

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EPIDEMIOLOGIA**



**TESE DE DOUTORADO**

**EFEITOS DA ADEQUAÇÃO À DIETA TIPO DASH SOBRE OS  
NÍVEIS PLASMÁTICOS DE AGES, MARCADORES DE  
INFLAMAÇÃO VASCULAR E SISTÊMICA EM PACIENTES COM  
PRÉ-HIPERTENSÃO E HIPERTENSÃO ARTERIAL**

**FRANCISCA MOSELE**

Orientador: Profa. Dra. Sandra Costa Fuchs

Porto Alegre, julho de 2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EPIDEMIOLOGIA



**TESE DE DOUTORADO**

**EFEITOS DA ADEQUAÇÃO À DIETA TIPO DASH SOBRE OS  
NÍVEIS PLASMÁTICOS DE AGES, MARCADORES DE  
INFLAMAÇÃO VASCULAR E SISTÊMICA EM PACIENTES COM  
PRÉ-HIPERTENSÃO E HIPERTENSÃO ARTERIAL**

FRANCISCA MOSELE

**Orientador: Profa.Dra. Sandra Costa Fuchs**

A apresentação desta tese é exigência do Programa de Pós-graduação em Epidemiologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para obtenção do título de Doutor.

Porto Alegre, Brasil.  
2015

## **BANCA EXAMINADORA**

Profa. Dra. Vivian Cristine Luft, Programa de Pós-graduação em Epidemiologia,  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Profa. Dra. Aline Marcadenti de Oliveira, Departamento de Nutrição da  
Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA).

Prof. Dr. Mario Wiehe, Professor da Faculdade de Medicina da Pontifícia  
Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS)

## DEDICATÓRIA

*A todos que fizeram a fazem parte  
de quem sou e de minha vida.*

## **AGRADECIMENTOS**

À Professora Sandra Costa Fuchs, por sua busca constante pela excelência que é estímulo a todos em sua volta, por todo aprendizado, convivência e oportunidades ao longo de minha vida e formação acadêmica. Agradeço pela confiança e estímulos constantes que me fizeram crescer pessoalmente e profissionalmente.

Ao Professor Flavio Danni Fuchs por sua visão acadêmica e científica que deu origem a uma das experiências mais ricas de minha vida, o Estudo PREVER. Muito obrigada por todos os ensinamentos.

Ao Dr. Rentao Gorga Bandeira de Melo, uma das pessoas mais fantásticas que tive a oportunidade de conhecer. A sua presença realmente mudou os rumos da minha vida pessoal e profissional. Muito obrigada pelo companherismo, confiança e apoio constante.

À Rosane Schlatter por todo apoio e confiança ao longo desses anos. À Caroline de David e Leticia Rafaelli, pelo companherismo e oportunidade de convívio.

Aos professores, bolsistas do Estudo PREVER, colegas de equipe do Estudo PREVER/HCPA e bolsistas de iniciação que tornaram essa experiência tão rica, muito obrigado pela compreensão e convivência. Especial agradecimento aos colegas Andressa Alves da Silva, Debora Rech, Marilse Quesada, Paulo de Alencastro, Querino Haesbaert, Rafael Picon, Ruchelli F. de Lima, Sonia de Alencastro Coracini, Suzane Schreiner, Tatiane Von Diemen, pela condução do estudo com a excelência que deu origem aos resultados dessa tese.

À minha família, Silvana Mosele, Elvira Tonietto, João Batista Mosele pelo exemplo, amor e dedicação ao longo da vida. Agradeço pelo apoio e confiança em mais essa etapa de minha formação. Muito obrigada por serem parte de minha vida e de quem eu sou.

Ao meu noivo Paulo Roberto Bruch por acreditar em meus sonhos e ser apoio constante em todos os momentos. Sua dedicação, força e amor são fundamentais.

## SUMÁRIO

ABREVIATURAS E SIGLAS	9
RESUMO	11
ABSTRACT	14
APRESENTAÇÃO	17
INTRODUÇÃO	18
REVISÃO DA LITERATURA	22
PRODUTOS FINAIS DA GLICAÇÃO AVANÇADA	22
Definição e homeostase	22
Pool de AGEs – Importância de fatores exógenos	24
Interação AGEs-RAGE, sinalização celular e inflamação	28
AGEs e Disfunção endotelial	30
Efeitos de variações na ingestão dietética usual de AGEs na função endotelial e inflamação	32
DISFUNÇÃO ENDOTELIAL, INFLAMAÇÃO E HIPERTENSÃO ARTERIAL	35
Homeostase e disfunção endotelial: significância clínica	35
Hipertensão Arterial Sistêmica	38
Disfunção endotelial e hipertensão arterial	40
Disfunção endotelial e inflamação	43
Inflamação vascular e hipertensão	46
DIETARY APPROACH TO STOP HYPERTENSION – DIETA DASH	49
Base teórica para desenvolvimento da dieta DASH e características	49

Estudo DASH e Estudo DASH Sodium	53
Impacto da dieta DASH na prevenção da DCV	56
Mecanismos de Ação envolvidos nos efeitos da Dieta DASH	58
<b>OBJETIVOS</b>	<b>62</b>
<b>OBJETIVO GERAL</b>	<b>62</b>
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b>	<b>62</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>63</b>
<b>ARTIGO 1</b>	<b>93</b>
<b>ARTIGO 2</b>	<b>122</b>
<b>CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>154</b>
<b>ANEXOS I</b>	<b>156</b>
<b>ANEXO II</b>	<b>157</b>

## ABREVIATURAS E SIGLAS

AGE-R1	Receptores endocítico de AGEs 1
AGE-R2	Receptores endocítico de AGEs 2
AGE-R3	Receptores endocítico de AGEs 3
AGEs	Produtos finais da glicação avançada
CML	N-carboximetil-lisina
DASH	Dietary Approaches to Stop Hypertension
DCV	Doença cardiovascular
eNOS	Óxido nítrico sintase endotelial
ERK1/2	Quinase do Receptor extracelular 1/2
EROS	Espécies reativas de oxigênio
ET-1	Endotelina-1
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
ICAM-1	Molécula de adesão intercelular-1
IgG	Imunoglobulina G
IL-1	Interleucina-1
IL-10	Interleucina-10
IL-1ra	Receptor de interleucina-1
IL-1 $\beta$	Interleucina-1 $\beta$
IL-6	Interleucina-6
IMC	Índice de massa corporal
JNC7	Joint National Commite 7
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
L-NMMA	N <sup>G</sup> -monometil-L-arginina

MCP-1	Inibidor da ativação de plasminogênio-1
MG	Metilglioxal
NADPH	Nicotinamida Adenina Dinucleotideo Fosfatase
NF-κB	Fator nuclear-κB
NO	Óxido nítrico
PA	Pressão arterial
PAD	Pressão arterial diastólica
PAI-1	Proteína quimioatrativa de monócitos-1
PAS	Pressão arterial sistêmica
PCR	Proteína-C reativa
RAGEs	Receptores de AGEs
SRA	Sistema-renina-angiotensina
TNF-α	Fator de necrose tumoral-α
VCAM-1	Molécula de adesão celular vascular-1
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular
VOP	Velocidade da onda de pulso

## RESUMO

**Introdução:** A dieta DASH [Dietary Approach to Stop Hypertension] é uma das mais eficazes intervenções para o manejo e prevenção da hipertensão. Seu efeito é independente da restrição salina e calórica, sugerindo que mediadores nutricionais intermedeiem sua eficácia. Entre eles, produtos finais da glicação avançada (AGES) têm sido identificados como mediadores da inflamação endotelial e sistêmica envolvidas no processo de regulação arteriolar e pressão arterial. Não há estudos clínicos investigando a associação entre dieta DASH, níveis plasmáticos de AGES e marcadores de inflamação vascular e sistêmica.

**Objetivos:** (1) Desenvolver um escore de avaliação de adequação ao padrão alimentar DASH orientado pela hipótese a partir da frequência de consumo de grupos alimentares e sua capacidade de associação com níveis pressóricos em pacientes hipertensos. (2) Avaliar o papel dos AGES como mediadores da associação entre adesão a dieta tipo-DASH e marcadores de inflamação vascular e sistêmica em pacientes com pré-hipertensão e hipertensão arterial.

**Metodologia:** Escore DASH de frequência de consumo de grupos alimentares (FG-DASH Score) foi criado com base nas recomendações da dieta DASH, utilizando a frequência de consumo como um substituto ao número de porções. O escore avalia sete grupos de alimentos. Pontuação máxima (10 pontos) era obtida quando a recomendação fosse atingida. Validade foi definida pela comparação dos resultados obtidos para o FG-DASH Score com outros escores DASH para o plano alimentar DASH de sete dias com ANOVA de uma via e Bonferroni. Percentis foram utilizados para avaliar a distribuição da pontuação FG-DASH Score. Validade concorrente de critério foi avaliada por testes t ou ANOVA em subgrupos de indivíduos. Confiabilidade e

consistência interna foi avaliada com coeficientes alfa de Cronbach. Associação entre os quartis de pontuação FG-DASH Escore e níveis de pressão arterial foi avaliada por meio de modelo linear geral ajustado para sexo, idade, terapia anti-hipertensiva, e IMC. Para avaliar o papel dos AGEs como mediadores da associação entre adesão a dieta tipo-DASH e marcadores de inflamação vascular e sistêmica delineou-se um *quasi-experimento* aninhado aos ensaios clínicos do Estudo PREVER. Foi incluída amostra dos participantes avaliados no centro de pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre entre março/2011 e agosto/2012. População foi composta por 361 indivíduos de ambos os sexos, pré-hipertensos e hipertensos estágio I, não-diabéticos, sem doenças cardiovasculares, crônicas limitantes ou dano renal. Após a confirmação da elegibilidade os participantes receberam orientação para adoção de um estilo de vida saudável. Consumo alimentar avaliado na linha de base e após 12 semanas de intervenção por questionário de frequência de consumo de grupos alimentares. Adesão a dieta tipo DASH definida pelo FG-DASH Escore. Amostras biológicas obtidas ao final do protocolo. Níveis plasmáticos de AGEs determinados pela análise de N-carboximetil-lisina (CML). Definição de inflamação vascular e sistêmica a partir da criação de escore que variou de 0 a 4 para marcadores de inflamação vascular (sVCAM, sICAM, e-seletina e VEGF) e de 0 a 5 para marcadores de inflamação sistêmica (Adiponectina, IL-1, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ ).

**Resultados:** Houve adequação média de FG- DASH Score superior a 90% para os cardápios. Escores médios foram significativamente menores em homens do que mulheres e entre os indivíduos mais jovens comparados aos mais velhos. Todos os subitens estão diretamente relacionados com a pontuação total. O coeficiente alfa não-padronizado de Cronbach foi de 0,52. Associação significativa entre os quartis do FG-DASH Escore e pressão arterial foi mantida após o ajuste para fatores de confusão. No

estudo delineado para avaliar o papel dos AGEs como mediadores da associação entre dieta DASH e inflamação, maiores escores foram observados para maioria dos componentes individuais ao final do protocolo, mas não escore total. AGEs correlacionam-se com componentes inflamatórios exceto sICAM, sVCAM e Adiponectina. Correlações moderadas foram observadas entre variáveis incluídas no escore vascular e sistêmico. Não houve associação entre FG-DASH Escore e CML, escore de inflamação vascular ou sistêmica. Contudo verificou-se uma associação inversa entre níveis de AGEs e escore de inflamação sistêmica, mesmo após estratificação de acordo com níveis pressóricos e inclusão de fatores de confusão. A análise de mediação pelo CML entre FG-DASH Escore e escore de inflamação vascular e sistêmica não foi verificada.

**Conclusão:** O FG-DASH Score demonstrou validade de constructo e concorrente bem como confiabilidade, especialmente em pacientes hipertensos. Os resultados dessa tese ainda sugerem que, apesar de os AGEs se associarem inversamente com inflamação sistêmica, esses não se comportaram como mediadores da associação entre adesão à dieta tipo DASH e marcadores de inflamação.

## ABSTRACT

**Introduction:** The DASH diet [Dietary Approach to Stop Hypertension] is one of the most effective interventions for the management and prevention of hypertension. Its effect is independent of salt and caloric restriction, suggesting that nutritional mediators could be responsible by its effectiveness. Among them, advanced glycation end products (AGEs) have been identified as mediators of endothelial and systemic inflammation involved in the process of arteriolar regulation and of blood pressure. There are no clinical studies investigating the association between DASH diet, plasma levels of AGEs and vascular and systemic inflammation markers.

**Objectives:** (1) To describe the development of a score based on the hypothesis to evaluate the adherence to the DASH eating pattern from the analysis of the food group frequency of consumption and their ability to associate with blood pressure levels in hypertensive patients; (2) To evaluate the role of AGEs as mediators of the association between adherence to DASH diet and vascular and systemic markers of inflammation in patients with prehypertension and hypertension.

**Methods:** Score DASH of food groups consumption frequency (FG-DASH Score) created based on the DASH diet recommendations using the frequency of consumption as a surrogate to the number of servings. The score evaluates seven food groups. Maximum score (10 points) was given when assigned recommendation reached. Validity defined by comparing the results obtained for the FG-DASH Score and other DASH Scores for seven days DASH eating plan with one-way- ANOVA and Bonferroni. Percents used to evaluate the distribution of FG-DASH Score. Concurrent validity criteria evaluated by t test or ANOVA in subgroups of individuals. Reliability and internal consistency assessed by Cronbach's alpha coefficients. Association between

quartiles of FG-DASH Score and blood pressure levels assessed by general linear model adjusted for age, sex, antihypertensive treatment, and BMI. A quasi-experiment nested in PREVER Study was delineated to evaluate the role of AGEs as mediators of the association between adherence to DASH diet and vascular and systemic inflammation. Included sample of participants evaluated in the research center of Hospital de Clínicas de Porto Alegre. The study population included 361 subjects of both sexes, pre-hypertensive and hypertensive stage I non-diabetics without cardiovascular disease, limiting or chronic renal damage. After confirming the eligibility participants were counseled to adopt a healthy lifestyle. Food consumption assessed at baseline and after 12 weeks of intervention questionnaire frequency of consumption of food groups. FG-DASH Score used to define adherence to DASH diet. Biological samples obtained at the end of the protocol. Plasma levels of AGEs determined by analysis of N-carboxymethyl-lysine (CML). Definition of vascular and systemic inflammation from setting score, ranging 0-4 for vascular inflammation (sVCAM, sICAM, and E-selectin VEGF) and 0-5 to systemic inflammation (Adiponectin, IL-1 IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ ).

**Results:** Average adequacy of FG-DASH Score was higher than 90% for the menus. Significantly lower mean FG-DASH scores in men than women and among younger individuals than the older ones. All sub-items are directly related to the total score. Non-standardized Cronbach's alpha coefficient was 0.52. Significant association between quartiles of FG-DASH Score and blood pressure maintained after adjusting for confounding variables. In the study to evaluate the role of AGEs as mediators of the association between DASH diet and inflammation, higher scores observed for most of the individual components at the end of the protocol, but not FG-DASH Score total. CML correlates with inflammatory components except sICAM, sVCAM and Adiponectin. There was no association between FG- DASH score and CML, vascular or

systemic inflammation score. However there was an inverse association between levels of AGEs and systemic inflammation score, even after stratification according to blood pressure levels and inclusion of confounding factors. Mediation analysis by CML between FG-DASH Score and vascular and systemic inflammation score was not observed.

**Conclusions:** FG-DASH score has construct and concurrent validity, as well as reliability, particularly in hypertensive patients. The results of this thesis also suggest that although AGEs was inversely associated with systemic inflammation, these did not behave as mediators of the association between adherence to the DASH diet and markers of inflammation.

## **APRESENTAÇÃO**

Este trabalho consiste na tese de doutorado intitulada “Efeitos da adequação à dieta tipo DASH sobre os níveis plasmáticos de AGEs, marcadores de inflamação vascular e sistêmica em pacientes com pré hipertensão e hipertensão arterial”, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em 30 de julho de 2015. O trabalho é apresentado em três partes, na ordem que segue:

1. Introdução, Revisão da Literatura e Objetivos
2. Artigos
3. Conclusões e Considerações Finais.

Documentos de apoio estão apresentados nos anexos.

## INTRODUÇÃO

Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) é uma condição clínica multifatorial caracterizada por aumento sustentado dos níveis pressóricos, (SBC, 2010) sendo o fator de risco mais importante para doença cardiovascular (DCV) (Chobanian et al., 2003). Lewington et al. demonstraram que a mortalidade por DCV aumenta de forma progressiva e linear à medida que os valores de pressão arterial (PA) se elevam (Lewington et al. 2002). A cada 20 mmHg de aumento na pressão arterial sistólica (PAS) ou 10 mmHg na pressão arterial diastólica (PAD) há duplicação no risco de morte por doença arterial coronariana, a partir de valores tão baixos quanto 115 e 75 mmHg para as pressões sistólica e diastólica, respectivamente (Lewington et al. 2002). Dados obtidos no estudo longitudinal Framingham Heart Study demonstraram que pressões entre 130-139 ou 85-89 mmHg estão associadas a um risco de DCV mais de duas vezes aquele de indivíduos com pressão inferior a 120/80 mmHg (Vasan et al., 2001).

Fatores de risco para DCV, como diabetes mellitus e HAS, têm sido associados à disfunção endotelial, condição clínica caracterizada pela redução na biodisponibilidade de óxido nítrico (NO) (Brunner et al., 2005). Em pacientes com HAS as alterações na função endotelial, pelo menos em parte, podem resultar tanto no aumento da resistência vascular basal quanto no desbalanço da resposta vasodilatadora mediada pelo endotélio (Panza et al., 1993). A disfunção endotelial está intimamente ligada ao aumento do estresse oxidativo (Heitzer et al., 2001), inflamação, remodelamento e aterogênese (Ross, 1999). Nessa perspectiva, tem-se observado níveis alterados de marcadores inflamatórios em pacientes hipertensos. Proteína C-reativa (PCR), moléculas de adesão como e-seletina, p-seletina, molécula de adesão celular vascular-1 (VCAM-1) e molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1) bem como de quimiocinas (de La Sierra et

al., 2010). De acordo com Bautista e colaboradores, a prevalência de hipertensão é 1,56 (IC95%, 1,14 - 2.13; P = 0,005) vezes maior em indivíduos no quartil mais alto de PCR comparados com àqueles no primeiro quartil (Bautista et al., 2001). Se por um lado essas alterações estão associadas ao risco aumento de eventos cardiovasculares, há evidência de que o aumento na expressão tecidual e concentrações plasmáticas desses marcadores inflamatórios podem estar associados ao aumento no risco para o desenvolvimento de hipertensão (Stefanadi et al., 2010). A incidência de hipertensão, segundo Wang e colaboradores passa de 4,5 casos/100 pessoas ano entre àqueles sem alterações em marcadores inflamatórios para 6,4 casos/100 pessoas ano entre àqueles com um marcador elevado e 9,9 casos/100 pessoas ano para àqueles com 2 marcadores alterados (Wang et al., 2007).

Mudanças no estilo de vida, principalmente baseados em mudanças dietéticas e aumento da atividade física, têm feito parte das recomendações para a prevenção e efetivo manejo da HAS (American Heart Association Nutrition Committee, 2006). A dieta DASH (Dietary Approaches to Stop Hypertension) mostrou-se eficaz na redução de PA em indivíduos com hipertensão, bem como em normotensos (Appel et al., 1997). Esse padrão alimentar é caracterizado por ser rico em frutas, verduras, laticínios com baixo teor de gordura e oleaginosas e por conter baixas quantidades de gorduras saturadas (Appel et al., 1997). Postula-se que o conjunto de componentes centrais da dieta, rico em flavonóides e antioxidantes, possa reduzir estresse oxidativo, melhorar função endotelial, além do efeito marcante sobre a PA (Lopes et al., 2003). Adicionalmente, a quantidade de alimentos ricos em potássio, magnésio e fibras encontrados na dieta DASH pode resultar em melhora da função vascular e endotelial (Beyer et al., 2006).

