πρόσληψη καφεΐνης εμφάνισαν μικρότερη μέση πρόσληψη βάρους συγκριτικά με εκείνους που είχαν μειώσει την πρόσληψη καφεΐνης. Συγκεκριμένα, στους άνδρες η μέση μείωση της πρόσληψη βάρους ήταν 0,43 kg ενώ στις γυναίκες 0,41 kg. Επιπλέον, η αύξηση στην κατανάλωση καφέ ή τσαγιού συσχετίστηκε με μειωμένη αύξηση του σωματικού βάρους (50).

Σε πρόσφατη μελέτη στην οποία εξετάστηκε η πιθανή επίδραση της κατανάλωσης καφεΐνης στη διατήρηση της απώλειας του σωματικού βάρους, φάνηκε ότι οι εθελοντές που είχαν καταφέρει να διατηρήσουν την απώλεια βάρους που είχαν πετύχει προηγουμένως, κατανάλωναν σημαντικά μεγαλύτερες ποσότητες καφεΐνης συγκριτικά με τον γενικό πληθυσμό. Συγκεκριμένα στη μελέτη έγινε διαχωρισμός των εθελοντών σε 2 ομάδες όπου στην μια ομάδα συμπεριλήφθηκαν 494 άτομα τα οποία είχαν επιτυχημένη απώλεια βάρους και τη διατηρούσαν, ενώ στην άλλη ομάδα συμμετείχαν 2.129 άτομα από τον γενικό πληθυσμό (48). Επιπρόσθετα, σε άλλη μελέτη σε ελληνικό πληθυσμό μελετήθηκε η επίδραση διαφορετικών ποσοτήτων καφέ στη διατροφική πρόσληψη και στο αίσθημα της όρεξης τόσο σε άτομα φυσιολογικού βάρους όσο και σε υπέρβαρους-παχύσαρκους εθελοντές. Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι η μέτρια κατανάλωση καφέ (2-4 κούπες ή 6 mg/kg/d) στην ομάδα των υπέρβαρων/παχύσαρκων οδήγησε σε χαμηλότερη πρόσληψη ενέργειας τόσο στο γεύμα μετά την κατανάλωση καφέ όσο και στη συνολική ημέρα σε σύγκριση με χαμηλότερη ή καθόλου πρόσληψη καφέ. Επιπλέον σχετικά με το αίσθημα της πείνας δεν βρέθηκε να παρατηρείται καμία επίδραση (51).

Σε μελέτη όπου συμμετείχαν υπέρβαροι και παχύσαρκοι εθελοντές φάνηκε ότι η αυξημένη πρόσληψη καφεΐνης σχετίζεται με απώλεια βάρους μέσω της θερμογένεσης και της οξείδωσης του λίπους. Οι εθελοντές είχαν υποβληθεί σε δίαιτα διατήρησης του βάρους τους για 3 μήνες, ύστερα από 4 εβδομάδες αυστηρής δίαιτας απώλειας βάρους. Κατά τη διάρκεια της περιόδου διατήρησης του βάρους τους, λάμβαναν μείγμα πράσινου τσαγιού-καφεΐνης [270 mg EGCG (γαλλικοί εστέρες της επιγαλλοκατεχίνης) + 150 g καφεΐνης] ή εικονικό φάρμακο. Τα

αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι η απώλεια βάρους ($6,7 \pm 1,4$ kg) κατά την περίοδο της δίαιτας πολύ περιορισμένης ενέργειας ήταν μεγαλύτερη σε αυτούς που καταλάωναν ποσότητες καφεΐνης >300 mg/d συγκριτικά με τους καταναλωτές μικρότερων δόσεων, όπως επίσης στην ομάδα αυτή φάνηκε μικρότερη μείωση του μεταβολικού ρυθμού ηρεμίας και μεγαλύτερη διατήρηση της οξειδωσης του λίπους. Επιπλέον, στους εθελοντές που καταλάωναν μικρές ποσότητες καφεΐνης, η κατανάλωση του μείγματος πράσινου τσαγιού-καφεΐνης στη φάση διατήρησης του βάρους συνέχισε να οδηγεί σε απώλεια βάρους και μειωμένο αναπνευστικό πηλίκιο ενώ ο μεταβολικός ρυθμός ηρεμίας συνέχιζε να είναι αυξημένος συγκριτικά με το εικονικό φάρμακο (47).

1.5.2 Καρδιαγγειακά νοσήματα

Η καρδιαγγειακή νόσος (CVD) αποτελεί μια μείζονα αιτία πρόωρου θανάτου που έχει λάβει τεράστιες διαστάσεις παγκοσμίως. Η νόσος αυτή είναι ένα σύμπλεγμα διαταραχών που αφορούν την καρδιά και τα αγγεία. Σε αυτές τις νόσους συμπεριλαμβάνονται η στεφανιαία νόσος, η εγκεφαλοαγγειακή νόσος, η περιφερική αρτηριακή νόσος, η ρευματική καρδιοπάθεια, οι συγγενείς καρδιοπάθειες, η εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση και η πνευμονική εμβολή, ενώ η αρτηριακή υπέρταση θεωρείται σημαντικός παράγοντας κινδύνου για ανάπτυξη των παραπάνω νοσημάτων. Η καφεΐνη αποτελεί την πιο μελετημένη φαρμακολογικά δραστική ουσία σε ροφήματα όπως το τσάι και ο καφές (52). Παλαιότερες μελέτες έχουν δείξει ότι η καθημερινή κατανάλωση καφεΐνης σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο για την εμφάνιση της νόσου, ενώ τα νεότερα δεδομένα τείνουν να μην επαληθεύουν τη σχέση αυτή. Σήμερα, φαίνεται ότι η συχνή κατανάλωση καφεΐνης έχει αντίστροφη ή ουδέτερη σχέση σχετικά με τη νοσηρότητα και τη θνητότητα από CVD. Σε κάθε περίπτωση όμως, ο ρόλος της καφεΐνης δεν έχει ξεκαθαριστεί πλήρως (53). Η βιβλιογραφία είναι αρκετά εκτεταμένη σχετικά με την επίδραση της καφεΐνης και των ροφημάτων που την περιέχουν στη CVD, καθώς μεγάλος αριθμός μελετών έχει αναδείξει τα ευεργετικά οφέλη της κατανάλωσής της (54, 55).

Σε μια μετα-ανάλυση προοπτικών μελετών κοόρτης, τα αποτελέσματα σχετικά με την επίδραση του καφέ στα καρδιαγγειακά νοσήματα φάνηκαν αρκετά ενθαρρυντικά. Συγκεκριμένα, βρέθηκε μη γραμμική συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης καφέ και της εμφάνισης CVD, ενώ έγινε εμφανές ότι η μέτρια κατανάλωση καφέ συσχετιζόταν σημαντικά αντίστροφα με την εμφάνιση

CVD. Ο χαμηλότερος κίνδυνος παρατηρήθηκε στην κατανάλωση 3-5 φλιτζανιών/ημέρα, καθώς επίσης βρέθηκε ότι η κατανάλωση μεγαλύτερων ποσοτήτων (≥ 6 φλιτζάνια/ημέρα) δεν αύξανε τον κίνδυνο για CVD (56). Παρόμοια ήταν και τα αποτελέσματα σε μια άλλη μετα-ανάλυση προοπτικών μελετών όπου η μέτρια κατανάλωση καφέ συσχετίστηκε με μια ήπια μείωση του κινδύνου για εγκεφαλικό επεισόδιο. Συγκεκριμένα, η κατανάλωση 1-6 φλιτζανιών καφέ/ημέρα συσχετίστηκε σημαντικά αντίστροφα με την εμφάνιση εγκεφαλικού, με την ισχυρότερη συσχέτιση (17 % χαμηλότερος κίνδυνος) να παρατηρείται στην κατανάλωση 3-4 φλιτζανιών/ημέρα, ενώ η κατανάλωση ≥ 7 φλιτζανιών/ημέρα δε φάνηκε να αυξάνει τον κίνδυνο για πρόκληση εμφράγματος (57).

Αρκετές προοπτικές μελέτες παρατήρησης έχουν πραγματοποιηθεί με στόχο την εκτίμηση της πιθανής σχέσης της κατανάλωσης διαφόρων ποσοτήτων καφέ με την εμφάνιση CVD με ένα εύρος συμμετεχόντων από χιλιάδες έως και εκατοντάδες χιλιάδες (58). Σε παλαιότερη μελέτη κοόρτης 9.484 ανδρών και 15 έτη χρόνο παρακολούθησης βρέθηκε 1,2-2,8 φορές (ανάλογα με την ηλικία) μεγαλύτερος κίνδυνος για εμφάνιση CVD σε αυτούς που κατανάλωναν ≥ 1 φλιτζάνι καφέ την ημέρα (≥ 95 mg/d) συγκριτικά με αυτούς που κατανάλωναν μικρότερες ποσότητες, ωστόσο, οι συσχετίσεις αυτές ήταν αδύναμες και πιθανόν να ακυρώνονται σε περίπτωση ανεπαρκούς ελέγχου των συγχυτικών παραγόντων ή μέσω συστηματικών σφαλμάτων (59).

Σε άλλες προοπτικές μελέτες με περίοδο παρακολούθησης 6-20 χρόνια φάνηκε ότι η πρόσληψη καφεΐνης εμφάνισε προστατευτική δράση έναντι της εμφάνισης CVD. Στις μελέτες αυτές μελετήθηκε η κατανάλωση καφέ ή τσαγιού ή οι μεγαλύτερες ποσότητες κατανάλωσης συγκριτικά με μη καταναλωτές των αντίστοιχων ροφημάτων ή συγκριτικά με καταναλωτές μικρών ποσοτήτων καφεΐνης.

Συγκεκριμένα, σε έρευνα που μελετήθηκε η πιθανή σχέση της κατανάλωσης καφεΐνης και της θνητότητας από CVD σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 η κατανάλωση καφέ συσχετίστηκε με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης CVD. Η κατανάλωση 3 ή και περισσότερων φλιτζανιών καφέ βρέθηκε να μειώνει σημαντικά τον κίνδυνο συγκριτικά με όσους κατανάλωναν 0-2 φλιτζάνια ανά ημέρα (60). Παρόμοια ήταν και τα αποτελέσματα σε μελέτη 82.369 Ιαπώνων εθελοντών η οποία έδειξε ότι οι υψηλότερες προσλήψεις πράσινου τσαγιού (2-3 και ≥ 4 φλιτζάνια/ημέρα) οδήγησαν σε μείωση του κινδύνου για εμφάνιση CVD συγκριτικά με μικρότερα επίπεδα κατανάλωσης. Αντίστοιχα, στην ίδια μελέτη η κατανάλωση καφέ 3-6

φορές την εβδομάδα ή 1 και ≥ 2 φορές την ημέρα φάνηκε να λειτουργεί προστατευτικά έναντι της εμφάνισης CVD σε σχέση με πιο αραιή κατανάλωση (61).

Σε άλλες μελέτες έχει, επίσης, φανεί ότι μικρότερη πρόσληψη καφεΐνης (έως 400 mg/d) είχε προστατευτικό ρόλο στην εμφάνιση CVD, χωρίς όμως να συμβαίνει το ίδιο σε πρόσληψη καφεΐνης μεγαλύτερη των 400 mg/d. Ειδικότερα, πρόσφατη ανάλυση 3 προοπτικών μελετών κοόρτης έδειξε ότι η μέτρια κατανάλωση καφέ συσχετιζόταν με μείωση της θνητότητας από CVD (62). Σε μια μεγάλη έρευνα των ΗΠΑ στην οποία συμμετείχαν 402.260 εθελοντές (229.119 άνδρες και 173.141 γυναίκες) βρέθηκε ότι η κατανάλωση 2-3 ή 4-5 φλιτζανιών καφέ ημερησίως μείωσε τον κίνδυνο για εμφάνιση CVD σε σύγκριση με μη κατανάλωση (63).

Λαμβάνοντας υπόψη το σύνολο της υφιστάμενης βιβλιογραφίας, φαίνεται ότι η κατανάλωση καφεΐνης στις διάφορες ποσότητες κατανάλωσής της και με κύριες πηγές κατανάλωσης τον καφέ και το τσάι, οδηγεί σε στατιστικά σημαντική μείωση του κινδύνου για εμφάνιση καρδιαγγειακών επιπλοκών. Στην πλειοψηφία των μελετών, η πρόσληψη καφεΐνης δρα ως προστατευτικός παράγοντας, ενώ οι προσλαμβανόμενες ποσότητες που φαίνεται επανειλημμένα να δρουν προστατευτικά κυμαίνονται μεταξύ 100-400 mg καφεΐνης/ημέρα και σε μία μελέτη ποσότητες μεγαλύτερες από 600 mg (58).

1.5.3 Αρτηριακή πίεση

Όσον αφορά την επίδραση της κατανάλωσης καφεΐνης στην εμφάνιση υπέρτασης, αν και η σχέση αυτή έχει μελετηθεί ενδελεχώς σε αρκετές προοπτικές μελέτες τα αποτελέσματα παραμένουν αντικρουόμενα και δύσκολα ερμηνεύσιμα. Η EFSA αναφέρει ότι εφάπαξ δόσεις καφεΐνης 80-300 mg προκαλούν μέση αύξηση της συστολικής αρτηριακής πίεσης περίπου 3-8 mmHg και της διαστολικής αρτηριακής πίεσης 4-6 mmHg, παρουσιάζοντας, ωστόσο, υψηλή ενδοατομική μεταβλητότητα. Ακόμη, βάσει των διαθέσιμων έως τώρα δεδομένων η αρτηριακή πίεση φαίνεται να αυξάνεται 30 λεπτά μετά την πρόσληψη καφεΐνης και φτάνει τα μέγιστα περίπου στα 60-90 λεπτά, ενώ επιστρέφει στα φυσιολογικά επίπεδα σε περίπου 2-4 ώρες μετά την κατανάλωση (52).

Σε προοπτική μελέτη 63.257 εθελοντών ηλικίας 45-74 φάνηκε ότι η κατανάλωση <1 φλιτζανιού καφέ/εβδομάδα ή ≥ 3 φλιτζανιών/ημέρα οδήγησε σε χαμηλότερο κίνδυνο εμφάνισης υπέρτασης

σε σύγκριση με την κατανάλωση 1 φλιτζανιού/ημέρα (64). Σε άλλη προοπτική μελέτη σε δείγμα 29.985 μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών με φυσιολογική αρτηριακή πίεση, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ούτε ο καφές αλλά ούτε και η καφεΐνη οδήγησαν σε αύξηση της αρτηριακής πίεσης, αλλά η πρόσληψη αποκαφεϊνοποιημένου καφέ συσχετίστηκε με μια μικρή αλλά κλινικά σημαντική μείωση στη μέση διαστολική πίεση. Συνολικά, δεν φάνηκε συσχέτιση της κατανάλωσης καφέ, αποκαφεϊνοποιημένου καφέ ή καφεΐνης με τον κίνδυνο υπέρτασης (65). Σε συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση προοπτικών μελετών παρατήρησης που συμπεριλάμβανε 172.567 συμμετέχοντες από τους οποίους οι 37.135 ανέπτυξαν υπέρταση, φάνηκε ότι η καθημερινή κατανάλωση καφέ (>3 φλιτζάνια/ημέρα) δεν οδήγησε σε αύξηση του κινδύνου για υπέρταση συγκριτικά με την κατανάλωση <3 φλιτζάνια/ημέρα. Ωστόσο, αξιοσημείωτο είναι ότι παρατηρήθηκε αύξηση του κινδύνου για υπέρταση κατά 9 % σε όσους κατανάλωναν 1-3 φλιτζάνια/ημέρα (66). Σε μια μετα-ανάλυση στην οποία συμπεριλήφθηκαν μελέτες με άτομα από τον γενικό πληθυσμό βρέθηκε μη γραμμική σχέση μεταξύ της κατανάλωσης καφέ και του κινδύνου για εμφάνιση υπέρτασης. Επίσης, στην ίδια μελέτη παρατηρήθηκε ότι η κατανάλωση καφέ σε ποσότητες 1-2 φλιτζανιών/ημέρα δεν συσχετίστηκε με κίνδυνο για υπέρταση, ενώ κατανάλωση >3 φλιτζάνια ημερησίως βρέθηκε να έχει σημαντική προστατευτική δράση (67).

Έχουν διεξαχθεί συνολικά περίπου 111 μελέτες ελεγχόμενης έκθεσης με σταθερή δόση καφεΐνης είτε σε μορφή χαπιού είτε ως εναιώρημα, με παράλληλη παρακολούθηση των μεταβολών αρτηριακής πίεσης είτε τις ώρες μετά την κατανάλωσή της είτε μια μέρα μετά. Από το σύνολο των μελετών, οι 89 μελέτες έδειξαν ότι μετά την κατανάλωση της καφεΐνης ακολούθησε οξεία αύξηση της αρτηριακής πίεσης των εθελοντών. Κάποιες μελέτες αφορούσαν αυξήσεις συνολικά στη συστολική και στη διαστολική πίεση χωρίς να γίνεται διαχωρισμός, σε κάποιες μελέτες παρατηρήθηκε αύξηση τόσο στη συστολική όσο και στη διαστολική, ενώ τα αποτελέσματα των υπόλοιπων μελετών έδειξαν αυξήσεις είτε στη διαστολική είτε στη συστολική αρτηριακή πίεση ξεχωριστά. Επιπλέον, άλλες μελέτες δεν έδειξαν καμία σημαντική μεταβολή της αρτηριακής πίεσης σε οποιαδήποτε προσλαμβανόμενη ποσότητα, ενώ κάποιες άλλες έχουν δείξει επίσης μείωση της αρτηριακής πίεσης (58). Επομένως, βάσει των παραπάνω δεδομένων γίνεται σαφές ότι εξαιτίας της μεταβλητότητας των αποτελεσμάτων είναι αδύνατο να εξαχθεί ασφαλές συμπέρασμα σχετικά με την επίδραση της κατανάλωσης καφέ ή καφεΐνης στην αύξηση της αρτηριακής πίεσης και στην εμφάνιση υπέρτασης.

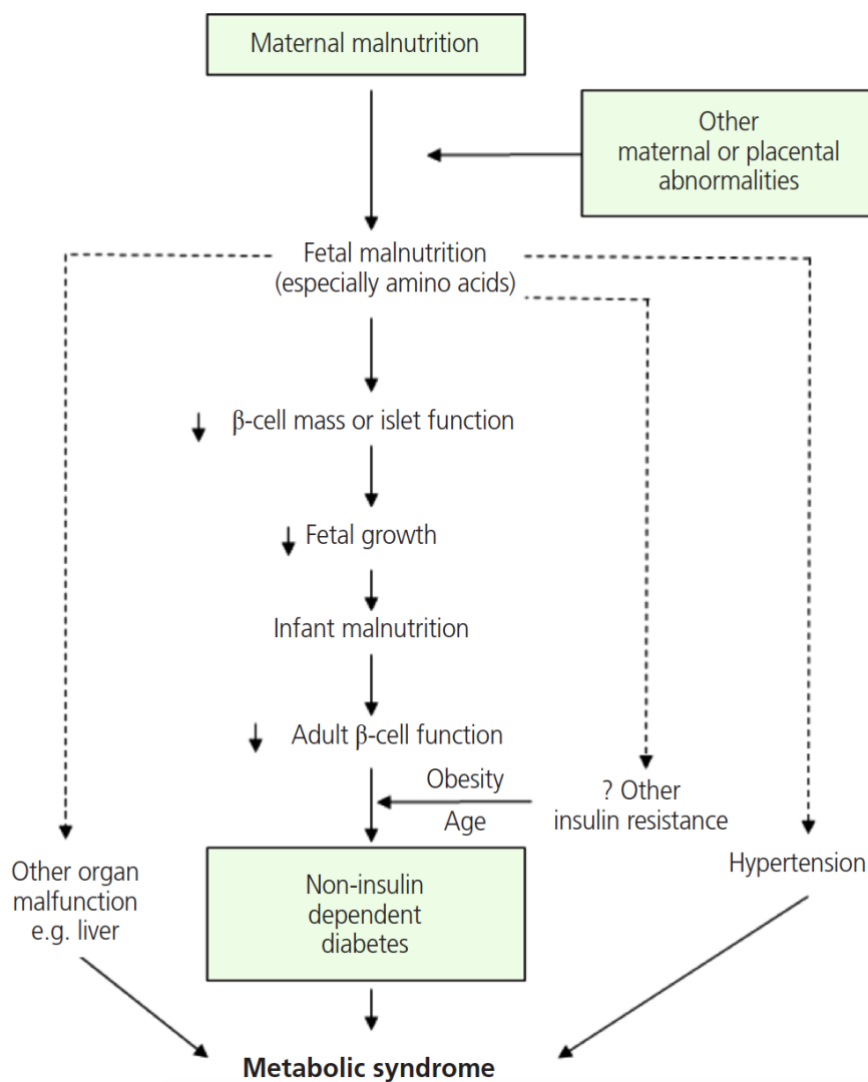
Κεφάλαιο 2: Διατροφή κατά την εγκυμοσύνη & μετέπειτα ζωή

2.1 Θεωρία «ενδομήτριου προγραμματισμού»

Μια σημαντική περίοδος της εμβρυονικής και εμβρυϊκής ανάπτυξης, κατά την οποία δημιουργούνται σημαντικοί ιστοί και όργανα περιγράφεται ως «ενδομήτριος προγραμματισμός». Την περίοδο αυτή της ζωής, η ανεπαρκής διατροφική πρόσληψη έχει ως αποτέλεσμα μόνιμες μεταβολές σε συγκεκριμένες δομικές αλλά και φυσιολογικές μεταβολικές λειτουργίες του εμβρύου (68). Πιο συγκεκριμένα, η υπόθεση αυτή επινοήθηκε από τον Βρετανό επιστήμονα Barker ως «η υπόθεση του Barker» (69) ή αλλιώς «η θεωρία του φαινότυπου εξοικονόμησης» (the thrifty phenotype hypothesis) (68) με την οποία καθίσταται σαφές ότι διάφορες αρνητικές επιδράσεις κατά την πρώιμη περίοδο της ανάπτυξης και κυρίως της ανάπτυξης στην ενδομήτρια ζωή μπορεί να οδηγήσουν σε μόνιμες σημαντικές μεταβολές στον μεταβολισμό και τη φυσιολογία με αποτέλεσμα τον αυξημένο κίνδυνο για εμφάνιση νοσημάτων στη μετέπειτα ζωή του εμβρύου (69). Ο ενδομήτριος προγραμματισμός θεωρείται ως η «μνήμη» που έχει το σώμα για τον υποσιτισμό κατά τη διάρκεια του πρώιμου σταδίου της ανάπτυξης και έχει ως απότοκο τη μετάφραση σε μια παθολογία που καθορίζει μελλοντικά νοσήματα. Βασισμένη σε μελέτες με ζωικά πρότυπα, η θεωρία αυτή αναπαριστά τον τρόπο που ο υποσιτισμός *in utero* μεταβάλλει τον μεταβολισμό της χοληστερόλης, την αρτηριακή πίεση, την απόκριση της ινσουλίνης στη γλυκόζη και άλλες ενδοκρινικές, μεταβολικές και ανοσολογικές λειτουργίες ιδιαίτερα σημαντικές για την εμφάνιση νοσημάτων (68).

Η διατροφή της μητέρας κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης έχει αποδειχθεί ότι διαδραματίζει σημαίνοντα ρόλο στα αποτελέσματα της εγκυμοσύνης. Η πρόσληψη των διατροφικών συστατικών από το αναπτυσσόμενο έμβryo εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη διατροφική κατάσταση της μητέρας. Οι περισσότερες από τις μελέτες σχετικά με τη διατροφή κατά την περίοδο της εγκυμοσύνης έχουν εσκευμένα εστίασει στο δεύτερο και/ή στο τρίτο τρίμηνο της εγκυμοσύνης όπου και πραγματοποιείται η δημιουργία των σημαντικών για τη ζωή οργάνων. Όπως προαναφέρθηκε, η διατροφή κατάσταση της μητέρας την περίοδο των πρώτων 12 εβδομάδων της εγκυμοσύνης μπορεί να έχει σημαντική επίδραση στα αποτελέσματα της εγκυμοσύνης εξαιτίας της επίδρασης σε σημαντικές αναπτυξιακές διαδικασίες. Επιπλέον, η εξασφάλιση ότι το έμβryo προσλαμβάνει όλα τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά την περίοδο

της ενδομήτριας ζωής εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη λειτουργία του πλακούντα η οποία καθορίζεται από τη διατροφή της μητέρας στα πρώτα στάδια της εγκυμοσύνης. Επίσης, οι ενδοκρινικές και μεταβολικές αποκρίσεις της μητέρας στα πρώτα στάδια της εγκυμοσύνης επηρεάζουν την παροχή και τη χρησιμοποίηση των θρεπτικών συστατικών που είναι διαθέσιμα για την τάχιστα ανάπτυξη του εμβρύου αργότερα στην εγκυμοσύνη (70).