Nesse contexto, um efeito potencial ainda não explorado da dieta DASH é a possibilidade de que esse padrão alimentar esteja associado à redução na ingestão dietética de produtos finais da glicação avançada (AGEs). Os AGEs correspondem a um grupo heterogêneo de compostos com ações pró-oxidantes e pró-inflamatórias (Uribarri et al., 2005). A sua síntese endógena se dá através de reação não-enzimática entre açúcares redutores e grupamento amino livre de proteínas, lipídeos ou ácidos nucleicos. Os AGEs oriundos da dieta contribuem para o pool de AGEs sérico (Uribarri et al., 2005). Os AGEs estão presentes em alimentos de origem animal, entretanto, o processamento térmico resulta na formação adicional de AGEs (Uribarri et al., 2010). Apesar de sua síntese ser considerada parte do metabolismo normal, estando esses compostos associados ao remodelamento tecidual fisiológico (Vasdev et al., 2007), o aumento excessivo nos níveis circulantes desses se torna patogênico, contribuindo para alterações estruturais (Sakaguchi et al., 2003) e fisiológicas (Bucala et al., 1991) do sistema cardiovascular associadas à disfunção endotelial (Basta et al., 2004). Mecanismos pelos quais os AGEs levam a disfunção endotelial incluem o acúmulo de AGEs na matriz extracelular, a interação desses compostos com seus receptores de membrana (RAGEs) e subsequente formação de espécies reativas de oxigênio ou ainda liberação de citocinas e expressão de moléculas de adesão celular (Basta et al., 2005).

Considerando-se que a presença de inflamação e disfunção endotelial estejam associados ao desenvolvimento de HAS e que, em pacientes com HAS, possam estar associados ao risco de desenvolver doença arterial coronariana (Neunteufl et al., 1997), postula-se que seus mediadores deveriam ser melhor avaliados. Assim, possivelmente intervenções que suprimissem a resposta inflamatória poderiam ter benefícios adicionais à cadeia de eventos de morbimortalidade cardiovascular. A partir do exposto gerou-se a hipótese de que a adoção de hábitos alimentares baseados na Dieta DASH poderiam

levar a redução na ingestão de AGEs entre pacientes com pré-hipertensão e hipertensão arterial estágio I e conseqüente modulação de marcadores de inflamação vascular e sistêmica.

## REVISÃO DA LITERATURA

### PRODUTOS FINAIS DA GLICAÇÃO AVANÇADA

#### **Definição e homeostase**

Os produtos finais da glicação avançada (advanced glycation end products - AGEs) formam um grupo heterogêneo de compostos irreversíveis derivados de reações de condensação não enzimática entre açúcares redutores com grupamento amino livre de proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos - reação de Maillard (Uribarri et al., 2005). Os AGEs foram originalmente caracterizados por sua cor amarelo-castanho fluorescente e a sua capacidade para formar ligações cruzadas entre grupos aminos (Baumann et al., 2012). Entretanto, atualmente o termo AGEs tem sido utilizado para definir uma gama de produtos avançados com ação pró-oxidante e pró-inflamatória originários não somente da reação de Maillard mas também de reações não enzimáticas com aldeídos reativos (Baumann et al., 2012). Entre os AGEs mais bem estudados estão a N-carboximetil-lisina (CML), uma molécula mais estável e relativamente inerte (Fu et al., 1996) considerada a forma de AGEs mais prevalente *in vivo* (Ikeda et al., 1996) e, os derivados altamente reativos do metilglioxal (MG), ambos derivados da glicação de proteínas e lipídeos (Abordo et al., 1999).

A formação de AGEs ocorre espontaneamente nos tecidos e circulação como parte dos metabolismo, e dependem da disponibilidade de alvos quimicamente modificáveis e concentração de açúcares redutores (Baumann et al., 2012). A geração de AGEs através da reação de Maillard forma uma série de compostos intermediários, inicialmente reversíveis, que podem dar origem a produtos mais estáveis, os AGEs. Os AGEs também podem ser formados pela auto-oxidação da glicose, via glicolítica ou a

partir de outras fontes como lipídeos e oxidação de aminoácidos através da geração de aldeídos reativos com capacidade de se ligarem covalentemente a proteínas (Baumann et al., 2012). Adicionalmente, neutrófilos, monócitos e macrófagos sob estimulação pró-inflamatória, produzem mieloperoxidase levando a ativação de NADPH (Nicotinamida Adenina Dinucleotideo Fosfatase) oxidase, e formação de novos AGEs através da oxidação de aminoácidos (Anderson et al., 1999).

Outro mecanismo envolvido na geração de AGEs é o estresse oxidativo, o que explica os altos níveis de AGEs encontrados em condições clínicas associadas ao aumento crônico na síntese de espécies reativas de oxigênio (EROs) como diabetes mellitus e insuficiência renal crônica (Vlassara et al., 2002). A ligação e ativação do receptor de AGEs (RAGE) na superfície celular, seja pelos AGEs ou outros ligantes, promove estresse oxidativo e consequente formação de novos AGEs através da via da NADPH, mieloperoxidases ou fator nuclear-kB (NF-kB). Outro potencial mecanismo para a formação de AGEs é a via poliol, onde a glicose metabolizada pode formar AGEs através de intermediários reativos como glioxal, metilglioxal ou 3-deoxiglicosona, ou pela própria depleção de NADPH ou sistema glutaciona que elevam os níveis celulares de estresse oxidativo, indiretamente, aumentando a formação de AGEs (Lorenzini, 2007).

Os efeitos patogênicos dos AGEs são modulados por receptores de AGEs, sistemas antioxidantes e excreção renal. As consequências da ativação do RAGE é antagonizada por segundo grupo de receptores que incluem receptores *scavenger* classe A tipo II e classe B tipo I, receptores endocíticos de AGEs 1, 2 e 3 (AGE-R1; AGE-R2 e; AGE-R3) (Lu et al., 2004). Os receptores endocíticos, em especial AGE-R1, são capazes de modular as respostas aos AGEs mediadas por RAGE, NF-kB, receptor do

fator de crescimento epidermal, receptores quinase extracelulares, e p66shc (proteína homóloga ao colágeno com domínio SH) modulando não somente suas ações mas a síntese de novos AGEs (Lu et al., 2004). Proteínas circulatórias associadas ao sistema de defesa inata como lisozimas, defensinas e lactoferrina por sua capacidade de ligação com AGEs plasmáticos ainda constituem importante mecanismo para redução de toxicidade em nível celular e de ligação a outras moléculas (Liu et al., 2006). Ainda, a isoforma solúvel de RAGE possui propriedades de ligação aos AGEs atuando como um receptor *scavenger* prevenindo a geração da cascata de sinalização associada aos AGEs atuando, ainda, como inibidor dos efeitos mediados por AGEs (Malherbe et al., 1999). Enzimas do sistema da glioxalase I e II, e a redução dos AGEs por aldose redutase e carbonil redutase, ambas catalisadas por aldeído redutase, representam rota alternativa para detoxificação (Vander et al., 2003). Entretanto, esses sistemas ajudam a manter a homeostase em condições normais, mas não quando os níveis de AGEs e estresse oxidativo estão cronicamente elevados (Vlassara et al., 2008).

### **Pool de AGEs – Importância de fatores exógenos**

O pool corporal de AGEs reflete tanto a síntese endógena quanto ingestão exógena, efeitos da imunidade inata, modificações oxidativas celulares, e excreção de oxidantes renais. A formação endógena de AGEs se mostra elevada na presença de hiperglicemia e níveis elevados de estresse oxidativo (Vlassara et al., 2008). Entretanto, a dieta é fonte importante de AGEs. Estudos cinéticos têm demonstrado que em torno de 10% dos AGEs provenientes da dieta são absorvidos no intestino e distribuídos nos tecidos (Koschinsky et al., 1997), sendo somente um terço desses eliminados na urina ou fezes (He et al., 1999). Associação entre conteúdo de AGEs ingeridos na dieta e níveis séricos de AGEs, estresse oxidativo e mediadores inflamatórios tem sido caracterizada

em indivíduos saudáveis (Uribarri et al., 2005), diabéticos (Uribarri et al., 2007) e nos com insuficiência renal (Uribarri et al., 2003).

A CML é considerada um marcador de formação de AGEs em uma variedade de alimentos, tendo sido bem descritos sua estrutura química e métodos de determinação por análise enzimática (Thorpe e Baynes, 2002). CML é amplamente distribuída nos alimentos, especialmente nos derivados de lipídeos e produtos de origem animal. A comparação do conteúdo de CML em 250 alimentos ricos em lipídeos, proteínas e carboidratos mostrou que os primeiros apresentavam o maior teor (Goldberg et al., 2004). Ao expandir-se a determinação do conteúdo de CML em 546 alimentos, confirmam-se os achados anteriores (Uribarri et al., 2010). Entretanto, sugeriu-se que alimentos proteicos, em função das porções médias ingeridas, deveriam representar a principal fonte dietética de AGEs (Uribarri et al., 2010). Avaliação da utilização de óleo na preparação de alimentos demonstrou, por exemplo, que bolos preparados com óleos apresentam maiores níveis de CML do que aqueles preparados com sacarose (Srey et al., 2010). Entretanto, ao determinar-se o conteúdo de CML por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massa, em 257 alimentos, sugeriu-se que o conteúdo de CML nem sempre é maior nos lipídeos (Hull et al., 2012). Apesar disso, estima-se que alimentos ricos em lipídeos e proteínas contenham 30 e 12 vezes mais AGEs, respectivamente, quando comparados a carboidratos.

Alimentos de origem animal, com alto teor gordura e proteína, são geralmente ricos em AGEs e mais propensos a formação de novos AGEs durante o cozimento. A formação de AGEs nos alimentos sofre influência de diversos fatores tais como composição nutricional, temperatura, umidade, pH e, tempo de cozimento (Goldberg et al., 2004). A temperatura e o método de cocção, independente do tempo de cozimento,

são os mais importantes determinantes da formação de novos AGEs nos alimentos (Goldberg et al., 2004; Uribarri et al., 2010). Existem dados sugerindo que quando o mesmo produto alimentar é submetido a temperaturas mais baixas e em alta umidade (ex. fervura), os níveis de CML são mais baixos do que quando expostos a métodos com baixa umidade e alta temperatura (ex. grelhado, frito, assado) (Hull et al., 2012). Tal relação foi confirmada por Delgado-Andrade et al., ao avaliarem indicadores da reação de Maillard na dieta típica de adolescentes e a influência dos métodos de cocção utilizados. Uma redução em torno de 45,8% no conteúdo de CML foi obtida a partir da utilização de métodos de cocção mais brandos e exclusão de alimentos ultra processados da dieta (Delgado-Andrade et al., 2007). Em contraste, alimentos ricos em carboidratos, como legumes, frutas, grãos integrais e leite, contêm níveis relativamente baixos de AGEs, sofrendo pouca alteração frente ao cozimento.

Diferente do observado in vivo, a reação de Maillard no processamento de alimentos ocorre frente à exposição a temperaturas entre 100 e 250°C. Estudos que buscaram avaliar os mecanismos envolvidos na formação da CML nos alimentos têm focado a avaliação de componentes intermediários e vias de síntese. Dois produtos intermediários, epsilon-frutoselisina e glioxal estão envolvidos nas três vias de formação de CML (Erbersdobler e Somoza, 2007; Ferreira et al., 2003). Na via de glicosilação autoxidativa o glioxal derivado da oxidação da glicose reage com lisina para formar CML (Wolff e Dean, 1987). Na via Namiki, o glioxal derivado da base de Schiff reage com lisina para formar CML (Glomb e Monnier, 1995). Na via de glicosilação, a base de Schiff é submetida ao rearranjo de Amadori para formar epsilon-frutoselisina, que é então oxidada para formar CML (Ahmed et al., 1986). Estudos têm sugerido um papel para as espécies reativas de oxigênio (EROs) formadas durante o preparo dos alimentos na formação de CML. Nagai et al. (1997) demonstraram que o radical hidroxil induzido

pela reação de Fenton pode promover a conversão de epsilon-frutoselina a CML pela via da glicosilação (Nagai et al., 1997). Adicionalmente Han et al., demonstraram relação semelhante entre radical hidroxil formado a partir da exposição ao calor em modelo alimentar de reação de Maillard na conversão de epsilon-frutoselina e glicoxal na via de glicosilação autoxidativa e Namiki (Han et al., 2013).

Assim, a capacidade de formação de novos AGEs nos alimentos expostos a diferentes métodos de cocção dependem de seu conteúdo nutricional. A presença de açúcares redutores, compostos intermediários da degradação de açúcares e a capacidade de geração de EROs, no decorrer das várias reações de liperoxidação induzidas pelo cozimento, justificam as altas taxas de formação de AGEs nos alimentos protéicos e lipídicos. Chao e colaboradores, mostraram que a presença de açúcares redutores em molhos reagem com lisina encontrada nas carnes facilitando a formação de novos AGEs (Chao et al., 2009). Ainda, o alto teor de ácidos graxos poliinsaturados presentes no salmão o torna mais suscetível a lipoperoxidação e formação de glicoxal justificando os mais altos níveis de CML entre todas as carnes (Hull et al., 2012). Nesse sentido, o baixo teor de AGEs encontrado nos carboidratos pode ser reflexo não somente de seu conteúdo de água, mas do maior nível de antioxidantes e vitaminas que podem diminuir a formação de novos AGEs nesses alimentos. Além disso, nesta categoria de alimentos, a maioria dos polissacarídeos consistem em açúcares não redutores, menos susceptíveis a dar origem a AGEs (Uribarri et al., 2010). Os mais altos níveis de AGEs nesta categoria são encontrados em alimentos processados em calor seco, como biscoitos, batatas fritas e bolachas (do tipo cookies), possivelmente resultante da adição de ingredientes como manteiga, óleo, queijo, ovos e nozes, que durante o processamento com calor seco aceleram substancialmente a geração de AGEs (Uribarri et al., 2010).

## **Interação AGEs-RAGE, sinalização celular e inflamação**

Os efeitos patológicos associados aos AGEs estão relacionados a sua habilidade em promover estresse oxidativo e inflamação através de sua ligação com receptores de membrana (Schmidt et al., 1999) ou ligações cruzadas com proteínas corporais alterando sua estrutura e funcionamento (Eblle et al., 1983). O RAGE é um membro multiligante da superfamília de moléculas de superfície celular da imunoglobulina (Neeper et al., 1992) com habilidade para reconhecer uma grande gama de ligantes endógenos tais como AGEs, proteínas S100, anfoterina e outros (Hori et al., 1995). Além de ser receptor para múltiplos ligantes, outra característica incomum do RAGE é a co-expressão com seus ligantes nos tecidos, ou seja, a interação dos AGEs com RAGE leva a um *feedback* positivo que aumenta ainda mais a expressão do receptor (Schmidt et al., 1999). Além de seus ligantes, outras citocinas e moléculas pró-inflamatórias podem regular a expressão RAGE (Takeda et al., 2005). O TNF- $\alpha$  parece estar envolvido no aumento da expressão de RAGE na formação da neointima (Takeda et al., 2005). Adicionalmente, PCR nas mesmas concentrações em que é capaz de prever eventos cardiovasculares futuros regula positivamente a expressão de RAGE em células endoteliais humanas (Zhong et al., 2006).

O RAGE é o receptor central de transdução de sinal para AGEs tais como CML. O acoplamento de AGEs-RAGE através da ativação celular e indução de estresse oxidativo leva a um desequilíbrio transitório no balanço redox capaz de modular a função celular mesmo na presença de um sistema anti-oxidante intacto (Yan et al., 1994). Na vasculatura, a indução do aumento de EROS intracelulares (Yan et al., 1994) é o resultado primário da ativação do sistema NADPH-oxidase (Wautier et al., 2001), mas de forma secundária também pode evocar a geração de EROS mitocondrial (Basta et al.,

2005). O acoplamento de seus ligantes ao RAGE ativa vias de sinalização celular tais como p21ras, ERK1/2 quinase e NF-kB em células endoteliais, monócitos e células musculares lisas na vasculatura. Esta cascata de eventos leva à expressão de mediadores pró-inflamatórios, como demonstrados pela supressão dos efeitos desses aductos na presença de anticorpos bloqueadores para RAGE, RAGE solúvel ou domínio extracelular do receptor (Li & Schmidt, 1997; Kislinger et al., 1999). Tais estudos fornecem evidências que tanto o acoplamento de seus ligantes quanto a transdução de sinal através RAGE estão envolvidos na mediação dos efeitos dos AGEs (Kislinger et al., 1999).

As interações AGE-RAGE levam à inflamação crônica. Estudo demonstrou que a interação de CML com RAGE leva ativação de vias de transdução de sinal que, em última instância, resulta na expressão de genes pró-inflamatórios (Kislinger et al., 1999). Em células endoteliais humanas, os AGEs são capazes de induzir a expressão de moléculas de adesão, incluindo VCAM-1, ICAM-1 e E-seletina, de modo RAGE-dependente, tal como confirmado pelo efeito inibidor de anticorpos IgG (imunoglobulina G) anti-RAGE ou sRAGE (Schmidt et al., 1994; Schmidt et al., 1995; Basta et al., 2002). A interação entre AGEs e seu receptor sobre o endotélio também determina alterações nas propriedades antitrombóticas superficiais ao fluxo sanguíneo, marcado por diminuição da expressão de trombosmodulina e a indução da expressão do fator tecidual (Esposito et al, 1989;. Bierhaus et al., 1997) que, podem levar a alterações nas propriedades dinâmicas endoteliais. A interação AGE-RAGE em células musculares lisas ainda esta associado ao aumento na migração quimioestática e proliferação celular (Higashi et al., 1997). Em monócitos o acoplamento AGE-RAGE induz um fenótipo de macrófagos ativados que se manifesta pela indução do fator de crescimento derivado de

plaquetas (Kirstein et al., 1990), fator de crescimento semelhante à insulina-1 (Kirstein et al, 1992), e citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-1 e TNF- $\alpha$  (Vlassara et al, 1988).

Com isso, o acoplamento de AGEs com RAGE esta associado a geração de estresse oxidativo e desencadeamento de respostas inflamatórias e trombogênicas em vários tipos celulares, incluindo células endoteliais, células do músculo liso, macrófagos e células renais, podendo desempenhar importante papel no desenvolvimento e progressão da lesão vascular. As consequências dessas interações têm sido associadas ao processo de envelhecimento, patogênese da nefropatia diabética (Makita et al., 1991), retinopatia diabética (Yamagishi et al., 1997), neuropatia diabética (Yagihashi et al., 1992), e aterosclerose (Kume et al., 1995). Com isso, sugere-se que, em longo prazo os AGEs devam mediar continua amplificação de eventos inflamatórios em tecidos sensibilizados ou alvos imunes e inflamatórios (Basta et al., 2002).

### **AGEs e Disfunção endotelial**

Mecanismos moleculares pelos quais o sistema AGE-RAGE pode contribuir para o desenvolvimento e progressão da DCV têm sido propostos. Os AGEs formados na matriz extracelular estão associados à redução da elasticidade vascular e atividade de óxido nítrico (NO), podendo mediar o declínio da vasodilatação mediada pelo endotélio (Bucala et al., 1991). A indução de estresse oxidativo pela ligação AGEs-RAGE pode levar a inativação do NO pela formação de peroxinitrito, que ainda é capaz de induzir dano e ativação plaquetária em células endoteliais (Bucala et al., 1991). Ainda o aumento nos níveis intracelulares de estresse oxidativo leva a ativação de NF-kB nas células da parede vascular promovendo o aumento na expressão de uma variedade de genes associados a aterogênese incluindo ICAM-1 (Vlassara et al., 1995), VCAM-1 (Vlassara et al., 1995; Schmidt et al., 1995), proteína quimioatrativa de monócitos-1

(MCP-1) (Inagaki et al., 2003), inibidor da ativação de plasminogênio-1 (PAI-1) (Yamagishi et al., 1998), fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) (Yamagishi et al., 2006), bem como o próprio e RAGE (Yamagishi et al., 2009).

Associação entre AGEs e função endotelial têm sido caracterizada em estudos transversais. Em estudo transversal aninhado a um estudo de casos e controles em 543 indivíduos diagnosticados com diabetes tipo I, caracterizada por diagnóstico antes dos 36 anos com necessidade de terapia insulínica contínua em 1 ano de diagnóstico, não foi observada associação entre AGEs e pressão arterial média. Entretanto, os níveis de CML se associaram diretamente com PAS e pressão de pulso e inversamente com PAD (Schram et al., 2005). De acordo com essa premissa, Geroldi e colaboradores investigaram a associação entre sRAGE e hipertensão em estudo de casos e controles com 147 pacientes hipertensos nunca tratados e 177 controles normotensos. Esse estudo mostrou associação fraca entre sRAGE e PAS, que perdeu significância após controle de fatores de confusão. Entretanto, a associação observada entre sRAGE e pressão de pulso se manteve significativa mesmo após ajuste para fatores confundidores (Geroldi et al., 2005). Uma vez que a pressão de pulso elevada é consequência da rigidez arterial, sugere-se um potencial papel dos AGEs sobre a função e estrutura arterial.

Ensaio clínico sugerem melhora na função endotelial em pacientes com HAS pelo uso ALT-711 (3-feniacyl-4,5-dimetiltiazólio cloreto), uma molécula capaz de quebrar ligações cruzadas entre AGEs e outras moléculas (Kass et al., 2001; Zieman et al., 2007). Ensaio clínico controlado por placebo em idosos com pressão de pulso em repouso superior a 60 mmHg e PAS maior do que 140 mmHg em tratamento anti-hipertensivo caracterizou melhora na complacência arterial independentemente de reduções nos níveis pressóricos (Kass et al., 2001). Adicionalmente, Zieman et al., (2007)

testaram a eficácia de ALT-711 na melhora da dilatação braquial mediada por fluxo em idosos com hipertensão sistólica isolada em terapia anti-hipertensiva. Apesar de não serem observadas reduções significativas nos níveis pressóricos após oito semanas de tratamento, o uso de ALT-711 foi associado à melhora da função endotelial independentemente de alterações na complacência vascular. Houve ainda associação com a redução de marcadores de fibrose, remodelamento vascular e marcadores inflamatórios (Zieman et al., 2007). Entretanto, estudo conduzido avaliando os efeitos de ALT-711 sobre a função endotelial, rigidez arterial e risco cardiovascular em idosos não foi capaz de demonstrar qualquer efeito nos parâmetros avaliados, após um ano de intervenção, associado ou não com exercício físico (Oudegeest-Sander et al., 2013).

Apesar dos resultados controversos, estes estudos sugerem que os AGEs possam desempenhar um potencial papel sobre a rigidez arterial e suas complicações, e impacto menor sobre os níveis pressóricos. Níveis de AGEs aumentados estão presentes sistemicamente e localmente na parede vascular levando a mudanças estruturais diretas e indução de mecanismos inflamatórios mediados pelos RAGEs. No que diz respeito às grandes artérias, o eixo AGE-RAGE está associado ao aumento na rigidez aórtica e espessamento da camada íntima média. Entretanto, os efeitos não são restritos às grandes artérias, mas incluem a microcirculação. Em indivíduos diabéticos os danos renais, retinianos e na microcirculação cerebral podem estar associados ao eixo AGE-RAGE (Baumann, 2012). E, embora nenhum efeito direto do eixo AGE-RAGE seja observado na hipertensão essencial, seus efeitos vasculares podem estar associados ao aumento do risco cardiovascular e danos em órgão alvo.

### **Efeitos de variações na ingestão dietética usual de AGEs na função endotelial e inflamação**

Dados sobre o consumo médio de AGEs na população geral são limitados. A ingestão diária de AGEs, estimada a partir de coorte de adultos saudáveis, de Nova Iorque, é de aproximadamente  $14.700 \pm 680$  AGE kU/dia (Uribarri et al., 2007). Esses dados podem sugerir um ponto de corte para definição de dietas ricas ou pobre em AGEs dependendo de quando a ingestão diária estimada for significativamente maior ou menor do que 15.000 AGE kU/dia (Uribarri et al., 2010). Considerando-se o nível de evidência dos estudos que investigaram o papel dos AGEs, como fator mediador ou marcador de risco cardiovascular, a ingestão segura ou adequada de AGEs permanece por ser estabelecida. Em modelos animais, redução em torno de 50% nos AGEs provenientes da dieta tem sido associado com redução no estresse oxidativo, retardo no desenvolvimento de resistência à insulina e perda de função renal associada à idade bem como aumento na expectativa de vida (Cai et al., 2008).

Os efeitos biológicos de variações agudas nos AGEs ingeridos na dieta em seres humanos foram avaliados em indivíduos saudáveis e diabéticos que receberam bebida rica em AGEs, em dose única. Após 90 minutos, houve elevação nos níveis séricos de AGEs, e observou-se redução transitória na vasodilatação mediada por fluxo (Uribarri et al., 2007). Resultados similares foram observados em pacientes diabéticos onde os níveis basais de AGEs são elevados (Negrean et al., 2007). O pré tratamento por três dias com altas doses de benfotiamina oral, inibidor de AGEs, foi capaz de atenuar os efeitos observados após refeição rica em AGEs sobre a vasodilatação mediada por fluxo, marcador de inflamação endotelial e estresse oxidativo em ensaio clínico randomizado cruzado (Stirban et al., 2006). Entretanto, em indivíduos com sobrepeso submetidos à refeição única contendo os mesmos alimentos preparados grelhados (*roasting*) ou no vapor (*steaming*), gerando alto e baixo teor de AGEs, respectivamente, não houve elevação nos níveis de AGEs, marcadores inflamatórios ou ativação endotelial (Poulsen

et al., 2014). Contudo, indivíduos que receberam refeição com alto teor de AGEs apresentaram elevação no nível de grelina e na resposta glicêmica (Poulsen et al., 2014).

Em estudo transversal conduzido por Uribarri e colaboradores em adultos jovens e idosos saudáveis, a ingestão usual de AGEs a partir da dieta, estimada a partir de diário alimentar de 3 dias, correlaciona-se com os níveis séricos de CML e MG, marcadores inflamatórios, de estresse oxidativo e índice HOMA independentemente de idade ou ingestão calórica (Uribarri et al., 2007). Em mulheres com sobrepeso, a ingestão de dieta pobre em AGEs reduziu a concentração de AGEs urinário, insulina de jejum e índice HOMA quando comparada a dieta rica em AGEs, após ajuste para alterações antropométricas durante o estudo (Mark et al., 2014). Em contrapartida, os efeitos do consumo, durante 6 semanas, de dieta ricas em AGEs versus dieta com baixo teor, sobre a função endotelial, níveis circulantes de AGEs, mediadores inflamatórios e RAGE foram avaliados em indivíduos saudáveis com 50 a 69 anos (Semba et al., 2014). Nesse estudo variações na ingestão de AGEs não produziram variações significativas sobre marcadores inflamatórios e na função endotelial (Semba et al., 2014).

Os efeitos de dietas com restrição de AGEs sobre o perfil inflamatório de indivíduos adultos saudáveis, com diabetes mellitus ou insuficiência renal foi avaliados em revisão sistemática de 12 ensaios clínicos incluindo 289 participantes. Metanálise de dois estudos com mais de 16 semanas de intervenção caracterizou que dieta com restrição de AGEs promoveu a redução nos níveis de 8-isoprostana, um marcador de estresse oxidativo, e TNF- $\alpha$ , em adultos saudáveis. Dietas com restrição moderada em AGEs em indivíduos adultos com insuficiência renal crônica parecem ser capazes de reduzir os níveis séricos de VCAM-1. Existem evidências que dietas pobres em AGEs exercem efeito a longo prazo reduzindo o índice HOMA e níveis de lipoproteína de

baixa densidade (LDL) mediada por AGEs em indivíduos adultos com diabetes tipo II (Kellow and Savige, 2013). Entretanto, estudos de curta duração e com baixa qualidade metodológica tornam limitada a possibilidade de generalização dos resultados e de recomendação de dieta pobre em AGEs para atenuar o estado pró-inflamatório em indivíduos saudáveis, com diabetes mellitus ou insuficiência renal. Os resultados controversos do papel dos AGEs originários da dieta sobre disfunção endotelial e inflamação associadas à HAS permanecem a ser elucidados.

## DISFUNÇÃO ENDOTELIAL, INFLAMAÇÃO E HIPERTENSÃO ARTERIAL

### **Homeostase e disfunção endotelial: significância clínica**

O endotélio é o principal regulador da homeostase vascular, desempenhando papel regulatório tanto autócrino quanto parácrino através da liberação de substâncias envolvidas no controle do tônus, função e estrutura endotelial (Taddei & Salvetti, 2002). As células endoteliais, sob condições fisiológicas, são capazes de sintetizar e secretar um amplo espectro de substâncias, entre as quais a mais bem caracterizada é o óxido nítrico (NO), gerado a partir do metabolismo de L-arginina pela NO sintase endotelial (eNOS) (Vanhoutte, 1989). A estimulação endotelial induz a produção e liberação de NO, o qual é capaz de se difundir entre os tecidos e células circundantes, exercendo seu papel cardioprotetor através do relaxamento da musculatura lisa endotelial, prevenção da adesão e agregação plaquetária e, expressão de moléculas de adesão (Vanhoutte, 1989; Taddei et al., 2003). Em condições patológicas, incluindo a presença de fatores de risco cardiovasculares, o endotélio sofre alterações funcionais e estruturais podendo tornar-se uma estrutura pró-aterosclerótica (Vanhoutte, 1989).

A perda da função endotelial, normalmente referida como "disfunção endotelial", é caracterizada por uma redução transitória na biodisponibilidade de NO, na ausência de ruptura anatômica do endotélio (Taddei & Salvetti, 2002). Essa redução do NO pode resultar tanto da redução em sua síntese pela eNOS quanto do aumento na síntese de EROs capazes de neutralizar seus efeitos pela formação de peroxinitrito (Vanhoutte, 1989; Taddei et al., 2003). Nesse cenário a vasodilatação dependente do endotélio é parcialmente mantida pela produção e liberação de outras moléculas vasodilatadoras derivadas do endotélio, como prostanóides (ex. prostaciclina) e outros fatores hiperpolarizantes derivados do endotélio. De importância, a disfunção do endotélio o torna fonte de outros mediadores e substâncias prejudiciais à parede arterial, incluindo endotelina-1 (ET-1), tromboxano-A2, prostaglandinas-H2 e EROs (Taddei et al., 2003). A redução na biodisponibilidade de NO associa-se à redução de sua atividade inibitória sobre a ET-1 resultando em aumento da sua capacidade vasoconstritora e, possivelmente proliferativa. Assim, a disfunção endotelial não prejudica somente a vasodilatação dependente do endotélio, mas também pode levar a um fenótipo pró-inflamatório, pró-trombótico e pró-coagulante ainda capaz de promover alterações estruturais como a hipertrofia das células musculares lisas (Taddei et al., 2003; Brunner et al., 2005).

A redução na resposta vasodilatadora mediada pelo endotélio a estímulos tem sido observada na presença dos principais fatores de risco para DCV tais como tabagismo (Newby et al., 2001), obesidade (Higashi et al., 2001), diabetes mellitus (Ting et al., 1996), hipercolesterolemia (Quyyumi et al., 1997) e hipertensão (Panza et al., 1990). A presença de múltiplos fatores de risco, contribuindo para a redução na biodisponibilidade de NO, através de diferentes mecanismos, pode determinar o agravamento progressivo da disfunção endotelial. Vita e colaboradores caracterizaram

que na circulação coronária a função endotelial está inversamente associada ao número de fatores de risco (Vita et al., 1990). Isso foi confirmado por Campuzano e colaboradores, que verificaram relação inversa entre o relaxamento dependente do endotélio, estimado através da dilatação mediada por fluxo, e o escore de risco cardiovascular, avaliado pelo "Escore de Framingham" (Campuzano et al., 2006). Além disso, alguns estudos têm sugerido que a relação entre a disfunção endotelial e a presença de fatores de risco cardiovascular possa ser bidirecional (Rossi et al., 2004; Rossi et al., 2005). Em mulheres na pós-menopausa a disfunção endotelial pode ser um fator de predisponente ou ainda um marcador do desenvolvimento de hipertensão (Rossi et al., 2004) e diabetes (Rossi et al., 2005). Tais achados têm sugerido que a presença de disfunção endotelial não represente apenas uma consequência ou característica da presença de fatores de risco para DCV, mas também um possível mecanismo envolvido na patogênese.

Entretanto, existem evidências que apoiam a hipótese de que a disfunção endotelial seja fator prognóstico para eventos cardiovasculares futuros mais do que para o desenvolvimento de fatores de risco. As implicações clínicas de que a disfunção endotelial esteja associada com eventos cardiovasculares esta bem estabelecida (Widlansky et al., 2003). Estudos descrevendo a associação entre disfunção endotelial coronária e periférica e eventos cardiovasculares foram revisados por Lerman & Zeiher (Lerman & Zeiher, 2005). Análise incluiu cerca de 2.500 participantes, com seguimento entre um e 92 meses. Apesar da natureza dos eventos cardiovasculares variarem entre os estudos (por ex. morte por DCV; infarto do miocárdio e; necessidade de revascularização), a análise sugere que a disfunção endotelial esteja associada de forma independente com a ocorrência de eventos cardiovasculares (Lerman & Zeiher, 2005). Capacidade preditora similar foi demonstrada para a presença de disfunção endotelial,

identificada tanto na circulação coronariana quanto periférica (Targonski et al., 2003). Entretanto, em pacientes de alto risco a redução da vasodilatação mediada por fluxo não associou ao risco de eventos cardiovasculares futuros, independente de outros fatores de confusão (Fathi et al., 2004). Adicionalmente, Asselbergs e colaboradores, mostraram que a vasodilatação coronariana, em resposta a acetilcolina perdia sua capacidade preditiva em pacientes com doença arterial coronariana encaminhados à primeira angiografia (Asselbergs et al., 2004). Com isso, sugere-se que a disfunção endotelial seja um marcador funcional associado aos fatores de risco para DCV como a HAS (Bonetti et al., 2003).

### **Hipertensão arterial sistêmica**

A Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) é uma condição clínica multifatorial, caracterizada por aumento sustentado da PAS maior ou igual a 140 mmHg ou PAD maior ou igual a 90 mmHg (SBH, 2010). A HAS é considerada o fator de risco mais importante para DCV (Chobanian et al., 2003). Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) em 2000 a HAS afetava em torno de um bilhão de pessoas no mundo, o que correspondia a 26,4% da população adulta. As projeções para 2025 são de que haverá um aumento em torno de 60% passando a atingir em torno de 1,56 bilhões de pessoas no mundo (Keaney et al., 2005). Esses valores são atribuídos principalmente ao aumento de 80% na sua prevalência em países em desenvolvimento (Keaney et al., 2005). No Brasil, atualmente, apesar de haver redução de 6% na prevalência de HAS nas últimas três décadas, essa acomete aproximadamente 30% da população (Picon et al., 2012).

A incidência de hipertensão arterial varia de 3 a 18% dependendo da população estudada, com uma taxa anual de 7/100 indivíduos com idade entre 40 e 50 anos. Estudo

realizado em Porto Alegre mostrou que a incidência cumulativa de hipertensão é de 39 casos por 1.000 pessoas por ano (Moreira et al., 2008). A idade permanece sendo o principal determinante para o desenvolvimento de HAS (Moreira et al., 2008). O Framingham Heart Study caracterizou que indivíduos normotensos aos 55 anos de idade apresentavam risco residual de 90% de desenvolver HAS (Vasan et al., 2001), com uma probabilidade de desenvolvimento em 10 anos de 50%, passando a 60% entre indivíduos idosos (Vasan et al., 2001).

A importância da HAS não se dá somente por sua prevalência elevada, mas também por ser um fator de risco modificável para doença cardiovascular. A prevalência de HAS em todo o mundo tem contribuído para a atual pandemia da doença cardiovascular sendo um dos principais contribuintes para a carga global atribuída a essa doença (Levenson et al., 2002). Globalmente, as doenças cardiovasculares respondem por 17 milhões de mortes a cada ano, aproximadamente um terço do total (WHO, 2008). Dentre essas, as complicações associadas à HAS contabilizam 9,4 milhões de mortes anualmente em todo o mundo (Lim, 2012). A HAS é responsável por pelo menos 45% das mortes por doenças cardíacas e 51% das mortes por acidente vascular cerebral (WHO, 2013).

Avaliação de cerca de um milhão de indivíduos adultos, com 40-89 anos, participantes de 61 estudos de coorte, mostrou que o risco de mortalidade por doença coronariana e por acidente vascular cerebral aumentava linearmente à medida que os valores de pressão arterial (PA) se elevavam (Lewington et al. 2002). Caracterizou-se duplicação no risco de mortalidade por DCV para cada 20 mmHg de aumento na PAS ou 10 mmHg, similar entre os sexos, iniciando-se em valores tão baixos quanto 115 mmHg ou 75 mmHg, respectivamente (Lewington et al. 2002). A consistência entre os

achados de estudos de coorte que estabeleceram o risco e meta-análise de ensaios clínicos randomizados que avaliaram o efeito do tratamento da hipertensão sobre a prevenção de mortalidade foi apontada por Law e colaboradores (Law et al., 2009). Meta-análise de ensaios clínicos randomizados (Law et al., 2009) caracterizou redução de 22% na mortalidade por doença coronariana e 41% na mortalidade por acidente vascular cerebral decorrente da redução da pressão arterial, muito similar aos 25% e 36% observados nos estudos de coorte respectivamente. Analisados em conjunto, esses resultados caracterizam a prova de conceito sobre o papel da hipertensão na causação de DCV (Fuchs et al., 2012).

### **Disfunção endotelial e hipertensão arterial**

A redução na biodisponibilidade de NO tem sido consistentemente demonstrada em pacientes hipertensos. Panza e colaboradores determinaram que a infusão de N<sup>G</sup>-monometil-L-arginina (L-NMMA), um inibidor da eNOS, produz menos vasoconstrição em condições basais e não modifica, de forma significativa, a resposta a acetilcolina em hipertensos quando comparados a controles saudáveis (Panza et al., 1993). Essa redução nos efeitos vasculares da L-NMMA em pacientes hipertensos sugere comprometimento na produção e liberação de NO nas artérias desses pacientes tanto de forma basal quanto durante estimulação endotelial. Nesse sentido, Forte e colaboradores, mostraram redução nas concentrações plasmáticas de nitrito e nitrato, produtos oxidativos finais do NO (Forte et al., 1997). Entretanto, a redução na resposta endotélio dependente vascular a acetilcolina não é modificada significativamente por L-arginina indicando que a redução na biodisponibilidade de NO não está associada à redução de seus precursores (Panza et al., 1993). Assim, em pacientes hipertensos, o aumento na formação de espécies reativas de oxigênio através do sistema da NADPH oxidase e mitocondrial devem representar

importante mediador da redução na biodisponibilidade de NO (Doughan et al., 2008). Evidência de que a infusão de vitamina C possa melhorar a vasodilatação mediada pelo endotélio nessa população parece apoiar a premissa de que as EROs desempenhem um papel na disfunção endotelial (Taddei, 1998).

Diversos estudos em seres humanos têm caracterizado a associação entre disfunção endotelial e hipertensão. Comprometimento na vasodilatação mediada por endotélio em pacientes hipertensos foi demonstrado por Panza e colaboradores. (Panza et al., 1990). Treasure e colaboradores determinaram o aumento na resposta vasoconstritora coronária à acetilcolina em pacientes hipertensos (Treasure et al., 1992). Adicionalmente, dados da coorte de Framingham sugerem que a gravidade da hipertensão esteja associada positivamente com o grau de disfunção endotelial (Benjamin et al., 2004). Apesar da tentativa de demonstração de que disfunção endotelial em pacientes hipertensos deva ser bidirecional, dados apoiam a hipótese de que HAS deva preceder a disfunção endotelial. Dados publicados por Jurva e colaboradores, em adultos jovens saudáveis, mostram que grandes aumentos pressóricos de forma aguda geram disfunção endotelial transitória (Jurva et al., 2008). Em outro estudo, caracterizou-se que aumento na pressão arterial sistólica durante a adolescência esta associada com maior incidência de disfunção endotelial na vida adulta (Juonala et al., 2006). Nesse sentido, Shimbo e colaboradores, (Shimbo et al., 2010) apresentaram dados sobre a incidência de hipertensão associado a avaliação basal da dilatação mediada por fluxo em uma coorte de 3.500 pessoas de diferentes etnias no Multiethnic Study of Atherosclerosis – Estudo MESA. Os investigadores mostraram que alterações na vasodilatação mediada por fluxo não são preditoras independentes do desenvolvimento de hipertensão (Shimbo et al., 2010). Esses estudos apoiam a hipótese de que disfunção endotelial seja conseqüência de alterações nos níveis pressóricos mais

do que a causa para tal. A ausência de associação entre o grau de disfunção endotelial e os níveis pressóricos corrobora com essa afirmativa.

Disfunção endotelial em pacientes hipertensos parece ser melhor marcadora de prognóstico e risco para DCV. Nesse sentido, Perticone e colaboradores, avaliaram fluxo sanguíneo no antebraço em resposta a acetilcolina em 225 hipertensos não tratados de ambos os sexos acompanhados por um seguimento 31,5 meses para avaliação da incidência de eventos cardiovasculares (Perticone et al., 2001). Participantes com menor resposta a acetilcolina apresentaram um risco relativo de 2,084 (IC95% 1,25 – 3,48; P=0,0049) para incidência de DCV mesmo após ajuste para variáveis confundidoras (Perticone et al., 2001). Modena e colaboradores avaliaram a dilatação mediada pelo fluxo na artéria braquial em 400 mulheres na pós-menopausa recém diagnosticadas com hipertensão e acompanhadas por um período médio de 67 meses. Entre aquelas pacientes cuja disfunção endotelial não foi revertida após seis meses de tratamento anti-hipertensivo houve aumento significativo no risco para DCV nos cinco anos seguintes (Modena et al., 2002).