Εικόνα 2-1: Θεωρία του φαινοτύπου εξοικονόμησης (the thrifty phenotype hypothesis) (68)

2.2 Ανεπαρκής διατροφική πρόσληψη κατά την εγκυμοσύνη

Η πρώτη υπόθεση σχετικά με την επίδραση του υποσιτισμού και της δίαιτας χαμηλών θερμίδων στην ανάπτυξη του εμβρύου πραγματοποιήθηκε σε μελέτη κοόρτης 200 εθελοντών γεννημένων μεταξύ 1943 με 1947 στο Άμστερνταμ. Οι συμμετέχοντες στη μελέτη ήταν απόγονοι εγκύων μητέρων της περιόδου του λιμού οι οποίες λάμβαναν 400-700 θερμίδες την ημέρα. Η περίοδος παρακολούθησης διήρκησε μέχρι το 1996 και φάνηκε ότι οι απόγονοι ήταν ευάλωτοι για εμφάνιση διαφόρων μεταβολικών νοσημάτων, μεταξύ των οποίων ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2, η υπέρταση, η στεφανιαία νόσος, η παχυσαρκία και το διαταραγμένο λιπιδαιμικό προφίλ (71, 72). Ο περιορισμός της διατροφής κατά την περίοδο της εγκυμοσύνης έχει ως αποτέλεσμα τον περιορισμό της ενδομήτριας ανάπτυξης του εμβρύου. Η μη επαρκής λήψη σημαντικών θρεπτικών συστατικών ενδέχεται να είναι αποτέλεσμα της ανεπάρκειας του πλακούντα (εξαιτίας προεκλαμψίας ή υπέρτασης) ή ανεπαρκούς διατροφικής πρόσληψης της μητέρας. Ο υποσιτισμός κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης ενεργοποιεί προσαρμογές μέσω των οποίων γίνεται επιλεκτική διαχείριση των θρεπτικών συστατικών για την ανάπτυξη σημαντικών οργάνων όπως η καρδιά και ο εγκέφαλος. Η επίπτωση των προσαρμογών αυτών είναι ο περιορισμός της ενδομήτριας ανάπτυξης αλλά και της ανάπτυξης και λειτουργίας άλλων σημαντικών οργάνων (73).

Πιο συγκεκριμένα, η καταστολή της κυτταρικής διαίρεσης που συμβαίνει την περίοδο αυτή εξαιτίας της ανεπαρκούς διατροφικής πρόσληψης με συνέπεια το μειωμένο κυτταρικό μέγεθος και τη μειωμένη κυτταρική μάζα συγκεκριμένων οργάνων αποτελεί τον κύριο προσαρμοστικό μηχανισμό. Η εμφάνιση της αντίστασης στην ινσουλίνη και του διαβήτη είναι αποτέλεσμα του μειωμένου αριθμού β-κυττάρων του παγκρέατος, του μυϊκού ιστού και της μειωμένης μάζας των ηπατοκυττάρων. Η μείωση της παροχής θρεπτικών συστατικών προς το έμβρυο οδηγεί σε ενδομήτριο προγραμματισμό και σε αποθήκευση ενέργειας με τη μορφή λίπους. Οι ρυθμιστικοί μηχανισμοί φαίνεται να εστιάζουν κυρίως στη συνεχή αποθήκευση ενέργειας με τη μορφή λίπους μετά τη γέννηση παρά την επαρκή παροχή θρεπτικών συστατικών με αποτέλεσμα την εμφάνιση παχυσαρκίας, διαβήτη και πολλών άλλων μεταβολικών νοσημάτων. Επιπρόσθετα, ο αυξημένος κίνδυνος για υπέρταση που παρατηρείται στο παιδί αποτελεί προϊόν του υποσιτισμού κατά την εγκυμοσύνη, ο οποίος οδηγεί σε διαταραχή της ομαλής παραγωγής μονοξειδίου του αζώτου με αποτέλεσμα τον ανεπαρκή δομικό σχηματισμό των αγγείων (73).

Όσον αφορά τα αμινοξέα, η διαθεσιμότητα των πολύτιμων αυτών θρεπτικών συστατικών στη σημαντική περίοδο της εγκυμοσύνης διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην έκκριση της ινσουλίνης από τα παγκρεατικά β-κύτταρα του εμβρύου. Μια δίαιτα φτωχή σε πρωτεΐνη έχει ενοχοποιηθεί για διαταραχή της ομαλής διαφοροποίησης των δομικών στοιχείων των παγκρεατικών κυττάρων και φαίνεται να εμπλέκεται στην πρόκληση μειωμένου κυτταρικού μεγέθους, χαμηλή ενζυμική δραστηριότητα, διαταραγμένη ικανότητα για την παραγωγή ινσουλίνης και ανεπαρκή αγγειακή ανάπτυξη στα παγκρεατικά νησίδια. Επίσης, η ανάπτυξη αντίστασης στην ινσουλίνη προκαλείται από μεταβολές του ενδομήτριου προγραμματισμού που επιδρούν στα συστήματα υποδοχέων των ινσουλινο-εξαρτώμενων ιστών. Επιπλέον, μια δίαιτα χαμηλής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη δύναται να ευνοήσει την ανάπτυξη CVD στην ενήλικη ζωή μέσω εμπλοκής της στην ισορροπία του λίπους. Το γεγονός αυτό συμβαίνει εξαιτίας επιγενετικών τροποποιήσεων του γονιδίου της αγγειοτενσίνης II και των ενδοκρινικών διαταραχών που προκύπτουν λόγω του μη βέλτιστου περιβάλλοντος στην εγκυμοσύνη (73).

Επιπλέον, ιδιαίτερη σημασία δίνεται στον όρο της επιταχυνόμενης ανάπτυξης (catch-up growth), ο οποίος αφορά την επιταχυνόμενη αύξηση του σωματικού βάρους των νεογνών των οποίων η ενδομήτρια ανάπτυξη ήταν περιορισμένη. Τα πρώτα χρόνια της ζωής παρατηρείται ταχεία πρόσληψη λιπώδους ιστού και ανάπτυξη αντίστασης στην ινσουλίνη. Κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, η έκθεση του βρέφους σε δίαιτα χαμηλή σε πρωτεΐνες πυροδοτεί επιγενετικές τροποποιήσεις στο DNA στο γονίδιο της λεπτίνης γεγονός που συμβάλλει στην αυξημένη διατροφική πρόσληψη στο μέλλον. Συνεπώς, ο υποσιτισμός κατά τη διάρκεια της ενδομήτριας ζωής προκαλεί μείωση στις συγκεντρώσεις της ινσουλίνης και του ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα-1 (IGF-1) με αποτέλεσμα τη διαταραχή της εμβρυϊκής ανάπτυξης. Η απότομη αύξηση των συγκεντρώσεων ινσουλίνης και του IGF-1 ως αποτέλεσμα της επαρκούς διατροφής μετά τη γέννηση οδηγεί σε αυξημένο κίνδυνο για υπογλυκαιμία και αντίσταση στην ινσουλίνη (73).

Αναφορικά με τις βιταμίνες και τα μικροστοιχεία, τόσο η έλλειψη όσο και το πλεόνασμα βιταμινών αλλά και μικρο- και μακρο- στοιχείων μπορεί να πυροδοτήσει τον ενδομήτριο προγραμματισμό. Χαμηλά επίπεδα βιταμίνης B-12 και ψευδαργύρου στον ορό του πλάσματος των εγκύων ενοχοποιούνται για μεγαλύτερες πιθανότητες ανάπτυξης αντίστασης στην ινσουλίνη στην ενήλικη ζωή. Με τον ίδιο τρόπο, υψηλά επίπεδα φυλλικού οξέος αυξάνουν την

τάση για συσσώρευση λιπώδους ιστού στους απογόνους και ανάπτυξη αντίστασης στην ινσουλίνη. Αντίστοιχα, χαμηλά επίπεδα σιδήρου στον ορό της μητέρας οδηγεί σε αυξημένη προδιάθεση του απογόνου για χαμηλό βάρος γέννησης και αυξημένα επίπεδα αρτηριακής πίεσης στο μέλλον (73).

2.3 Αυξημένη διατροφική πρόσληψη κατά την εγκυμοσύνη

Αντίθετα με τον υποσιτισμό, το αυξημένο βάρος και η παχυσαρκία κατά την εγκυμοσύνη αποτελούν επίσης παράγοντες ανάπτυξης χρόνιων νοσημάτων στους απογόνους (73). Συγκριτικά με τον υποσιτισμό, η υπερ-πρόσληψη τροφής από τη μητέρα και συνεπώς από το έμβρυο έχει μελετηθεί λιγότερο. Παρόλα αυτά, σε πολλές μελέτες γίνεται εμφανές ότι η υψηλή πρόσληψη ενέργειας από τη μητέρα οδηγεί σε μητρική παχυσαρκία. Επιπλέον, δίαιτα πλούσια σε λίπος, χοληστερόλη και υδατάνθρακες ενδέχεται να επηρεάσει την αύξηση και ανάπτυξη του εμβρύου με συνέπεια τον προγραμματισμό (74). Η απεριόριστη διαθεσιμότητα επεξεργασμένων τροφίμων που παρατηρείται στη σημερινή κοινωνία καθώς και η μειωμένη φυσική δραστηριότητα αποτελούν δύο εξαιρετικά σημαντικά ζητήματα που οδηγούν σε αύξηση της παχυσαρκίας. Έχει φανεί ότι τα βρέφη και τα νήπια υπέρβαρων μητέρων χαρακτηρίζονται από αυξημένη πρόσληψη λιπώδους μάζας, από αυξημένη εμφάνιση παχυσαρκίας στην παιδική ηλικία, καθώς και εμφάνιση σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και CVD στην ενήλικη ζωή. Επομένως, γίνεται σαφές ότι το ενδομήτριο περιβάλλον καθορίζει όχι μόνο τον κίνδυνο για εμφάνιση κάποιας νόσου, αλλά και την χρονική στιγμή εμφάνισής της καθώς και την ένταση του παθολογικού αποτελέσματος. Παρόλα αυτά, μέχρι σήμερα, δεν έχουν αναγνωριστεί συγκεκριμένοι μηχανισμοί οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για αυτές τις συσχετίσεις (73). Διάφορες υποθέσεις έχουν γίνει σχετικά με τον ρόλο του συστηματικού μεταβολισμού και τις αλλαγές του ανοσολογικού συστήματος σε οργανισμούς που εκτέθηκαν σε αρνητικούς παράγοντες στο ενδομήτριο περιβάλλον. Σύμφωνα με έρευνα, η αυξημένη ανάπτυξη λιπώδους ιστού συνεπάγεται παραγωγή και έκκριση τεράστιων ποσοτήτων προφλεγμονωδών κυτοκινών οι οποίες ενεργοποιούν την ανοσολογική απόκριση προάγοντας την ανάπτυξη αντίστασης στην ινσουλίνη (75).

Σύμφωνα με μια άλλη θεωρία που αφορά τον ενδομήτριο προγραμματισμό η αυξημένη διατροφική πρόσληψη κατά την περίοδο της εγκυμοσύνης οδηγεί σε διαταραχή της λειτουργίας του τοξοειδή πυρήνα του υποθαλάμου ο οποίος αποτελεί τμήμα υπεύθυνο για τον έλεγχο της πρόσληψης τροφής, κυρίως μέσω εμφάνισης αντίστασης στη λεπτίνη (74). Σε άλλη μελέτη, φάνηκε ότι ο αυξημένος ΔΜΣ, τα υψηλά επίπεδα γλυκόζης, χοληστερόλης και LDL στον ορό της μητέρας, καθώς και το μεταβολικό σύνδρομο συνδέονται θετικά με την εμφάνιση καρδιομεταβολικού συνδρόμου στον απόγονο (76). Αυτό μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι η αυξημένη πρόσληψη ενέργειας στην περίοδο της εγκυμοσύνης με ταυτόχρονη ύπαρξη μεταβολικών διαταραχών έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση υπεργλυκαιμίας, υπερλιπιδαιμίας και υπερινσουλιαιμίας, παράγοντες που έχουν αρνητικό αντίκτυπο στον πλακούντα, τόσο στην ανάπτυξη όσο και στη λειτουργία του (73). Επίσης, είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι οι απόγονοι των μητέρων που έχουν εκτεθεί σε δίαιτα αυξημένου λίπους είναι πιο πιθανό να αυξήσουν περισσότερο το σωματικό τους βάρος. Επιπλέον, κατά την περίοδο της εγκυμοσύνης, μια δίαιτα πλούσια σε λίπος διαδραματίζει ρόλο στη μη έγκυρη αγγειοδιασταλτική αντίδραση που σχετίζεται με την ακετυλοχολίνη στους απογόνους. Η κατάσταση αυτή οδηγεί σε διαταραχή της βασικής λειτουργίας του ενδοθηλίου και σε αύξηση της προδιάθεσης για υπέρταση και CVD (77).

2.4 Εγκυμοσύνη & καφεΐνη

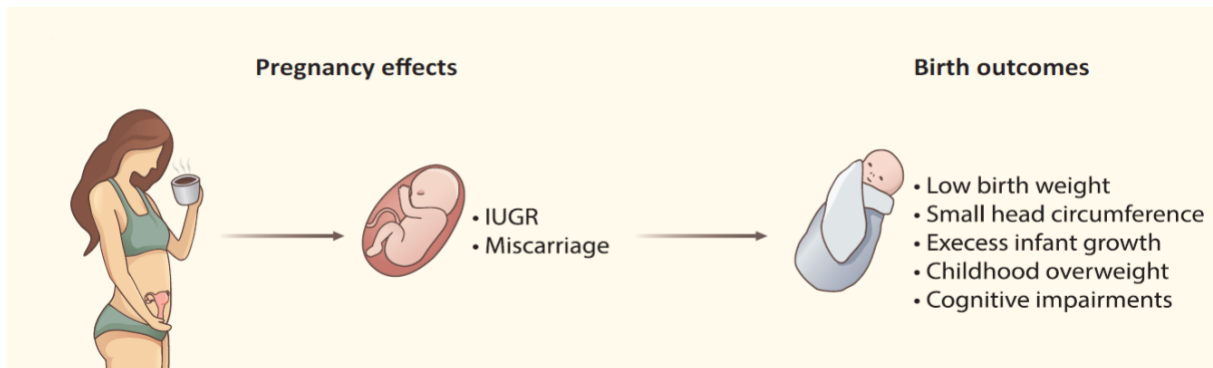
Ήδη από το 1980 ιδιαίτερη προσοχή άρχισε να δίνεται στη μελέτη της επίδρασης της καφεΐνης στην εγκυμοσύνη. Μελέτες έχουν δείξει ότι ο ρυθμός μεταβολισμού της καφεΐνης μειώνεται σημαντικά κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και κυρίως μετά το πρώτο τρίμηνο, ενώ ο χρόνος ημιζωής της φτάνει έως και τις 15 ώρες μέχρι και το τέλος της περιόδου της εγκυμοσύνης. Εξαιτίας της λιπόφιλης φύσης της, η καφεΐνη έχει την ικανότητα να διαπερνά ελεύθερα από όλες τις βιολογικές μεμβράνες, όπως ο πλακούντας, καθώς είναι γνωστό ότι ούτε ο πλακούντας ούτε και το έμβρυο διαθέτουν ένζυμα που εξειδικεύονται στον μεταβολισμό της καφεΐνης. Επίσης, η καταναλισκόμενη ποσότητα καφεΐνης από τις εγκύους έχει φανεί ότι συσσωρεύεται στα υγρά του αναπαραγωγικού συστήματος γεγονός που ενδέχεται να έχει επιπτώσεις στην εμβρυϊκή ανάπτυξη αλλά και στην μακροπρόθεσμη ανάπτυξη διαφόρων ασθενειών ιδιαίτερα κατά την περίοδο της ενήλικης ζωής.

Μελέτες παρουσιάζουν όλο και περισσότερο ότι η προγεννητική έκθεση στην καφεΐνη ενοχοποιείται για μια πλειάδα αρνητικών εκβάσεων που σχετίζονται με την εγκυμοσύνη, όπως η ενδομήτρια καθυστέρηση στην ανάπτυξη (IUGR) (78), η οποία χαρακτηρίζεται από τη μειωμένη προοπτική για ενδομήτρια ανάπτυξη του εμβρύου και αναγνωρίζεται κυρίως από το χαμηλό βάρος γέννησης (79). Η προγεννητική έκθεση στην καφεΐνη έχει επίσης φανεί ότι επάγει τον ενδομήτριο προγραμματισμό του σχετιζόμενου με τον νευροενδοκρινικό μεταβολισμό άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια σε 3 μηνών αρουραίους, γεγονός που σχετίζεται με την ενδομήτρια μητρική υπερέκθεση σε γλυκοκορτικοειδή. Τα υψηλά επίπεδα γλυκοκορτικοειδών είναι πιθανό να περιορίσουν την εμβρυϊκή ανάπτυξη του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια και να επιφέρουν μεταβολές τόσο στον μεταβολισμό της γλυκόζης όσο και του λίπους σε πολλούς ιστούς του εμβρύου. Η υψηλή ευαισθησία του άξονα στα εξωτερικά ερεθίσματα δύναται να επιδεινώσει τις μεταβολικές διαταραχές της γλυκόζης και των λιπιδίων (78).

Αρκετές είναι οι επιδημιολογικές μελέτες που έχουν δείξει ότι η κατανάλωση καφεΐνης κατά την περίοδο της εγκυμοσύνης σχετίζεται στενά με IUGR, χαμηλό σωματικό βάρος, υπογεννητικότητα και αυτόματη αποβολή (SAB) (**Εικόνα 2-2**) (80). Μέχρι πρόσφατα, οι περισσότεροι ειδικοί πίστευαν ότι η πρόσληψη καφεΐνης κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης δεν θα πρέπει να υπερβαίνει τα 300 mg (81), αλλά οι πρόσφατες συστάσεις της EFSA και του Αμερικανικού Ινστιτούτου Ιατρικής (IOM) περιόρισαν την ποσότητα σε 200 mg/ημέρα (11, 82). Ωστόσο, τα «ασφαλή» αυτά όρια συνεχίζουν να επαναξιολογούνται συνεχώς, ενώ κάποιες μελέτες παρουσιάζουν αντιφατικά αποτελέσματα και δείχνουν ότι ακόμα και δόσεις μικρότερες των 300 mg μπορούν να αυξήσουν την πιθανότητα για μια αποτυχημένη εγκυμοσύνη.

Πράγματι, σε παλαιότερη μελέτη που εξετάστηκε η επίδραση της κατανάλωσης καφεΐνης σε πληθυσμό μη καπνιστών εγκύων, φάνηκε ότι ποσότητες καφεΐνης μεγαλύτερες των 100 mg/d (και έως 299 mg/d) οδήγησαν σε μεγαλύτερο αριθμό SAB κατά το πρώτο τρίμηνο της εγκυμοσύνης συγκριτικά με τις γυναίκες που κατανάλωναν λιγότερο από 100 mg/d (83). Σε πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση δόσης-απόκρισης, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η κατανάλωση καφέ/καφεΐνης σε ποσότητα περίπου 300 mg συνδέεται με σημαντικά αυξημένο κίνδυνο για SAB. Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε συμφωνία με την EFSA και τον WHO (World Health Organization) και τα ασφαλή προληπτικά όρια (200 και

300 mg/d αντίστοιχα) που έχουν θεσπίσει για την καφεΐνη, ωστόσο φαίνεται ότι ακόμη και αυτά τα όρια ίσως είναι αρκετά υψηλά (84). Το γεγονός αυτό επιβεβαιώθηκε και σε άλλη μελέτη η οποία αφορούσε 59.123 εγκύους στην οποία η πρόσληψη καφεΐνης οδήγησε σε χαμηλό βάρος γέννησης και αυξημένες πιθανότητες για μικρά για την ηλικία νεογνά, ενώ και στην περίπτωση αυτή η σχέση αυτή αφορούσε προσλαμβανόμενες ποσότητες ≤ 300 mg (85).



Εικόνα 2-2: Οι επιδράσεις της μητρικής κατανάλωσης καφεΐνης στην εγκυμοσύνη και στο νεογνό

Αναφορικά με την ανησυχία σχετικά με την μητρική πρόσληψη καφεΐνης και το βάρος γέννησης των νεογνών, μετα-αναλύσεις συνεχώς δείχνουν ότι πράγματι η αυξημένη κατανάλωση καφεΐνης μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα χαμηλό βάρος γέννησης. Ως χαμηλό βάρος γέννησης έχει οριστεί ως το βάρος των νεογνών που δεν ξεπερνά τα 2,5 kg, ενώ παγκοσμίως εκτιμάται ότι το 15,5 % των νεογνών γεννιούνται με χαμηλό βάρος. Το χαμηλό βάρος γέννησης συνδέεται όχι μόνο με τη νοσηρότητα και τη θνησιμότητα του βρέφους, αλλά και με αυξημένο κίνδυνο χρόνιων και μεταβολικών νοσημάτων στην μετέπειτα ενήλικη ζωή, όπως ο διαβήτης τύπου 2 και τα CVDs. Είναι γεγονός ότι αρκετές γυναίκες κατά την εγκυμοσύνη καταναλώνουν κάποιο καφεϊνούχο τρόφιμο ή ποτό, γεγονός το οποίο δικαιολογεί και την αξιολόγηση των ενδεχόμενων επιβλαβών επιδράσεων της πρόσληψης καφεΐνης στο έμβryo και στα αποτελέσματα των γεννήσεων (86).

Εκτός από το χαμηλό βάρος γέννησης, σε άλλες μελέτες φάνηκε ότι η κατανάλωση καφεΐνης κατά την εγκυμοσύνη συνδέεται με αποβολές, περιορισμένη εμβρυϊκή ανάπτυξη, ανεπαρκή

διανοητική ανάπτυξη, αυξημένο βάρος και παχυσαρκία (80). Νεότερα στοιχεία δείχνουν ότι, εκτός από τις σημαντικές επιδράσεις των εξωγενών παραγόντων όπως το περιβάλλον και η διατροφή στον κίνδυνο ανάπτυξης παχυσαρκίας, το *in utero* περιβάλλον φαίνεται να ασκεί ενισχυτικές και μακροπρόθεσμες επιδράσεις τόσο στην παιδική όσο και αργότερα στην ενήλικη ζωή εξαιτίας κακού εμβρυϊκού προγραμματισμού.

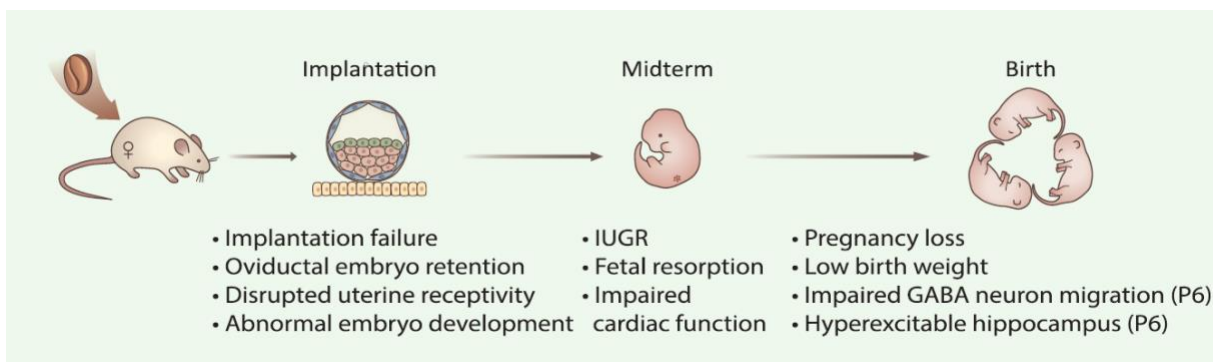
Σε προοπτική μελέτη κοόρτης εγκύων διάρκειας 15 ετών μελετήθηκε η επίπτωση της εμβρυϊκής έκθεσης σε καφεΐνη και ο κίνδυνος για ανάπτυξη παιδικής παχυσαρκίας. Από τα αποτελέσματα της μελέτης έγινε εμφανές ότι η έκθεση σε καφεΐνη κατά την εμβρυϊκή περίοδο σχετίστηκε με 87 % μεγαλύτερο κίνδυνο για ανάπτυξη παιδικής παχυσαρκίας (87). Στη μεγάλη προοπτική μελέτη παρατήρησης (Paradouroulou et al., 2018) φάνηκε ότι οποιαδήποτε ποσότητα έκθεσης σε καφεΐνη κατά την περίοδο της εγκυμοσύνης αύξησε τον κίνδυνο για υπέρβαρο στις ηλικίες 3-5 ετών, ενώ η σχέση αυτή παρέμεινε μέχρι και την ηλικία των 8 ετών για τις γυναίκες με μεγαλύτερες ποσότητες πρόσληψης καφεΐνης (88). Αντίστοιχα, σε άλλη παρόμοια πληθυσμιακή μελέτη 7.857 μητέρων, φάνηκε ότι τα παιδιά των μητέρων που καταναλάωναν ≥ 6 φλιτζάνια/ημέρα έτειναν να έχουν χαμηλότερο βάρος γέννησης, μεγαλύτερη πρόσληψη βάρους μέχρι την ηλικία των 6 ετών αλλά και ΔΜΣ από τον 6^ο μήνα έως και το 6^ο έτος της ηλικίας τους συγκριτικά με τα παιδιά των μητέρων που δε καταναλάωναν καθόλου ή καταναλάωναν ≤ 2 φλιτζάνια καφέ/ημέρα. Επιπλέον, είναι αξιοσημείωτο ότι τα παιδιά των μητέρων που προσλάμβαναν μεγάλες ποσότητες καφεΐνης είχαν μεγαλύτερη αναλογία σπλαχνικού σωματικού λίπους (89).