As evidências disponíveis parecem indicar uma dissociação entre grau de disfunção endotelial e valores da pressão sanguínea corroborando a hipótese de que essa seja uma alteração comum aos principais fatores de risco cardiovascular. É concebível que tal alteração possa ser um mecanismo patogênico comum na determinação da doença aterosclerótica e eventos cardiovasculares em pacientes com fatores de risco cardiovasculares. Essa possibilidade se baseia na evidência de que o NO e fatores constritores dependentes do endotélio não apenas exerçam efeitos opostos sobre o tônus vascular, mas também interajam entre si na modulação da agregação plaquetária, proliferação de células do músculo liso vascular, migração e adesão de monócitos além

da expressão da adesão molecular que exercem um papel importante na gênese de trombose e placa aterosclerótica (Taddei et al., 2003). Com isso, disfunção endotelial tem sido sugerida como um desfecho substituto na abordagem terapêutica em pacientes sob risco cardiovascular como demonstrado pela inclusão de disfunção endotelial entre os marcadores de lesão em órgão alvo nas diretrizes de hipertensão da Sociedade Européia de Hipertensão (Mancia et al., 2007; ESH/ESC Task Force for the Management of Arterial Hypertension, 2013).

### **Disfunção endotelial e inflamação**

O estresse oxidativo excessivo e inflamação vascular são características centrais da disfunção endotelial (Dharmashankar et al., 2010). As reações inflamatórias envolvem interações complexas entre células vasculares e inflamatórias como neutrófilos, linfócitos e, monócitos/macrófagos. Essa interação resulta em uma resposta inflamatória evocada pelas células vasculares através do aumento da expressão de moléculas de adesão, citocinas, quimiocinas, metaloproteinases, e fatores de crescimento (Ross, 1999). O sistema NF-kB é considerado importante via inflamatória, mediando a maioria das respostas vasculares. A ativação de NF-kB é desencadeada por vários estímulos, tais como citocinas, ativadores da proteína quinase C, mas, acima de tudo, as EROs (Barnes & Karin, 1997). Após a ativação, o NF-kB transloca-se para o núcleo onde regula a transcrição de genes envolvidos na patogênese das lesões inflamatórias como IL-6, TNF- $\alpha$ , MCP-1, ICAM-1, VCAM-1, E-Seletina, VEGF e molécula de adesão celular endotelial plaquetária, todos envolvidos no recrutamento de monócitos/macrófagos em sítios de inflamação na parede vascular (Barnes & Karin, 1997).

A adesão e subsequente transmigração de leucócitos através do endotélio vascular são mediadas por moléculas de adesão celular entre elas, as seletinas e moléculas de adesão intracelular e vascular (Price & Loscaulzo, 1999). As seletinas são moléculas de adesão que medeiam o primeiro passo da adesão de leucócitos em sítios de inflamação ou dano vascular, essas moléculas de adesão estão associadas a rolagem de leucócitos (Adam & Shaw, 1994). A E-seletina é sintetizada pelas células endoteliais tendo sua expressão modulada pela ativação endotelial por IL-1 e TNF- $\alpha$  (Etter et al., 1998). As células de adesão ICAM-1 e VCAM-1 pertencem à superfamília da imunoglobulina de células de adesão. A síntese de ICAM-1 ocorre tanto em macrófagos quanto em células endoteliais em resposta a citocinas inflamatórias como IL-1, TNF- $\alpha$ , e interferon-gama, entretanto, a expressão de VCAM-1 apesar de estimulada pelas mesmas citocinas está restrita a células endoteliais (Pober et al., 1986). Tais citocinas são capazes de estimular a produção endotelial de MCP-1, fator estimulante de colônia de monócitos e IL-6, moléculas capazes de amplificar a cascata inflamatória. Ainda, a expressão dessas moléculas pode sofrer influência do fator de crescimento vascular endotelial-1 (VEGF-1), um potente fator angiogênico cujas atividades incluem a sobrevivência celular, proliferação, migração e formação do tubo (Ferrara & Davis-Smyth 1997). A atuação do VEGF como citocina pró-inflamatória não só aumenta a permeabilidade endotelial, mas induz a expressão dessas moléculas de adesão (Kim et al., 2001). Tanto a E-seletina quanto VCAM-1 e ICAM-1 estão presentes na circulação em sua forma solúvel.

O TNF- $\alpha$  é uma citocina com atividade pleiotropica produzida por uma variedade de células incluindo macrófagos, células endoteliais e células musculares lisas. O TNF- $\alpha$  sozinho ou em associação com interferon-gama e IL-1 estimula a produção de IL-6 nas células musculares lisas (Ng et al., 1994). A IL-6 é expressa em

lesões ateroscleróticas e, considerada a principal estimulante hepática para a produção de PCR. A proteína de fase aguda PCR esta envolvida nas respostas da imunidade inata e desempenha, importantes papeis que incluem ativação do sistema complemento e aumento da fagocitose (Mortensen & Zhong, 2000). A PCR pode estimular monócitos a liberarem citocinas pró inflamatórias como IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  (Ballou & Lozanski, 1992) e ainda induzir a expressão de moléculas de adesão VCAM-1 e ICAM-1 pelas células endoteliais (Pasceri et al., 2000). Por outro lado, a IL-10 apresenta um papel crítico na supressão da resposta inflamatória. A IL-10 é produzida por monócitos e linfócitos em resposta a fatores pro-inflamatórios. A IL-10 além de ter sua expressão modulada pela IL-1, IL-6 e TNF- $\alpha$ , efetivamente regula essas citocinas pró-inflamatórias, ainda sendo capaz de regular a síntese de fatores quimiostáticos (Olszyna et al., 2000) e moléculas de adesão (Song et al., 1997).

A complexidade da resposta inflamatória evocada pela disfunção endotelial e seu potencial papel em diferentes etapas da aterogênese sugere que marcadores séricos de inflamação vascular possam risco cardiovascular. Níveis elevados de seletinas, sICAM-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , e PCR têm sido associados ao aumento no risco cardiovascular em diferentes cenários. Na coorte do Physicians' Health Study, estudo de coorte que incluiu 51.529 homens - principalmente dentistas e veterinários, mas também outros profissionais de saúde – com o objetivo de investigar fatores nutricionais associados à incidência de câncer, doença cardíaca e outras doenças vasculares, o risco relativo para infarto do miocárdio foi 80% maior em indivíduos no quartil mais alto de sICAM-1 (Ridker et al., 1998) e de 38% para àqueles com os mais altos níveis basais de IL-6 (Ridker et al., 2000). No estudo Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC), estudo de coorte delineado para investigar as causas de aterosclerose, seqüelas clínicas e variações de fatores de risco cardiovasculares que incluiu 15.792 adultos com idade entre 45 e 64

anos de quatro comunidades dos Estados Unidos, níveis plasmáticos elevados de sICAM-1 e E-Seletina se mostraram fatores de risco independentes para doença arterial coronariana e doença aterosclerótica, respectivamente (Hwang et al., 1997). Adicionalmente, níveis basais de PCR foi identificado como preditor independente de doença arterial coronariana (Koenig et al., 1999) e doença vascular periférica (Ridker et al., 1998). Tais achados sugerem que inflamação vascular possa ser um mediador da associação entre fatores de risco cardiovasculares, disfunção endotelial e DCV.

### **Inflamação vascular e hipertensão**

A inflamação parece desempenhar um papel na fisiopatologia da DCV e de diversos processos que devem contribuir para a elevação dos níveis pressóricos. Na vasculatura, a inflamação pode estimular a proliferação de células musculares lisas desempenhando um papel no remodelamento vascular (Virdis & Shinfrin, 2003). Aumento nos níveis plasmáticos de TNF- $\alpha$ , IL-6, PCR (Blake et al., 2001), moléculas de adesão ICAM-1, VCAM-1 e E-seletina (Preston et al., 2002) têm sido verificado em pacientes hipertensos. Ainda, o aumento da expressão de moléculas de adesão, ativação de células imunológicas e infiltração, liberação de citocinas e estresse oxidativo parecem ser mecanismos ativados na hipertensão. Relação entre redução nos níveis pressóricos induzida pelo tratamento da hipertensão e redução de marcadores inflamatórios (Preston et al., 2002) sugere que a hipertensão possa ser uma condição potencialmente pró-inflamatória.

Em alguns estudos, a presença de inflamação tem sido associada com a gênese da hipertensão. Bautista e colaboradores sugerem que TNF- $\alpha$  e IL-6 podem ser fatores de risco independentes para a elevação da pressão em indivíduos saudáveis (Bautista et al., 2004). Análise ajustada para idade, sexo, índice de massa corporal (IMC), história

familiar de hipertensão e outros marcadores inflamatórios caracterizou uma razão de prevalência (RP), comparada ao primeiro quartil, de 3,10 (P=0,003) para hipertensão entre indivíduos com níveis de IL-6 classificados no segundo quartil, 2,32 (P=0,031) no terceiro quartil e, 2,30 (p=0,036) no mais elevado quartil. No caso de TNF- $\alpha$  não houve associação significativa (Bautista et al., 2004). Vanhala et al., em coorte de indivíduos saudáveis acompanhados por um seguimento médio de seis anos, demonstraram que os níveis basais de IL-1 $\beta$  e IL-1ra eram significativamente maiores naqueles indivíduos que desenvolveram hipertensão (Mauno et al., 2008).

Associação entre níveis pressóricos e marcadores de inflamação foram descritos por Chae et al. em análise da linha de base do Physicians' Health Study (Chae et al., 2001). Foram observadas associações significativas entre níveis séricos de marcadores inflamatórios sICAM-1 e IL-6 e pressão arterial sistólica e pressão de pulso. Para cada 10 mmHg de aumento na pressão arterial sistólica, os níveis de sICAM-1 aumentam em 7,55 ng/mL (IC95% 1,44–13,66; P=0,016), e IL-6 log-transformado IL-6 um aumento em torno de 0,11 pg/mL (IC95% 0,06–0,17; P=0,001) (Chae et al., 2001). Em avaliação da linha de base do Estudo MESA foi caracterizada associação entre hipertensão e elevação da PCR, quando comparados a indivíduos sem hipertensão (Lakoski et al., 2005). Avaliando a pressão arterial categorizada de acordo com o Joint National Comitee 7 (JNC7) observou-se que indivíduos com pressões inferiores a 120/80 mmHg ou entre 120 e 139 ou 80 e 89 mmHg apresentavam níveis mais baixos de PCR quando comparados àqueles com pressão superior ou igual a 140/90 mmHg, mesmo em uso de terapia anti-hipertensiva (Lakoski et al., 2005). Hipertensos leves ou moderados (PAS maior que 140 mmHg e menor ou igual a 180 mmHg; PAD maior que 90 mmHg e menor ou igual a 110 mmHg) não tratados exibem níveis elevados de fator estimulador de colônia de macrófagos, proteína inflamatória de macrófago-1 $\alpha$  e VCAM-1 quando

comparados a indivíduos normotensos (Parissis et al., 2002). Peeters e colaboradores avaliando o perfil pró e anti-inflamatório demonstraram que níveis circulantes e capacidade de síntese, por estimulação ex-vivo, de IL-1 e IL-6, mas não TNF- $\alpha$ , foram mais altos em pacientes hipertensos (Peeters et al., 2001). Inconsistências existem no que diz respeito à associação de moléculas de adesão e hipertensão. Miller e colaboradores mostraram associação entre a forma solúvel de E-seletina e níveis pressóricos em mulheres, mas não em homens, sem associação entre sP-seletina, sICAM-1, sVCAM-1 e pressão arterial (Miller et al., 2004). Em um estudo de casos e controles, incluindo 204 pacientes com DCV incidente, 272 pacientes com aterosclerose da artéria carótida e 316 indivíduos saudáveis, mostraram que pacientes hipertensos, independente de seus estatus de caso ou controle, apresentavam níveis mais altos de E-seletina mas não de ICAM-1 ou VCAM-1 quando comparados a normotensos (Hwang et al., 1997).

A discrepância nas associações entre diversos marcadores inflamatórios e níveis pressóricos tem estimulado a condução de estudos para avaliar a relação entre inflamação e alterações vasculares. É reconhecido que a rigidez aórtica, avaliada através da velocidade da onda de pulso carótida-femoral (VOP aórtica) constitui marcador de envelhecimento e é considerado preditor independente de eventos cardiovasculares em indivíduos hipertensos (Laurent et al., 2001; Vlachopoulos et al., 2010). Entre indivíduos hipertensos não tratados, observou-se associação significativa entre níveis circulantes de PCR, TNF- $\alpha$  e IL-6 e VOP aórtica (Mahmud et al., 2005). De acordo com isso, coorte de pacientes hipertensos nunca tratados, PCR se mostrou independentemente relacionado com VOP aórtica (Pietri et al., 2006). Em estudo de em coorte, van Bussel e colaboradores investigaram a associação entre marcadores de disfunção endotelial (E-seletina, trombomodulina, ICAM-1, VCAM-1 e fator de von

Willebrand) e de inflamação (PCR, amilóide-A sérica, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , sICAM-1) e rigidez aórtica em seguimento de 6 anos em 293 adultos saudáveis (van Bussel et al., 2011). Escores de disfunção endotelial e inflamação associaram-se fortemente à rigidez aórtica no final do seguimento. Em particular, escores associados a biomarcadores para disfunção endotelial associam-se a maior rigidez da artéria femoral, enquanto o escore de biomarcadores de inflamação associa-se tanto com aumento da rigidez da artéria femoral quanto da carótida (van Bussel et al., 2011). Esses achados sugerem que a rigidez arterial possa ser um mecanismo através do qual a disfunção endotelial e inflamação levem à doença cardiovascular em pacientes hipertensos.

## DIETARY APPROACH TO STOP HYPERTENSION – DIETA DASH

### **Base teórica para desenvolvimento da dieta DASH e características**

O Dietary Approach to Stop Hypertension (Dieta DASH) é uma das mais eficazes intervenções para manejo e prevenção da hipertensão. O entendimento da base teórica para sua concepção parte do reconhecimento do momento histórico de seu desenvolvimento. A década de 90 era marcada pela forte associação entre o alto consumo de sódio, excesso de peso e abuso de bebidas alcoólicas com o aumento nos níveis pressóricos, entretanto, era crescente o número de achados obtidos em estudos ecológicos, transversais e longitudinais sugerindo que outros fatores dietéticos poderiam afetar de forma consistente a pressão arterial. A quantidade e tipo de gordura dietética (Morris et al., 1993), colesterol (Stamler et al., 1997), proteínas (Stamler et al., 1996), fibras (Wittman et al., 1989) e minerais como potássio (Intersalt Cooperative Research Group, 1988), cálcio (Cappuccio et al., 1995) e magnésio (Mizushima et al., 1998) além do reconhecimento de que dietas vegetarianas estavam associadas com níveis

pressóricos mais baixos (Rouse et al., 1983; Sacks et al., 1988) sugeriam um papel importante desses nutrientes no manejo da hipertensão.

Com isso, ensaios clínicos avaliando o impacto de variações em nutrientes específicos sobre os níveis pressóricos passaram a serem conduzidos. Entretanto, de maneira geral, os resultados foram controversos. Estudos randomizados de suplementação de cálcio apresentaram tendência de redução da pressão arterial sistólica, entretanto nenhum efeito sobre a pressão diastólica, como evidenciado em meta-análise conduzida por Bucher e colaboradores (Bucher et al., 1996). Resultados inconsistentes foram observados entre os estudos que buscaram avaliar o impacto da suplementação de magnésio sobre os níveis pressóricos. Os maiores ensaios clínicos não foram capazes de demonstrar associação entre magnésio e níveis pressóricos (Sacks et al., 1995; Yamamoto et al., 1995; Sacks et al., 1998). Possivelmente variações entre doses, via de administração e populações em estudo possam explicar, em parte, as discrepâncias observadas. Nesse sentido, a fase I do Estudo TOPH (Trials of Hypertension Prevention) foi incapaz de demonstrar qualquer efeito da suplementação de cálcio ou magnésio sobre os níveis pressóricos em indivíduos saudáveis (Whelton et al., 1992). O efeito da suplementação de potássio parecia ser controverso. Entretanto, Whealton e colaboradores, em meta-análise de ensaios clínicos randomizados, caracterizaram o efeito hipotensor da suplementação de potássio tanto para PAS quanto PAD e, em indivíduos com elevado consumo de sódio, esse efeito parece ser magnificado (Whealton et al., 1997)

Os efeitos do consumo de fibras sobre a pressão arterial também produzia resultados inconsistentes (Margaretts et al., 1987; Swain et al., 1990), apesar de revisão, conduzida por He e colaboradores sugerir que a ingestão de fibras na dieta pudesse levar

a reduções modestas nos níveis pressóricos (He et al., 1999). Meta-análise de ensaios clínicos mais recentes sugere que a redução nos níveis pressóricos mediado pelas fibras seja significativa para pacientes hipertensos (Whelton et al., 2005). Da mesma forma, estudos que avaliaram o impacto de variações na ingestão de gorduras totais ou de diferentes tipos de gorduras produziam os mesmos tipos de resultados apesar de não terem sido avaliadas combinações dessas gorduras (Puska et al., 1983; Morris et al., 1993; Stamler et al., 1997; Aro et al., 1998). Meta-análise avaliando o impacto do consumo de proteínas em estudos observacionais e de intervenção não demonstrou qualquer efeito dessas sobre os níveis pressóricos (Obarzanek et al., 1996). Achados consistentemente positivos são originários de poucos ensaios clínicos avaliando o impacto de dietas vegetarianas sobre os níveis pressóricos, os quais demonstram reduções na pressão arterial sistólica entre 5 e 6 mmHg (Rouse et al., 1983; Margarett et al., 1986; McDougall et al., 1995).

A discrepância entre os resultados dos estudos observacionais e ensaios clínicos de nutrientes específicos podem ser explicados pela possibilidade de que (1) os efeitos de nutrientes isolados sejam muito pequenos para serem detectados; (2) a biodisponibilidade dos suplementos dietéticos possa ser diferente daquela encontrada nos alimentos; (3) que os nutrientes possuam efeitos sinérgicos quando ingeridos a partir de fontes alimentares e; (4) que os nutrientes avaliados em estudos observacionais estejam altamente correlacionados com outros, que possam apresentar efeito sobre os níveis pressóricos, mas que não foram avaliados nos ensaios clínicos (Vogt et al., 1999). A possibilidade de que efeitos da dieta sobre desfechos de saúde não possam ser completamente elucidados através de efeitos de nutrientes específicos constitui a base teórica para a concepção da Dieta DASH, um padrão alimentar capaz de incorporar os principais nutrientes associados à redução dos níveis pressóricos.

A dieta DASH foi delineada com o propósito de incorporar nutrientes com potencial efeito hipotensor, detectados em estudos epidemiológicos e clínicos; que contivesse alimentos comumente consumidos não suplementados com nutrientes. Em outras palavras, uma dieta que provesse os benefícios da dieta vegetariana sobre os níveis pressóricos, mas que ainda contivesse produtos de origem animal em quantidade suficiente para torná-la palatável a indivíduos não vegetarianos. Assim, a dieta DASH é padrão alimentar caracterizado por ser rico em verduras, frutas, legumes e laticínios com baixo teor de gordura, incorporando grãos integrais, aves, peixes, nozes e limitando o consumo de gordura saturada, carne vermelha, doces e bebidas que contenham açúcar (Appel et al., 1997). Em comparação com dietas habituais, a dieta DASH contém menor quantidade de gordura total, gordura saturada e resulta em nível mais baixo de colesterol, enquanto provê maior teor de potássio, cálcio, magnésio, fibras e proteína (Quadro 1).