Η απορρόφηση και η βιοδιαθεσιμότητα της καφεΐνης είναι παρόμοια μεταξύ ανθρώπων και τρωκτικών, παρόλο που παρατηρούνται διαφορές στην εγκυμοσύνη και στην εμβρυϊκή ανάπτυξη. Η παραπάνω ομοιότητα αποτελεί βοηθητικό παράγοντα που έχει επιτρέψει στους επιστήμονες να κατανοήσουν τις φυσιολογικές και μοριακές επιδράσεις που ασκεί η καφεΐνη, μέσω της χρήσης ζωικών προτύπων. Ο μεταβολισμός της καφεΐνης λαμβάνει χώρα κυρίως στο ήπαρ από το ένζυμο CYP1A2 με ποσοστό συμμετοχής περίπου 95 % στους ανθρώπους και 87 % στα τρωκτικά, καθώς επίσης αποτελεί και την κυριότερη ισομορφή που ανιχνεύεται στο ήπαρ τόσο των ανθρώπων όσο και των τρωκτικών. Υπό φυσιολογικές συνθήκες ένας από τους ρόλους της καφεΐνης είναι να μπλοκάρει τους υποδοχείς αδενوسίνης μέσω κυρίως του ADORA1 (υποδοχέας αδενوسίνης A1) και του ADORA2A (υποδοχέας αδενوسίνης A2A). Επομένως,

γίνεται κατανοητό ότι οι μελέτες ζωικών προτύπων, και συγκεκριμένα τρωκτικών, σε ένα καλά ελεγχόμενο πειραματικό περιβάλλον είναι ικανές να παρέχουν γνώση πάνω στους υποκείμενους κυτταρικούς μηχανισμούς με τους οποίους επιδρά η καφεΐνη στην περίοδο της εγκυμοσύνης.

Σε συνέχεια των αποτελεσμάτων των ανθρώπινων επιδημιολογικών μελετών, η έκθεση των τρωκτικών στην καφεΐνη επιφέρει παρόμοιες επιδράσεις με τους ανθρώπους τόσο στα αποτελέσματα της εγκυμοσύνης όσο και στην εμβρυϊκή ανάπτυξη. Στις μελέτες που έχουν διεξαχθεί σε τρωκτικά οι ποσότητες καφεΐνης που δίνονται έχουν υπολογιστεί και ισοδυναμούν με ένα φλιτζάνι καφέ των 240 mL της ανθρώπινης κατανάλωσης, γεγονός το οποίο στηρίζεται στα κυκλοφορούντα επίπεδα καφεΐνης μετά την πρόσληψή της τόσο από τους ανθρώπους όσο και από τα τρωκτικά (80). Η έκθεση ποντικών σε μεγάλες δόσεις καφεΐνης (που αντιστοιχούν σε 6-12 φλιτζάνια καφέ στους ανθρώπους) 1 μήνα πριν την εγκυμοσύνη αλλά και καθ' όλη τη διάρκεια αυτής είχε ως αποτέλεσμα την καθυστέρηση της σύλληψης, χαμηλή αύξηση βάρους από την μητέρα και τον πλακούντα καθώς επίσης και αυξημένο κίνδυνο για IUGR, εμβρυϊκή απορρόφηση και χαμηλό βάρος γέννησης (90). Επιπρόσθετα, σύμφωνα με μελέτες, ακόμη και μια σύντομη πρόσληψη καφεΐνης στα πρώιμα στάδια της εγκυμοσύνης ή ακόμη και στο στάδιο πριν τη σύλληψη φαίνεται να επιφέρει δυσμενείς επιδράσεις όχι μόνο οξείες αλλά και κατά τη διάρκεια ολόκληρης της εγκυμοσύνης (**Εικόνα 2-3**).

Σε θηλυκούς αρουραίους που δόθηκε ποσότητα καφεΐνης ανάλογη με 6 φλιτζάνια καφέ, έγινε εμφανές ότι για 4 συνεχόμενες ημέρες ύστερα από την κατανάλωση της καφεΐνης οι αρουραίοι παρουσίασαν υπογεννητικότητα εξαιτίας της διαταραγμένης εμφύτευσης του εμβρύου στη μήτρα (91). Σε άλλη μελέτη όπου δόθηκε ποσότητα καφεΐνης που αντιστοιχεί σε 1-2 φλιτζάνια καφέ την ημέρα βρέθηκε επίσης ότι η ποσότητα αυτή συσχετίστηκε με διαταραγμένη ενδομήτρια εμφύτευση εμβρύου (92). Τα παραπάνω αποτελέσματα γεννούν ερωτήματα και ανησυχίες σχετικά με την κατανάλωση καφεΐνης από την μητέρα πριν την σύλληψη και τις πιθανές αρνητικές επιδράσεις στη μακροπρόθεσμη υγεία των απογόνων (80).



Εικόνα 2-3: Οι επιδράσεις της μητρικής κατανάλωσης καφεΐνης στην εγκυμοσύνη και στο νεογνό τρωκτικών

Παράλληλα, η έκθεση στην καφεΐνη στη μέση ή στο τέλος της εγκυμοσύνης μπορεί, επίσης, να επιφέρει μια σειρά από αρνητικές επιδράσεις στην υγεία. Η πρόσληψη καφεΐνης από ποντίκια κατά την περίοδο της εγκυμοσύνης σε ποσότητες ανάλογες με 2 φλιτζάνια καφέ, έχει φανεί ότι επηρεάζει την ανάπτυξη της καρδιάς του εμβρύου, μειώνει την καρδιακή κοιλιακή περιοχή και την καρδιακή εξώθηση και συσταλτικότητα με αποτέλεσμα τη διαταραγμένη λειτουργία της καρδιάς στην ενήλικη ζωή (93, 94). Παρόμοια, όταν χορηγήθηκε καφεΐνη (ποσότητα ανάλογη με 1 φλιτζάνι καφέ) σε καθημερινή βάση σε ποντίκια τις μέρες 9,5-18,5 της εγκυμοσύνης, ακόμα και η μικρή αυτή ποσότητα ήταν ικανή να διαταράξει την ομαλή ανάπτυξη και λειτουργία της καρδιάς του εμβρύου. Η επίδραση αυτή στη λειτουργία του μυοκαρδίου φαίνεται να προκαλείται εξαιτίας του γεγονότος ότι η καφεΐνη αποκλείει τον υποδοχέα σηματοδότησης της αδενοσίνης (95).

Επιπλέον, επιδράσεις της καφεΐνης στην εμβρυϊκή ανάπτυξη μπορεί να είναι απότοκο της διαταραγμένης λειτουργίας του πλακούντα. Όπως αποδεικνύεται από το μειωμένο βάρος του πλακούντα και της ανώμαλης δομής του μετά τη χορήγηση καφεΐνης στη μέση και προς το τέλος της εγκυμοσύνης στους αρουραίους, η καφεΐνη θα μπορούσε να δρα μέσω χρόνιας ενεργοποίησης του συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης. Επιπρόσθετα, δόσεις καφεΐνης στη 12^η ημέρα της εγκυμοσύνης των τρωκτικών δρουν μειώνοντας την αιματική ροή στο ενδομήτριο (96). Η μείωση της ροής του αίματος έχει ως αποτέλεσμα την αγγειοσύσπαση στην μητροπλακουντιακή ροή και πιθανή ανεπάρκεια του πλακούντα σχετικά με τη μεταφορά θρεπτικών συστατικών προς το έμβryo (80). Επιπλέον, τα αυξημένα επίπεδα επινεφρίνης και η μειωμένη

ροή αίματος στην περιοχή της ενδολαχνικής πλακουντιακής κυκλοφορίας έχουν ανιχνευτεί σε γυναίκες που κατανάλωναν 2 φλιτζάνια καφέ στο τελευταίο τρίμηνο της εγκυμοσύνης (97).

Σύμφωνα, λοιπόν, με τις παραπάνω παρατηρήσεις καθίσταται εμφανές ότι η κατανάλωση καφεΐνης σε όλα τα στάδια της εγκυμοσύνης μπορεί να έχει σημαντικές επιπτώσεις τόσο στην ανάπτυξη του πλακούντα και του εμβρύου όσο και στη μετέπειτα ενήλικη ζωή με πιθανές επιπτώσεις στο μεταβολικό προφίλ των απογόνων.

2.5 Ενδομήτριο περιβάλλον & Μεταβολικό Σύνδρομο

Είναι πλέον γνωστό ότι το μεταβολικό σύνδρομο (MetS) συνιστά μια ομάδα από μεταβολικούς παράγοντες κινδύνου, όπως η κεντρική παχυσαρκία, η υπέρταση και η δυσλιπιδαιμία. Επίσης, η αντίσταση στην ινσουλίνη αποτελεί το κλειδί για την εμφάνιση MetS. Διάφορες επιδημιολογικές μελέτες αλλά και μελέτες ζωικών προτύπων αναδεικνύουν την επίδραση που έχει το διαταραγμένο ενδομήτριο περιβάλλον στην αύξηση της ευαισθησίας για εμφάνιση MetS. Ορισμένοι επιστήμονες επισημαίνουν ότι η αυξημένη επίπτωση του MetS στην ενήλικη ζωή συνδέεται με το χαμηλό βάρος γέννησης των νεογνών, το οποίο όπως φαίνεται σχετίζεται με τη θεωρία της αναπτυξιακής προέλευσης της νόσου των ενηλίκων (Developmental Origins of Adult Disease), και παραπέμπει στο γεγονός ότι το MetS έχει αναπτυξιακή προέλευση. Πλήθος αναφορών υποδεικνύουν ότι το διαταραγμένο ενδομήτριο περιβάλλον οδηγεί σε υπερέκθεση του εμβρύου στα μητρικά γλυκοκορτικοειδή, γεγονός που θεωρείται πρωτεύων παράγοντας για την έναρξη των μεταβολών στον ενδομήτριο προγραμματισμό. Επιπλέον, ιδιαίτερη βαρύτητα δίνεται στην επίδραση που έχει το διαταραγμένο ενδομήτριο περιβάλλον στην πρόκληση μη φυσιολογικής ανάπτυξης του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια, σε άλλους ενδοκρινικούς άξονες καθώς και στον μεταβολισμό των περιφερικών ιστών στο έμβρυο (78).

Κεφάλαιο 3: Μεταβολικό σύνδρομο

3.1 Γενικά

Ιστορικά, το MetS ήταν γνωστό με τον όρο «σύνδρομο X», όπως είχε χαρακτηριστεί από τον επιστήμονα Reaven, υποθέτοντας ότι το σύνδρομο αυτό είχε ως κεντρικό χαρακτηριστικό την ανάπτυξη CHD και σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 κυρίως μέσω αντίστασης των ιστών στόχων στη δράση της ινσουλίνης, ο οποίος αργότερα το μετονόμασε, όπως είναι γνωστό σήμερα, ως «μεταβολικό σύνδρομο». Το MetS αποτελεί μια πολύπλοκη διαταραχή με υψηλό κοινωνικοοικονομικό κόστος που θεωρείται ακόμη και παγκόσμια επιδημία (98). Ουσιαστικά πρόκειται για ένα σύνολο μεταβολικών διαταραχών που έχουν ως κοινό χαρακτηριστικό την έκτοπη εναπόθεση λιπιδίων, την αντίσταση στην ινσουλίνη και τη χαμηλού βαθμού χρόνια φλεγμονή.

Η διατροφή συνδέεται στενά με την εμφάνιση MetS καθώς η χρόνια έκθεση σε θετικό ενεργειακό ισοζύγιο αποτελεί κινητήριο δύναμη τόσο για την εμφάνιση όσο και για την εξέλιξη της κατάστασης αυτής. Αναφορικά με τη διάγνωση του MetS, τα κύρια χαρακτηριστικά που οδηγούν σε αυτή, είναι η αρτηριακή υπέρταση, η κεντρική παχυσαρκία, η υπεργλυκαιμία και η αθηρωματογόνος δυσλιπιδαιμία. Επιπλέον, αρκετές άλλες καταστάσεις σχετίζονται με παρόμοιες μεταβολικές διαταραχές. Κάποιες από αυτές μπορεί να είναι η λιπώδης διήθηση του ήπατος, το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών και η υπερουριχαιμία, χωρίς ωστόσο να αποτελούν διαγνωστικά κριτήρια, ενώ τις κύριες μακροχρόνιες επιπλοκές του MetS αποτελούν ο διαβήτης τύπου 2, η αθηρωματογένεση και η γνωστική δυσλειτουργία.

Γενικότερα, υπάρχει διαφωνία μεταξύ των επιστημόνων σχετικά με τον ορισμό του συνδρόμου αυτού, καθώς τις τελευταίες δεκαετίες έχουν προταθεί αρκετοί ορισμοί (99). Πρόσφατα, στις συνιστώσες του μεταβολικού συνδρόμου εντάχθηκαν και άλλες διαταραχές μεταξύ των οποίων, είναι χρόνιες προφλεγμονώδεις και προθρομβωτικές καταστάσεις, η μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος και η υπνική άπνοια, καθιστώντας τη δημιουργία και καθιέρωση ενός κοινού ορισμού ακόμα δυσκολότερη. Επιπλέον, εκτός από τις πολλές συνιστώσες που απαρτίζουν το MetS αλλά και τις κλινικές του συνέπειες, συνεχίζει μέχρι και σήμερα να μην υπάρχει ένας παγκόσμιος αποδεκτός παθογενετικός μηχανισμός ή διαγνωστικά κριτήρια σαφώς ορισμένα.

Επιπρόσθετα, το γεγονός σχετικά με την υπόθεση αν το μεταβολικό σύνδρομο αντιπροσωπεύει ένα συγκεκριμένο σύνδρομο ή είναι ένα υποκατάστατο συνδυασμένων παραγόντων κινδύνου που θέτουν ως εκ τούτου το άτομο σε συγκεκριμένο κίνδυνο, βρίσκεται ακόμα υπό εξέταση. Επιπλέον, ένα κύριο εξελισσόμενο θέμα σχετικά με το μεταβολικό σύνδρομο είναι ο αυξημένος επιπολασμός που εμφανίζει τόσο στην παιδική όσο και στην νεαρή ενήλικη ζωή αλλά και οι μελλοντικές συνέπειες που μπορεί να επιφέρει στο παγκόσμιο σύστημα υγείας (98). Φαίνεται ότι ο επιπολασμός του συνδρόμου αυτού δεν είναι σταθερός και ποικίλει, καθώς εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως είναι τα κριτήρια που χρησιμοποιούνται στους διαφορετικούς ορισμούς αλλά και η σύσταση του πληθυσμού (φύλο, ηλικία, φυλή και εθνικότητα). Ωστόσο, ανεξάρτητα από τα κριτήρια που χρησιμοποιούνται κάθε φορά, ο επιπολασμός του MetS είναι ιδιαίτερα αυξημένος και αυξάνεται σε όλες τις δυτικές κοινωνίες πιθανότατα εξαιτίας των επιδημικών διαστάσεων της παχυσαρκίας.

3.2 Ορισμός μεταβολικού συνδρόμου

Με την πάροδο των χρόνων έχουν γίνει αρκετές προσπάθειες από διάφορους παγκόσμιους οργανισμούς και ομάδες ειδικών με σκοπό τον ορισμό του μεταβολικού συνδρόμου. Κάποιοι από τους οργανισμούς που έχουν συμβάλει στο εγχείρημα αυτό, είναι ο WHO, η Ευρωπαϊκή Ομάδα για τη μελέτη της Αντίστασης στην Ινσουλίνη (EGIR), η Εθνική Επιτροπή Εκπαίδευσης για τη Χοληστερόλη-3ο Πρόγραμμα Θεραπείας Ενηλίκων (NCEP: ATP III) των ΗΠΑ, η Αμερικανική Εταιρεία Κλινικών Ενδοκρινολόγων (ACE), η Παγκόσμια Ομοσπονδία Διαβήτη (IDF) και η Αμερικανική Καρδιολογική Εταιρεία και το Εθνικό Ινστιτούτο Καρδιάς, Πνεύμονα και Αίματος (AHA/NHLBI) (Πίνακας 2-1). Οι οργανισμοί αυτοί έχουν προσπαθήσει να ενσωματώσουν όλες τις πιθανές παραμέτρους προκειμένου να ορίσουν το MetS (98). Σύμφωνα με τον WHO και τον πρώτο ορισμό του το 1998, ως MetS ορίστηκε η ταυτόχρονη ύπαρξη των σημαντικών συνιστωσών όπως η αντίσταση στην ινσουλίνη ή τα υποκατάστατά της, η διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη ή διαβήτη τύπου 2 μαζί με τουλάχιστον 2 από τα ακόλουθα κριτήρια:

- Αυξημένη αρτηριακή πίεση $\geq 160/90$ mmHg
- Υπερτριγλυκεριδαιμία και/ή χαμηλή LDL-χοληστερόλη

- Παχυσαρκία (μέσω εκτίμησης του λόγου περιμέτρου μέσης/ισχίων ή του ΔΜΣ)
- Μικροαλβουμινουρία (100)

Αμέσως μετά τον ορισμό του WHO, η EGIR έθεσε εκτός το κριτήριο της μικροαλβουμινουρίας θεωρώντας το μικρότερης σημασίας για τη θέσπιση του ορισμού του συνδρόμου, καθώς για την εμφάνιση μικροαλβουμινουρίας προηγείται η εμφάνιση υπερινσουλιναιμίας. Επιπρόσθετα, ως κύριος δείκτης για την αξιολόγηση της παχυσαρκίας θεωρήθηκε η περίμετρος μέσης και όχι ο ΔΜΣ (101). Το 2001, η NCEP: ATP III των Η.Π.Α, παρουσίασε μια νέα σειρά από κριτήρια συμπεριλαμβάνοντας τα λιπίδια αίματος, την περίμετρο μέσης, την αρτηριακή πίεση και τη γλυκόζη νηστείας. Το στοιχείο που διαφοροποίησε τα κριτήρια της NCEP: ATP III από τον WHO και την EGIR ήταν ότι για πρώτη φορά η αντίσταση στην ινσουλίνη δεν συγκαταλέχθηκε στα απαραίτητα διαγνωστικά στοιχεία (102). Αργότερα, και συγκεκριμένα το 2005 πραγματοποιήθηκε ακόμη μια προσπάθεια καλύτερου ορισμού του MetS από την IDF με τη δημοσίευση καινούριων κριτηρίων.

Τα κριτήρια αυτά δημιουργήθηκαν με σκοπό να χρησιμοποιηθούν από κλινικές και ερευνητικές ομάδες. Συνεπώς, τα κριτήρια αυτά θα ήταν σε θέση να δημιουργήσουν συγκρίσεις μεταξύ αποτελεσμάτων διαφόρων μελετών προκειμένου να μπορεί να υπάρξει καλύτερη πρόβλεψη του κινδύνου για εμφάνιση CHD, εγκεφαλικών επεισοδίων και διαβήτη τύπου 2 (103). Επιπλέον, η IDF εισήγαγε ως προϋπόθεση την κοιλιακή παχυσαρκία, σχετικά με τη διάγνωση του MetS. Η προϋπόθεση αυτή εστιάζει κυρίως στην περίμετρο μέσης ως απλό εργαλείο ανίχνευσης, το οποίο υιοθετήθηκε επίσης και από τους AHA/NHLBI. Τα 4 στοιχεία του μεταβολικού συνδρόμου που παρέμειναν από τους AHA/NHLBI, είναι ίδια με αυτά της IDF, ενώ η κοιλιακή παχυσαρκία ορίστηκε διαφορετικά. Σύμφωνα με την IDF το κατώφλι της περιμέτρου μέσης για τον Ευρωπαϊκό πληθυσμό πρέπει να είναι τα 94 εκ. για τον ανδρικό πληθυσμό και 80 εκ. για τον γυναικείο. Από την άλλη μεριά οι AHA/NHLBI συστήνουν ως όρια τα 102 εκ. για τους άνδρες και 88 εκ. για τις γυναίκες αντίστοιχα.

Σήμερα, οι 2 ορισμοί που χρησιμοποιούνται ευρέως είναι αυτοί των NCEP:ATP III και της IDF, που εστιάζουν κυρίως στην περίμετρο μέσης, η οποία αποτελεί και μια υποκατάστατη μέτρηση της κεντρικής παχυσαρκίας. Αντίθετα, οι υπόλοιποι ορισμοί των AACE, WHO και EGIR δεν εστιάζουν στην περίμετρο μέσης αλλά στην αντίσταση στην ινσουλίνη. Ένα από τα βασικά προβλήματα που αντιμετωπίζουν οι ορισμοί των WHO και NCEP:ATP III είναι η εφαρμογή

τους σε διαφορετικές εθνικές ομάδες, ιδιαίτερα όταν γίνεται προσπάθεια να οριστούν τα όρια της παχυσαρκίας. Το γεγονός αυτό είναι ιδιαίτερα εμφανές στον κίνδυνο για εμφάνιση σακχαρώδη διαβήτη, ο οποίος εμφανίζεται σε πολύ χαμηλότερα επίπεδα παχυσαρκίας σε πληθυσμούς όπως οι Ασιάτες, συγκριτικά με τους Ευρωπαίους. Η IDF έχοντας λάβει υπόψη ότι είναι αρκετά δύσκολο να εκδοθούν όμοια κριτήρια που θα εφαρμόζονται σε όλες τις εθνικότητες, έχει δημιουργήσει διαφορετικά κριτήρια τα οποία θα μπορούν να εφαρμοστούν από διαφορετικές εθνικές ομάδες με συγκεκριμένα όρια για κάθε εθνικότητα (98).

Τα κριτήρια της NCEP:ATP III συμπεριλαμβάνουν τα στοιχεία κλειδιά για την διάγνωση του MetS όπως είναι η υπεργλυκαιμία/αντίσταση στην ινσουλίνη, η κοιλιακή παχυσαρκία, η αθηρωματογόνος δυσλιπιδαιμία και η υπέρταση. Επιπλέον, χρησιμοποιεί μετρήσεις και εργαστηριακά αποτελέσματα στα οποία έχουν άμεση πρόσβαση οι γιατροί γεγονός το οποίο διευκολύνει την εφαρμογή τους τόσο σε κλινικό όσο και σε επιδημιολογικό επίπεδο. Επιπλέον, τα κριτήριά της απομνημονεύονται εύκολα και κυρίως δεν απαιτούν να πληροί κάποιος ένα συγκεκριμένο κριτήριο αλλά να πληρούνται 3 από τα συνολικά 5 κριτήρια που έχουν οριστεί. Επομένως, ο ορισμός αυτός δε δημιουργεί κανέναν προΐδεασμό σχετικά με την υποκείμενη αιτία πρόκλησης του συνδρόμου είτε αυτό οφείλεται σε αντίσταση στην ινσουλίνη είτε σε παχυσαρκία (104).

Πίνακας 3-1: Τα Διαγνωστικά Κριτήρια του Μεταβολικού Συνδρόμου

	IDF (παχυσαρκία $a + \geq 2$)	NCEP ATP III (≥ 3)	WHO (αντίσταση στην ινσουλίνη/ Διαβήτης $+ \geq 2$)	EGIR (υπερινσουλιναιμία $+ \geq 2$)
Παχυσαρκία	BMI > 30 kg/m ² ή όρια περιφέρειας μέσης συγκεκριμέ	Περίμετρος μέσης για άνδρες > 40 ίντσες, γυναίκες > 35 ίντσες	Λόγος περιμέτρου μέσης/ισχίων > 0,9 ίντσες στους άνδρες και > 0,85 ίντσες στις	Περίμετρος μέσης για άνδρες ≥ 94 εκ., γυναίκες ≥ 80 εκ.

	νου φύλου ή εθνικότητας		γυναίκες ή BMI > 30 kg/m ²	
Αυξημένα TGs	TG ≥ 150 mg/dL ή θεραπεία της λιπιδικής διαταραχής	TG ≥ 150 mg/dL ή θεραπεία της λιπιδικής διαταραχής	TG ≥ 150 mg/dL	TG ≥ 177 mg/dL
Μειωμένη HDL	HDL < 40 mg/dL στους άνδρες και < 50 mg/dL στις γυναίκες ή θεραπεία της λιπιδικής διαταραχής	HDL < 40 mg/dL στους άνδρες και < 50 mg/dL στις γυναίκες ή θεραπεία της λιπιδικής διαταραχής	HDL < 35 mg/dL στους άνδρες και < 39 mg/dL στις γυναίκες	HDL < 39 mg/dL
Υπέρταση	Σ.Α.Π. ≥ 130 ή Δ.Α.Π. ≥ 85 mmHg ή θεραπεία για την προηγούμενη ως διαγνωσμένη υπέρταση	Α.Π. ≥ 130 ή Δ.Α.Π. ≥ 85 mmHg ή λήψη θεραπείας για την υπέρταση	> 140/90 mm Hg	> 140/90 mm Hg ή λήψη θεραπείας για την υπέρταση

Υπεργλυκαιμία	Γλυκόζη νηστείας > 100 mg/dL ή διαγνωσμένος διαβήτης τύπου 2	Γλυκόζη νηστείας > 100 mg/dL ή λήψη αγωγής για την αυξημένη γλυκόζη στο αίμα	Απαιτείται αντίσταση στην ινσουλίνη	Απαιτείται αντίσταση στην ινσουλίνη (ινσουλίνη πλάσματος > 75 ^η εκ. θέση)
Άλλο			Αλβουμίνη ούρων ≥ 20 μg/λεπτό ή λόγος αλβουμίνης/κρεατίνης > 30 mg/g	

(105)

3.3 Επιδημιολογία μεταβολικού συνδρόμου

Ο επιπολασμός του MetS κυμαίνεται σε παγκόσμια κλίμακα από < 10 % έως και 84 %. Η διακύμανση αυτή εξαρτάται από την περιοχή που κατοικεί το δείγμα του εξεταζόμενου πληθυσμού (αστική ή υπαίθρια περιοχή), από τη σύστασή του (ηλικία, φύλο, εθνικότητα και φυλή) καθώς και από τον ορισμό του συνδρόμου που χρησιμοποιείται. Η IDF εκτιμά ότι το 25 % του παγκόσμιου ενήλικου πληθυσμού πάσχει MetS. Επίσης, έχει γίνει σαφές ότι το υψηλό κοινωνικοοικονομικό επίπεδο, ο υψηλός ΔΜΣ και η καθιστική ζωή συνδέονται στενά με την εμφάνιση MetS (106). Επιπλέον, οι διαφορές στο γενετικό υπόβαθρο μεταξύ των ανθρώπων, τα επίπεδα φυσικής δραστηριότητας, η διατροφή, το κάπνισμα, το οικογενειακό ιστορικό εμφάνισης διαβήτη, ακόμα και η εκπαίδευση, μπορούν να επηρεάσουν τον επιπολασμό του MetS καθώς και τις επιμέρους συνιστώσες του (107).