**Quadro 1.** Nutrientes essenciais prescritos na dieta controle e DASH (Appel et al., 1997)

<b>Nutrientes</b>	<b>Dieta controle</b>	<b>Dieta DASH</b>
<b>Gorduras (% do total de kcal)</b>	37%	27%
<b>Saturadas</b>	16	6
<b>Monoinsaturada</b>	13	13
<b>Poliinsaturada</b>	8	8
<b>Colesterol (mg/dia)</b>	300	150
<b>Potássio (mg/dia)</b>	1700	4700
<b>Cálcio (mg/dia)</b>	150	1250

<b>Magnésio (mg/dia)</b>	165	500
<b>Proteínas (% do total de kcal)</b>	15	18
<b>Carboidratos (% do total de kcal)</b>	48	55
<b>Fibras (g/dia)</b>	9	31
<b>Sódio (mg/dia)</b>	3000	3000

*Adaptado de Appel LJ, Moore TJ, Obarzanek E, Vollmer WM, Svetkey LP, Sacks FM, et al. A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. DASH Collaborative Research Group N Engl J Med 1997; 336:1117–1124.*

### **Estudo DASH e DASH Sodium**

O estudo DASH foi um ensaio clínico randomizado multicêntrico delineado com o objetivo de comparar o padrão dietético típico Americano - com baixo conteúdo de frutas, vegetais, laticínios, minerais essenciais e fibras e com alto teor de gorduras total e saturada (dieta controle) - a uma dieta americana enriquecida com frutas e vegetais; ainda a uma combinação de dieta rica em frutas, vegetais, laticínios desnatados e com teor reduzido de gorduras total e saturada (dieta DASH). O estudo foi conduzido em 459 adultos com em média 44 anos, pressão arterial sistólica inferior a 160 mmHg e diastólica entre 80-95 mmHg. Todos os indivíduos receberam a dieta controle por três semanas e após foram randomizados a uma das três intervenções por oito semanas. Todas as refeições foram preparadas centralmente para os participantes e cinco refeições por semana eram ingeridas no centro de estudo, sendo que os participantes levavam as demais para casa. O estudo utilizou alimentos como fonte alimentar dos diferentes nutrientes. O conteúdo de sódio foi similar em todas as dietas. As médias pressóricas na linha de base foram de 131,3±10,8 mmHg e 84,7±4,7 mmHg, para PAS e PAD respectivamente (Appel et al., 1997).

Após a randomização, houve queda rápida, significativa e sustentada nos níveis de PAS e PAD tanto na dieta americana enriquecida com frutas e vegetais quanto na dieta DASH (Appel et al., 1997). A diferença nos níveis pressóricos na dieta americana enriquecida com frutas e vegetais quando comparada com a dieta controle foram de -2.8 mmHg (IC97,5%, -4,7 a -0,9;  $p < 0,001$ ) na PAS e -1,1 mmHg (IC97,5% -2,4 a -0,3;  $P = 0,07$ ) na PAD. Entretanto, a PAS e PAD reduziram ainda mais na dieta DASH do que na dieta americana enriquecida com frutas e vegetais, com uma diferença de -2,7 mmHg (IC97,5% -4,6 a 0,9;  $P = 0,001$ ) e -1,9 mmHg (IC97,5% -3,3 a -0,6;  $P = 0,002$ ). Essa redução nos níveis pressóricos com ambas as dietas experimentais ocorreu nas duas primeiras semanas e, persistiu durante todo o período de oito semanas do estudo. Adicionalmente, ao final do protocolo, 70% dos participantes consumindo dieta DASH tinham sua pressão controlada contra 45% da dieta americana enriquecida com frutas e vegetais (Appel et al., 1997). Esse estudo demonstrou que uma dieta rica em frutas e vegetais é capaz de reduzir significativamente os níveis pressóricos e que, além de maior ingestão de frutas e vegetais, a adição de cerca de três porções diárias de laticínios de baixo teor de gordura e ingestão reduzida de gorduras saturadas e totais resulta em redução nos níveis pressóricos quase 2 vezes maior. Deve salientar-se que, os efeitos em longo prazo dessas dietas não foram investigados nesse estudo.

O estudo DASH-Sodium foi delineado para avaliar se a restrição de sódio teria efeito adicional sobre a redução nos níveis pressóricos induzida pela Dieta DASH (Sacks et al., 2001). O DASH-Sodium foi um ensaio clínico multicêntrico em que foram prescritos juntamente à dieta controle e DASH, três níveis diferentes de sódio dietético: (1) dieta rica em sódio com base na ingestão média americana de 3.450 mg de sódio/dia; (2) dieta intermediária em sódio com base nas recomendações atuais de 2.300 mg de sódio/dia e; (3) dieta com baixa ingestão de sódio com 1.150 mg de sódio/dia. Um total

de 412 indivíduos foi avaliado em quatro centros de pesquisa (Sacks et al., 2001) e foram incluídos adultos com idade igual ou superior a 22 anos, com PAS entre 120-159 mm Hg ou PAD entre 80 a 95 mmHg. Todos os participantes receberam uma dieta típica americana rica em sódio por período de duas semanas, após esse período, foram randomizados para receberem dieta DASH ou manutenção da dieta típica americana. Ambos os grupos foram submetidos a cada um dos três níveis de ingestão de sódio por 30 dias cada em um ensaio clínico randomizado cruzado (Sacks et al., 2001). Os desfechos do estudo foram níveis de PAS e PAD em cada um dos diferentes níveis de sódio. As análises estatísticas foram realizadas por de intenção de tratar.

Os resultados indicaram que na dieta controle a ingestão de sódio intermediária em comparação a ingestão elevada, foi associada com a redução da pressão arterial sistólica de -2,1 mmHg (IC95 % -3,4 a -0,8;  $P < 0,001$ ) e de -1,1 mmHg (IC95% -1,9 a -0,2;  $P < 0,001$ ) na diastólica. Mesma relação foi observada no grupo da Dieta DASH para pressão arterial sistólica, onde a ingestão de sódio intermediária em comparação a ingestão elevada também levou uma redução de -1,3 mmHg (IC95% -2,6 a 0,0;  $P < 0,05$ ) e -0,6 (IC95% -1,5 a 0,2;  $P = \text{NS}$ ) na pressão arterial diastólica. Na dieta controle, a comparação entre consumo intermediário e baixo de sódio o que se observa é uma redução ainda maior na pressão sistólica de -4,6 mmHg (IC95% -5,9 a -3,2;  $P < 0,01$ ) e de -1,7 mmHg (IC95% -3,0 a -0,4;  $P < 0,01$ ) na diastólica. Os níveis pressóricos com a dieta DASH também foram menores com ingestão de baixo teor de sódio em comparação com os níveis intermediários de ingestão de sódio, PAS -1,7 mmHg (IC95% -3,0 a -0,4;  $P < 0,01$ ) e PAD de -1,0 mmHg (IC95% -1,9 a -0,1;  $P < 0,01$ ) (Sacks et al., 2001). A cada nível de consumo de sódio os níveis pressóricos eram substancialmente inferiores para a Dieta DASH em relação à dieta controle. Em ambas

as dietas, os efeitos hipotensores associados a restrição de sódio foram maiores nos indivíduos hipertensos do que normotensos.

### **Impacto da dieta DASH na prevenção da DCV**

Considerando-se o papel da hipertensão na causação da DCV, estima-se que o impacto da redução dos níveis pressóricos obtidos com a dieta DASH deva resultar em uma redução de 15% no risco de doença arterial coronariana e de 27% no risco de acidente vascular cerebral (Sacks et al., 2001). Chen et al., avaliaram o impacto da adoção a dieta DASH sobre o risco de desenvolvimento de doença arterial coronariana em 10 anos, a partir das equações de risco de Framingham (Chen et al., 2010). Em comparação com a dieta controle e dieta americana enriquecida com fruta e vegetais, a dieta DASH foi capaz de reduzir em 18% e 11% a estimativa de risco de doença arterial coronariana em 10 anos, com evidência de uma redução significativamente maior no risco em afro-americanos (Chen et al., 2010). Tais resultados incentivaram diversos estudos prospectivos a avaliar a associação entre adesão ao padrão alimentar DASH e a incidência de eventos cardiovasculares em diferentes populações.

Os benefícios de o padrão alimentar DASH sobre eventos cardiovasculares são reforçados por dados de mais de 88.000 mulheres do Estudo Nurses Health (Fung et al., 2008). A melhor qualidade da dieta, definida por uma maior ingestão de frutas, verduras e alimentos lácteos com baixo teor de gordura, característico da dieta DASH, foi associado a uma redução de 27% na incidência de DCV total e uma redução de 34% nos eventos cardiovasculares fatais (Fung et al., 2008). Ainda o impacto da dieta DASH foi mais pronunciado em mulheres que estão em maior risco para DCV, como fumantes, obesas, hipertensas e sedentárias (Fung et al., 2008). Análise transversal de subgrupo sugeriu que o quintil mais alto de adesão à Dieta DASH também estava associado a

menores níveis plasmáticos de PCR ( $P = 0,008$ ) e IL-6 ( $P = 0,04$ ), após ajuste para variáveis confundidoras (Fung et al., 2008). Em coorte sueca, com seguimento de sete anos, Levitan e colaboradores, demonstraram que entre as mulheres com maior adesão ao padrão alimentar DASH havia redução em torno de 37% (IC95% 0,48 – 0,81;  $P = 0,006$ ) no risco de insuficiência cardíaca, após ajuste para outros fatores de risco (Levitan et al., 2009). Relação semelhante foi relatada em homens, com 45 a 79 anos, onde uma redução em torno de 22% no risco de insuficiência cardíaca foi observada para aqueles no quintil mais alto de adesão à dieta DASH (Levitan et al., 2009<sup>a</sup>).

Entretanto, alguns estudos não foram capazes de confirmar tais achados. Folsom et al., buscaram avaliar a associação entre o grau de adesão à dieta DASH e incidência de hipertensão e mortalidade por DCV em 20.993 mulheres entre 55–69 anos, arroladas em coorte de Iowa (Folsom et al., 2007). Após seguimento de 16 anos, as mulheres no quintil mais alto de adesão à dieta DASH apresentaram redução em torno de 23% no risco de mortalidade por DCV (IC95% 0,52-0,86;  $P = 0,01$ ). Entretanto, tal associação não foi mantida após ajuste para outros fatores de risco, sugerindo que a concordância com o padrão alimentar DASH em longo prazo não se associou, de forma independente, com redução na incidência de hipertensão ou mortalidade por DCV nessa população (Folsom et al., 2007). Da mesma forma, Parikh e colaboradores, avaliando a associação entre dieta e mortalidade em 5.532 adultos com hipertensão no III National Health and Nutrition Examination Survey, demonstraram que uma dieta tipo DASH estava associada com menor risco de mortalidade por todas as causas (HR = 0,69; IC95% 0,52 a 0,92;  $P = 0,01$ ) e morte súbita (HR = 0,11; IC95% 0,03 a 0,47;  $P = 0,003$ ) (Parikh et al., 2009). Entretanto, o risco para mortalidade por DCV não atingiu significância estatística (HR=0,92; IC95% 0,63 a 1,35;  $p=0,67$ ) (Parikh et al., 2009).

Contudo, metanálise recentemente publicada por Salehi-Abargouei e colaboradores, avaliando o impacto da adoção de dieta tipo DASH sobre a incidência de DCV em estudos de coorte, incluindo um total de 144.337 indivíduos, confirmou a hipótese de que a adoção de padrão alimentar tipo DASH reduz a incidência de DCV em diferentes populações (Salehi-Abargouei et al., 2013). O padrão alimentar tipo DASH pode significativamente reduzir o risco de DCV em 20% (RR = 0,80; IC95% 0,74–0,86;  $P < 0,001$ ); doença arterial coronariana em 21% (RR = 0,79; IC95% 0,71–0,88;  $P < 0,001$ ); acidente vascular cerebral em 19% (RR = 0,81; IC95% 0,72–0,92;  $P < 0,001$ ) e insuficiência cardíaca em 29% (RR = 0,71; IC95% 0,58–0,88;  $P < 0,001$ ). Além disso, associação linear inversa e significativa entre adesão à dieta DASH e desfechos cardiovasculares combinados foi obtido (Salehi-Abargouei et al., 2013). Apesar de o efeito hipotensor da dieta DASH ser mencionado como a principal característica na prevenção de DCV (Bhupathiraju & Tucker, 2011), diversos ensaios clínicos têm proposto mecanismos adicionais para os efeitos da dieta DASH sobre outros fatores de risco para DCV como glicemia em jejum, hemoglobina glicada, colesterol total e lipoproteína de baixa densidade (LDL)-colesterol (Azadbakht et al., 2011; Lien et al., 2007), inflamação (Azadbakht et al., 2011a), e níveis de homocisteína (Appel et al., 2000).

### **Mecanismos de Ação envolvidos nos efeitos da Dieta DASH**

Postulados mecanismos para os efeitos da dieta DASH sobre desfechos cardiovasculares tem se concentrado naqueles potencialmente envolvidos na mediação de efeitos hipotensores. Svetkey e colaboradores em sub-estudo aninhado ao Estudo DASH original, observaram que indivíduos que apresentem polimorfismo G-6A para o gene da Angiotensina, genótipo associado à estimulação do sistema-renina-angiotensina

(SRA), parecem mais responsivos a dieta DASH, sugerindo a participação do SRA na resposta hipotensora induzida pela dieta, de forma independente da indução de alterações na enzima conversora de angiotensina (Svetkey et al., 2001). Em concordância com essa observação, Akita e colaboradores sugeriram que a dieta DASH deva exercer efeito natriurético com base na análise da inclinação da curva pressão-natriurese obtida a partir dos resultados do Estudo DASH-Sodium (Akita et al., 2003). Tais observações têm levado outros autores a sugerirem que a Dieta DASH possa ser capaz de levar a redução do tônus adrenérgico como evidenciado pela modulação gênica do polimorfismo no gene para receptor  $\beta$ 2-adrenergico sobre os efeitos da dieta DASH (Sun et al., 2010).

Entretanto, estudo recente conduzido por Lin e colaboradores sugeriu que a redução na pressão arterial induzida pela dieta DASH estava associada ao aumento na biodisponibilidade de NO e, possivelmente seu efeito sobre o tônus vascular (Lin et al., 2012). As análises não evidenciaram efeitos natriuréticos, supressão do sistema renina-angiotensina-aldosterona ou mesmo redução do tônus adrenérgico (Lin et al., 2012). Contudo, os potenciais efeitos do NO sobre a função endotelial não foram refletidos em melhora da função vascular periférica, definida pela ausência de melhora na resposta vasodilatadora mediada por endotélio em indivíduos normotensos após 30 dias de intervenção (Hodson et al., 2010). Esses achados associados a modificações na variabilidade da frequência cardíaca confirmam evidências anteriores, sugerindo que os efeitos da dieta DASH na pressão arterial parecem ser mediados por mecanismos autonômicos e cardíacos mais do que por alterações na função vascular periférica (Hodson et al., 2010).

O alto teor de potássio, cálcio, magnésio e fibras presentes da dieta DASH têm sido utilizados para explicar os efeitos hipotensores. Se por um lado, evidências para tal relação são observadas quando comparadas a magnitude da redução nos níveis pressóricos no Estudo DASH (Appel et al., 1997) e em ensaios clínicos de suplementação de potássio (MacGregor et al., 1982; He et al., 2005), argumento para os efeitos derivados dos demais nutrientes tem perdido força. Meta-análise conduzida por Jee e colaboradores não conseguiu determinar efeitos significativos para as estimativas combinadas com redução de -0,6 mmHg (IC95% 2,2 a 1,0) na PAS e de 0,8 mmHg (IC95% 1,9 a 0,4) na PAD (Jee et al., 2002). Em meta-análise de 24 ensaios clínicos randomizados de suplementação de fibras (dose média de 11,5 g/dia) não foi observada mudanças significativas na PAS -1,13 mmHg (IC95% -2,49 a 0,23) ou na PAD de -1,26 mmHg (IC95% -2,04 a -0,48) (Streppel et al., 2005). De acordo com isso, estudo conduzido em pacientes obesos mostrou que a redução na pressão arterial induzida pela Dieta DASH nesses pacientes foi independente do teor de potássio, magnésio, e fibras associadas à dieta (Al-Solaiman et al., 2007). Tais evidências trazem à tona a discussão sobre potenciais efeitos derivados de outros nutrientes como, fibras solúveis, folato, vitamina C, e fitoquímicos, tais como flavonóides, carotenóides, e fitoesteróis (Most, 2004), que deveriam resultar em aumento na capacidade antioxidante, podendo assim exercer efeitos não somente na redução da pressão, mas também sobre o perfil lipídico, sensibilidade à insulina e redução estresse oxidativo (Lopes et al., 2003).

Entretanto, ainda não foi avaliado mecanismo pelo qual, pelo menos parte, os efeitos benéficos da dieta DASH poderiam levar a redução significativa na ingestão de AGEs. Essa possibilidade parte da premissa de que os principais alimentos preconizados na dieta DASH possuem quantidades naturalmente menores de AGEs, sendo, em sua maioria menos suscetíveis a produção de AGEs adicionais durante o preparo. Além

disso, a dieta tipo DASH preconiza consumo de menores quantidades de gorduras totais e saturadas que representam fontes de AGEs. Com isso, a adoção de padrão dietético DASH poderia levar a restrição do consumo de AGEs, acarretando benefícios adicionais sobre a inflamação e disfunção endotelial associadas à hipertensão e risco de DCV.

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da adesão à dieta tipo DASH sobre os níveis plasmáticos de AGEs e marcadores de inflamação vascular e sistêmica em pacientes com pré-hipertensão e hipertensão arterial.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver um escore orientado pela hipótese para avaliação de adequação a dieta DASH a partir da frequência de consumo de grupos alimentares;
- Definir a validade e confiabilidade desse escore, bem como, sua associação com níveis pressóricos em indivíduos hipertensos;
- Avaliar o papel dos AGEs como mediadores da associação entre dieta DASH e marcadores de inflamação vascular (VEGF, e-seletina, sICAM e sVCAM) em pacientes com pré-hipertensão e hipertensão arterial.
- Avaliar o papel dos AGEs como mediadores da associação entre dieta DASH e marcadores de inflamação sistêmica (TNF-alfa, IL-1, IL-6, IL-10) e Adiponectina em pacientes com pré-hipertensão e hipertensão arterial.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abordo EA, Minhas HS, Thornalley PJ. Accumulation of alpha-oxoaldehydes during oxidative stress: a role in cytotoxicity. *Biochem Pharmacol.* 1999 Aug 15;58(4):641-8.

Adams DH, Shaw S. Leucocyte-endothelial interactions and regulation of leucocyte migration. *Lancet.* 1994 Apr 2;343(8901):831-6.

Ahmed MU, Dunn JA, Walla MD, Thorpe SR, Baynes JW. Oxidative degradation of glucose adducts to protein. Formation of 3-(N epsilon-lysino)-lactic acid from model compounds and glycated proteins. *J Biol Chem.* 1988 Jun 25;263(18):8816-21.

Akita S, Sacks FM, Svetkey LP, Conlin PR, Kimura G, DASH-Sodium Trial Collaborative Research Group. Effects of the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet on the pressure-natriuresis relationship. *Hypertension.* 2003 Jul;42(1):8-13.

Al-Solaiman Y, Jesri A, Mountford WK, Lackland DT, Zhao Y, Egan BM. DASH lowers blood pressure in obese hypertensives beyond potassium, magnesium and fibre. *J Hum Hypertens.* 2010 Apr;24(4):237-46.

American Heart Association Nutrition Committee, Lichtenstein AH, Appel LJ, Brands M, Carnethon M, Daniels S, et al. Diet and lifestyle recommendations revision 2006: a scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee. *Circulation.* 2006 Jul 4;114(1):82-96.

Anderson MM, Requena JR, Crowley JR, Thorpe SR, Heinecke JW. The myeloperoxidase system of human phagocytes generates N<sup>ε</sup>-(carboxymethyl)lysine on proteins: a mechanism for producing advanced glycation end products at sites of inflammation. *J. Clin. Invest.* 1999;104:103-13.

Appel LJ, Miller ER 3rd, Jee SH, Stolzenberg-Solomon R, Lin PH, Erlinger T, et al. Effect of dietary patterns on serum homocysteine: results of a randomized, controlled feeding study. *Circulation*. 2000 Aug 22;102(8):852-7.

Appel LJ, Moore TJ, Obarzanek E, Vollmer WM, Svetkey LP, Sacks FM, et al. A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. DASH Collaborative Research Group. *N Engl J Med*. 1997 Apr 17;336(16):1117-24.

Aro A, Pietinen P, Valsta LM, Salminen I, Turpeinen AM, Virtanen M, et al. Lack of effect on blood pressure by low fat diets with different fatty acid compositions. *J Hum Hypertens*. 1998 Jun;12(6):383-9.

Asselbergs FW, Monnink SH, Jessurun GA, van Boven AJ, Veeger NJ, Zijlstra F, et al. Assessing the prognostic value of coronary endothelial function in patients referred for a first coronary angiogram. *Am J Cardiol*. 2004 Oct 15;94(8):1063-7.

Azadbakht L, Fard NR, Karimi M, Baghaei MH, Surkan PJ, Rahimi M, et al. Effects of the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) eating plan on cardiovascular risks among type 2 diabetic patients: a randomized crossover clinical trial. *Diabetes Care*. 2011 Jan;34(1):55-7.

Azadbakht L, Surkan PJ, Esmailzadeh A, Willett WC a. The Dietary Approaches to Stop Hypertension eating plan affects C-reactive protein, coagulation abnormalities, and hepatic function tests among type 2 diabetic patients. *J Nutr*. 2011 Jun;141(6):1083-8.