Σύμφωνα με τη μελέτη NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey) που διεξήχθη σε δείγμα Αμερικανών πολιτών, το MetS φάνηκε να είναι παρόν στο 22,8 % για τους άνδρες και 22,6 % για τις γυναίκες αντίστοιχα. Στην ίδια μελέτη, ο επιπολασμός σύμφωνα με τον παράγοντα της ηλικίας ήταν υψηλότερος στους Μεξικανούς Αμερικανούς και χαμηλότερος στον σκουρόχρωμο πληθυσμό και στα 2 φύλα. Οι εθνικές διαφορές συνέχισαν να

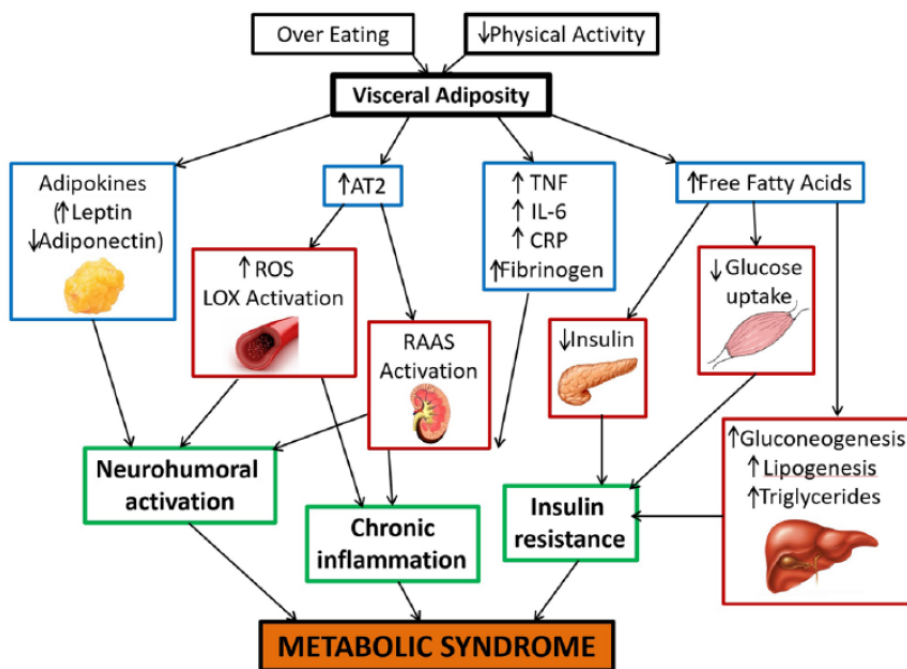
παρουσιάζονται ακόμα και μετά την προσαρμογή ανάλογα με την ηλικία, τον ΔΜΣ και το κοινωνικοοικονομικό επίπεδο. Επίσης, MetS εμφάνιζε το 4,6 %, 22,4 % και 59,6 % των φυσιολογικού βάρους εθελοντών, των υπέρβαρων και των παχύσαρκων, αντίστοιχα. Οι μεγαλύτερες πιθανότητες για ανάπτυξη του συνδρόμου συσχετίστηκαν με παράγοντες όπως η αυξημένη ηλικία, η εθνικότητα των Μεξικανών Αμερικανών, οι μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, ο υψηλός ΔΜΣ, το κάπνισμα, το χαμηλό οικογενειακό εισόδημα, η αυξημένη πρόσληψη υδατανθράκων και η χαμηλή φυσική δραστηριότητα (108). Βάσει στοιχείων από τη μελέτη NHANES, το MetS αυξάνεται αναλογικά με την αύξηση της ηλικίας. Συγκεκριμένα, στις ηλικίες μεταξύ 20-29 ετών παρατηρείται αύξηση της τάξης του 10 %. Αντίστοιχα, στις ηλικίες 40-49 ετών παρατηρείται αύξηση 20 % και 45 % στις ηλικίες 60-69 έτη (109).

Ο επιπολασμός του MetS παγκοσμίως κυμαίνεται από 8-43 % στους άνδρες και από 7-56 % στις γυναίκες (106). Επιπλέον, φαίνεται ότι αυξημένος επιπολασμός του MetS υπάρχει στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες το οποίο μπορεί να κυμαίνεται από 32,6-42,5 % (110). Σχετικά με την πρόσληψη σωματικού βάρους, σε μελέτη φάνηκε ότι η αύξηση κατά $\geq 2,25$ κιλά μέσα σε περίοδο 16 χρόνων σχετίζεται με έως και 45 % αύξηση του κινδύνου για εκδήλωση MetS (106). Παρόμοια αποτελέσματα παρουσίασε και άλλη μελέτη στην οποία έγινε σαφές ότι για κάθε 11 εκ. αύξησης της περιμέτρου μέσης προκύπτει και 80 % αυξημένος κίνδυνος για εμφάνιση MetS στην επόμενη πενταετία (111).

Είναι πολύ πιθανό ο επιπολασμός του MetS να συνεχίσει να αυξάνεται με το πέρασμα των χρόνων δεδομένης και της αύξησης της παχυσαρκίας, ιδιαίτερα στους νέους. Το γεγονός αυτό φαίνεται ότι έχει σημαντικές επιπτώσεις στον μελλοντικό κίνδυνο για εμφάνιση CVD τόσο σε βάθος δεκαετίας όσο και μακροπρόθεσμα. Το MetS έχει αρχίσει να παρουσιάζει μεγαλύτερη συχνότητα στις μεγαλύτερες ηλικίες. Η σαρκοπενική παχυσαρκία δεν έχει καθοριστεί με τέτοιο τρόπο ώστε να είναι σε θέση να χρησιμοποιηθεί για κλινική διάγνωση ή για την αξιολόγηση των δεδομένων υπαρχόντων μελετών ενώ μελέτες έχουν παρουσιάσει ότι υπάρχει αποσύνδεση μεταξύ των αλλαγών στον ΔΜΣ και στην περίμετρο μέσης στους μεγαλύτερους ηλικιακά ανθρώπους, με την έννοια ότι η περίμετρος μέσης είναι πιθανό να αυξάνεται ακόμα και αν ο ΔΜΣ παρουσιάζει σταθεροποίηση, γεγονός που υποδηλώνει απώλεια μυϊκής μάζας και αύξηση της λιπώδους μάζας (112).

3.4 Παθοφυσιολογία

Οι μηχανισμοί της παθογένεσης του MetS είναι αρκετά περίπλοκοι και δεν έχουν ξεκαθαριστεί πλήρως. Γενικότερα, το κατά πόσο οι επιμέρους συνιστώσες του MetS σε έναν άνθρωπο αντιπροσωπεύουν ξεχωριστές παθολογίες ή ενδείξεις από έναν κοινό παθογενετικό μηχανισμό είναι ακόμα υπό συζήτηση. Η μεγάλη διακύμανση που παρατηρείται στη γεωγραφική κατανομή του MetS και η οικονομική άνθηση που παρατηρείται στον αναπτυσσόμενο κόσμο δίνει βάση στη σημαντικότητα παραγόντων που σχετίζονται με το περιβάλλον και τον τρόπο ζωής, όπως η υπερβολική πρόσληψη ενέργειας και η έλλειψη φυσικής δραστηριότητας. Στην κορυφή των παραγόντων πρόκλησης του MetS είναι ευρέως αποδεκτό ότι βρίσκεται το σπλαχνικό λίπος (Εικόνα 3-1) αφού πυροδοτεί τις περισσότερες οδούς που σχετίζονται με το MetS, ενώ η υπερβολική πρόσληψη θερμίδων αποτελεί μείζονα παράγοντα πρόκλησης. Από όλους τους μηχανισμούς πρόκλησης του MetS που παρουσιάζονται, φαίνεται ότι η αντίσταση στην ινσουλίνη, η νευρο-χημική ενεργοποίηση και η χρόνια φλεγμονή αποτελούν τις βασικότερες αιτίες έναρξης, εξέλιξης και μετάβασης του MetS σε CVD (Εικόνα 3-1) (113).



Εικόνα 3-1: Ο παθοφυσιολογικός μηχανισμός του Μεταβολικού Συνδρόμου

Παρόλο που η κεντρική παχυσαρκία και η αντίσταση στην ινσουλίνη, ως παράγοντες που συσχετίζονται ιδιαίτερα, διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο στην εμφάνιση του MetS, δεν είναι σαφές ποιος από τους 2 παράγοντες συμμετέχει περισσότερο στην παθογένεση και στην εξέλιξη του MetS. Η παθοφυσιολογία του MetS είναι αρκετά περίπλοκη και περιλαμβάνει αρκετούς παράγοντες πρόκλησης ανάμεσα στους οποίους είναι η διαταραχή της λειτουργίας του λιπώδους ιστού και των παραγόμενων κυτοκινών, η φλεγμονή, τα γονίδια, το φύλο, η εθνικότητα, η φυσική αδράνεια, η διατροφή, τα φάρμακα, η ηλικία και οι ορμονικές ανισορροπίες. Όπως γίνεται ξεκάθαρο, το να θεωρηθεί ότι το μεταβολικό σύνδρομο προκαλείται από έναν μοναδικό παράγοντα δεν αποτελεί μια ρεαλιστική τοποθέτηση. Αντίθετα, όπως φαίνεται είναι ένα σύμπλεγμα συνδυαστικών παραγόντων κινδύνου που κυρίως προκαλούνται από την παχυσαρκία και την αντίσταση στην ινσουλίνη και οδηγούν σε μια σειρά από μεταβολικά προβλήματα (114).

Παρόλο που έχει πραγματοποιηθεί σημαντική πρόοδος στο κομμάτι της παθοφυσιολογίας και του προσδιορισμού των παραγόντων κινδύνου που οδηγούν σε προδιάθεση για ανάπτυξη MetS, υπάρχουν ακόμα πολλά στοιχεία που δεν έχουν ξεκαθαριστεί. Η μεγάλη διακύμανση που φαίνεται να υπάρχει σχετικά με την ευπάθεια και την ηλικία έναρξης του MetS σε άτομα με παρόμοιο προφίλ κινδύνου αποδεικνύει τη μεγάλη αλληλεπίδραση που υπάρχει μεταξύ του γενετικού υποβάθρου του ατόμου και των περιβαλλοντικών παραγόντων στους οποίους εκτίθεται. Παρόλο που η αντίσταση στην ινσουλίνη και φυσικά η παχυσαρκία παραμένουν οι βασικοί πυρήνες στην παθοφυσιολογία του MetS, υπάρχουν αρκετοί ακόμη παράγοντες που συμβάλλουν ενεργά στην πυροδότηση του συνδρόμου. Το χρόνια στρες, η απορρύθμιση του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια (HPA) και του ANS, η αύξηση του κυτταρικού οξειδωτικού στρες, της δραστηριότητας του συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνης, της δράσης των ενδογενών γλυκοκορτικοειδών των ιστών, όπως επίσης και της ανακάλυψης των μορίων όπως τα mRNAs μπορούν επίσης να αποτελούν κομμάτι της παθογένεσης του MetS (98).

3.4.1 Παχυσαρκία

Τις τελευταίες δεκαετίες ο επιπολασμός της παχυσαρκίας έχει αυξηθεί, ενώ η παχυσαρκία χαρακτηρίζεται ως ο επικρατέστερος παράγοντας κινδύνου για την ανάπτυξη MetS. Βάσει αυτού, πολλοί από τους παχύσαρκους ανθρώπους είναι πολύ πιθανό να πάσχουν και από MetS. Η σχέση αυτή που έχει δημιουργηθεί ανάμεσα στην παχυσαρκία και το MetS δεν αφορά αποκλειστικά και μόνο το κομμάτι της παχυσαρκίας και το βαθμό της, αλλά πολύ περισσότερο το MetS σχετίζεται και με την κατανομή του λίπους στο σώμα. Επομένως, η κεντρική-κοιλιακή παχυσαρκία είναι πολύ πιο σημαντική από το συνολικό λίπος στο σώμα ενός ατόμου. Για τον λόγο αυτό, στα διάφορα κριτήρια που έχουν θεσπίσει οι οργανισμοί κατά καιρούς, έχουν δώσει βάση κυρίως στην περίμετρο μέσης, η οποία αποτελεί και κριτήριο, και λιγότερο στον ΔΜΣ *per se* (115).

Όπως έχει φανεί, ο λιπώδης ιστός και συγκεκριμένα ο σπλαγγικός λιπώδης ιστός, δεν αποτελεί απλά έναν αδρανή ιστό, αλλά πολύ περισσότερο είναι ένα ενδοκρινές όργανο από το οποίο παράγεται αριθμός ορμονών και λιποκινών που εμπλέκονται στενά με τον μεταβολισμό της γλυκόζης και του λίπους στο σώμα. Επίσης, οι ορμόνες αυτές ρυθμίζουν την αρτηριακή πίεση, τις διαδικασίες της φλεγμονής, τις λειτουργίες δημιουργίας θρόμβωσης καθώς επίσης και όλα τα συστατικά που εμπλέκονται στο MetS (116). Η αύξηση του λιπώδους ιστού στην περιοχή της κοιλιάς οδηγεί σε αυξημένο κίνδυνο για MetS ιδιαίτερα σε άτομα τα οποία παρουσιάζουν μεγαλύτερη μεταβολική ευαισθησία. Η ευαισθησία των ατόμων εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως είναι το γενετικό υπόβαθρο, οι φυλετικές και εθνικές επιρροές, η αυξημένη ηλικία, η σωματική αδράνεια και η ενδοκρινική δυσλειτουργία.

Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι η αύξηση του σπλαγγικού λίπους σε ανθρώπους υπέρβαρους και παχύσαρκους έχει ως απότοκο την αύξηση της ροής των κυκλοφορούντων ελεύθερων λιπαρών οξέων (FFA) προς το ήπαρ, το πάγκρεας και του μύες. Τα FFA προέρχονται κυρίως από τις αποθήκες τριγλυκεριδίων του λιπώδους ιστού. Επιπλέον, τα λιπαρά οξέα προέρχονται επίσης από τη λιπόλυση των λιποπρωτεϊνών που είναι πλούσια σε τριγλυκερίδια, μέσω της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης και προσλαμβάνονται αμέσως από τους περιφερικούς ιστούς (115). Υπό φυσιολογικές συνθήκες η ινσουλίνη μπορεί με σχετική ευκολία να ρυθμίζει την ροή των FFA χωρίς ωστόσο να συμβαίνει το ίδιο σε καταστάσεις παχυσαρκίας (117).

3.4.2 Αντίσταση στην ινσουλίνη

Η αντίσταση στην ινσουλίνη θεωρείται ως η πιο αποδεκτή θεωρία η οποία περιγράφει ξεκάθαρα την παθοφυσιολογία του MetS. Κατά την αντίσταση στην ινσουλίνη αυτό που στην πραγματικότητα συμβαίνει είναι ότι παρόλο που τα β-κύτταρα μπορεί να παράγουν φυσιολογικές ποσότητες ινσουλίνης, η ποσότητα της ινσουλίνης που παράγεται δεν είναι σε θέση να ανταποκριθεί στα όργανα στόχους όπως είναι το ήπαρ, οι μύες και τα λιποκύτταρα, γεγονός που θεωρείται ότι μπορεί πολύ εύκολα να οδηγήσει σε διαβήτη τύπου 2 (118). Η ικανότητα της ινσουλίνης να «προσλαμβάνει» τη γλυκόζη από τα κύτταρα, να καταστέλλει τη λιπόλυση στα όργανα στόχους και να περιορίζει την ηπατική παραγωγή γλυκόζης είναι μειωμένη. Ως αποτέλεσμα, ο οργανισμός οδηγείται σε αντισταθμιστική υπερινσουλιναιμία καθώς το σώμα προσπαθεί να διατηρήσει την ομοιοστασία της γλυκόζης. Με την πάροδο του χρόνου τελικά το πάγκρεας αδυνατεί να παράγει επαρκείς ποσότητες ινσουλίνης με αποτέλεσμα τη διαταραγμένη γλυκόζη νηστείας (IFG), διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη (IGT) και τελικά την εμφάνιση διαβήτη τύπου 2.

Επιπλέον, η περίσσεια των κυκλοφορούντων FFA στον οργανισμό ενοχοποιείται για την εμφάνιση της αντίστασης στην ινσουλίνη τόσο στην παχυσαρκία όσο και στο MetS. Αποτελεί έναν φαύλο κύκλο αφού η αντίσταση στην ινσουλίνη επάγει τη λιπόλυση του λιπώδους ιστού με αποτέλεσμα την ακόμα μεγαλύτερη απελευθέρωση των FFA στην κυκλοφορία. Η αντίσταση της ινσουλίνης στο ήπαρ οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή τριγλυκεριδίων και απολιποπρωτεΐνης Β και μειωμένη παραγωγή HDL, λιπιδικές διαταραχές οι οποίες είναι χαρακτηριστικές και κάνουν έντονη την παρουσία τους στο MetS.

Η αντίσταση στην ινσουλίνη προκαλεί μειωμένη πρόσληψη γλυκόζης από τον μυϊκό και λιπώδη ιστό με αποτέλεσμα την αυξημένη παραγωγή γλυκόζης στο ήπαρ γεγονός το οποίο με το πέρασμα του χρόνου οδηγεί σε προδιαβήτη και διαβήτη τύπου 2. Επιπρόσθετα, η υπερινσουλιναιμία και η αντίσταση στην ινσουλίνη που παρατηρούνται στο MetS, εμπλέκονται στην υπερδραστηριότητα του συμπαθητικού νευρικού συστήματος, στην αύξηση της επαναρρόφησης νατρίου από τους νεφρούς και στη μειωμένη αγγειοδιαστολή, γεγονός που εξηγεί την υπέρταση που αναπτύσσουν τα άτομα που πάσχουν από το σύνδρομο. Επιπλέον, εκτός από την εμφάνιση υπέρτασης τα άτομα με MetS εμφανίζουν φλεγμονή και θρομβωτικές καταστάσεις, εξαιτίας της αντίστασης στην ινσουλίνη (μέσω αλλαγών στη σηματοδότηση της

ινσουλίνης και της έκφρασης των κυτοκινών). Όπως φαίνεται, οι ευρείες επιδράσεις που έχει η αντίσταση στην ινσουλίνη στους μεταβολικούς παράγοντες κινδύνου έχει ωθήσει τους επιστήμονες στο να τη θεωρούν ως υποκείμενη αιτία για ανάπτυξη MetS. Ωστόσο, παρόλο που η αντίσταση στην ινσουλίνη είναι συνυφασμένη με την παχυσαρκία, αυτό δε σημαίνει ότι όλοι οι παχύσαρκοι έχουν αντίσταση στην ινσουλίνη και αντιστρόφως (114).

3.4.3 Δυσλιπιδαιμία

Με την αύξηση της ροής των FFA στο ήπαρ που αναφέρθηκε παραπάνω, συμβαίνει η ταυτόχρονη παραγωγή πλούσιων σε τριγλυκερίδια VLDL που περιέχουν απολιποπρωτεΐνη Β. Σε περιπτώσεις ύπαρξης αντίστασης στην ινσουλίνη η αυξημένη ροή FFA στο ήπαρ οδηγεί σε αύξηση της ηπατικής παραγωγής τριγλυκεριδίων. Αντίθετα, σε φυσιολογικές καταστάσεις η ινσουλίνη πολύ περισσότερο περιορίζει παρά διεγείρει την έκκριση των VLDL λιποπρωτεϊνών στην κυκλοφορία του αίματος. Επιπρόσθετα, ένας επιπλέον ρόλος της ινσουλίνης είναι η λιπογένεση μέσω της αύξησης της σύνθεσης των τριγλυκεριδίων. Παρόλα αυτά, δεν είναι ξεκάθαρο αν το μονοπάτι μέσω του οποίου παράγονται τα τριγλυκερίδια παραμένει λειτουργικό στην περίπτωση της συστηματικής αντίστασης στην ινσουλίνη. Άλλη μια επίπτωση που μπορεί να επιφέρει η αντίσταση στην ινσουλίνη είναι η μείωση της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης των περιφερικών ιστών με αποτέλεσμα όχι τόσο την υπερπαραγωγή τριγλυκεριδίων αλλά κυρίως της VLDL. Ωστόσο, τα αυξημένα τριγλυκερίδια έχει φανεί ότι αντανακλούν αντίσταση στην ινσουλίνη καθώς και MetS, αφού συμπεριλαμβάνονται στα διαγνωστικά κριτήρια του συνδρόμου.

Η διαταραχή των HDL λιποπρωτεϊνών και συγκεκριμένα η μείωσή τους αποτελεί μια επιπλέον διαταραχή των λιπιδίων που παρατηρείται στο MetS. Η μείωση αυτή προκαλείται εξαιτίας αλλαγών τόσο στον μεταβολισμό όσο και στη σύνθεση της HDL. Σε κατάσταση υπερτριγλυκεριδαιμίας, η μείωση της χοληστερόλης από την HDL προκαλείται εξαιτίας μείωσης των εστέρων της χοληστερόλης από τον πυρήνα της HDL με ταυτόχρονη αύξηση των τριγλυκεριδίων δημιουργώντας μικρά και πυκνά σωματίδια. Είναι, επίσης, γνωστό ότι εξαιτίας της μεταβολής αυτής στη σύνθεση της HDL, ο οργανισμός οδηγείται σε αυξημένη κάθαρσή της από την κυκλοφορία, ενώ είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι η σχέση της αλλαγής στη σύσταση της HDL και της αντίστασης στην ινσουλίνη είναι έμμεση.

Με παρόμοιο τρόπο συμβαίνουν και αλλαγές στην LDL λιποπρωτεΐνη. Η αύξηση των τριγλυκεριδίων και ειδικότερα αύξηση $> 2,0$ mmol/L οδηγεί τους περισσότερους ασθενείς σε αύξηση και υπεροχή των μικρών πυκνών σωματιδίων LDL. Η ύπαρξη μικρών πυκνών LDL θεωρείται πιο αθηρωματογόνος εξαιτίας της υψηλής τοξικότητάς της προς το ενδοθήλιο, της σχετικής ευκολίας στη μεταφορά της διαμέσου της ενδοθηλιακής μεμβράνης, ενώ έχουν καλή προσκόλληση στις γλυκοζαμινογλυκάνες και μεγάλη ευαισθησία στις οξειδώσεις. Μελέτες έχουν δείξει ότι η μεταβολή στη σύσταση της LDL αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για εμφάνιση CVDs. Ωστόσο, αυτό δεν αποτελεί κανόνα καθώς αρκετές είναι οι μελέτες που έχουν δείξει ότι πολλές φορές η σχέση αυτή δεν είναι ανεξάρτητη αλλά σχετίζεται με άλλες ταυτόχρονες αλλαγές σε άλλους παράγοντες κινδύνου αλλά και λιποπρωτεΐνες (119).

3.4.4 Υπέρταση

Η υπέρταση αποτελεί ένα από τα πιο συνήθη χαρακτηριστικά του MetS καθώς έχει φανεί ότι παρουσιάζεται μέχρι και σε 1 στους 3 ασθενείς με υπέρταση. Για τον λόγο αυτό, η υπέρταση δεν θα μπορούσε να απουσιάζει από τους ορισμούς των διαφόρων οργανισμών για το MetS. Τα επίπεδα της πίεσης στο αίμα έχουν στενή σχέση με την αντίσταση στην ινσουλίνη και την παχυσαρκία που αποτελούν τα κύρια στοιχεία παθοφυσιολογίας τα οποία εμπλέκονται στην εμφάνιση του MetS. Οι αιτίες για την εμφάνιση υπέρτασης στους ανθρώπους με MetS ποικίλουν και ανάμεσα σε αυτές είναι η σπλαχνική παχυσαρκία, η αντίσταση στην ινσουλίνη, η υπερδραστηριότητα του συμπαθητικού νευρικού συστήματος, το ενεργοποιημένο σύστημα ρενίνης-αγγειοτενσίνης, οι αυξημένοι παράγοντες φλεγμονής, το οξειδωτικό στρες και η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία.

Η αυξημένη πρόσληψη τροφής και η καθιστική ζωή αποτελούν τα θεμέλια για τις επιδημικές τάσεις που έχει λάβει το φαινόμενο της παχυσαρκίας παγκοσμίως. Χαρακτηριστικά όπως η υπερλιπιδαιμία, η υπεργλυκαιμία και η υπέρταση είναι συχνά εμφανιζόμενα στο MetS. Βασικό ρόλο στην ταυτόχρονη εμφάνιση των διαταραχών αυτών διακατέχει η σπλαχνική παχυσαρκία. Οι αδιποκυτοκίνες που παράγει ο λιπώδης ιστός (ως ενδοκρινές όργανο) μεταβάλλονται όσο η παχυσαρκία επιδεινώνεται πράγμα το οποίο οδηγεί σε μεταβολικές διαταραχές. Η αύξηση του σπλαχνικού λίπους παράγει και εκκρίνει μια σειρά αδιποκυτοκινών όπως είναι η λεπτίνη, ο

Παράγοντας Νέκρωσης Όγκων-α (TNF-α), η ιντερλευκίνη 6 (IL-6), το αγγειοτενσινογόνο και τα μη εστεροποιημένα λιπαρά οξέα (NEFA) επάγοντας την εμφάνιση υπέρτασης.

Η αντίσταση στην ινσουλίνη συνδέεται με την εμφάνιση υπέρτασης στο MetS μέσω διαφόρων μηχανισμών. Αρκετά δεδομένα δείχνουν τις αντι-νατριουρητικές δράσεις της ινσουλίνης καθώς φαίνεται ότι η ινσουλίνη διεγείρει τη νεφρική επαναρρόφηση νατρίου. Στους ασθενείς με αντίσταση στην ινσουλίνη οι επιδράσεις αυτές φαίνεται να διατηρούνται και πολύ περισσότερο να αυξάνονται, γεγονός που διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση υπέρτασης στο MetS (120). Σε διάφορες μελέτες έχει διερευνηθεί η σχέση μεταξύ του MetS και της πειραματικής διαχείρισης του νατρίου στους νεφρούς. Έχει φανεί ότι το MetS σχετίζεται με αυξημένο ρυθμό κλασματικής επαναρρόφησης νατρίου στο εγγύς εσπειραμένο σωληνάριο (FPRNa) (Strazzullo et al., 2006). Πιο συγκεκριμένα στη παρούσα μελέτη ο FPRNa ήταν σημαντικά υψηλότερος στους ανθρώπους με MetS σε σύγκριση με τους ανθρώπους χωρίς MetS. Επίσης, στην ίδια μελέτη η αντίσταση στην ινσουλίνη βρέθηκε επίσης να σχετίζεται με αυξημένο FPRNa (προσαρμοσμένο για την ηλικία) συγκριτικά με τους εθελοντές που δεν έπασχαν από αντίσταση στην ινσουλίνη (121).

Αναφορικά με την υπερδραστηριότητα του συμπαθητικού, έχει βρεθεί ότι η δραστηριότητα του μυϊκού συμπαθητικού νεύρου (MSNA) και οι κατεχολαμίνες ορού αυξάνονται σημαντικά σε παχύσαρκα συγκριτικά με νορμοβαρή άτομα. Επιπλέον, σημαντική είναι η παρατήρηση ότι η MSNA είναι περισσότερο αυξημένη στα άτομα με κεντρική παχυσαρκία σε σχέση με τα άτομα με περιφερική παχυσαρκία. Η ενεργοποίηση του συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης στην παχυσαρκία αποτελεί επίσης αιτία υπέρτασης. Επιπρόσθετα, παράγοντες όπως η αντίσταση στην ινσουλίνη, τα αυξημένα επίπεδα λεπτίνης και των επιπέδων των NEFA αποτελούν πιθανούς παράγοντες για την ενεργοποίηση του συμπαθητικού στο MetS (120).

3.5. Μεταβολικό σύνδρομο και καφεΐνη

Όπως ήδη αναφέρθηκε, η καφεΐνη αποτελεί αλκαλοειδές που βρίσκεται σε πολλά τρόφιμα στη διατροφή του ανθρώπου, ενώ αποτελεί και μια από τις πλέον μελετημένες ψυχοδραστικές ουσίες αφού θεωρείται ως ένας αποτελεσματικός διεγέρτης του νευρικού συστήματος (122). Εκτός από τη δράση της στο νευρικό σύστημα, η καφεΐνη έχει αποδειχθεί, μέσω σειράς

μελετών, ότι μπορεί να δρα αυξάνοντας τον μεταβολικό ρυθμό ηρεμίας, την αντοχή, τη διανοητική λειτουργία και τη φυσική απόδοση καθώς επίσης βελτιώνει τη διάθεση. Εκτός από τις δράσεις αυτές, μελέτες έχουν δείξει ότι η κατανάλωση καφεΐνης δρα προστατευτικά έναντι του MetS και των επιμέρους συστατικών του (123). Επιπλέον, η μέτρια κατανάλωση καφεΐνης σχετίζεται με μειωμένη εμφάνιση διαβήτη τύπου 2, CVD και ηπατική νόσο, καθώς δρα περιορίζοντας τη συσσώρευση λίπους και αυξάνοντας τον μεταβολισμό του λίπους στα ηπατικά κύτταρα (124).

Μελέτες σε ζωικά πρότυπα και συγκεκριμένα σε αρουραίους, έχουν δείξει ότι δίαιτες αυξημένης περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες και αυξημένης περιεκτικότητας σε λίπος ή συνδυασμός των 2 οδηγεί σε ανάπτυξη MetS στους αρουραίους παρόμοιου με αυτό των ανθρώπων (125). Η αυξημένη κατανάλωση κυρίως φρουκτόζης ή και σακχαρόζης μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη διαφόρων διαταραχών του MetS, όπως δυσλιπιδαιμία, υπέρταση και διαταραχή των επιπέδων ανοχής στη γλυκόζη. Όσον αφορά στην αυξημένη κατανάλωση λίπους στους αρουραίους, αυτή μπορεί να προκαλέσει κεντρική παχυσαρκία και δυσλιπιδαιμία. Ωστόσο, η πρόκληση MetS στους ανθρώπους απλά από μια δίαιτα αυξημένη σε λιπαρά αποτελεί ένα ζήτημα πολύ πιο περίπλοκο. Φαίνεται ότι ο συνδυασμός μιας δίαιτας αυξημένης σε υδατάνθρακες και σε λίπος είναι πολύ πιο πιθανό να προκαλέσει την εμφάνιση MetS. Η δίαιτα αυξημένου λίπους και υδατανθράκων ευθύνεται για μια σειρά μεταβολικών διαταραχών στους αρουραίους μεταξύ των οποίων είναι η δυσλιπιδαιμία, η υπέρταση, η υπερβολική εναπόθεση λίπους, η διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη, η αύξηση των προφλεγμονωδών δεικτών και η πτώση της αντιοξειδωτικής άμυνας (126).

Η καφεΐνη, όπως και άλλα συστατικά των τροφίμων έχει φανεί ότι έχει προστατευτικές δράσεις έναντι του MetS και των συστατικών του, εκτός από τις γνωστές βασικές δράσεις της που εστιάζουν στην αναστολή της δράσης της φωσφοδιεστεράσης και στον ανταγωνισμό των υποδοχέων αδενosίνης (122). Σε μελέτη η οποία είχε ως σκοπό να διερευνήσει την επίδραση της καφεΐνης στο επαγόμενο από τη διατροφή MetS σε αρουραίους τα αποτελέσματα ήταν αρκετά ενθαρρυντικά. Συγκεκριμένα η χορήγηση καφεΐνης στους αρουραίους στους οποίους είχε χορηγηθεί δίαιτα πλούσια σε υδατάνθρακες και λίπος για διάστημα 16 εβδομάδων, φάνηκε να προκαλεί μείωση του λίπους και της συστολικής πίεσης, καθώς και βελτίωση των δεικτών ευαισθησίας στην ινσουλίνη και ανοχής στη γλυκόζη αλλά και μείωση των καρδιαγγειακών και

ηπατικών διαταραχών (123). Παρόμοια, σε έρευνα που διεξήχθη με σκοπό τη διερεύνηση της επίδρασης της χρόνιας πρόσληψης καφεΐνης στην αντίσταση στην ινσουλίνη και στην υπέρταση σε αρουραίους όπου χορηγούνταν δίαιτα υψηλή σε σακχαρόζη και σε λίπος τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι η καφεΐνη μείωσε τόσο την αντίσταση στην ινσουλίνη όσο και την υπέρταση που ήταν προϊόντα της υψηλής κατανάλωσης σακχαρόζης και λίπους (127).

Επιπρόσθετα, η κατανάλωση καφεΐνης έχει βρεθεί να επιδρά σημαντικά στη μείωση του σωματικού βάρους και συγκεκριμένα του λιπώδους ιστού. Σε μελέτη με τρωκτικά όπου χορηγήθηκε δίαιτα υψηλή σε λίπος, η πρόσληψη καφεΐνης, σε προσλήψεις 0,025 %, 0,05 % ή 0,1 %, για 21 μέρες προοδευτικά, μείωσε τη λιπώδη μάζα και το ποσοστό λίπους. Στην ίδια μελέτη βρέθηκε ότι η καφεΐνη επιδρά μειώνοντας τα επίπεδα ολικής χοληστερόλης και TG στον ορό και στο ήπαρ (128). Σε παρόμοια μελέτη με αρουραίους η χορήγηση δίαιτας υψηλής σε λίπος μαζί με καφεΐνη βρέθηκε να περιορίζει τα αρνητικά αποτελέσματα της χορήγησης μόνο δίαιτας υψηλής σε λίπος όπως φάνηκε από τη μέτρηση συγκεκριμένων μεταβολιτών (124). Σε πρόσφατη μελέτη, ο συνδυασμός κατανάλωσης γαλλικών εστέρων επιγαλλοκατεχίνης (EGCG), κατεχίνης και καφεΐνης φάνηκε να παρουσιάζει ισχυρότερη επίδραση στον περιορισμό της συσσώρευσης λίπους συγκριτικά με τη μεμονωμένη κατανάλωση των συστατικών αυτών. Επίσης, ο συνδυασμός κατεχινών με καφεΐνη φάνηκε να αναστέλλει τη συσσώρευση λίπους μέσω καταστολής της σύνθεσης λιπαρών οξέων και αύξησης της δραστηριότητας των ενζύμων τα οποία εμπλέκονται στη β-οξειδωση των λιπαρών οξέων στο ήπαρ (129). Επιπλέον, σε πιο πρόσφατη μελέτη η πρόσληψη καφεΐνης συσχετίστηκε με μείωση των επιπέδων των ηπατικών λιπιδίων και διέγερση της β-οξειδωσης των ηπατικών κυττάρων μέσω ενός αυτοφαγικού λυσοσωμικού μονοπατιού (130).

Τέλος, τόσο η παχυσαρκία και η δίαιτα υψηλού λίπους έχει φανεί ότι προκαλούν διανοητική ανεπάρκεια, καθώς επίσης αποτελούν αιτίες για εμφάνιση σακχαρώδους διαβήτη. Η χορήγηση καφεΐνης σε αρουραίους βρέθηκε να δρα προληπτικά τόσο όσον αφορά την πρόσληψη βάρους όσο και τη διανοητική δυσλειτουργία εξαιτίας της αυξημένης κατανάλωσης λίπους. Τα δεδομένα αυτά φάνηκαν να ενισχύουν τη γνώση σχετικά με την νευροπροστατευτική δράση που επιφέρει η κατανάλωση καφεΐνης ιδιαίτερα σε περιπτώσεις παχυσαρκίας και/ή κατανάλωσης δίαιτας υψηλής σε λίπος όπου ο κίνδυνος για διανοητική διαταραχή είναι αυξημένος (131).

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κεφάλαιο 4: Μεθοδολογία

4.1 Υπόθεση εργασίας-Σκοπός της μελέτης

Το «μεταβολικό σύνδρομο» αποτελεί μια συστάδα μεταβολικών διαταραχών και συνδέεται με την εμφάνιση αθηροσκλήρωσης ως απόκριση στη χρόνια φλεγμονή και στη διαταραχή της ενδοθηλιακής λειτουργίας η οποία αποτελεί αίτιο για την αύξηση του κινδύνου για ανάπτυξη CVDs.

Παράλληλα, η περίοδος της εμβρυϊκής-ενδομήτριας ζωής έχει χαρακτηριστεί ως μια κρίσιμη περίοδος κατά την οποία αναπτύσσονται σημαντικοί ιστοί και όργανα και οι προγραμματισμένες μεταβολές που συμβαίνουν οδηγούν σε προδιάθεση του εμβρύου για ανάπτυξη μεταβολικών νοσημάτων στην μεταγεννητική και μετέπειτα ενήλικη ζωή.

Η καφεΐνη αποτελεί το πιο ευρέως καταναλισκόμενο ψυχοδραστικό συστατικό των τροφίμων παγκοσμίως ενώ στις ΗΠΑ το 70 % των γυναικών συνεχίζει να καταναλώνει καφεΐνη κατά την περίοδο της εγκυμοσύνης. Έχει φανεί βάσει μελετών ότι η κατανάλωση καφεΐνης από τη μητέρα την περίοδο της εγκυμοσύνης επηρεάζει την εμβρυϊκή ανάπτυξη και ευθύνεται για την ανάπτυξη νοσημάτων κατά την ενήλικη ζωή στους απογόνους. Τόσο στους ανθρώπους όσο και σε ζωικά πρότυπα η κατανάλωση καφεΐνης έχει συνδεθεί με IUGR και χαμηλό βάρος γέννησης και υπερβάλλον βάρος στην παιδική ηλικία, γεγονός που μπορεί να συνδέεται με μεταβολικές επιπλοκές στη μετέπειτα ζωή.

Επομένως, σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι να διερευνηθεί εάν η ενδομήτρια έκθεση σε καφεΐνη μπορεί να επηρεάσει το μεταβολικό προφίλ των απογόνων κατά την ενήλικη ζωή τους. Πιο συγκεκριμένα, στόχος είναι η μελέτη της επίδρασης της ενδομήτριας έκθεσης σε καφεΐνη στην ανάπτυξη μεταβολικού συνδρόμου σε απογόνους που ακολουθούν δίαιτα πλούσια σε σάκχαρα σε ζωικό πρότυπο επίμυων Sprague Dawley.

Η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων και η περαιτέρω μοριακή και παθολογοανατομική εκτίμηση των συλλεγόμενων ιστών θα οδηγήσει σε σημαντικά συμπεράσματα αναφορικά με την επίδραση της πρόσληψης καφεΐνης κατά την ενδομήτριο ζωή στην εξέλιξη εμφάνισης

μεταβολικού συνδρόμου κατά την ενήλικη ζωή λόγω μη ισορροπημένης διατροφής, και στην επίδραση αυτής στα μεταβολικά μονοπάτια υδατανθράκων και λιπιδίων.

4.2 Δείγμα

Το αρχικό δείγμα αποτέλεσαν 20 θηλυκοί επίμυες Sprague Dawley ηλικίας 5 μηνών οι οποίοι ύστερα από τυχαιοποίηση χωρίστηκαν σε 2 ομάδες. την ομάδα Α και την ομάδα Β οι οποίες αποτελούνταν από 10 θηλυκούς επίμυες η καθεμία. Επιπρόσθετα, στο δείγμα συμπεριλήφθηκαν ακόμη 6 αρσενικοί επίμυες Sprague Dawley της ίδιας ηλικίας.

Το βασικό δείγμα της μελέτης αποτέλεσαν 40 αρσενικοί απόγονοι ύστερα από το ζευγάρισμα και την αναπαραγωγή των θηλυκών επίμυων. Η επιλογή των αρσενικών απογόνων έγινε καθώς οι αρσενικοί επίμυες είναι πιο ευάλωτοι στην εμφάνιση μεταβολικής απορρύθμισης ύστερα από κατανάλωση δίαιτας υψηλής περιεκτικότητας σε φρουκτόζη σε σχέση με τα θηλυκά, αφού στα τελευταία τα οιστρογόνα δρουν ως προστατευτικός παράγοντας στο καρδιαγγειακό σύστημα (132, 133).

4.3 Πειραματική Διαδικασία

4.3.1 Κώδικας βιοηθικής

Το πειραματικό πρωτόκολλο εξετάστηκε από την Επιτροπή Βιοηθικής για μελέτες που χρησιμοποιούν ζώα για επιστημονικούς σκοπούς και εγκρίθηκε από την Κτηνιατρική Διεύθυνση Περιφέρειας Αττικής.

4.3.2 Σχεδίαση ομάδων διατροφικής παρέμβασης

Αναλυτικά, 20 θηλυκοί επίμυες Sprague Dawley ηλικίας 5 μηνών αφού τυχαιοποιήθηκαν χωρίστηκαν σε 2 ομάδες και ήρθαν σε επαφή με αρσενικούς της αντίστοιχης ηλικίας. Σε κάθε κλωβό, ένας αρσενικός επίμυς στεγάζονταν μαζί με 2 θηλυκούς για 4 ημέρες προκειμένου να εξασφαλιστεί η ολοκλήρωση ενός οιστρικού κύκλου (αναπαραγωγή). Στην συνέχεια γινόταν απομάκρυνση και μεταφορά του αρσενικού ατόμου σε άλλο κλωβό μέχρι να πραγματοποιηθεί

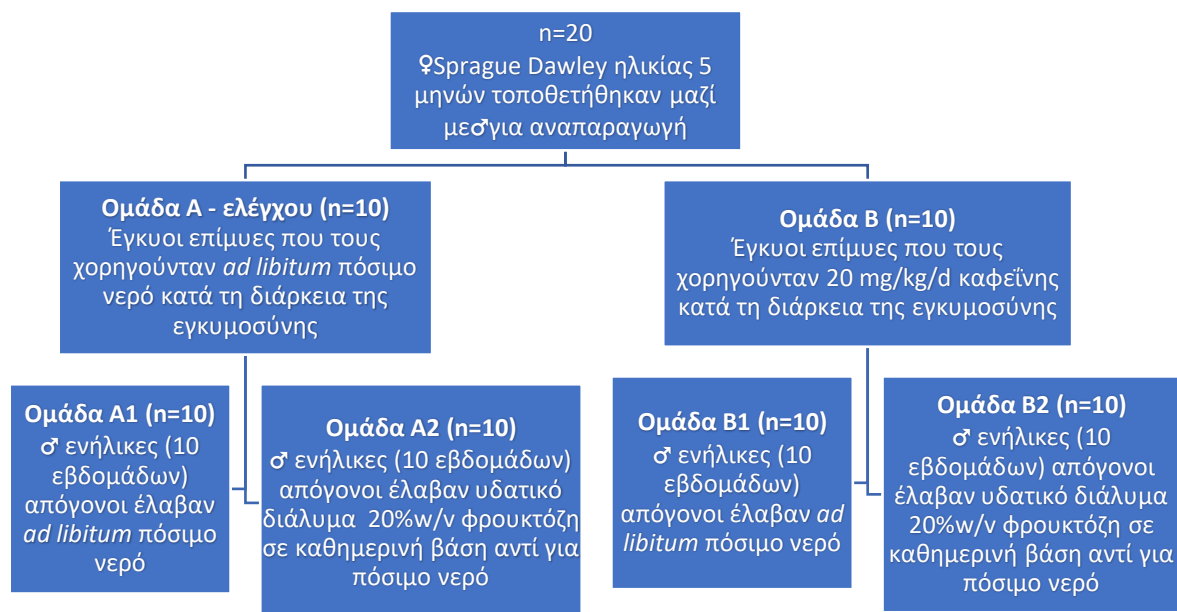
αναπαραγωγή με όλα τα θηλυκά άτομα. Η επιτυχής αναπαραγωγή επιβεβαιωνόταν με την παρουσία του ζελατινώδους βύσματος στα θηλυκά ζώα.

Από την ημέρα της εισαγωγής των αρσενικών ζώων στους ίδιους κλωβούς με τα θηλυκά έως και την ημέρα του τοκετού, στους επίμυες της ομάδας A χορηγούνταν πόσιμο νερό *ad libitum* ενώ στους επίμυες της ομάδας B χορηγούνταν νερό εμπλουτισμένο με καφεΐνη (20 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα). Χρησιμοποιώντας τη μετατροπή της δόσης μεταξύ ανθρώπων και επίμυων (άνθρωποι : επίμυες = 1 : 6,17 βάσει σύγκρισης επιφάνειας σώματος) η δόση των 20 mg/kg την ημέρα που χρησιμοποιείται στη μελέτη ισοδυναμεί με 3,2 mg/kg την ημέρα στους ανθρώπους. Η συγκεκριμένη δόση επιλέχθηκε ώστε να είναι συγκρίσιμη με ανθρώπινη κατανάλωση η οποία ισοδυναμεί με 1,5-2,2 κούπες καφέ (134, 135).

Ύστερα από τη γέννηση των νεογνών και κατά την ολοκλήρωση του απογαλακτισμού τους (23^η ημέρα μετά τη γέννηση) οι απόγονοι χωρίστηκαν από τις μητέρες τους και πραγματοποιήθηκε προσδιορισμός του φύλου. Στο στάδιο αυτό επιλέχθηκαν και συμπεριλήφθηκαν για τη συνέχεια της έρευνας μόνο αρσενικοί επίμυες. Δύο ή τρεις αρσενικοί επίμυες επιλέγονταν τυχαία από κάθε τοκετό. Σε περίπτωση που η επιλογή αφορούσε 3 επίμυες από αυτούς μόνο τα 2 αδέρφια τοποθετούνταν στον ίδιο κλωβό και επομένως στην ίδια ομάδα.

Κατά την ενηλικίωση (10^η εβδομάδα) τους, οι απόγονοι μοιράστηκαν σε 4 διαφορετικές ομάδες οι οποίες έχουν ως εξής:

1. A1 (n=10), αρσενικοί απόγονοι από τις μητέρες της ομάδας A (ελέγχου) οι οποίοι λάμβαναν κανονική τροφή και πόσιμο νερό
2. A2 (n=10), αρσενικοί απόγονοι από μητέρες της ομάδας A (ελέγχου) οι οποίοι λάμβαναν κανονική τροφή και υδατικό διάλυμα υψηλό σε φρουκτόζη (200g/L) σε καθημερινή βάση αντί για πόσιμο νερό
3. B1 (n=10), αρσενικοί απόγονοι από τις μητέρες της ομάδας B (καφεΐνης) οι οποίοι λάμβαναν κανονική τροφή και πόσιμο νερό
4. B2 (n=10), αρσενικοί απόγονοι από τις μητέρες της ομάδας B (καφεΐνης) οι οποίοι λάμβαναν κανονική τροφή και υδατικό διάλυμα υψηλό σε φρουκτόζη (200g/L) καθημερινά αντί για πόσιμο νερό.



Σχήμα 4-1: Σχηματική απεικόνιση του πειραματικού πρωτοκόλλου

4.3.3 Μοντέλο Μεταβολικού Συνδρόμου

Για την επαγωγή Μεταβολικού Συνδρόμου στους επίμυες χορηγήθηκε διάλυμα φρουκτόζης 20% w/v για χρονικό διάστημα 8 εβδομάδων. Η συγκέντρωση αυτή έχει φανεί ότι μπορεί να οδηγήσει σε μεταβολικές αλλαγές παρόμοιες με αυτές που προκύπτουν στο MetS, όπως είναι η παχυσαρκία (αυξημένο κοιλιακό λίπος), δυσλιπιδαιμία (υπερτριγλυκεριδαιμία), υπέρταση και υπεργλυκαιμία (136).

4.3.4 Συνθήκες διαβίωσης

Όσον αφορά τις συνθήκες υπό τις οποίες πραγματοποιήθηκε η πειραματική διαδικασία, οι μητέρες και τα νεογνά στεγάζονταν υπό συνθήκες ελεγχόμενης θερμοκρασίας (23 ± 2 °C) και υγρασίας (60 %), με 12ωρους κύκλους σκότους/φωτός. Όλες οι πιθανές μετρήσεις πραγματοποιούνταν με τρόπο ώστε να αποφεύγεται η καταπόνηση των ζώων σε κάθε στάδιο

του πειραματικού πρωτοκόλλου. Επιπλέον, τα ζώα είχαν ελεύθερη πρόσβαση σε τροφή και νερό (το οποίο ανανεωνόταν κάθε 2 ημέρες) κατά τη διάρκεια της μελέτης, ενώ η κατανάλωση τροφής και νερού καταγραφόταν σε καθημερινή βάση. Σχετικά με το σωματικό βάρος των ζώων αυτό καταγραφόταν σε εβδομαδιαία βάση, ενώ η χορήγηση καφεΐνης στην ομάδα Β διακόπτονταν την ημέρα του τοκετού. Οι αιμοληψίες των ζώων διενεργήθηκαν κατά την ενηλικίωση τους (T1) καθώς και 1 μήνα (T2) και 2 μήνες (T3) μετά από αυτή. Τέλος, συνολικά η πειραματική περίοδος διήρκησε 2 μήνες. Μετά το πέρας της πειραματικής διαδικασίας τα ζώα υποβλήθηκαν σε ευθανασία.