Ballou SP, Lozanski G. Induction of inflammatory cytokine release from cultured human monocytes by C-reactive protein. *Cytokine*. 1992 Sep;4(5):361-8.

Barnes PJ, Karin M. Nuclear factor-kappaB: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N Engl J Med*. 1997 Apr 10;336(15):1066-71.

Basta G, Lazzerini G, Del Turco S, Ratto GM, Schmidt AM, De Caterina R. At least 2 distinct pathways generating reactive oxygen species mediate vascular cell adhesion molecule-1 induction by advanced glycation end products. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005 Jul;25(7):1401-7.

Basta G, Lazzerini G, Massaro M, Simoncini T, Tanganelli P, Fu C, et al. Advanced glycation end products activate endothelium through signal-transduction receptor RAGE: a mechanism for amplification of inflammatory responses. *Circulation*. 2002 Feb 19;105(7):816-22.

Baumann M. Role of advanced glycation end products in hypertension and cardiovascular risk: human studies. *J Am Soc Hypertens*. 2012 Nov-Dec;6(6):427-35.

Bautista LE, López-Jaramillo P, Vera LM, Casas JP, Otero AP, Guaracao AI. Is C-reactive protein an independent risk factor for essential hypertension? *J Hypertens*. 2001 May;19(5):857-61.

Bautista LE, Vera LM, Arenas IA, Gamarra G. Independent association between inflammatory markers (C-reactive protein, interleukin-6, and TNF-alpha) and essential hypertension. *J Hum Hypertens*. 2005 Feb;19(2):149-54.

Benjamin EJ, Larson MG, Keyes MJ, Mitchell GF, Vasan RS, Keaney JF Jr, et al. Clinical correlates and heritability of flow-mediated dilation in the community: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2004 Feb 10;109(5):613-9.

Beyer FR, Dickinson HO, Nicolson DJ, Ford GA, Mason J. Combined calcium, magnesium and potassium supplementation for the management of primary hypertension in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006 Jul 19;(3):CD004805.

Bhupathiraju SN, Tucker KL. Coronary heart disease prevention: nutrients, foods, and dietary patterns. *Clin Chim Acta*. 2011 Aug 17;412(17-18):1493-514.

Bierhaus A, Illmer T, Kasper M, Luther T, Quehenberger P, Tritschler H, et al. Advanced glycation end product (AGE)-mediated induction of tissue factor in cultured endothelial cells is dependent on RAGE. *Circulation*. 1997 Oct 7;96(7):2262-71.

Blake GJ, Ridker PM. Novel clinical markers of vascular wall inflammation. *Circ Res*. 2001 Oct 26;89(9):763-71.

Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003 Feb 1;23(2):168-75.

Brunner H, Cockcroft JR, Deanfield J, Donald A, Ferrannini E, Halcox J, et al. Endothelial function and dysfunction. Part II: Association with cardiovascular risk factors and diseases. A statement by the Working Group on Endothelins and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens*. 2005 Feb;23(2):233-46.

Bucala R, Tracey KJ, Cerami A. Advanced glycosylation products quench nitric oxide and mediate defective endothelium-dependent vasodilatation in experimental diabetes. *J Clin Invest*. 1991 Feb;87(2):432-8.

Bucher HC, Cook RJ, Guyatt GH, Lang JD, Cook DJ, Hatala R, et al. Effects of dietary calcium supplementation on blood pressure. A meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA*. 1996 Apr 3;275(13):1016-22.

Cai W, He JC, Zhu L, Chen X, Zheng F, Striker GE, et al. Oral glycotoxins determine the effects of calorie restriction on oxidant stress, age-related diseases, and lifespan. *Am J Pathol*. 2008 Aug;173(2):327-36.

Campuzano R, Moya JL, García-Lledó A, Tomas JP, Ruiz S, Megías A, et al. Endothelial dysfunction, intima-media thickness and coronary reserve in relation to risk factors and Framingham score in patients without clinical atherosclerosis. *J Hypertens*. 2006 Aug;24(8):1581-8.

Cappuccio FP, Elliott P, Allender PS, Pryer J, Follman DA, Cutler JA. Epidemiologic association between dietary calcium intake and blood pressure: a meta-analysis of published data. *Am J Epidemiol*. 1995 Nov 1;142(9):935-45.

Chae CU, Lee RT, Rifai N, Ridker PM. Blood pressure and inflammation in apparently healthy men. *Hypertension*. 2001 Sep;38(3):399-403.

Chao P, Hsu C, Yin M. Analysis of glycative products in sauces and sauce-treated foods. *Food Chemistry*. 2009 Mar 1;11:262–266.

Chen ST, Maruthur NM, Appel LJ. The effect of dietary patterns on estimated coronary heart disease risk: results from the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) trial. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2010 Sep;3(5):484-9.

Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL Jr, et al. National Heart, Lung, and Blood Institute; National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension*. 2003 Dec;42(6):1206-52. Epub 2003 Dec 1.

de la Sierra A, Larrousse M. Endothelial dysfunction is associated with increased levels of biomarkers in essential hypertension. *J Hum Hypertens*. 2010 Jun;24(6):373-9.

Delgado-Andrade C, Seiquer I, Navarro MP, Morales FJ. Maillard reaction indicators in diets usually consumed by adolescent population. *Mol Nutr Food Res*. 2007 Mar;51(3):341-51.

Dharmashankar K, Widlansky ME. Vascular endothelial function and hypertension: insights and directions. *Curr Hypertens Rep*. 2010 Dec;12(6):448-55.

Doughan AK, Harrison DG, Dikalov SI. Molecular mechanisms of angiotensin II-mediated mitochondrial dysfunction: linking mitochondrial oxidative damage and vascular endothelial dysfunction. *Circ Res*. 2008 Feb 29;102(4):488-96.

Eble AS, Thorpe SR, Baynes JW. Nonenzymatic glycosylation and glucose-dependent cross-linking of protein. *J Biol Chem*. 1983 Aug 10;258(15):9406-12.

Erbersdobler HF, Somoza V. Forty years of furosine - forty years of using Maillard reaction products as indicators of the nutritional quality of foods. *Mol Nutr Food Res*. 2007 Apr;51(4):423-30.

ESH/ESC Task Force for the Management of Arterial Hypertension. 2013 Practice guidelines for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and the European Society of Cardiology (ESC): ESH/ESC Task Force for the Management of Arterial Hypertension. *J Hypertens*. 2013 Oct;31(10):1925-38.

Esposito C, Gerlach H, Brett J, Stern D, Vlassara H. Endothelial receptor-mediated binding of glucose-modified albumin is associated with increased monolayer

permeability and modulation of cell surface coagulant properties. *J Exp Med*. 1989 Oct 1;170(4):1387-407.

Etter H, Althaus R, Eugster HP, Santamaria-Babi LF, Weber L, Moser R. IL-4 and IL-13 downregulate rolling adhesion of leukocytes to IL-1 or TNF-alpha-activated endothelial cells by limiting the interval of E-selectin expression. *Cytokine*. 1998 Jun;10(6):395-403.

Fathi R, Haluska B, Isbel N, Short L, Marwick TH. The relative importance of vascular structure and function in predicting cardiovascular events. *J Am Coll Cardiol*. 2004 Feb 18;43(4):616-23.

Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev*. 1997 Feb;18(1):4-25.

Ferreira AE, Ponces Freire AM, Voit EO. A quantitative model of the generation of N(epsilon)-(carboxymethyl)lysine in the Maillard reaction between collagen and glucose. *Biochem J*. 2003 Nov 15;376(Pt 1):109-21.

Folsom AR, Parker ED, Harnack LJ. Degree of concordance with DASH diet guidelines and incidence of hypertension and fatal cardiovascular disease. *Am J Hypertens*. 2007 Mar;20(3):225-32.

Forte P, Copland M, Smith LM, Milne E, Sutherland J, Benjamin N. Basal nitric oxide synthesis in essential hypertension. *Lancet*. 1997 Mar 22;349(9055):837-42.

Fu MX, Requena JR, Jenkins AJ, Lyons TJ, Baynes JW, Thorpe SR. The advanced glycation end product, Nepsilon-(carboxymethyl)lysine, is a product of both lipid peroxidation and glycoxidation reactions. *J Biol Chem*. 1996 Apr 26;271(17):9982-6.

Fuchs FD, Fuchs SC, Moreira LB, Gus M. Proof of concept in cardiovascular risk: the paradoxical findings in blood pressure and lipid abnormalities. *Vasc Health Risk Manag.* 2012;8:437-42.

Fung TT, Chiuve SE, McCullough ML, Rexrode KM, Logroscino G, Hu FB. Adherence to a DASH-style diet and risk of coronary heart disease and stroke in women. *Arch Intern Med.* 2008 Apr 14;168(7):713-20.

Geroldi D, Falcone C, Emanuele E, D'Angelo A, Calcagnino M, Buzzi MP, et al. Decreased plasma levels of soluble receptor for advanced glycation end-products in patients with essential hypertension. *J Hypertens.* 2005 Sep;23(9):1725-9.

Glomb MA, Monnier VM. Mechanism of protein modification by glyoxal and glycolaldehyde, reactive intermediates of the Maillard reaction. *J Biol Chem.* 1995 Apr 28;270(17):10017-26.

Goldberg T, Cai W, Peppas M, Dardaine V, Baliga BS, Uribarri J, et al. Advanced glycoxidation end products in commonly consumed foods. *J Am Diet Assoc.* 2004 Aug;104(8):1287-91.

Han L, Li L, Li B, Zhao D, Li Y, Xu Z, et al. Hydroxyl radical induced by lipid in Maillard reaction model system promotes diet-derived N( $\epsilon$ )-carboxymethyllysine formation. *Food Chem Toxicol.* 2013 Oct;60:536-41.

He FJ, Markandu ND, Coltart R, Barron J, MacGregor GA. Effect of short-term supplementation of potassium chloride and potassium citrate on blood pressure in hypertensives. *Hypertension.* 2005 Apr;45(4):571-4.

He J, Whelton PK. Effect of dietary fiber and protein intake on blood pressure: a review of epidemiologic evidence. *Clin Exp Hypertens*. 1999 Jul-Aug;21(5-6):785-96.

Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K, Meinertz T, Münzel T. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 2001 Nov 27;104(22):2673-8.

Higashi T, Sano H, Saishoji T, Ikeda K, Jinnouchi Y, Kanzaki T, et al. The receptor for advanced glycation end products mediates the chemotaxis of rabbit smooth muscle cells. *Diabetes*. 1997 Mar;46(3):463-72.

Higashi Y, Sasaki S, Nakagawa K, Matsuura H, Chayama K, Oshima T. Effect of obesity on endothelium-dependent, nitric oxide-mediated vasodilation in normotensive individuals and patients with essential hypertension. *Am J Hypertens*. 2001 Oct;14(10):1038-45.

Hodson L, Harnden KE, Roberts R, Dennis AL, Frayn KN. Does the DASH diet lower blood pressure by altering peripheral vascular function? *J Hum Hypertens*. 2010 May;24(5):312-9.

Hori O, Brett J, Slattery T, Cao R, Zhang J, Chen JX, et al. The receptor for advanced glycation end products (RAGE) is a cellular binding site for amphotericin. Mediation of neurite outgrowth and co-expression of RAGE and amphotericin in the developing nervous system. *J Biol Chem*. 1995 Oct 27;270(43):25752-61.

Hull GLJ, Woodside JV, Ames JM, Cuskelly GJ. N<sup>ε</sup>-(carboxymethyl)lysine content of foods commonly consumed in a Western style diet. *Food Chem*. 2012;131:170–174.

Hwang SJ, Ballantyne CM, Sharrett AR, Smith LC, Davis CE, Gotto AM Jr, et al. Circulating adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1, and E-selectin in carotid atherosclerosis and incident coronary heart disease cases: the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. *Circulation*. 1997 Dec 16;96(12):4219-25.

Ikeda K, Higashi T, Sano H, Jinnouchi Y, Yoshida M, Araki T, et al. N (epsilon)-(carboxymethyl)lysine protein adduct is a major immunological epitope in proteins modified with advanced glycation end products of the Maillard reaction. *Biochemistry*. 1996 Jun 18;35(24):8075-83.

Inagaki Y, Yamagishi S, Okamoto T, Takeuchi M, Amano S. Pigment epithelium-derived factor prevents advanced glycation end products-induced monocyte chemoattractant protein-1 production in microvascular endothelial cells by suppressing intracellular reactive oxygen species generation. *Diabetologia*. 2003 Feb;46(2):284-7.

Intersalt Cooperative Research Group. Intersalt: an international study of electrolyte excretion and blood pressure. Results for 24 hour urinary sodium and potassium excretion. *BMJ*. 1988 Jul 30;297(6644):319-28.

Jee SH, Miller ER 3rd, Guallar E, Singh VK, Appel LJ, Klag MJ. The effect of magnesium supplementation on blood pressure: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Am J Hypertens*. 2002 Aug;15(8):691-6.

Juonala M, Viikari JS, Rönnemaa T, Helenius H, Taittonen L, Raitakari OT. Elevated blood pressure in adolescent boys predicts endothelial dysfunction: the cardiovascular risk in young Finns study. *Hypertension*. 2006 Sep;48(3):424-30.

Jurva JW, Phillips SA, Syed AQ, Syed AY, Pitt S, Weaver A, et al. The effect of exertional hypertension evoked by weight lifting on vascular endothelial function. *J Am Coll Cardiol*. 2006 Aug 1;48(3):588-9.

Kass DA, Shapiro EP, Kawaguchi M, Capriotti AR, Scuteri A, deGroot RC, et al. Improved arterial compliance by a novel advanced glycation end-product crosslink breaker. *Circulation*. 2001 Sep 25;104(13):1464-70.

Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet*. 2005 Jan 15-21;365(9455):217-23.

Kellow NJ, Savage GS. Dietary advanced glycation end-product restriction for the attenuation of insulin resistance, oxidative stress and endothelial dysfunction: a systematic review. *Eur J Clin Nutr*. 2013 Mar;67(3):239-48.

Kim I, Moon SO, Kim SH, Kim HJ, Koh YS, Koh GY. Vascular endothelial growth factor expression of intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1), vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1), and E-selectin through nuclear factor-kappa B activation in endothelial cells. *J Biol Chem*. 2001 Mar 9;276(10):7614-20.

Kirstein M, Aston C, Hintz R, Vlassara H. Receptor-specific induction of insulin-like growth factor I in human monocytes by advanced glycosylation end product-modified proteins. *J Clin Invest*. 1992 Aug;90(2):439-46.

Kirstein M, Brett J, Radoff S, Ogawa S, Stern D, Vlassara H. Advanced protein glycosylation induces transendothelial human monocyte chemotaxis and secretion of platelet-derived growth factor: role in vascular disease of diabetes and aging. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990 Nov;87(22):9010-4.

Kislinger T, Fu C, Huber B, Qu W, Taguchi A, Du Yan S, et al. N(epsilon)-(carboxymethyl)lysine adducts of proteins are ligands for receptor for advanced glycation end products that activate cell signaling pathways and modulate gene expression. *J Biol Chem*. 1999 Oct 29;274(44):31740-9.

Koenig W, Sund M, Fröhlich M, Fischer HG, Löwel H, Döring A, et al. C-Reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-aged men: results from the MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992. *Circulation*. 1999 Jan 19;99(2):237-42.

Koschinsky T, He CJ, Mitsuhashi T, Bucala R, Liu C, Buenting C, et al. Orally absorbed reactive glycation products (glycotoxins): an environmental risk factor in diabetic nephropathy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997 Jun 10;94(12):6474-9.

Kume S, Takeya M, Mori T, Araki N, Suzuki H, Horiuchi S, et al. Immunohistochemical and ultrastructural detection of advanced glycation end products in atherosclerotic lesions of human aorta with a novel specific monoclonal antibody. *Am J Pathol*. 1995 Sep;147(3):654-67.

Lakoski SG, Cushman M, Palmas W, Blumenthal R, D'Agostino RB Jr, Herrington DM. The relationship between blood pressure and C-reactive protein in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *J Am Coll Cardiol*. 2005 Nov 15;46(10):1869-74.

Laurent S, Boutouyrie P, Asmar R, Gautier I, Laloux B, Guize L, et al. Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. *Hypertension*. 2001 May;37(5):1236-41.

Law MR, Morris JK, Wald NJ. Use of blood pressure lowering drugs in the prevention of cardiovascular disease: meta-analysis of 147 randomised trials in the context of expectations from prospective epidemiological studies. *BMJ*. 2009 May 19;338:b1665.

Lerman A, Zeiher AM. Endothelial function: cardiac events. *Circulation*. 2005 Jan 25;111(3):363-8.

Levenson JW, Skerrett PJ, Gaziano JM. Reducing the global burden of cardiovascular disease: the role of risk factors. *Prev Cardiol*. 2002 Fall;5(4):188-99.

Levitan EB, Wolk A, Mittleman MA. Consistency with the DASH diet and incidence of heart failure. *Arch Intern Med*. 2009 May 11;169(9):851-7.

Levitan EB, Wolk A, Mittleman MA. Relation of consistency with the dietary approaches to stop hypertension diet and incidence of heart failure in men aged 45 to 79 years. *Am J Cardiol*. 2009 Nov 15;104(10):1416-20.

Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, Peto R, Collins R; Prospective Studies Collaboration. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet*. 2002 Dec 14;360(9349):1903-13.

Li J, Schmidt AM. Characterization and functional analysis of the promoter of RAGE, the receptor for advanced glycation end products. *J Biol Chem*. 1997 Jun 27;272(26):16498-506.

Lien LF, Brown AJ, Ard JD, Loria C, Erlinger TP, Feldstein AC, et al. Effects of PREMIER lifestyle modifications on participants with and without the metabolic syndrome. *Hypertension*. 2007 Oct;50(4):609-16.

Lim SS, Vos T, Flaxman AD, Danaei G, Shibuya K, Adair-Rohani H, et al. A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2012 Dec 15;380(9859):2224-60.

Lin PH, Allen JD, Li YJ, Yu M, Lien LF, Svetkey LP. Blood Pressure-Lowering Mechanisms of the DASH Dietary Pattern. *J Nutr Metab*. 2012;2012:472396.

Liu H, Zheng F, Cao Q, Ren B, Zhu L, Striker G, et al. Amelioration of oxidant stress by the defensin lysozyme. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2006 May;290(5):E824-32.

Lopes HF, Martin KL, Nashar K, Morrow JD, Goodfriend TL, Egan BM. DASH diet lowers blood pressure and lipid-induced oxidative stress in obesity. *Hypertension*. 2003 Mar;41(3):422-30.

Lorenzi M. The polyol pathway as a mechanism for diabetic retinopathy: attractive, elusive, and resilient. *Exp Diabetes Res*. 2007;2007:61038.

Lu C, He JC, Cai W, Liu H, Zhu L, Vlassara H. Advanced glycation endproduct (AGE) receptor 1 is a negative regulator of the inflammatory response to AGE in mesangial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Aug 10;101(32):11767-72.

MacGregor GA, Smith SJ, Markandu ND, Banks RA, Sagnella GA. Moderate potassium supplementation in essential hypertension. *Lancet*. 1982 Sep 11;2(8298):567-70.

Mahmud A, Feely J. Arterial stiffness is related to systemic inflammation in essential hypertension. *Hypertension*. 2005 Nov;46(5):1118-22.

Makita Z, Radoff S, Rayfield EJ, Yang Z, Skolnik E, Delaney V, et al. Advanced glycosylation end products in patients with diabetic nephropathy. *N Engl J Med*. 1991 Sep 19;325(12):836-42.

Malherbe P, Richards JG, Gaillard H, Thompson A, Diener C, Schuler A, et al. cDNA cloning of a novel secreted isoform of the human receptor for advanced glycation end products and characterization of cells co-expressing cell-surface scavenger receptors and Swedish mutant amyloid precursor protein. *Brain Res Mol Brain Res*. 1999 Aug 25;71(2):159-70.

Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, Cifkova R, Fagard R, Germano G, et al. 2007 ESH-ESC Practice Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: ESH-ESC Task Force on the Management of Arterial Hypertension. *J Hypertens*. 2007 Sep;25(9):1751-62.

Margetts BM, Beilin LJ, Vandongen R, Armstrong BK. A randomized controlled trial of the effect of dietary fibre on blood pressure. *Clin Sci (Lond)*. 1987 Mar;72(3):343-50.

Margetts BM, Beilin LJ, Vandongen R, Armstrong BK. Vegetarian diet in mild hypertension: a randomised controlled trial. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1986 Dec 6;293(6560):1468-71.

Mark AB, Poulsen MW, Andersen S, Andersen JM, Bak MJ, Ritz C, et al. Consumption of a diet low in advanced glycation end products for 4 weeks improves insulin sensitivity in overweight women. *Diabetes Care*. 2014 Jan;37(1):88-95.