4.3.5 Αιμοληψία

Τα δείγματα αίματος των αρσενικών απογόνων συλλέχθηκαν κατά την ενηλικίωση τους (T1), καθώς επίσης ένα μήνα (T2) και δύο μήνες μετά (T3) από αυτή. Η συλλογή των δειγμάτων πραγματοποιούνταν στις 9 το πρωί ύστερα από 12ωρη ολονύκτια νηστεία μέσω χρήσης τριχοειδών σωλήνων οι οποίοι εισάγονταν στο οφθαλμικό πλέγμα έσω κανθού κατόπιν γενικής αναισθησίας. Κατά την ευθανασία των πειραματόζωων έγινε λήψη αίματος από την καρδιά μετά από παρακέντηση με βελόνα και σύριγγα διαμετρήματος 23-25G. Ο διαχωρισμός του ορού του αίματος πραγματοποιούνταν με φυγοκέντρηση στις 3.000 rpm για 10 λεπτά και αποθηκεύονταν στους -80°C μέχρι τη στιγμή της ανάλυσης.

4.4 Εργαστηριακές μετρήσεις

4.4.1 Μετρήσεις αρτηριακής πίεσης

Η συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση καταγράφηκε μέσω χρήσης μη-παρεμβατικού tail-cuff συστήματος αρτηριακής πίεσης (Coda 2, Kent Scientific, U.S.A.) έναν μήνα ύστερα από υψηλή κατανάλωση φρουκτόζης (T2), στο διάστημα από τις 10 π.μ. έως τις 2 μ.μ. Πριν την κανονική διαδικασία της μέτρησης τα ζώα υποβάλλονταν σε εξοικείωση με τον ειδικό εξοπλισμό μέτρησης της αρτηριακής πίεσης. Επιπλέον, για κάθε ζώο, πραγματοποιούνταν 3 μετρήσεις αρτηριακής πίεσης και κατόπιν υπολογίζονταν ο μέσος όρος των μετρήσεων ο οποίος αποτέλεσε και την τελική τιμή της αρτηριακής πίεσης.

4.4.2 Αναλύσεις βιοχημικών δεικτών

Η μέτρηση των επιπέδων γλυκόζης στον ορό του αίματος πραγματοποιήθηκε με χρωματομετρική μέθοδο. Οι συγκεντρώσεις της ολικής χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων του ορού προσδιορίστηκαν μέσω χρήσης εμπορικού κιτ ενζυμικής φαινολο-αμινοφαιναζόνης (PAP) ("Biosis"—Biotechnological Applications, Athens, Greece). Επιπλέον, οι συγκεντρώσεις της HDL χοληστερόλης προσδιορίστηκαν μέσω ενζυμικής φωτομετρικής μεθόδου χοληστερόλης ενώ η τιμή της LDL χοληστερόλης υπολογίστηκε με τη χρήση της φόρμουλας Friedewald.

4.4.3 Δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη (OGTT)

Η δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη πραγματοποιήθηκε 1 εβδομάδα πριν την ευθανασία των επίμυων. Ύστερα από 16 ώρες ολονύκτιας νηστείας, δείγματα αίματος συλλέχθηκαν από το οφθαλμικό πλέγμα έσω κανθού των ζώων και κατόπιν προσδιορίστηκαν τα επίπεδα γλυκόζης νηστείας του ορού. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε ζύγιση κάθε ζώου με σκοπό να εκτιμηθούν οι δόσεις γλυκόζης (1,5g γλυκόζης/kg σωματικού βάρους) που έπρεπε να τους χορηγηθούν. Στη συνέχεια τα ζώα υποβλήθηκαν σε ενέσιμο διάλυμα γλυκόζης (ενδοπεριτοναϊκά) και ακολούθως πραγματοποιήθηκε αιμοληψία στους χρόνους 30, 60 και 120 min όπου επαναλήφθηκε μέτρηση των επιπέδων γλυκόζης ορού.

4.4.4 Ιστοπαθολογική ανάλυση

Για την ιστοπαθολογική ανάλυση των νεφρικών και ηπατικών ιστικών δειγμάτων, αυτά τοποθετήθηκαν σε 10 % φορμαλδεΰδη για 24 ώρες προκειμένου να μονιμοποιηθούν. Τομές πάχους 4 μm ελήφθησαν από κύβους παραφίνης και χρώσθηκαν με αιματοξυλίνη και ηωσίνη. Η εξέταση των ιστολογικών τομών πραγματοποιήθηκε με οπτική μικροσκοπία σε διάφορες μεγεθύνσεις (x50, x100).

4.5 Στατιστική ανάλυση

Στην παρούσα μελέτη οι ποσοτικές μεταβλητές περιγράφονται ως διάμεσοι (διατεταρτημοριακό εύρος). Η δοκιμή Kruskal-Wallis εφαρμόστηκε για συγκρίσεις πολλαπλών ομάδων, ενώ η δοκιμή Mann-Whitney U χρησιμοποιήθηκε για πολλαπλές post hoc δοκιμές. Σε όλες τις περιπτώσεις των δοκιμών των πολλαπλών υποθέσεων, εφαρμόστηκε το ποσοστό εσφαλμένων ανακαλύψεων (FDR) Benjamini-Hochberg's για την αξιολόγηση των διαφορών και για τον έλεγχο των σφαλμάτων family-wise ως $<0,05$. Επιπλέον, όλες οι δοκιμές ήταν 2 όψεων, ενώ το $p < 0,05$ ορίστηκε ως επίπεδο της στατιστικής σημαντικότητας.

Κεφάλαιο 5: Αποτελέσματα

5.1 Κατανάλωση τροφής, ενεργειακή πρόσληψη και σωματικό βάρος

Αναφορικά με τον αριθμό των απογόνων και την αναλογία των φύλων σε κάθε κλωβό δεν παρατηρήθηκε καμία διαφορά, ενώ κάθε κλωβός αποτελούνταν κατά μέσο όρο από 10 απογόνους. Συνολικά, ο αριθμός των απογόνων ήταν 100 (51 θηλυκοί και 49 αρσενικοί) για την ομάδα A και 96 (46 θηλυκοί και 50 αρσενικοί) για την ομάδα B, χωρίς να παρατηρούνται σημαντικές διαφορές. Ωστόσο, παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στο βάρος γέννησης των απογόνων μεταξύ των δύο ομάδων. Συγκεκριμένα οι απόγονοι των επίμυων που είχαν λάβει καφεΐνη είχαν χαμηλότερο βάρος γέννησης σε σύγκριση με τους απογόνους των επίμυων που είχαν λάβει μόνο νερό [ομάδα A: 55g (50-64g), ομάδα B: 46g (44-48g), $p < 0,001$].

Σχετικά με την πορεία του σωματικού βάρους των απογόνων, παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις ομάδες στο τέλος της μελέτης (**Πίνακας 5-1**). Πιο συγκεκριμένα, η ομάδα των αρσενικών απογόνων από τις μητέρες που λάμβαναν καφεΐνη (ομάδα B), οι οποίοι λάμβαναν κανονική τροφή και πόσιμο νερό (ομάδα B1), βρέθηκε να έχει χαμηλότερα επίπεδα σωματικού βάρους συγκριτικά με την ομάδα των αρσενικών απογόνων από μητέρες της ομάδας ελέγχου (ομάδα A), οι οποίοι λάμβαναν κανονική τροφή και υδατικό διάλυμα υψηλό σε φρουκτόζη (200g/L) σε καθημερινή βάση αντί για πόσιμο νερό (ομάδα A2) ($P=0,041$) και την ομάδα των αρσενικών απογόνων από τις μητέρες της ομάδας που λάμβαναν καφεΐνη (ομάδα B) οι οποίοι λάμβαναν κανονική τροφή και υδατικό διάλυμα υψηλό σε φρουκτόζη (200g/L) καθημερινά αντί για πόσιμο νερό (ομάδα B2) ($P=0,005$). Ωστόσο, δε βρέθηκε καμία διαφορά ανάμεσα στις 2 ομάδες ελέγχου τόσο για την ομάδα των αρσενικών απογόνων από τις μητέρες της ομάδας A οι οποίοι λάμβαναν κανονική τροφή και πόσιμο νερό (ομάδα A1), όσο και για την ομάδα των αρσενικών απογόνων από τις μητέρες της ομάδας B οι οποίοι λάμβαναν κανονική τροφή και πόσιμο νερό (ομάδα B1).

Αναφορικά με την κατανάλωση τροφής παρατηρήθηκε ότι οι επίμυες στους οποίους χορηγούνταν διάλυμα φρουκτόζης είχαν σημαντικά χαμηλότερη κατανάλωση τροφής συγκριτικά με τους επίμυες των ομάδων ελέγχου, πιθανόν επειδή λάμβαναν ενέργεια και από το διάλυμα φρουκτόζης που περιέχονταν στο νερό (**Πίνακας 5-2**).

Πίνακας 5-1: Σωματικό βάρος (g) σε κάθε ομάδα απογόνων (A1, A2, B1, B2) που μελετήθηκε στις χρονικές στιγμές T1, T2, T3.

Μεταβλητή	A1 ομάδα	A2 ομάδα	B1 ομάδα	B2 ομάδα	¹ p-value
Βάρος (T1)	336 (296-360)	337 (296-378)	317 (264-352)	344 (310-380)	0,131
Βάρος (T2)	414 (378-450)	400 (366-458)	388 (348-410)	403 (392-456)	0,148
Βάρος (T3)	444 (404-460)	446 (370-512) ^α	418 (368-456) ^{α,β}	442 (406-494) ^β	0,042*

Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως διάμεσος (εύρος). Οι τιμές P-value σημειώνονται με (*) και δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$). ¹Ανάλυση post hoc για τον προσδιορισμό διαφορών μεταξύ των ομάδων για την ανάλυση Kruskal-Wallis: Τα σχήματα μοιράζονται τους ίδιους εκθέτες γραμμάτων για τη διαφοροποίηση της σημαντικότητας μεταξύ τους

Στους χρόνους T2 και T3 τόσο οι απόγονοι των μητέρων που κατανάλωναν καφεΐνη οι οποίοι λάμβαναν κανονική τροφή και υδατικό διάλυμα υψηλό σε φρουκτόζη (200g/L) καθημερινά αντί για πόσιμο νερό (ομάδα B2) όσο και οι απόγονοι των μητέρων που δεν κατανάλωναν καφεΐνη οι οποίοι λάμβαναν κανονική τροφή και υδατικό διάλυμα υψηλό σε φρουκτόζη (200g/L) σε καθημερινή βάση αντί για πόσιμο νερό (ομάδα A2) αύξησαν την πρόσληψη νερού συγκριτικά με τον χρόνο T1, γεγονός που οδήγησε σε μεγαλύτερη πρόσληψη φρουκτόζης κατά τη διάρκεια του τελευταίου μήνα της μελέτης. Επίσης, δε βρέθηκαν σημαντικές διαφορές στην πρόσληψη τροφής και νερού ανάμεσα στις 2 ομάδες ελέγχου (A1, B1) ή ανάμεσα στις ομάδες που κατανάλωναν φρουκτόζη (A2, B2) (**Πίνακας 5-2**).

Πίνακας 5-2: Πρόσληψη τροφής (g/ημέρα) και νερού (mL/ημέρα) σε κάθε ομάδα απογόνων που μελετήθηκε στις χρονικές στιγμές T1, T2, T3.

	Χρόνος	Ομάδα A1	Ομάδα A2	Ομάδα B1	Ομάδα B2

Πρόσληψη τροφής (g/ημέρα)	T1	31 (11) ^α	31 (18,2)	28 (5) ^β	15 (3,2) ^{α, β}
	T2	27 (2) ^{α, β}	26 (10,5) ^α	26 (2,25) ^γ	16 (6) ^{β, γ}
	T3	27 (2,75) ^{α, β}	14 (5,25) ^α	25 (2) ^γ	14,5 (1,5) ^{β, γ}
Πρόσληψη νερού (mL/ημέρα)	T1	34,5 (5,75) ^α	52 (25,25) ^{α, β}	34,5 (1,5) ^{β, γ}	57 (8,25) ^γ
	T2	34 (4,75) ^{α, β}	85 (21,75) ^{α, γ}	33 (6,75) ^{γ, δ}	84 (6,5) ^{β, δ}
	T3	34 (1,75) ^{α, β}	84 (18) ^{α, γ}	35,5 (6,25) ^{γ, δ}	84 (18,5) ^{β, δ}

Τα δεδομένα εκφράζονται ως διάμεσοι (διατεταρτημοριακό εύρος). Ανάλυση post hoc για τον προσδιορισμό διαφορών μεταξύ των ομάδων για την ανάλυση Kruskal-Wallis: Τα σχήματα μοιράζονται τους ίδιους εκθέτες γραμμάτων για τη διαφοροποίηση της σημαντικότητας μεταξύ τους

5.2 Αρτηριακή πίεση

Όσον αφορά τις μετρήσεις της συστολικής αρτηριακής πίεσης, η σύγκριση μεταξύ των διαφόρων ομάδων έδειξε ότι η ομάδα των αρσενικών απογόνων από τις μητέρες της ομάδας που δεν λάμβαναν καφεΐνη (ομάδα A) οι οποίοι λάμβαναν κανονική τροφή και πόσιμο νερό (ομάδα A1) και η ομάδα των αρσενικών απογόνων από τις μητέρες της ομάδας που λάμβαναν καφεΐνη (ομάδα B) οι οποίοι λάμβαναν κανονική τροφή και πόσιμο νερό (ομάδα B1) είχαν χαμηλότερα επίπεδα συστολικής αρτηριακής πίεσης συγκριτικά με την αρτηριακή πίεση που μετρήθηκε στους απογόνους των μητέρων που δεν κατανάλωναν καφεΐνη οι οποίοι λάμβαναν κανονική τροφή και υδατικό διάλυμα υψηλό σε φρουκτόζη (200g/L) σε καθημερινή βάση αντί για πόσιμο νερό (ομάδα A2) (A1 vs A2 και B1 vs A2, $P < 0,001$ και $P = 0,025$ αντίστοιχα) και στους απογόνους των μητέρων που κατανάλωναν καφεΐνη οι οποίοι λάμβαναν κανονική τροφή και υδατικό διάλυμα υψηλό σε φρουκτόζη (200g/L) καθημερινά αντί για πόσιμο νερό (ομάδα B2) (A1 vs B2, $P < 0,01$; B1 vs B2, $P < 0,001$). Ακόμη, τα ζώα των ομάδων A1 και A2 είχαν χαμηλότερα επίπεδα συστολικής αρτηριακής πίεσης συγκριτικά με τα ζώα των ομάδων B1 και

B2 (A1 vs B1, $P < 0,001$; A2 vs B2, $P = 0,019$). Σχετικά με τη διαστολική αρτηριακή πίεση, βρέθηκε υψηλότερη στην ομάδα A2 συγκριτικά με την ομάδα A1 ($P = 0,002$), καθώς επίσης υψηλότερη βρέθηκε να είναι και στην ομάδα B2 συγκριτικά με την ομάδα B1 ($P = 0,005$). Επιπλέον, παρατηρήθηκε μια τάση αύξησης στα επίπεδα διαστολικής αρτηριακής πίεσης στην ομάδα B2 συγκριτικά με την ομάδα A2 ($P = 0,053$) και χαμηλότερες τιμές στην ομάδα A1 όταν γινόταν σύγκριση με την ομάδα B2 ($P < 0,001$). Τέλος, στην ομάδα των ζώων A2 βρέθηκε υψηλότερη διαστολική αρτηριακή πίεση συγκριτικά με την ομάδα B1 ($P = 0,041$) (Πίνακας 5-3).

Πίνακας 5-3: Επίπεδα της αρτηριακής πίεσης (συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση) σε κάθε ομάδα απογόνων (A1, A2, B1, B2) που μελετήθηκε.

Μεταβλητή	Ομάδα A1	Ομάδα A2	Ομάδα B1	Ομάδα B2	¹ p-value
Συστολική αρτηριακή πίεση	135 (122-143) ^{α, β, γ}	152 (148-162) ^{α, δ, ε}	144 (140-155) ^{β, δ, στ}	160,5 (152-174) ^{γ, ε, στ}	<0,001
Διαστολική αρτηριακή πίεση	106 (80-117) ^{α, β}	120,5 (107-139) ^{α, γ, δ}	106 (88-138) ^{γ, ε}	130 (112-143) ^{β, δ, ε}	<0,001

Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως διάμεσος (εύρος). Οι τιμές P-value σημειώνονται με (*) και δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$). ¹Ανάλυση post hoc για τον προσδιορισμό διαφορών μεταξύ των ομάδων για την ανάλυση Kruskal-Wallis: Τα σχήματα μοιράζονται τους ίδιους εκθέτες γραμμάτων για τη διαφοροποίηση της σημαντικότητας μεταξύ τους

5.3 Βιοχημικές αναλύσεις

Αναφορικά με τα επίπεδα γλυκόζης νηστείας, δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά στις διάφορες ομάδες σε κανένα χρονικό σημείο. Παρόλα αυτά, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην ομάδα των αρσενικών απογόνων από τις μητέρες της ομάδας που δεν λάμβαναν καφεΐνη (ομάδα A) οι οποίοι λάμβαναν κανονική τροφή και πόσιμο νερό (ομάδα A1), στην ομάδα των αρσενικών απογόνων από μητέρες της ομάδας A (ομάδα

ελέγχου) οι οποίοι λάμβαναν κανονική τροφή και υδατικό διάλυμα υψηλό σε φρουκτόζη (200g/L) σε καθημερινή βάση αντί για πόσιμο νερό (ομάδα A2), στην ομάδα των αρσενικών απογόνων από τις μητέρες της ομάδας που λάμβαναν καφεΐνη (ομάδα B) οι οποίοι λάμβαναν κανονική τροφή και πόσιμο νερό (ομάδα B1) και την ομάδα των αρσενικών απογόνων από τις μητέρες της ομάδας B (ομάδα καφεΐνης) οι οποίοι λάμβαναν κανονική τροφή και υδατικό διάλυμα υψηλό σε φρουκτόζη (200g/L) καθημερινά αντί για πόσιμο νερό (ομάδα B2), σε διαφορετικά χρονικά σημεία.

Σχετικά με τα επίπεδα λιπιδίων στον ορό του αίματος δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων στις μετρήσεις στον χρόνο T1 (**Πίνακας 5-4**). Στον χρόνο T2, τα ζώα της ομάδας των αρσενικών απογόνων από τις μητέρες της ομάδας A οι οποίοι λάμβαναν κανονική τροφή και πόσιμο νερό (ομάδα A1) φάνηκε να έχουν χαμηλότερα επίπεδα τριγλυκεριδίων ορού συγκριτικά με τα ζώα τόσο της ομάδας A2 ($P=0,025$) όσο και στην ομάδα B2 ($P=0,001$). Τα επίπεδα τριγλυκεριδίων στην ομάδα B1 ήταν χαμηλότερα συγκριτικά με τα αντίστοιχα επίπεδα των ομάδων A2 ($P=0,045$) και B2 ($P=0,004$). Επίσης, τη χρονική στιγμή T3, τα ζώα της ομάδας A1 φάνηκε να έχουν χαμηλότερα επίπεδα τριγλυκεριδίων συγκριτικά με τα ζώα των ομάδων A2 ($P=0,015$) και B2 ($P=0,001$). Τα ζώα της ομάδας A2 παρουσίασαν υψηλότερα επίπεδα τριγλυκεριδίων συγκριτικά με αυτά της ομάδας B1 ($P=0,002$) αλλά χαμηλότερα επίπεδα σε σύγκριση με την ομάδα B2 ($P=0,037$). Επιπρόσθετα, στην ομάδα A1 τα ζώα εμφάνισαν χαμηλότερα επίπεδα τριγλυκεριδίων σε σχέση με την ομάδα B2 ($P<0,001$).

Η ανάλυση των επιπέδων της LDL χοληστερόλης στον ορό έδειξε ότι τη στιγμή T2 τα ζώα της ομάδας B1 είχαν αυξημένα επίπεδα συγκριτικά με τα επίπεδα LDL χοληστερόλης των ομάδων A1 ($P=0,052$) και B2 ($P=0,001$), με τα ζώα της ομάδας A1 να παρουσιάζουν υψηλότερα επίπεδα σε σχέση με την ομάδα B2 ($P=0,015$).

Πίνακας 5-4: Επίπεδα γλυκόζης ορού (mg/dl), ολικής χοληστερόλης (mg/dl), HDL χοληστερόλης (mg/dl), LDL χοληστερόλης (mg/dl), τριγλυκεριδίων (mg/dl) σε κάθε ομάδα ζώου (A1, A2, B1, B2) που μελετήθηκε στις χρονικές στιγμές T1, T2, T3.

Μεταβλητή	Ομάδα A1	Ομάδα A2	Ομάδα B1	Ομάδα B2	¹ p-value
<i>Γλυκόζη (T1)</i>	140 (130-165)	145 (120-200)	147,5 (120-170)	147,5 (120-170)	0,731
<i>Γλυκόζη (T2)</i>	150 (140-180)	155 (120-175)	155 (125-180)	157,5 (145-190)	0,607
<i>Γλυκόζη (T3)</i>	177,5 (135-220)	180 (138-230)	187,5 (165-210)	195 (168-240)	0,401
<i>p-value (Friedman)</i>	0,001	0,007	<0,001	0,001	
<i>Ολική χοληστερόλη (T1)</i>	99,5 (85-110)	105 (90-120)	95 (80-110)	97,5 (80-115)	0,171
<i>Ολική χοληστερόλη (T2)</i>	82,5 (70-100)	82,5 (70-120)	82,5 (80-100)	80 (65-90)	0,473
<i>Ολική χοληστερόλη (T3)</i>	75 (60-100)	85 (65-100)	80 (65-95)	75 (65-95)	0,705
<i>p-value (Friedman)</i>	0,001	0,013	0,002	<0,001	
<i>Τριγλυκερίδια (T1)</i>	63 (45-95)	70 (50-126)	77,5 (60-120)	80 (60-140)	0,254
<i>Τριγλυκερίδια (T2)</i>	87,5 (65-115) ^{α, β}	112,5 (60-195) ^{α, γ}	82,5 (45-150) ^{γ, δ}	140 (90-190) ^{β, δ}	0,002*

<i>Τριγλυκερίδια (T3)</i>	70 (40-105) ^{α, β}	97,5 (60-150) ^{α, γ, δ}	65 (40-80) ^{γ, ε}	150 (80-240) ^{β, δ, ε}	<0,001*
<i>p-value (Friedman)</i>	0,053	0,266	0,020	0,012	
<i>HDL (T1)</i>	53 (46-61)	56 (48-65)	51,5 (45-59)	53 (46-60)	0,284
<i>HDL (T2)</i>	54 (46-60)	55,5 (49-66)	75 (46-150)	56,5 (47-190)	0,572
<i>HDL (T3)</i>	54 (46-60)	54,5 (48-65)	50,5 (40-58)	53 (46-59)	0,249
<i>p-value (Friedman)</i>	0,168	0,053	0,001	0,010	
<i>LDL (T1)</i>	31 (21-37)	35 (14-43)	29 (11-38)	60 (6-36)	0,269
<i>LDL (T2)</i>	10 (5-22) ^{α, β}	10 (1-38)	17 (8-31) ^{α, γ}	5 (2-17) ^{β, γ}	0,013*
<i>LDL (T3)</i>	10 (0-21)	5 (2-26)	16 (4-22)	12,5 (0-24)	0,328
<i>p-value (Friedman)</i>	0,001	0,007	0,050	0,023	

Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως διάμεσος (εύρος). Οι τιμές P-value σημειώνονται με (*) και δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$). ¹Ανάλυση post hoc για τον προσδιορισμό διαφορών μεταξύ των ομάδων για την ανάλυση Kruskal-Wallis: Τα σχήματα μοιράζονται τους ίδιους εκθέτες γραμμμάτων για τη διαφοροποίηση της σημαντικότητας μεταξύ τους

5.4 Δοκιμασία ανοχής γλυκόζης

Όσον αφορά τα αποτελέσματα της δοκιμασίας ανοχής στη γλυκόζη, τα ζώα των ομάδων A2 και B2 φάνηκε να έχουν μεγαλύτερα μέσα επίπεδα γλυκόζης στους χρόνους 30, 60 και 120 min χωρίς ωστόσο οι διαφορές αυτές να εμφανίζουν στατιστική σημαντικότητα. (Πίνακας 5-5).

Πίνακας 5-5: Επίπεδα γλυκόζης ορού (mg/dl) που καταγράφηκαν ύστερα από τεστ ανοχής στη γλυκόζη (GTT0, GTT30, GTT60, GTT120)

Μεταβλητή	Ομάδα A1	Ομάδα A2	Ομάδα B1	Ομάδα B2	¹ p-value
GTT 0	100 (85-122)	95 (71-129)	105,5 (58-131)	108 (61-130)	0,829
GTT 30	171,5 (122-281)	223 (176-321)	215 (95-386)	210,5 (134-352)	0,349
GTT 60	129 (90-162)	151,5 (114-201)	124 (95-283)	175,5 (100-220)	0,089
GTT 120	111 (83-123)	120 (84-147)	99 (84-189)	114,5 (84-145)	0,337

Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως διάμεσος (εύρος). Οι τιμές P-value σημειώνονται με (*) και δείχνουν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$). ¹Ανάλυση post hoc για τον προσδιορισμό διαφορών μεταξύ των ομάδων για την ανάλυση Kruskal-Wallis: Τα σχήματα μοιράζονται τους ίδιους εκθέτες γραμμάτων για τη διαφοροποίηση της σημαντικότητας μεταξύ τους

5.5 Αποτελέσματα ιστοπαθολογικής ανάλυσης

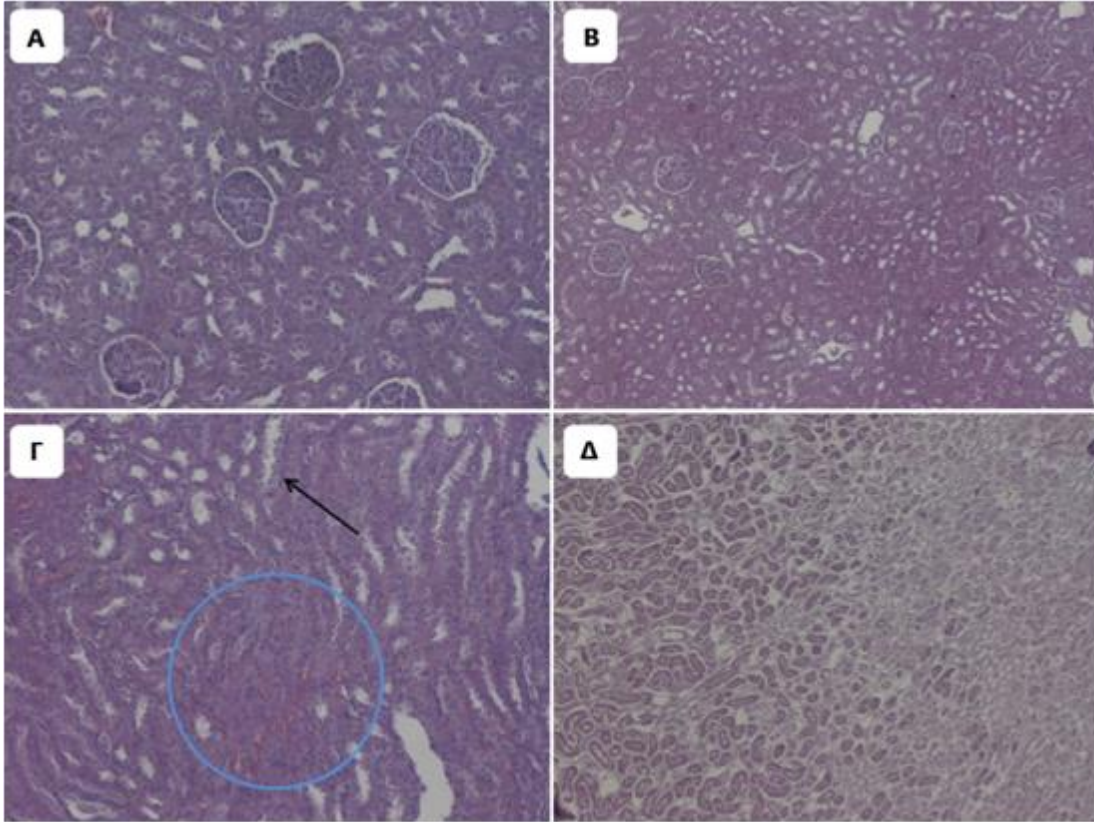
Τα δείγματα νεφρικού ιστού με χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης που λήφθηκαν από την ομάδα των αρσενικών απογόνων από τις μητέρες της ομάδας B (ομάδα καφεΐνης) οι οποίοι λάμβαναν κανονική τροφή και πόσιμο νερό (ομάδα B1) και από την ομάδα των αρσενικών απογόνων από τις μητέρες της ομάδας B (ομάδα καφεΐνης) οι οποίοι λάμβαναν κανονική τροφή και υδατικό διάλυμα υψηλό σε φρουκτόζη (200g/L) καθημερινά αντί για πόσιμο νερό (ομάδα B2) εμφάνισαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερο ποσοστό περιπτώσεων (50% στην ομάδα B1 και

70% στην ομάδα B2) με διάμεσο οίδημα συγκριτικά με την ομάδα A1 (A1 vs B1, P=0,033 και A1 vs B2, P=0,003). Στα δείγματα ηπατικού ιστού δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με την παρουσία διαμέσου οιδήματος μεταξύ των ομάδων της μελέτης. Τέλος, δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στην θολέρη εξοίδηση του νεφρικού ή του ηπατικού ιστού μεταξύ των ομάδων (Πίνακας 5-6, Εικόνα 5-1).

Πίνακας 5-6: Ανάλυση της ιστοπαθολογικής εξέτασης των δειγμάτων νεφρικού και ηπατικού ιστού σε σχέση με την παρουσία ή απουσία διαμέσου οιδήματος (παρουσία υγρού ανάμεσα στα κύτταρα) ή θολερής εξοίδησης (παρουσία υγρού μέσα στο κυτταρόπλασμα).

Αλλοιώσεις του νεφρικού ή ηπατικού ιστού	Αριθμός ζώων ανά ομάδα ως ποσοστό (%)			
	Ομάδα A1	Ομάδα A2	Ομάδα B1	Ομάδα B2
<i>Διάμεσο οίδημα στον νεφρικό ιστό</i>	0 ^{α, β}	40	50 ^α	70 ^β
<i>Θολερή Εξοίδηση στον νεφρικό ιστό</i>	30	10	50	30
<i>Διάμεσο οίδημα στον ηπατικό ιστό</i>	0	0	10	10
<i>Θολερή εξοίδηση στον ηπατικό ιστό</i>	0	0	0	0

Τα σχήματα μοιράζονται τους ίδιους εκθέτες γραμμάτων για τη διαφοροποίηση της σημαντικότητας μεταξύ τους



Εικόνα 5-1: Χρώσεις αιματοξυλίνης/ηωσίνης των νεφρικών ιστών (Α, Γ: 100x, Β, Δ: 50x)

Α: αρσενικά που γεννήθηκαν από μητέρες της ομάδας ελέγχου και λάμβαναν νερό βρύσης

Β: αρσενικά που γεννήθηκαν από μητέρες της ομάδας ελέγχου και λάμβαναν καθημερινά διάλυμα νερού πλούσιο σε φρουκτόζη (200g/L) αντί για νερό βρύσης

Γ: αρσενικά τα οποία προγεννητικά εκτέθηκαν σε καφεΐνη και λάμβαναν νερό βρύσης

Δ: αρσενικά τα οποία προγεννητικά εκτέθηκαν σε καφεΐνη και λάμβαναν καθημερινά διάλυμα νερού πλούσιο σε φρουκτόζη (200g/L) αντί για νερό βρύσης

Το βέλος η εικόνα Γ υποδεικνύει θολερή εξοίδηση του σωληναριακού επιθηλίου.

Ο μπλε κύκλος στην εικόνα Γ και ολόκληρη η περιοχή στην εικόνα Δ παρουσιάζουν ιστό με διάμεσο οίδημα.

Κεφάλαιο 6: Συζήτηση

Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκε η επίδραση της ενδομήτριας έκθεσης στην καφεΐνη στο μεταβολικό προφίλ αρσενικών απογόνων επίμυων (Sprague Dawley), οι οποίοι κατανάλωναν διάλυμα υψηλής περιεκτικότητας σε φρουκτόζη.

Ένα από τα κύρια ευρήματα ήταν ότι οι αρσενικοί επίμυες οι οποίοι προγεννητικά εκτέθηκαν στην καφεΐνη και είχαν λάβει δίαιτα αυξημένης περιεκτικότητας σε φρουκτόζη κατά την ενήλικη ζωή εμφάνισαν αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων σε σύγκριση με όλες τις πειραματικές ομάδες της μελέτης, συμπεριλαμβανομένης και της ομάδας των απογόνων μητέρων που δεν έλαβαν καφεΐνη αλλά ακολούθησαν δίαιτα υψηλή σε φρουκτόζη. Η παρατήρηση αυτή εμπλέκει άμεσα την προγεννητική έκθεση σε καφεΐνη (PCE) και την επίδρασή της στη μεταβολική ομοιοστάση κατά την ενήλικη ζωή. Παρόμοια είναι και τα ευρήματα παλαιότερων μελετών στις οποίες οι επίμυες προγεννητικά είχαν εκτεθεί σε καφεΐνη και λάμβαναν δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε λίπος κατά την περίοδο της ενήλικης ζωής. Συγκεκριμένα, σε μελέτη στην οποία θηλυκοί επίμυες λάμβαναν 120 mg/kg σωματικού βάρους καφεΐνη από την 11^η μέρα της εγκυμοσύνης έως και την ημέρα του τοκετού, βρέθηκε ότι η PCE οδήγησε όχι μόνο σε μείωση της φλοιοεπινεφριδιοτρόπου ορμόνης και των επιπέδων κορτικοστερόνης αλλά και σε αύξηση των επιπέδων γλυκόζης, τριγλυκεριδίων και ολικής χοληστερόλης ορού (79).

Όμοια, σε άλλη μελέτη με σκοπό να διερευνηθεί τόσο την ευαισθησία για ανάπτυξη MetS όσο και τον μηχανισμό που προκαλεί ή συμβάλλει στην εμφάνιση μη αλκοολικής λιπώδους νόσου του ήπατος (NAFLD) στους ενήλικες ως αποτέλεσμα της PCE, παρατηρήθηκε ότι PCE της τάξης των 120 mg/kg σωματικού βάρους με ταυτόχρονη λήψη δίαιτας πλούσιας σε λίπος οδήγησε σε αύξηση της σύνθεσης λιπιδίων και αυξημένα επίπεδα τριγλυκεριδίων στον ορό του αίματος. Επιπλέον, βρέθηκε ότι η έκθεση σε καφεΐνη δημιουργεί ευαισθησία για ανάπτυξη MetS και τελικά οδήγησε στην εμφάνιση μακροφουσαλιδώδους στεάτωσης του ήπατος (137). Επομένως, οι μελέτες αυτές υποστηρίζουν την υπόθεση ότι μια δίαιτα πλούσια σε λίπος πυροδοτεί υπερβολική λιπογένεση σε επίμυες οι οποίοι προγεννητικά εκτέθηκαν στην καφεΐνη. Ωστόσο, το εύρημα αυτό δεν επιβεβαιώθηκε στην παρούσα μελέτη πιθανόν λόγω της χαμηλής δόσης έκθεσης σε καφεΐνη (20 mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα). Παρόλα αυτά, όλες οι

μελέτες, συμπεριλαμβανομένης και της παρούσας, δείχνουν ξεκάθαρη επιδείνωση του μεταβολισμού κατά την ενήλικη ζωή, ύστερα από PCE, χρησιμοποιώντας 2 διαφορετικά μοντέλα πρόκλησης MetS, όπως είναι η δίαιτα αυξημένης περιεκτικότητας σε λίπος και η δίαιτα αυξημένης περιεκτικότητας σε σάκχαρα και συγκεκριμένα φρουκτόζη.

Επιπλέον, σε προηγούμενη μελέτη έχει φανεί ότι η κατανάλωση καφεΐνης κατά τη διάρκεια της κρίσιμης περιόδου της εγκυμοσύνης έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση των επιπέδων των μητρικών γλυκοκορτικοειδών τα οποία περιορίζουν τη δραστηριότητα του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια (HPA) του εμβρύου μέσω ρύθμισης αρνητικής ανατροφοδότησης. Η βλάβη αυτή φαίνεται ότι οδήγησε σε ενδομήτριο περιορισμό της ανάπτυξης (IUGR) και αύξησε τον κίνδυνο για ανάπτυξη MetS κατά την ενήλικη ζωή (138).

Ένα ακόμα εύρημα της παρούσας μελέτης ήταν ότι η PCE στην οποία υποβλήθηκαν οι απόγονοι των επίμυων φάνηκε να οδηγεί σε αύξηση της συστολικής και διαστολικής αρτηριακής πίεσης συγκριτικά με τις ομάδες ελέγχου. Η διαφορά αυτή ήταν ακόμα πιο έντονη όταν συνδυαζόταν με τη χορήγηση φρουκτόζης. Σύμφωνα με τα έως τώρα δεδομένα, αυτή είναι η πρώτη μελέτη η οποία υποδεικνύει ότι η πρόσληψη καφεΐνης από τη μητέρα ενδέχεται να αυξάνει την ευαισθησία των αρσενικών απογόνων ως προς την εμφάνιση υπέρτασης. Ωστόσο, ο υποκείμενος μηχανισμός παραμένει άγνωστος και απαιτείται περαιτέρω έρευνα πάνω στο πεδίο αυτό.

Μια πιθανή παθοφυσιολογική οδός φαίνεται να είναι αυτή των νεφρικών αναπτυξιακών ανωμαλιών που προκαλούνται από τη PCE, συμπεριλαμβανομένης της σπειραματοσκλήρυνσης και της διάμεσης σκλήρυνσης (137). Η σπειραματοσκλήρυνση αποτελεί αλλοίωση του σπειράματος των νεφρών η οποία οδηγεί σε προοδευτική επιδείνωση της νεφρικής λειτουργίας. Σε παλαιότερη μελέτη, η ιστολογική εξέταση από δείγματα ιστών που λήφθηκαν από ενήλικες απόγονους οι οποίοι προγεννητικά εκτέθηκαν στην καφεΐνη φανέρωσε παθολογικά χαρακτηριστικά και μεταβολές στην αρχιτεκτονική του νεφρού. Η βλάβη στη δομή εντοπίστηκε στα ποδοκύτταρα, μια ομάδα υψηλά διαφοροποιημένων κυττάρων υπεύθυνων για τη συντήρηση της βασικής σπειραματικής μεμβράνης, συνοδευόμενη από μείωση βιοδεικτών στα ποδοκύτταρα, κυρίως αυτών της έκφρασης του γονιδίου του νεφρικού υποδοχέα τύπου 2 της αγγειοτενσίνης II (AT2R). Οι νεφροί των απογόνων PCE παρουσίασαν διευρυμένο χώρο του Bowman και συρρικνωμένο αγγειώδες σπείραμα καθώς και μειωμένο πλάτος του φλοιού και

αυξημένο λόγο μυελώδους προς φλοιώδη μοίρα. Επιπλέον, προτάθηκε ότι ο ελαττωματικός λειτουργικός προγραμματισμός του AT2R που παρατηρήθηκε στην ομάδα PCE μπορεί εν μέρει να λειτουργεί ως μεσολαβητής στην αναπτυξιακή σπειραματοσκλήρυνση στους ενήλικες, που με τη σειρά της οδηγεί στην ανάπτυξη υπέρτασης (139).

Επιπρόσθετα, το σύστημα ρενίνης-αγγειοτενσίνης (RAS) είναι γνωστό ότι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη των νεφρών. Επομένως, οποιαδήποτε πιθανή βλάβη στο σύστημα αυτό θα μπορούσε να οδηγήσει σε μορφολογικές ανωμαλίες ή δυσλειτουργία των νεφρών. Σε μελέτη σε επίμυες βρέθηκε ότι δόσεις καφεΐνης 180 mg/kg σωματικού βάρους την ημέρα κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης οδήγησε σε αύξηση των επιπέδων αγγειοτενσίνης II στο πλάσμα της μητέρας, οδηγώντας σε χρόνια ενεργοποίηση του RAS της μητέρας και του πλακούντα (90). Επιπλέον, άλλα πειραματικά πρωτόκολλα που πραγματοποιήθηκαν σε ζωικά πρότυπα πρότειναν ότι η νεφρική δυσπλασία που αναπτύσσεται προγεννητικά οδηγεί σε αυξημένη ευαισθησία για ανάπτυξη νεφρικών νοσημάτων (140-142). Στην παρούσα μελέτη, και οι 2 ομάδες που εκτέθηκαν στην καφεΐνη, ανεξάρτητα από την κατανάλωση νερού ή υδατικού διαλύματος φρουκτόζης, παρουσίασαν υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης διάμεσου οιδήματος στον νεφρικό ιστό κατά την ενήλικη ζωή (50% και 70% αντίστοιχα) συγκριτικά με τις ομάδες ελέγχου.

Αξιοσημείωτα είναι ωστόσο τα αποτελέσματα σχετικά με τη χορήγηση καφεΐνης και την ευαισθησία στην ινσουλίνη, τη γλυκόζη αίματος και την υπέρταση. Πιο αναλυτικά, σε μελέτη στην οποία χορηγήθηκε 1 g/L καφεΐνης σε ενήλικες επίμυες μέσω κατανάλωσης νερού για 15 ημέρες φάνηκε βελτίωση στην αντίσταση στην ινσουλίνη καθώς και την υπέρταση που προκλήθηκαν από τη δίαιτα πλούσια σε λίπος και σακχαρόζη. Επιπλέον, στην ίδια μελέτη η λήψη καφεΐνης από τους επίμυες που κατανάλωναν δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε σακχαρόζη οδήγησε σε αντιστροφή της υπεργλυκαιμίας νηστείας (127). Αντίθετα, στην παρούσα μελέτη είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι η χορήγηση καφεΐνης πραγματοποιήθηκε κατά τη διάρκεια της ενδομήτριας ζωής και κατ' επέκταση υπό διαφορετικές συνθήκες, πιθανότατα επηρεάζοντας την ανάπτυξη των οργάνων καθώς και τη δημιουργία ενός διαφορετικού περιβάλλοντος επάγοντας τις επιγενετικές αλλαγές και προσφέροντας διαφορετικές πιθανές εξηγήσεις για τις διαφορές που παρατηρούνται.

Όσον αφορά στο βάρος γέννησης των απογόνων, βρέθηκε σημαντικά χαμηλότερο στις ομάδες των απογόνων οι οποίοι προγεννητικά εκτέθηκαν στην καφεΐνη σε σύγκριση με τους απογόνους που δεν είχαν εκτεθεί. Το εύρημα αυτό επιβεβαιώνεται από τα αποτελέσματα άλλης πρόσφατης μελέτης που έδειξε ότι η PCE ενδέχεται να οδηγεί σε IUGR και επομένως σε χαμηλό βάρος γέννησης. Ειδικότερα, στη μελέτη αυτή μύες οι οποίοι εκτέθηκαν σε διαφορετικές συγκεντρώσεις καφεΐνης (60, 120 και 240 mg/kg σωματικού βάρους) εμφάνισαν εκτός των άλλων και σημαντικά χαμηλό βάρος γέννησης (90). Μελέτες σε πληθυσμούς ανθρώπων δείχνουν να καταλήγουν σε παρόμοια συμπεράσματα με αυτά των ζωικών προτύπων. Για παράδειγμα, σε μεγάλη προοπτική μελέτη παρατήρησης 59.123 μητέρων, βρέθηκε ότι η μητρική κατανάλωση καφεΐνης σε ποσότητες 200-300 mg/d, οδήγησε σε απογόνους με χαμηλό βάρος γέννησης (85).

Αναφορικά με τους ανθρώπους και συγκεκριμένα τα έμβρυα που έχουν εκτεθεί σε καφεΐνη κατά την περίοδο της ενδομήτριας ζωής, έχει βρεθεί ότι απόγονοι μητέρων οι οποίες λάμβαναν 4-5,9 και ≥ 6 μονάδες καφεΐνης την ημέρα (1 μονάδα ισοδυναμεί με 90 mg καφεΐνης) κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, έτειναν να έχουν υψηλότερο ΔΜΣ κατά την παιδική ηλικία καθώς και υψηλότερη λιπώδη μάζα (89). Παρόμοια αποτελέσματα βρέθηκαν σε έρευνα σε ζωικά πρότυπα που είχε ως σκοπό τη μελέτη τόσο των βραχυπρόθεσμων επιδράσεων της PCE στην καρδιακή ανάπτυξη και την ανάπτυξη του εμβρύου αλλά και των μακροπρόθεσμων επιδράσεων στην καρδιακή λειτουργία και τη σύσταση σώματος. Φάνηκε ότι αρσενικοί μύες που προγεννητικά εκτέθηκαν στην καφεΐνη (20 mg/kg σωματικού βάρους) παρουσίασαν 20 % αύξηση του σωματικού τους λίπους κατά την 8^η εβδομάδα μετά τη γέννησή τους (93). Αντίστοιχα, σε άλλη μελέτη, έγινε σαφές ότι η PCE αρσενικών μυών σε ποσότητες που αντιστοιχούν σε 2-4 ανθρώπινες κούπες καφέ (20 mg/kg σωματικού βάρους) οδήγησε σε αύξηση του σωματικού βάρους κατά 10 % συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου η οποία λάμβανε 0,9 % NaCl (94). Τα παραπάνω αποτελέσματα δεν επαληθεύονται από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης όπου οι απόγονοι της ομάδας που προγεννητικά εκτέθηκαν στην καφεΐνη δεν εμφάνισαν μεγαλύτερο βάρος σε σχέση με την ομάδα ελέγχου.

Συμπεράσματα

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν ξεκάθαρα τις φαινοτυπικές επιδράσεις της PCE στην ανάπτυξη MetS κατά την ενήλικη ζωή. Βέβαια, όπως και σε όλες τις πειραματικές μελέτες, τα αποτελέσματα πρέπει να εξεταστούν κάτω από μια μεταφραστική οπτική και όχι να μεταφερθούν άμεσα στους ανθρώπους. Παρόλα αυτά, η παρούσα μελέτη αποτελεί την πρώτη μελέτη που εξέτασε τα αποτελέσματα της PCE σε μοντέλο MetS που προκαλείται από δίαιτα υψηλής περιεκτικότητας σε φρουκτόζη στην ενήλικη ζωή. Στη μελέτη παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση της PCE με την παρουσία χαμηλού βάρους γέννησης, υψηλής αρτηριακής πίεσης, διάμεσου οιδήματος του νεφρικού ιστού και υπερτριγλυκεριδαιμίας. Λαμβάνοντας υπόψη ότι η δόση καφεΐνης που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη βρισκόταν εντός του συνιστώμενου εύρους κατανάλωσης για τους ανθρώπους κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, καθώς και πόσο διαδεδομένη είναι η κατανάλωση καφέ κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης παρέχουν σημαντικό κίνητρο για την διεξαγωγή περαιτέρω μελετών.

Βιβλιογραφία

1. Heckman MA, Weil J, De Mejia EG. Caffeine (1, 3, 7-trimethylxanthine) in foods: a comprehensive review on consumption, functionality, safety, and regulatory matters. *Journal of food science*. 2010;75(3):R77-R87.
2. Peacock A, Mattick RP, Bruno R. A review of caffeine use as a risk or protective factor for women's health and pregnancy. *Current opinion in psychiatry*. 2017;30(4):253-9.
3. Ogawa N, Ueki H. Clinical importance of caffeine dependence and abuse. *Psychiatry and clinical neurosciences*. 2007;61(3):263-8.
4. Cappelletti S, Daria P, Sani G, Aromatario M. Caffeine: cognitive and physical performance enhancer or psychoactive drug? *Current neuropharmacology*. 2015;13(1):71-88.
5. Burke LM. Caffeine and sports performance. *Applied physiology, nutrition, and metabolism*. 2008;33(6):1319-34.
6. Verster JC, Koenig J. Caffeine intake and its sources: A review of national representative studies. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2018;58(8):1250-9.
7. Mitchell D, Knight C, Hockenberry J, Teplansky R, Hartman T. Beverage caffeine intakes in the US *Food and Chemical Toxicology*, 63, 136-142. 2014.
8. Drewnowski A, Rehm CD. Sources of caffeine in diets of US children and adults: trends by beverage type and purchase location. *Nutrients*. 2016;8(3):154.
9. Kit BK, Fakhouri TH, Park S, Nielsen SJ, Ogden CL. Trends in sugar-sweetened beverage consumption among youth and adults in the United States: 1999–2010. *The American journal of clinical nutrition*. 2013;98(1):180-8.
10. Lim HS, Hwang JY, Choi JC, Kim M. Assessment of caffeine intake in the Korean population. *Food Additives & Contaminants: Part A*. 2015;32(11):1786-98.
11. EFSA Panel on Dietetic Products N, Allergies. Scientific Opinion on the safety of caffeine. *EFSA Journal*. 2015;13(5):4102.
12. Knight CA, Knight I, Mitchell DC. Beverage caffeine intakes in young children in Canada and the US. *Canadian Journal of Dietetic Practice and Research*. 2006;67(2):96-9.
13. Farah A. Coffee constituents. *Coffee: Emerging health effects and disease prevention*. 2012;1:22-58.
14. Diviš P, Pořízka J, Kříkál J. The effect of coffee beans roasting on its chemical composition. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*. 2019;13(1):344-50.
15. Yeretdzian C, Jordan A, Lindinger W. Analysing the headspace of coffee by proton-transfer-reaction mass-spectrometry. *International Journal of Mass Spectrometry*. 2003;223:115-39.
16. Butt MS, Sultan MT. Coffee and its consumption: benefits and risks. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2011;51(4):363-73.
17. de Melo Pereira GV, de Carvalho Neto DP, Júnior AIM, do Prado FG, Pagnoncelli MGB, Karp SG, et al. Chemical composition and health properties of coffee and coffee by-products. *Advances in food and nutrition research*. 91: Elsevier; 2020. p. 65-96.
18. Ghosh P, Venkatachalapathy N. Processing and drying of coffee—a review. *Int J Eng Res Technol*. 2014;3(12):784-94.
19. Toci AT, Farah A. Volatile compounds as potential defective coffee beans' markers. *Food chemistry*. 2008;108(3):1133-41.