Mauno V, Hannu K, Esko K. Proinflammation and hypertension: a population-based study. *Mediators Inflamm*. 2008;2008:619704.

McDougall J, Litzau K, Haver E, Saunders V, Spiller GA. Rapid reduction of serum cholesterol and blood pressure by a twelve-day, very low fat, strictly vegetarian diet. *J Am Coll Nutr.* 1995 Oct;14(5):491-6.

Miller MA, Kerry SM, Cook DG, Cappuccio FP. Cellular adhesion molecules and blood pressure: interaction with sex in a multi-ethnic population. *J Hypertens.* 2004 Apr;22(4):705-11.

Mizushima S, Cappuccio FP, Nichols R, Elliott P. Dietary magnesium intake and blood pressure: a qualitative overview of the observational studies. *J Hum Hypertens.* 1998 Jul;12(7):447-53.

Modena MG, Bonetti L, Coppi F, Bursi F, Rossi R. Prognostic role of reversible endothelial dysfunction in hypertensive postmenopausal women. *J Am Coll Cardiol.* 2002 Aug 7;40(3):505-10.

Moreira LB, Fuchs SC, Wiehe M, Gus M, Moraes RS, Fuchs FD. Incidence of hypertension in Porto Alegre, Brazil: a population-based study. *J Hum Hypertens.* 2008 Jan;22(1):48-50.

Morris MC, Sacks F, Rosner B. Does fish oil lower blood pressure? A meta-analysis of controlled trials. *Circulation.* 1993 Aug;88(2):523-33.

Mortensen RF, Zhong W. Regulation of phagocytic leukocyte activities by C-reactive protein. *J Leukoc Biol.* 2000 Apr;67(4):495-500.

Most MM. Estimated phytochemical content of the dietary approaches to stop hypertension (DASH) diet is higher than in the Control Study Diet. *J Am Diet Assoc.* 2004 Nov;104(11):1725-7.

Nagai R, Ikeda K, Higashi T, Sano H, Jinnouchi Y, Araki T, et al. Hydroxyl radical mediates N epsilon-(carboxymethyl)lysine formation from Amadori product. *Biochem Biophys Res Commun*. 1997 May 8;234(1):167-72.

Neeper M, Schmidt AM, Brett J, Yan SD, Wang F, Pan YC, et al. Cloning and expression of a cell surface receptor for advanced glycosylation end products of proteins. *J Biol Chem*. 1992 Jul 25;267(21):14998-5004.

Negrean M, Stirban A, Stratmann B, Gawlowski T, Horstmann T, Götting C, et al. Effects of low- and high-advanced glycation endproduct meals on macro- and microvascular endothelial function and oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr*. 2007 May;85(5):1236-43.

Neunteufl T, Katzenschlager R, Hassan A, Klar U, Schwarzacher S, Glogar D, et al. Systemic endothelial dysfunction is related to the extent and severity of coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 1997 Feb 28;129(1):111-8.

Newby DE, McLeod AL, Uren NG, Flint L, Ludlam CA, Webb DJ, et al. Impaired coronary tissue plasminogen activator release is associated with coronary atherosclerosis and cigarette smoking: direct link between endothelial dysfunction and atherothrombosis. *Circulation*. 2001 Apr 17;103(15):1936-41.

Ng SB, Tan YH, Guy GR. Differential induction of the interleukin-6 gene by tumor necrosis factor and interleukin-1. *J Biol Chem*. 1994 Jul 22;269(29):19021-7.

Obarzanek E, Velletri PA, Cutler JA. Dietary protein and blood pressure. *JAMA*. 1996 May 22-29;275(20):1598-603.

Olszyna DP, Pajkrt D, Lauw FN, van Deventer SJ, van Der Poll T. Interleukin 10 inhibits the release of CC chemokines during human endotoxemia. *J Infect Dis.* 2000 Feb;181(2):613-20.

Oudegeest-Sander MH, Olde Rikkert MG, Smits P, Thijssen DH, van Dijk AP, Levine BD, et al. The effect of an advanced glycation end-product crosslink breaker and exercise training on vascular function in older individuals: a randomized factorial design trial. *Exp Gerontol.* 2013 Dec;48(12):1509-17.

Panza JA, Casino PR, Kilcoyne CM, Quyyumi AA. Role of endothelium-derived nitric oxide in the abnormal endothelium-dependent vascular relaxation of patients with essential hypertension. *Circulation.* 1993 May;87(5):1468-74.

Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE Jr, Epstein SE. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med.* 1990 Jul 5;323(1):22-7.

Parikh A, Lipsitz SR, Natarajan S. Association between a DASH-like diet and mortality in adults with hypertension: findings from a population-based follow-up study. *Am J Hypertens.* 2009 Apr;22(4):409-16.

Parissis JT, Korovesis S, Giazitzoglou E, Kalivas P, Katritsis D. Plasma profiles of peripheral monocyte-related inflammatory markers in patients with arterial hypertension. Correlations with plasma endothelin-1. *Int J Cardiol.* 2002 Apr;83(1):13-21.

Pasceri V, Willerson JT, Yeh ET. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation.* 2000 Oct 31;102(18):2165-8.

Peeters AC, Netea MG, Janssen MC, Kullberg BJ, Van der Meer JW, Thien T. Pro-inflammatory cytokines in patients with essential hypertension. *Eur J Clin Invest*. 2001 Jan;31(1):31-6.

Perticone F, Ceravolo R, Pujia A, Ventura G, Iacopino S, Scozzafava A, et al. Prognostic significance of endothelial dysfunction in hypertensive patients. *Circulation*. 2001 Jul 10;104(2):191-6.

Picon RV, Fuchs FD, Moreira LB, Riegel G, Fuchs SC. Trends in prevalence of hypertension in Brazil: a systematic review with meta-analysis. *PLoS One*. 2012;7(10):e48255.

Pietri P, Vyssoulis G, Vlachopoulos C, Zervoudaki A, Gialernios T, Aznaouridis K, et al. Relationship between low-grade inflammation and arterial stiffness in patients with essential hypertension. *J Hypertens*. 2006 Nov;24(11):2231-8.

Pober JS, Gimbrone MA Jr, Lapierre LA, Mendrick DL, Fiers W, Rothlein R, et al. Overlapping patterns of activation of human endothelial cells by interleukin 1, tumor necrosis factor, and immune interferon. *J Immunol*. 1986 Sep 15;137(6):1893-6.

Poulsen MW, Bak MJ, Andersen JM, Monošík R, Giraudi-Futin AC, Holst JJ, et al. Effect of dietary advanced glycation end products on postprandial appetite, inflammation, and endothelial activation in healthy overweight individuals. *Eur J Nutr*. 2014;53(2):661-72.

Preston RA, Ledford M, Materson BJ, Baltodano NM, Memon A, Alonso A. Effects of severe, uncontrolled hypertension on endothelial activation: soluble vascular cell

adhesion molecule-1, soluble intercellular adhesion molecule-1 and von Willebrand factor. *J Hypertens*. 2002 May;20(5):871-7.

Price DT, Loscalzo J. Cellular adhesion molecules and atherogenesis. *Am J Med*. 1999 Jul;107(1):85-97.

Puska P, Iacono JM, Nissinen A, Korhonen HJ, Vartianinen E, Pietinen P, et al. Controlled, randomised trial of the effect of dietary fat on blood pressure. *Lancet*. 1983 Jan 1;1(8314-5):1-5.

Quyyumi AA, Mulcahy D, Andrews NP, Husain S, Panza JA, Cannon RO 3rd. Coronary vascular nitric oxide activity in hypertension and hypercholesterolemia. Comparison of acetylcholine and substance P. *Circulation*. 1997 Jan 7;95(1):104-10.

Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Plasma concentration of C-reactive protein and risk of developing peripheral vascular disease. *Circulation*. 1998 Feb 10;97(5):425-8.

Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation*. 2000 Apr 18;101(15):1767-72.

Ross, R. Atherosclerosis - An Inflammatory Disease. *N Engl J Med*. 1999 Jan 14;340(2):115-26.

Rossi R, Chiurlia E, Nuzzo A, Cioni E, Origliani G, Modena MG. Flow-mediated vasodilation and the risk of developing hypertension in healthy postmenopausal women. *J Am Coll Cardiol*. 2004 Oct 19;44(8):1636-40.

Rossi R, Cioni E, Nuzzo A, Origliani G, Modena MG. Endothelial-dependent vasodilation and incidence of type 2 diabetes in a population of healthy postmenopausal women. *Diabetes Care*. 2005 Mar;28(3):702-7.

Rouse IL, Beilin LJ, Armstrong BK, Vandongen R. Blood-pressure-lowering effect of a vegetarian diet: controlled trial in normotensive subjects. *Lancet*. 1983 Jan 1;1(8314-5):5-10.

Sacks FM, Brown LE, Appel L, Borhani NO, Evans D, Whelton P. Combinations of potassium, calcium, and magnesium supplements in hypertension. *Hypertension*. 1995 Dec;26(6 Pt 1):950-6.

Sacks FM, Kass EH. Low blood pressure in vegetarians: effects of specific foods and nutrients. *Am J Clin Nutr*. 1988 Sep;48(3 Suppl):795-800.

Sacks FM, Svetkey LP, Vollmer WM, Appel LJ, Bray GA, Harsha D, et al. Effects on blood pressure of reduced dietary sodium and the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet. DASH-Sodium Collaborative Research Group. *N Engl J Med*. 2001 Jan 4;344(1):3-10.

Sacks FM, Willett WC, Smith A, Brown LE, Rosner B, Moore TJ. Effect on blood pressure of potassium, calcium, and magnesium in women with low habitual intake. *Hypertension*. 1998 Jan;31(1):131-8.

Sakaguchi T, Yan SF, Yan SD, Belov D, Rong LL, Sousa M, et al. Central role of RAGE-dependent neointimal expansion in arterial restenosis. *J Clin Invest*. 2003 Apr;111(7):959-72.

Salehi-Abargouei A, Maghsoudi Z, Shirani F, Azadbakht L. Effects of Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH)-style diet on fatal or nonfatal cardiovascular diseases--incidence: a systematic review and meta-analysis on observational prospective studies. *Nutrition*. 2013 Apr;29(4):611-8.

Schmidt AM, Hori O, Brett J, Yan SD, Wautier JL, Stern D. Cellular receptors for advanced glycation end products. Implications for induction of oxidant stress and cellular dysfunction in the pathogenesis of vascular lesions. *Arterioscler Thromb*. 1994 Oct;14(10):1521-8.

Schmidt AM, Hori O, Chen JX, Li JF, Crandall J, Zhang J, et al. Advanced glycation endproducts interacting with their endothelial receptor induce expression of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in cultured human endothelial cells and in mice. A potential mechanism for the accelerated vasculopathy of diabetes. *J Clin Invest*. 1995 Sep;96(3):1395-403.

Schmidt AM, Yan SD, Wautier JL, Stern D. Activation of receptor for advanced glycation end products: a mechanism for chronic vascular dysfunction in diabetic vasculopathy and atherosclerosis. *Circ Res*. 1999 Mar 19;84(5):489-97.

Schram MT, Schalkwijk CG, Bootsma AH, Fuller JH, Chaturvedi N, Stehouwer CD; EURODIAB Prospective Complications Study Group. Advanced glycation end products are associated with pulse pressure in type 1 diabetes: the EURODIAB Prospective Complications Study. *Hypertension*. 2005 Jul;46(1):232-7.

Semba RD, Gebauer SK, Baer DJ, Sun K, Turner R, Silber HA, et al. Dietary intake of advanced glycation end products did not affect endothelial function and inflammation in healthy adults in a randomized controlled trial. *J Nutr*. 2014 Jul;144(7):1037-42.

Shimbo D, Muntner P, Mann D, Viera AJ, Homma S, Polak JF, et al. Endothelial dysfunction and the risk of hypertension: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Hypertension*. 2010 May;55(5):1210-6.

Sociedade Brasileira de Cardiologia/Sociedade Brasileira de Hipertensão/ Sociedade Brasileira de Nefrologia. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. *Arq Bras Cardiol* 2010; 95(1 supl.1): 1-51.

Song S, Ling-Hu H, Roebuck KA, Rabbi MF, Donnelly RP, Finnegan A. Interleukin-10 inhibits interferon-gamma-induced intercellular adhesion molecule-1 gene transcription in human monocytes. *Blood*. 1997 Jun 15;89(12):4461-9.

Srey C, Hull GL, Connolly L, Elliott CT, del Castillo MD, Ames JM. Effect of inhibitor compounds on N $\epsilon$ -(carboxymethyl)lysine (CML) and N $\epsilon$ -(carboxyethyl)lysine (CEL) formation in model foods. *J Agric Food Chem*. 2010 Nov 24;58(22):12036-41.

Stamler J, Caggiula AW, Grandits GA. Relation of body mass and alcohol, nutrient, fiber, and caffeine intakes to blood pressure in the special intervention and usual care groups in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Am J Clin Nutr*. 1997 Jan;65(1 Suppl):338S-365S.

Stamler J, Elliott P, Kesteloot H, Nichols R, Claeys G, Dyer AR, et al. Inverse relation of dietary protein markers with blood pressure. Findings for 10,020 men and women in the INTERSALT Study. INTERSALT Cooperative Research Group. INTERNATIONAL study of SALT and blood pressure. *Circulation*. 1996 Oct 1;94(7):1629-34.

Stefanadi E, Tousoulis D, Androulakis ES, Papageorgiou N, Charakida M, Siasos G, et al. Inflammatory markers in essential hypertension: potential clinical implications. *Curr Vasc Pharmacol*. 2010 Jul;8(4):509-16.

Stirban A, Negrean M, Stratmann B, Gawlowski T, Horstmann T, Götting C, et al. Benfotiamine prevents macro- and microvascular endothelial dysfunction and oxidative stress following a meal rich in advanced glycation end products in individuals with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2006 Sep;29(9):2064-71.

Streppel MT, Arends LR, van 't Veer P, Grobbee DE, Geleijnse JM. Dietary fiber and blood pressure: a meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. *Arch Intern Med*. 2005 Jan 24;165(2):150-6.

Sun B, Williams JS, Svetkey LP, Kolatkar NS, Conlin PR. Beta2-adrenergic receptor genotype affects the renin-angiotensin-aldosterone system response to the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) dietary pattern. *Am J Clin Nutr*. 2010 Aug;92(2):444-9.

Swain JF, Rouse IL, Curley CB, Sacks FM. Comparison of the effects of oat bran and low-fiber wheat on serum lipoprotein levels and blood pressure. *N Engl J Med*. 1990 Jan 18;322(3):147-52.

Taddei S, Ghiadoni L, Virdis A, Versari D, Salvetti A. Mechanisms of endothelial dysfunction: clinical significance and preventive non-pharmacological therapeutic strategies. *Curr Pharm Des*. 2003;9(29):2385-402.

Taddei S, Salvetti A. Endothelial dysfunction in essential hypertension: clinical implications. *J Hypertens*. 2002 Sep;20(9):1671-4.

Takeda R, Suzuki E, Satonaka H, Oba S, Nishimatsu H, Omata M, et al. Blockade of endogenous cytokines mitigates neointimal formation in obese Zucker rats. *Circulation*. 2005 Mar 22;111(11):1398-406.

Targonski PV, Bonetti PO, Pumper GM, Higano ST, Holmes DR Jr, Lerman A. Coronary endothelial dysfunction is associated with an increased risk of cerebrovascular events. *Circulation*. 2003 Jun 10;107(22):2805-9.

Thorpe SR, Baynes JW. CML: a brief history. *Int Congr Ser*. 2002;1245:91–9.

Ting HH, Timimi FK, Boles KS, Creager SJ, Ganz P, Creager MA. Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilation in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest*. 1996 Jan 1;97(1):22-8.

Treasure CB, Manoukian SV, Klein JL, Vita JA, Nabel EG, Renwick GH, et al. Epicardial coronary artery responses to acetylcholine are impaired in hypertensive patients. *Circ Res*. 1992 Oct;71(4):776-81.

Trials of Hypertension Prevention (TOHP) Collaborative Research Group. The effects of nonpharmacologic interventions on blood pressure of persons with high normal levels. Results of the Trials of Hypertension Prevention, Phase I. *JAMA*. 1992 Mar 4;267(9):1213-20.

Uribarri J, Cai W, Peppas M, Goodman S, Ferrucci L, Striker G, et al. Circulating glycotoxins and dietary advanced glycation endproducts: two links to inflammatory response, oxidative stress, and aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2007 Apr;62(4):427-33.

Uribarri J, Cai W, Sandu O, Peppia M, Goldberg T, Vlassara H. Diet-derived advanced glycation end products are major contributors to the body's AGE pool and induce inflammation in healthy subjects. *Ann N Y Acad Sci.* 2005 Jun;1043:461-6.

Uribarri J, Peppia M, Cai W, Goldberg T, Lu M, Baliga S, et al. Dietary glycotoxins correlate with circulating advanced glycation end product levels in renal failure patients. *Am J Kidney Dis.* 2003 Sep;42(3):532-8.

Uribarri J, Stirban A, Sander D, Cai W, Negrean M, Buenting CE, et al. Single oral challenge by advanced glycation end products acutely impairs endothelial function in diabetic and nondiabetic subjects. *Diabetes Care.* 2007 Oct;30(10):2579-82.

Uribarri J, Woodruff S, Goodman S, Cai W, Chen X, Pyzik R, et al. Advanced glycation end products in foods and a practical guide to their reduction in the diet. *J Am Diet Assoc.* 2010 Jun;110(6):911-16.

van Bussel BC, Schouten F, Henry RM, Schalkwijk CG, de Boer MR, Ferreira I, et al. Endothelial dysfunction and low-grade inflammation are associated with greater arterial stiffness over a 6-year period. *Hypertension.* 2011 Oct;58(4):588-95.

Vander Jagt DL, Hunsaker LA. Methylglyoxal metabolism and diabetic complications: roles of aldose reductase, glyoxalase-I, betaine aldehyde dehydrogenase and 2-oxoaldehyde dehydrogenase. *Chem Biol Interact.* 2003 Feb 1;143-144:341-51.

Vanhoutte PM. Endothelium and control of vascular function. State of the Art lecture. *Hypertension.* 1989 Jun;13(6 Pt 2):658-67.

Vasan RS, Larson MG, Leip EP, Evans JC, O'Donnell CJ, Kannel WB, et al. Impact of high-normal blood pressure on the risk of cardiovascular disease. *N Engl J Med*. 2001 Nov 1;345(18):1291-7.

Vasdev S, Gill V, Singal P. Role of advanced glycation end products in hypertension and atherosclerosis: therapeutic implications. *Cell Biochem Biophys*. 2007;49(1):48-63.

Virdis A, Schiffrin EL. Vascular inflammation: a role in vascular disease in hypertension? *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2003 Mar;12(2):181-7.

Vita JA, Treasure CB, Nabel EG, McLenachan JM, Fish RD, Yeung AC, et al. Coronary vasomotor response to acetylcholine relates to risk factors for coronary artery disease. *Circulation*. 1990 Feb;81(2):491-7.

Vlachopoulos C, Aznaouridis K, Stefanadis C. Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with arterial stiffness: a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol*. 2010 Mar 30;55(13):1318-27.

Vlassara H, Brownlee M, Manogue KR, Dinarello CA, Pasagian A. Cachectin/TNF and IL-1 induced by glucose-modified proteins: role in normal tissue remodeling. *Science* 1988 June 10;240(4858):1546-48.

Vlassara H, Cai W, Crandall J, Goldberg T, Oberstein R, Dardaine V, et al. Inflammatory mediators are induced by dietary glycotoxins, a major risk factor for diabetic angiopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Nov 26;99(24):15596-601.

Vlassara H, Fuh H, Donnelly T, Cybulsky M. Advanced glycation endproducts promote adhesion molecule (VCAM-1, ICAM-1) expression and atheroma formation in normal rabbits. *Mol Med*. 1995 May;1(4):447-56.

Vlassara H, Uribarri J, Cai W, Striker G. Advanced glycation end product homeostasis: exogenous oxidants and innate defenses. *Ann N Y Acad Sci.* 2008 Apr;1126:46-52.

Vlassara H. Recent progress in advanced glycation end products and diabetic complications. *Diabetes.* 1997 Sep;46 Suppl 2:S19-25.

Vogt TM, Appel LJ, Obarzanek E, Moore TJ, Vollmer WM, Svetkey LP, et al. Dietary Approaches to Stop Hypertension: rationale, design, and methods. DASH Collaborative Research Group. *J Am Diet Assoc.* 1999 Aug;99(8 Suppl):S12-8.

Wang TJ, Gona P, Larson MG, Levy D, Benjamin EJ, Tofler GH, et al. Multiple biomarkers and the risk of incident hypertension. *Hypertension.* 2007 Mar;49(3):432-8.