20. Shlonsky AK, Klatsky AL, Armstrong MA. Traits of persons who drink decaffeinated coffee. *Annals of epidemiology*. 2003;13(4):273-9.
21. Farah A, de Paulis T, Moreira DP, Trugo LC, Martin PR. Chlorogenic acids and lactones in regular and water-decaffeinated arabica coffees. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006;54(2):374-81.
22. Baggenstoss J, Poisson L, Kaegi R, Perren R, Escher F. Roasting and aroma formation: Effect of initial moisture content and steam treatment. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2008;56(14):5847-51.
23. Murthy PS, Manonmani H. Physico-chemical, antioxidant and antimicrobial properties of Indian monsooned coffee. *European Food Research and Technology*. 2009;229(4):645-50.
24. Noor Aliah A, Fareez-Edzuan A, Noor-Diana A. A review of quality coffee roasting degree evaluation. *Journal of Applied Science and Agriculture*. 2015;10(7):18-23.
25. Pérez-Martínez M, Caemmerer B, De Peña MP, Cid C, Kroh LW. Influence of brewing method and acidity regulators on the antioxidant capacity of coffee brews. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010;58(5):2958-65.
26. Ludwig IA, Clifford MN, Lean ME, Ashihara H, Crozier A. Coffee: biochemistry and potential impact on health. *Food & function*. 2014;5(8):1695-717.
27. Lipton RB, Diener H-C, Robbins MS, Garas SY, Patel K. Caffeine in the management of patients with headache. *The journal of headache and pain*. 2017;18(1):107.
28. dePaula J, Farah A. Caffeine consumption through coffee: content in the beverage, metabolism, health benefits and risks. *Beverages*. 2019;5(2):37.
29. Naveed M, Hejazi V, Abbas M, Kamboh AA, Khan GJ, Shumzaid M, et al. Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2018;97:67-74.
30. Tfouni SA, Carreiro LB, Teles CR, Furlani RP, Cipolli KM, Camargo MC. Caffeine and chlorogenic acids intake from coffee brew: influence of roasting degree and brewing procedure. *International journal of food science & technology*. 2014;49(3):747-52.
31. Duarte GS, Pereira AA, Farah A. Chlorogenic acids and other relevant compounds in Brazilian coffees processed by semi-dry and wet post-harvesting methods. *Food Chemistry*. 2010;118(3):851-5.
32. Nuhu AA. Bioactive micronutrients in coffee: recent analytical approaches for characterization and quantification. *International Scholarly Research Notices*. 2014;2014.
33. Nugrahini AD, Ishida M, Nakagawa T, Nishi K, Sugahara T. Trigonelline: An alkaloid with anti-degranulation properties. *Molecular Immunology*. 2020;118:201-9.
34. Ren Y, Wang C, Xu J, Wang S. Cafestol and kahweol: A review on their bioactivities and pharmacological properties. *International journal of molecular sciences*. 2019;20(17):4238.
35. Tores de la Cruz S, Iriundo-DeHond A, Herrera T, Lopez-Tofiño Y, Galvez-Robleño C, Prodanov M, et al. An assessment of the bioactivity of coffee silverskin melanoidins. *Foods*. 2019;8(2):68.
36. Teekachunhatean S, Tosri N, Rojanasthien N, Srichairatanakool S, Sangdee C. Pharmacokinetics of caffeine following a single administration of coffee enema versus oral coffee consumption in healthy male subjects. *ISRN pharmacology*. 2013;2013.
37. Peerapen P, Thongboonkerd V. Caffeine in kidney stone disease: risk or benefit? *Advances in Nutrition*. 2018;9(4):419-24.
38. Nehlig A. Interindividual differences in caffeine metabolism and factors driving caffeine consumption. *Pharmacological reviews*. 2018;70(2):384-411.

39. Grela A, Kulza M, Piekoszewski W, Senczuk-Przybylowska M, Gomółka E, Florek E. THE EFFECTS OF TOBACCO SMOKE EXPOSURE ON CAFFEINE METABOLISM. *Italian Journal of Food Science*. 2013;25(1).
40. Tsutsumi K, Kotegawa T, Matsuki S, Tanaka Y, Ishii Y, Kodama Y, et al. The effect of pregnancy on cytochrome P4501A2, xanthine oxidase, and N-acetyltransferase activities in humans. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2001;70(2):121-5.
41. Cook DG, Peacock JL, Feyerabend C, Carey IM, Jarvis MJ, Anderson HR, et al. Relation of caffeine intake and blood caffeine concentrations during pregnancy to fetal growth: prospective population based study. *Bmj*. 1996;313(7069):1358-62.
42. Kalow W, Tang BK. Caffeine as a metabolic probe: exploration of the enzyme-inducing effect of cigarette smoking. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 1991;49(1):44-8.
43. Benowitz NL, Peng M, Jacob III P. Effects of cigarette smoking and carbon monoxide on chlorzoxazone and caffeine metabolism. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2003;74(5):468-74.
44. Foundation IFIC. Caffeine & Health: Clarifying the controversies. *IFIC Review*. 2008.
45. de Mejia EG, Ramirez-Mares MV. Impact of caffeine and coffee on our health. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2014;25(10):489-92.
46. Huxley R, Lee CMY, Barzi F, Timmermeister L, Czernichow S, Perkovic V, et al. Coffee, decaffeinated coffee, and tea consumption in relation to incident type 2 diabetes mellitus: a systematic review with meta-analysis. *Archives of internal medicine*. 2009;169(22):2053-63.
47. Westerterp-Plantenga MS, Lejeune MP, Kovacs EM. Body weight loss and weight maintenance in relation to habitual caffeine intake and green tea supplementation. *Obesity research*. 2005;13(7):1195-204.
48. Icken D, Feller S, Engeli S, Mayr A, Müller A, Hilbert A, et al. Caffeine intake is related to successful weight loss maintenance. *European journal of clinical nutrition*. 2016;70(4):532-4.
49. Baspinar B, Eskici G, Ozcelik A. How coffee affects metabolic syndrome and its components. *Food & function*. 2017;8(6):2089-101.
50. Lopez-Garcia E, van Dam RM, Rajpathak S, Willett WC, Manson JE, Hu FB. Changes in caffeine intake and long-term weight change in men and women. *The American journal of clinical nutrition*. 2006;83(3):674-80.
51. Gavrieli A, Karfopoulou E, Kardatou E, Spyreli E, Fragopoulou E, Mantzoros C, et al. Effect of different amounts of coffee on dietary intake and appetite of normal-weight and overweight/obese individuals. *Obesity*. 2013;21(6):1127-32.
52. Gaeini Z, Bahadoran Z, Mirmiran P, Azizi F. Tea, coffee, caffeine intake and the risk of cardio-metabolic outcomes: findings from a population with low coffee and high tea consumption. *Nutrition & metabolism*. 2019;16(1):28.
53. Zulli A, Smith RM, Kubatka P, Novak J, Uehara Y, Loftus H, et al. Caffeine and cardiovascular diseases: critical review of current research. *European journal of nutrition*. 2016;55(4):1331-43.
54. Mineharu Y, Koizumi A, Wada Y, Iso H, Watanabe Y, Date C, et al. Coffee, green tea, black tea and oolong tea consumption and risk of mortality from cardiovascular disease in Japanese men and women. *Journal of Epidemiology & Community Health*. 2011;65(3):230-40.

55. Di Castelnuovo A, Di Giuseppe R, Iacoviello L, De Gaetano G. Consumption of cocoa, tea and coffee and risk of cardiovascular disease. *European journal of internal medicine*. 2012;23(1):15-25.
56. Ding M, Bhupathiraju SN, Satija A, van Dam RM, Hu FB. Long-term coffee consumption and risk of cardiovascular disease: a systematic review and a dose–response meta-analysis of prospective cohort studies. *Circulation*. 2014;129(6):643-59.
57. Larsson SC, Orsini N. Coffee consumption and risk of stroke: a dose-response meta-analysis of prospective studies. *American Journal of Epidemiology*. 2011;174(9):993-1001.
58. Turnbull D, Rodricks JV, Mariano GF, Chowdhury F. Caffeine and cardiovascular health. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2017;89:165-85.
59. Lindsted KD, Kuzma JW, Anderson JL. Coffee consumption and cause-specific mortality association with age at death and compression of mortality. *Journal of clinical epidemiology*. 1992;45(7):733-42.
60. Bidel S, Hu G, Qiao Q, Jousilahti P, Antikainen R, Tuomilehto J. Coffee consumption and risk of total and cardiovascular mortality among patients with type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2006;49(11):2618-26.
61. Kokubo Y, Iso H, Saito I, Yamagishi K, Yatsuya H, Ishihara J, et al. The impact of green tea and coffee consumption on the reduced risk of stroke incidence in Japanese population: the Japan public health center-based study cohort. *Stroke*. 2013;44(5):1369-74.
62. Ding M, Satija A, Bhupathiraju SN, Hu Y, Sun Q, Han J, et al. Association of coffee consumption with total and cause-specific mortality in 3 large prospective cohorts. *Circulation*. 2015;132(24):2305-15.
63. Freedman ND, Park Y, Abnet CC, Hollenbeck AR, Sinha R. Association of coffee drinking with total and cause-specific mortality. *N Engl J Med*. 2012;366:1891-904.
64. Chei C-L, Loh JK, Soh A, Yuan J-M, Koh W-P. Coffee, tea, caffeine, and risk of hypertension: The Singapore Chinese Health Study. *European journal of nutrition*. 2018;57(4):1333-42.
65. Rhee JJ, Qin F, Hedlin HK, Chang TI, Bird CE, Zaslavsky O, et al. Coffee and caffeine consumption and the risk of hypertension in postmenopausal women. *The American journal of clinical nutrition*. 2016;103(1):210-7.
66. Zhang Z, Hu G, Caballero B, Appel L, Chen L. Habitual coffee consumption and risk of hypertension: a systematic review and meta-analysis of prospective observational studies. *The American journal of clinical nutrition*. 2011;93(6):1212-9.
67. D'Elia L, La Fata E, Galletti F, Scalfi L, Strazzullo P. Coffee consumption and risk of hypertension: a dose–response meta-analysis of prospective studies. *European journal of nutrition*. 2019;58(1):271-80.
68. Kwon EJ, Kim YJ. What is fetal programming?: a lifetime health is under the control of in utero health. *Obstetrics & gynecology science*. 2017;60(6):506-19.
69. De Boo HA, Harding JE. The developmental origins of adult disease (Barker) hypothesis. *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2006;46(1):4-14.
70. Nnam N. Improving maternal nutrition for better pregnancy outcomes. *Proceedings of the Nutrition Society*. 2015;74(4):454-9.
71. van Abeelen AF, Elias SG, Bossuyt PM, Grobbee DE, van der Schouw YT, Roseboom TJ, et al. Famine exposure in the young and the risk of type 2 diabetes in adulthood. *Diabetes*. 2012;61(9):2255-60.

72. de Rooij SR, Painter RC, Holleman F, Bossuyt PM, Roseboom TJ. The metabolic syndrome in adults prenatally exposed to the Dutch famine. *The American journal of clinical nutrition*. 2007;86(4):1219-24.
73. Marciniak A, Patro-Malysza J, Kimber-Trojnar Ż, Marciniak B, Oleszczuk J, Leszczyńska-Gorzela B. Fetal programming of the metabolic syndrome. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2017;56(2):133-8.
74. Dabelea D, Crume T. Maternal environment and the transgenerational cycle of obesity and diabetes. *Diabetes*. 2011;60(7):1849-55.
75. Heerwagen MJ, Miller MR, Barbour LA, Friedman JE. Maternal obesity and fetal metabolic programming: a fertile epigenetic soil. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2010;299(3):R711-R22.
76. Guénard F, Deshaies Y, Cianflone K, Kral JG, Marceau P, Vohl M-C. Differential methylation in glucoregulatory genes of offspring born before vs. after maternal gastrointestinal bypass surgery. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2013;110(28):11439-44.
77. Fan L, Lindsley S, Comstock S, Takahashi D, Evans A, He G, et al. Maternal high-fat diet impacts endothelial function in nonhuman primate offspring. *International journal of obesity*. 2013;37(2):254-62.
78. Pei L-g, Yuan C, Guo Y-t, Kou H, Xia L-p, Zhang L, et al. Prenatal caffeine exposure induced high susceptibility to metabolic syndrome in adult female offspring rats and its underlying mechanisms. *Reproductive Toxicology*. 2017;71:150-8.
79. Li J, Luo H, Wu Y, He Z, Zhang L, Guo Y, et al. Gender-specific increase in susceptibility to metabolic syndrome of offspring rats after prenatal caffeine exposure with post-weaning high-fat diet. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2015;284(3):345-53.
80. Qian J, Chen Q, Ward SM, Duan E, Zhang Y. Impacts of Caffeine during Pregnancy. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2020;31(3):218-27.
81. Group CS. Maternal caffeine intake during pregnancy and risk of fetal growth restriction: a large prospective observational study. *The BMJ*. 2008;337.
82. Pray L, Yaktine AL, Pankevich D, editors. Caffeine in food and dietary supplements: examining safety. Workshop summary. Caffeine in food and dietary supplements: examining safety Workshop summary; 2014: National Academies Press.
83. Cnattingius S, Signorello LB, Annerén G, Clausson B, Ekblom A, Ljunger E, et al. Caffeine intake and the risk of first-trimester spontaneous abortion. *New England Journal of Medicine*. 2000;343(25):1839-45.
84. Lyngsø J, Ramlau-Hansen CH, Bay B, Ingerslev HJ, Hulman A, Kesmodel US. Association between coffee or caffeine consumption and fecundity and fertility: a systematic review and dose–response meta-analysis. *Clinical epidemiology*. 2017;9:699.
85. Sengpiel V, Elind E, Bacelis J, Nilsson S, Grove J, Myhre R, et al. Maternal caffeine intake during pregnancy is associated with birth weight but not with gestational length: results from a large prospective observational cohort study. *BMC medicine*. 2013;11(1):42.
86. Chen L-W, Wu Y, Neelakantan N, Chong MF-F, Pan A, van Dam RM. Maternal caffeine intake during pregnancy is associated with risk of low birth weight: a systematic review and dose-response meta-analysis. *BMC medicine*. 2014;12(1):174.
87. Li D, Ferber J, Odouli R. Maternal caffeine intake during pregnancy and risk of obesity in offspring: a prospective cohort study. *International Journal of Obesity*. 2015;39(4):658-64.

88. Papadopoulou E, Botton J, Brantsæter A-L, Haugen M, Alexander J, Meltzer HM, et al. Maternal caffeine intake during pregnancy and childhood growth and overweight: results from a large Norwegian prospective observational cohort study. *BMJ open*. 2018;8(3).
89. Voerman E, Jaddoe VW, Gishti O, Hofman A, Franco OH, Gaillard R. Maternal caffeine intake during pregnancy, early growth, and body fat distribution at school age. *Obesity*. 2016;24(5):1170-7.
90. Huang J, Zhou S, Ping J, Pan X, Liang G, Xu D, et al. Role of p53-dependent placental apoptosis in the reproductive and developmental toxicities of caffeine in rodents. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2012;39(4):357-63.
91. Pollard I, Murray JF, Hiller R, Scaramuzzi RJ, Wilson CA. Effects of preconceptual caffeine exposure on pregnancy and progeny viability. *Journal of Maternal-Fetal Medicine*. 1999;8(5):220-4.
92. Qian J, Zhang Y, Qu Y, Zhang L, Shi J, Zhang X, et al. Caffeine consumption during early pregnancy impairs oviductal embryo transport, embryonic development and uterine receptivity in mice. *Biology of reproduction*. 2018;99(6):1266-75.
93. Wendler CC, Busovsky-McNeal M, Ghatpande S, Kalinowski A, Russell KS, Rivkees SA. Embryonic caffeine exposure induces adverse effects in adulthood. *The FASEB Journal*. 2009;23(4):1272-8.
94. Buscariollo DL, Fang X, Greenwood V, Xue H, Rivkees SA, Wendler CC. Embryonic caffeine exposure acts via A1 adenosine receptors to alter adult cardiac function and DNA methylation in mice. *PloS one*. 2014;9(1):e87547.
95. Momoi N, Tinney JP, Liu LJ, Elshershari H, Hoffmann PJ, Ralphe JC, et al. Modest maternal caffeine exposure affects developing embryonic cardiovascular function and growth. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2008;294(5):H2248-H56.
96. Kimmel C, Kimmel G, White C, Grafton T, Young J, Nelson C. Blood flow changes and conceptual development in pregnant rats in response to caffeine. *Fundamental and Applied Toxicology*. 1984;4(2):240-7.
97. Kirkinen P, Jouppila P, Koivula A, Vuori J, Puukka M. The effect of caffeine on placental and fetal blood flow in human pregnancy. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1983;147(8):939-42.
98. Kassi E, Pervanidou P, Kaltsas G, Chrousos G. Metabolic syndrome: definitions and controversies. *BMC medicine*. 2011;9(1):48.
99. Aguilar-Salinas CA, Viveros-Ruiz T. Recent advances in managing/understanding the metabolic syndrome. *F1000Research*. 2019;8.
100. Alberti KGMM, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consultation. *Diabetic medicine*. 1998;15(7):539-53.
101. Balkau B. Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabet med*. 1999;16:442-3.
102. Expert Panel on Detection E. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). *Jama*. 2001;285(19):2486.
103. Alberti KGM, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome—a new worldwide definition. *The Lancet*. 2005;366(9491):1059-62.
104. Huang PL. A comprehensive definition for metabolic syndrome. *Disease models & mechanisms*. 2009;2(5-6):231-7.

105. Srikanthan K, Feyh A, Visweshwar H, Shapiro JI, Sodhi K. Systematic review of metabolic syndrome biomarkers: a panel for early detection, management, and risk stratification in the West Virginian population. *International journal of medical sciences*. 2016;13(1):25.
106. Kaur J. A comprehensive review on metabolic syndrome. *Cardiology research and practice*. 2014;2014.
107. Cameron AJ, Shaw JE, Zimmet PZ. The metabolic syndrome: prevalence in worldwide populations. *Endocrinology and Metabolism Clinics*. 2004;33(2):351-75.
108. Park Y-W, Zhu S, Palaniappan L, Heshka S, Carnethon MR, Heymsfield SB. The metabolic syndrome: prevalence and associated risk factor findings in the US population from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Archives of internal medicine*. 2003;163(4):427-36.
109. Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *Jama*. 2002;287(3):356-9.
110. Ponholzer A, Temml C, Rauchenwald M, Marszalek M, Madersbacher S. Is the metabolic syndrome a risk factor for female sexual dysfunction in sexually active women? *International journal of impotence research*. 2008;20(1):100-4.
111. Palaniappan L, Carnethon MR, Wang Y, Hanley AJ, Fortmann SP, Haffner SM, et al. Predictors of the incident metabolic syndrome in adults: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabetes care*. 2004;27(3):788-93.
112. Han TS, Lean ME. A clinical perspective of obesity, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *JRSM cardiovascular disease*. 2016;5:2048004016633371.
113. Rochlani Y, Pothineni NV, Kovelamudi S, Mehta JL. Metabolic syndrome: pathophysiology, management, and modulation by natural compounds. *Therapeutic advances in cardiovascular disease*. 2017;11(8):215-25.
114. Aquilante CL, J G. Metabolic Syndrome. *Pharmacotherapy Self-Assessment Program*. 11: American College of Clinical Pharmacy; 2008. p. 119-28.
115. Vrolix R, Van Meijl L, Mensink R. The metabolic syndrome in relation with the glycemic index and the glycemic load. *Physiology & behavior*. 2008;94(2):293-9.
116. Grundy SM, Brewer Jr HB, Cleeman JI, Smith Jr SC, Lenfant C. Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation*. 2004;109(3):433-8.
117. Eckel RH. Obesity. *Circulation*. 2005;111(15):e257-9.
118. Al-Qawasmeh RH, Tayyem RF. Dietary and lifestyle risk factors and Metabolic syndrome: literature review. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*. 2018;6(3):594-608.
119. Eckel RH, Alberti KG, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *The lancet*. 2010;375(9710):181-3.
120. Yanai H, Tomono Y, Ito K, Furutani N, Yoshida H, Tada N. The underlying mechanisms for development of hypertension in the metabolic syndrome. *Nutrition journal*. 2008;7(1):1-6.
121. Strazzullo P, Barbato A, Galletti F, Barba G, Siani A, Iacone R, et al. Abnormalities of renal sodium handling in the metabolic syndrome. Results of the Olivetti Heart Study. *Journal of hypertension*. 2006;24(8):1633-9.
122. Brown L, Poudyal H, Panchal SK. Functional foods as potential therapeutic options for metabolic syndrome. *Obesity reviews*. 2015;16(11):914-41.

123. Panchal SK, Wong W-Y, Kauter K, Ward LC, Brown L. Caffeine attenuates metabolic syndrome in diet-induced obese rats. *Nutrition*. 2012;28(10):1055-62.
124. Kim HY, Lee MY, Park HM, Park YK, Shon JC, Liu K-H, et al. Urine and serum metabolite profiling of rats fed a high-fat diet and the anti-obesity effects of caffeine consumption. *Molecules*. 2015;20(2):3107-28.
125. Poudyal H, Panchal S, Brown L. Comparison of purple carrot juice and β -carotene in a high-carbohydrate, high-fat diet-fed rat model of the metabolic syndrome. *British journal of nutrition*. 2010;104(9):1322-32.
126. Panchal SK, Poudyal H, Iyer A, Nazer R, Alam A, Diwan V, et al. High-carbohydrate high-fat diet-induced metabolic syndrome and cardiovascular remodeling in rats. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 2011;57(1):51-64.
127. Conde SV, da Silva TN, Gonzalez C, Carmo MM, Monteiro EC, Guarino MP. Chronic caffeine intake decreases circulating catecholamines and prevents diet-induced insulin resistance and hypertension in rats. *British Journal of Nutrition*. 2012;107(1):86-95.
128. Kobayashi-Hattori K, Mogi A, Matsumoto Y, Takita T. Effect of caffeine on the body fat and lipid metabolism of rats fed on a high-fat diet. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*. 2005;69(11):2219-23.
129. Sugiura C, Nishimatsu S, Moriyama T, Ozasa S, Kawada T, Sayama K. Catechins and caffeine inhibit fat accumulation in mice through the improvement of hepatic lipid metabolism. *Journal of obesity*. 2012;2012.
130. Sinha RA, Farah BL, Singh BK, Siddique MM, Li Y, Wu Y, et al. Caffeine stimulates hepatic lipid metabolism by the autophagy-lysosomal pathway in mice. *Hepatology*. 2014;59(4):1366-80.
131. Moy GA, McNay EC. Caffeine prevents weight gain and cognitive impairment caused by a high-fat diet while elevating hippocampal BDNF. *Physiology & behavior*. 2013;109:69-74.
132. Mendelsohn ME, Karas RH. The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *New England journal of medicine*. 1999;340(23):1801-11.
133. Palmisano BT, Zhu L, Stafford JM. Role of estrogens in the regulation of liver lipid metabolism. Sex and gender factors affecting metabolic homeostasis, diabetes and obesity: Springer; 2017. p. 227-56.
134. Luo H, Li J, Cao H, Tan Y, Magdalou J, Chen L, et al. Prenatal caffeine exposure induces a poor quality of articular cartilage in male adult offspring rats via cholesterol accumulation in cartilage. *Scientific reports*. 2015;5:17746.
135. Bae J, Choi H, Choi Y, Roh J. Dose-and time-related effects of caffeine on the testis in immature male rats. *Experimental animals*. 2016;16-0060.
136. Mamikutty N, Thent ZC, Sapri SR, Sahrudin NN, Mohd Yusof MR, Haji Suhaimi F. The establishment of metabolic syndrome model by induction of fructose drinking water in male Wistar rats. *BioMed Research International*. 2014;2014.
137. Wang L, Shen L, Ping J, Zhang L, Liu Z, Wu Y, et al. Intrauterine metabolic programming alteration increased susceptibility to non-alcoholic adult fatty liver disease in prenatal caffeine-exposed rat offspring. *Toxicology Letters*. 2014;224(3):311-8.
138. Xu D, Zhang B, Liang G, Ping J, Kou H, Li X, et al. Caffeine-induced activated glucocorticoid metabolism in the hippocampus causes hypothalamic-pituitary-adrenal axis inhibition in fetal rats. *PLoS One*. 2012;7(9):e44497.

139. Ao Y, Sun Z, Hu S, Zuo N, Li B, Yang S, et al. Low functional programming of renal AT2R mediates the developmental origin of glomerulosclerosis in adult offspring induced by prenatal caffeine exposure. *Toxicology and applied pharmacology*. 2015;287(2):128-38.
140. Zimanyi MA, Denton KM, Forbes JM, Thallas-Bonke V, Thomas MC, Poon F, et al. A developmental nephron deficit in rats is associated with increased susceptibility to a secondary renal injury due to advanced glycation end-products. *Diabetologia*. 2006;49(4):801-10.
141. Plank C, Nüsken K-D, Menendez-Castro C, Hartner A, Östreicher I, Amann K, et al. Intrauterine growth restriction following ligation of the uterine arteries leads to more severe glomerulosclerosis after mesangioproliferative glomerulonephritis in the offspring. *American journal of nephrology*. 2010;32(4):287-95.
142. Boubred F, Daniel L, Buffat C, Feuerstein J-M, Tsimaratos M, Oliver C, et al. Early postnatal overfeeding induces early chronic renal dysfunction in adult male rats. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2009;297(4):F943-F51.