Wautier MP, Chappey O, Corda S, Stern DM, Schmidt AM, Wautier JL. Activation of NADPH oxidase by AGE links oxidant stress to altered gene expression via RAGE. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001 May;280(5):E685-94.

Whelton PK, He J, Cutler JA, Brancati FL, Appel LJ, Follmann D, et al. Effects of oral potassium on blood pressure. Meta-analysis of randomized controlled clinical trials. *JAMA.* 1997 May 28;277(20):1624-32.

Whelton SP, Hyre AD, Pedersen B, Yi Y, Whelton PK, He J. Effect of dietary fiber intake on blood pressure: a meta-analysis of randomized, controlled clinical trials. *J Hypertens.* 2005 Mar;23(3):475-81.

Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF Jr, Vita JA. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol.* 2003 Oct 1;42(7):1149-60.

Witteman JC, Willett WC, Stampfer MJ, Colditz GA, Sacks FM, Speizer FE, et al. A prospective study of nutritional factors and hypertension among US women. *Circulation*. 1989 Nov;80(5):1320-7.

Wolff SP, Dean RT. Glucose autoxidation and protein modification. The potential role of 'autoxidative glycosylation' in diabetes. *Biochem J*. 1987 Jul 1; 245(1): 243–250.

World Health Organization. A global brief on hypertension: Silent killer, global public health crisis. 2013 April; WHO/DCO/WHD/2013.2.

Yagihashi S, Kamijo M, Baba M, Yagihashi N, Nagai K. Effect of aminoguanidine on functional and structural abnormalities in peripheral nerve of STZ-induced diabetic rats. *Diabetes*. 1992 Jan;41(1):47-52.

Yamagishi S, Fujimori H, Yonekura H, Yamamoto Y, Yamamoto H. Advanced glycation endproducts inhibit prostacyclin production and induce plasminogen activator inhibitor-1 in human microvascular endothelial cells. *Diabetologia*. 1998 Dec;41(12):1435-41.

Yamagishi S, Nakamura K, Matsui T, Inagaki Y, Takenaka K, Jinnouchi Y, et al. Pigment epithelium-derived factor inhibits advanced glycation end product-induced retinal vascular hyperpermeability by blocking reactive oxygen species-mediated vascular endothelial growth factor expression. *J Biol Chem*. 2006 Jul 21;281(29):20213-20.

Yamagishi S, Nakamura K, Matsui T. Regulation of advanced glycation end product (AGE)-receptor (RAGE) system by PPAR-gamma agonists and its implication in cardiovascular disease. *Pharmacol Res*. 2009 Sep;60(3):174-8.

Yamagishi Si, Yonekura H, Yamamoto Y, Katsuno K, Sato F, Mita I, et al. Advanced glycation end products-driven angiogenesis in vitro. Induction of the growth and tube formation of human microvascular endothelial cells through autocrine vascular endothelial growth factor. *J Biol Chem*. 1997 Mar 28;272(13):8723-30.

Yamamoto ME, Applegate WB, Klag MJ, Borhani NO, Cohen JD, Kirchner KA, et al. Lack of blood pressure effect with calcium and magnesium supplementation in adults with high-normal blood pressure. Results from Phase I of the Trials of Hypertension Prevention (TOHP). *Trials of Hypertension Prevention (TOHP) Collaborative Research Group. Ann Epidemiol*. 1995 Mar;5(2):96-107.

Yan SD, Schmidt AM, Anderson GM, Zhang J, Brett J, Zou YS, et al. Enhanced cellular oxidant stress by the interaction of advanced glycation end products with their receptors/binding proteins. *J Biol Chem*. 1994 Apr 1;269(13):9889-97.

Zhong Y, Li SH, Liu SM, Szmitko PE, He XQ, Fedak PW, et al. C-Reactive protein upregulates receptor for advanced glycation end products expression in human endothelial cells. *Hypertension*. 2006 Sep;48(3):504-11.

Zieman SJ, Melenovsky V, Clattenburg L, Corretti MC, Capriotti A, Gerstenblith G, et al. Advanced glycation endproduct crosslink breaker (alagebrium) improves endothelial function in patients with isolated systolic hypertension. *J Hypertens*. 2007 Mar;25(3):577-83.

## ARTIGO 1

DESENVOLVIMENTO DE UM ESCORE PARA AVALIAÇÃO DE DIETA TIPO DASH BASEADO NA FREQUENCIA DE CONSUMO DE GRUPOS ALIMENTARES

DEVELOPMENT OF A SCORE FOR ASSESSMENT OF DASH-TYPE DIET BASED ON FREQUENCY OF FOOD GROUP INTAKE

*Francisca Mosele, Doutoranda em Epidemiologia pela UFRGS;*

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL (UFRGS)

**A ser enviado ao “Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics”.**

*Este artigo descreve o desenvolvimento de um Escore orientado pela hipótese para avaliação de adequação a dieta DASH a partir da análise direta da frequência de consumo de grupos alimentares. Os resultados obtidos demonstram que FG-DASH Score apresenta validade de constructo e concorrente além de confiabilidade especialmente em pacientes hipertensos.*

## AUTHOR PAGE

TITLE OF THE MANUSCRIPT: Development of a Score for Assessment of Dash-Type Diet Based on Frequency of Food Group Intake

FIVE KEYWORDS: DASH diet, FG-DASH Score, construct validity, concurrent criterion-related validity, internal consistency reliability.

WORD COUNTS: Abstract (296 words); Text (3,271 words).

### AUTHOR CONTACT INFORMATION

Francisca Mosele, Masters in physiology, PhD student at Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia. Faculdade de Medicina. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Rua Ramiro Barcelos, 2400 - 2º andar Porto Alegre, RS, Brasil. Hospital de Clinicas de Porto Alegre. Rua Ramiro Barcelos, 2350 - Santa Cecilia, Porto Alegre - RS, Brasil. Telephone number: 55+51 – 3359.8449. E-mail: [fmosele@gmail.com](mailto:fmosele@gmail.com)

Sandra Costa Fuchs, PhD in Medical Sciences, Professor at Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia. Faculdade de Medicina. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Rua Ramiro Barcelos, 2400 - 2º andar Porto Alegre, RS, Brasil. Hospital de Clinicas de Porto Alegre. Rua Ramiro Barcelos, 2350 - Santa Cecilia, Porto Alegre - RS, Brasil. Telephone number: 55+51 – 3359.7621. E-mail: [scfuchs@terra.com.br](mailto:scfuchs@terra.com.br)

### CORRESPONDING AUTHOR; AND REPRINT CONTACT-NAME

Sandra Costa Fuchs

31 **ABSTRACT**

32 **Background:** Several studies have proposed scores to assess DASH diet adequacy in  
33 population however none does so directly from the frequency of food consumption.

34 **Objective:** To describe the development of a score based on the hypothesis to evaluate  
35 the adherence to DASH eating pattern from the analysis of the food group frequency of  
36 consumption and their ability to associate with blood pressure levels in hypertensive  
37 patients.

38 **Design.** Score DASH of food groups consumption frequency (FG-DASH Score) created  
39 based on the DASH diet recommendations using the frequency of consumption as a  
40 surrogate to the number of servings. The score evaluates seven food groups. Score of 10  
41 was given when assigned recommendation reached, scored consumption  
42 proportionately.

43 **Participants/setting.** Hypertensive patients of the PREVER Treatment trial.

44 **Main outcome measures.** Construct validity, concurrent validity, reliability, and  
45 association with blood pressure levels.

46 **Statistical analyses performed.** Validity by the comparison of results obtained for FG-  
47 DASH Score and other DASH Scores on 7 days of the DASH Eating Plan with One-  
48 way-ANOVA and Bonferroni. Percentiles used to assess distribution of the FG-DASH  
49 score. Concurrent criterion-related validity assessed by means of t-tests or ANOVA in  
50 subgroups of individuals. Internal consistency reliability assessed with Cronbach's alpha  
51 coefficients. Association between FG-DASH score quartiles and blood pressure levels

52 assessed by means of a general linear model adjusted for gender, age, antihypertensive  
53 therapy, and BMI.

54 **Results.** Average adequacy of FG-DASH Score was >90% for the menus. Significantly  
55 lower mean FG-DASH scores in men than women and among older individuals than  
56 younger ones. All sub-items are directly related to the total score. Non-standardized  
57 Cronbach's alpha coefficient was 0.52. Significant association between quartiles of FG-  
58 DASH Score and blood pressure maintained after adjusting for confounding variables.

59 **Conclusions.** FG-DASH score has construct and concurrent validity, as well as  
60 reliability, particularly in hypertensive patients.

## 61 INTRODUCTION/BACKGROUND

62 The Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH diet) is rich in fruits,  
63 vegetables, and low-fat dairy foods; allows moderate intake of whole grains, poultry,  
64 fish, and nuts; and limits intake of saturated fats, red meat, sweets, and sugar-sweetened  
65 beverages.<sup>1</sup> This dietary pattern results in a lower total fat, saturated fat, and cholesterol  
66 content and increased potassium, calcium, magnesium, fiber, and protein content.<sup>2</sup> In  
67 addition to proven efficacy in reducing blood pressure,<sup>1,3</sup> the DASH diet is inversely  
68 associated with risk of coronary artery disease,<sup>4</sup> cardiovascular disease,<sup>5</sup> heart failure,<sup>6</sup>  
69 and cardiovascular mortality.<sup>7</sup>

70 Evaluation of associations between DASH-type diets and clinical outcomes  
71 outside the American setting depends on the availability of operational tools for dietary  
72 assessment.<sup>8</sup> These tools often use scores to determine dietary quality on the basis of  
73 DASH diet recommendations.<sup>5,7,9,10</sup> The methodologies most commonly adopted for this  
74 purpose are based on dietary patterns identified through the hypothesis-oriented or  
75 exploratory methods.<sup>11</sup> Scores such as the DASH Diet Index,<sup>7</sup> DASH Adherence Score,<sup>9</sup>  
76 and Constructed DASH Score<sup>10</sup> are based on the hypothesis-oriented method.  
77 Conversely, development of the DASH Score proposed by Fung et al.<sup>5</sup> relied on the  
78 exploratory method.

79 In all of these scores, assessment of compliance with the DASH-type diet is  
80 based on data on the number of servings consumed<sup>5,7,9,10</sup> and, in some cases, on  
81 macronutrient and micronutrient analysis.<sup>5,7</sup> However, obtaining information on portion  
82 intake does not contribute to the validity of food frequency questionnaires (FFQs),<sup>12</sup>  
83 which suggests the possibility of streamlining data collection. Therefore, a DASH-type  
84 diet score that does not rely on portion intake and is instead based on food groups could

85 provide several advantages for use both in epidemiological studies and in clinical  
86 practice. The present study sought to develop a hypothesis-oriented score to assess  
87 adherence to a DASH-type diet by evaluating the frequency of food group intake. In  
88 addition, we sought to determine the validity and reliability of this score, as well as its  
89 potential association with blood pressure levels in individuals with hypertension.

## 90 **MATERIALS AND METHODS**

### 91 **Development of the DASH Food Group Frequency score (FG-DASH score)**

92 The DASH Food Group Frequency score (FG-DASH score) was developed on  
93 the basis of the recommendations set forth in the original DASH study,<sup>1</sup> using daily or  
94 weekly intake frequency in lieu of the recommended number of servings. Frequency of  
95 intake was calculated by the product of the reported daily frequency by the number of  
96 days per week in which the corresponding food group was consumed - weekly intake -  
97 and daily intake frequency by the ratio of weekly reported intake divided by seven.

98 This score quantitatively assessed the intake frequency of the seven food groups  
99 in the DASH diet: (1) dairy products; (2) fruits; (3) vegetables; (4) grains; (5) nuts and  
100 legumes; (6) meats; (7) oils and fats. Table 1 provides detailed information on the score  
101 components and criteria. To better reflect the DASH diet recommendations,<sup>1</sup> the dairy,  
102 grain, meat, and fat composition of the diet was assessed by two components: one  
103 quantitative, obtained as the absolute intake frequency, and one qualitative, derived from  
104 the proportional intake of nonfat dairy products, whole grains, white meats, and  
105 vegetable fats. In addition, this model of assessment was applied for the nuts and  
106 legumes group since beans are the main legume consumed in Brazil (per capita

107 consumption of 16.5 kg/person/year).<sup>13</sup> The evaluation of legumes and nuts based on the  
108 total consumption would not discriminate the variation in intake of nuts.

### 109 **Scoring system**

110 A scoring system was created by assigning equal weight to the components of  
111 the DASH diet. Therefore, each food group could be assigned a maximum score of 10  
112 points if intake met or exceeded the DASH diet recommendations; lower intake  
113 frequencies were scored proportionally. If the DASH diet recommendation corresponded  
114 to an intake restriction, reverse scoring was applied. The score attributed points for the  
115 frequency of intake of recommended items and removed points for the frequency of  
116 intake of those items that should be restricted. For positively keyed items, the score is  
117 given as the ratio between the product of the reported frequency by the maximum item  
118 score and the maximum recommended frequency, as described below.

$$119 \quad \text{Score} = \frac{(\text{Reported frequency} * \text{Maximum score})}{120 \quad \text{Maximum recommended frequency}}$$

121 For negatively keyed items, we first calculated the smallest variation in intake  
122 frequency that would lead to a 0.1-point increment. To do so, we determined the delta  
123 variation between the highest and lowest recommended frequency and divided the  
124 resulting figure by the absolute number of possible points to one decimal place.

$$125 \quad \text{Frequency variation} = \frac{(\text{upper recommended intake} - \text{lower recommended intake})}{126 \quad \text{Absolute number of possible points}}$$

127 The score was then defined as the product of the reported frequency multiplied  
128 by 0.1 points divided by the smallest variation in frequency.

129  $Score = (\textit{Reported frequency} * 0.1 \textit{ points})$

130 *Frequency variation*

131 The results of individual scores for the seven components were then added to  
132 obtain a measure of overall adherence to the DASH diet, which could range from 0 to 70  
133 points.

#### 134 **Construct validity**

135 To ascertain construct validity, we assessed a 7-day sample of the 2000-kcal  
136 DASH Eating Plan as developed by the U.S. National Heart, Lung, and Blood  
137 Institute.<sup>14</sup> We compared FG-DASH scores to those obtained with the DASH Diet  
138 Index,<sup>7</sup> DASH score,<sup>5</sup> DASH Adherence Score,<sup>9</sup> and Constructed DASH Score.<sup>10</sup> These  
139 scores were briefly described below and details can be obtained elsewhere.

140 DASH DIET INDEX. A score developed to evaluate agreement between a DASH  
141 dietary pattern and reduced incidence of hypertension and cardiovascular mortality in  
142 20,993 female participants of the Iowa Women's Health Study (IWHS) aged 55 to 69.<sup>7</sup>  
143 In the present study, the 11 components of the DASH Diet Index were weighted and  
144 summed to yield a final score. The original DASH diet recommendations on number of  
145 servings were used to establish score cut-off points for each component.<sup>1</sup> The maximum  
146 score for each component was 1 point, and the maximum sum score was 11 points. A  
147 full point (1) was assigned to participants consuming the recommended number of  
148 servings, a partial point (0.5) was given for intermediate intake, and no points (0) were  
149 given for total intake of dairy products, fruits, vegetables, grains, whole grains, nuts,  
150 seeds, and legumes far less than the recommended level. Reverse scoring was applied

151 for food and nutrient groups where restricted or no intake was recommended, such as  
152 red meats, poultry, fish, sweets, sodium, percent total fat, and saturated fatty acids.<sup>7</sup>

153 DASH SCORE. This scoring system was based on quintiles established according to  
154 intake ranking, developed to assess the association between adherence to a DASH-type  
155 diet and incidence of nonfatal acute myocardial infarction, cardiovascular mortality, and  
156 stroke in 88,517 female participants of the Nurses Health Study (NHS), aged 34 to 59.<sup>5</sup>  
157 In the present study, we compiled the distributions of servings of the food groups  
158 described in the DASH Eating Plan menus<sup>14</sup> to establish quintiles. Eight components  
159 were scored for a possible total of 40 points. Scores ranged from 5 (highest quintile) to 1  
160 (lowest quintile) for whole grains, vegetables (excluding potatoes), fruits, and low-fat  
161 dairy foods, and from 1 (highest quintile) to 5 (lowest quintile) for intake of sodium,  
162 sweets, sugar-sweetened beverages, and red or processed meats.<sup>5</sup>

163 DASH ADHERENCE SCORE. This score to assess the association between DASH diet  
164 adherence and hypertension in 2,830 patients, aged 10 to 22, with diabetes mellitus type  
165 I or II, enrolled in the SEARCH for Diabetes in Youth Study.<sup>9</sup> Adherence to the DASH  
166 diet was assessed using eight food groups (dairy products, fruits, vegetables, grains,  
167 meat, nuts/seeds/legumes, fats/oils, and sweets). For each food group, a maximum score  
168 of 10 could be assigned when intake met the recommended level. Lower intakes were  
169 scored proportionally. Reverse scoring was applied to the meat, fats/oils, and sweets  
170 food groups. Scores for the eight isolated components were added to obtain the DASH  
171 Adherence Score, which ranged from 0 to 80.<sup>9</sup>

172 CONSTRUCTED DASH SCORE. This score was designed to assess the association  
173 between adherence to the DASH diet and incidence of diabetes mellitus in a case-cohort  
174 study of 22,277 participants in seven countries, within the European Prospective

175 Investigation into Cancer and Nutrition study.<sup>10</sup> The score was based on points assigned  
176 to the eight food groups covered by the DASH diet: dairy products, fruits, vegetables,  
177 grains, red meat/poultry/fish, nuts/seeds/legumes, fats/oils, and sweets. Scores of 0 to 10  
178 were assigned for each of the dietary components (10 points when recommendations  
179 were fully met and 0 points for lowest adherence to recommendations). The final score  
180 ranged from 0 to 80 points. Grains and dairy products were divided into two items: one  
181 assessing absolute intake and the other assessing the fiber content of grains or the fat  
182 content of dairy products.<sup>10</sup>

### 183 **Score applicability**

184 Score variation, score discriminant validity, and potential association of the  
185 score with blood pressure levels at baseline were assessed in participants of the  
186 PREVER Treatment trial, enrolled for the lifestyle modification phase, prior to  
187 randomization, in 21 centers across Brazil. Additional information is available  
188 elsewhere.<sup>15</sup> Briefly, hypertensive patients (with systolic blood pressure 140–159 mmHg  
189 or diastolic blood pressure 90–99 mmHg), aged 40 to 70 years, were advised to adopt a  
190 healthy lifestyle as recommended by the American Heart Association  
191 recommendations.<sup>16</sup> After 12 weeks, patients were reassessed for adherence to lifestyle  
192 modification and change in blood pressure levels.

193 Food intake was assessed by means of a food group frequency questionnaire  
194 (FGFQ), administered by trained interviewers. The instrument comprises 40 items  
195 corresponding to different foods. Participants were asked on how many days during the  
196 past week they had consumed each of the listed foods and how many times they had  
197 consumed them on each day, without quantifying the number of servings.

198           The list of foods included in the instrument was developed using data from a  
199 cross-sectional, population-based food intake study representative of the population of  
200 Porto Alegre, Brazil.<sup>17</sup> Items were clustered into food groups by similarity. Selection of  
201 foods for inclusion was then based on the individual contribution of each food to total  
202 intake of the corresponding food group, using a cutoff point of 90%.<sup>18</sup> Identification of  
203 individual items was tested in participants from 21 centers across Brazil, with adaptation  
204 for regional food consumption habits as needed.

## 205   **Statistical analyses**

206           Analyses were conducted in Statistical Package for the Social Sciences version  
207 19 (SPSS Inc., Chicago, IL), and statistical significance was defined by P value <0.05.  
208 Construct validity was assessed by standardization of all scores concerning the number  
209 of points in each group (dairy products, fruits, vegetables, grains, meats,  
210 nuts/seeds/legumes, fats/oils) and the total score. For each score, percent adherence was  
211 calculated proportionally to the maximum score that could be achieved for each  
212 component. One-way analysis of variance (ANOVA) with Bonferroni correction was  
213 used to identify differences between the FG-DASH Score and other scores.

214           Percentiles were used to assess the percentile beyond which no additional  
215 discrimination resulted for the FG-DASH total score.

216           The concurrent criterion-related validity of the FG-DASH score was assessed in  
217 subgroups of individuals known to have different dietary patterns.<sup>19</sup>

218           Mean consumption of a DASH-type diet was compared between men and  
219 women and across age groups – 40 to 49, 50 to 59, and 60 to 70 years – by means of *t*-  
220 tests or ANOVA. The internal consistency reliability of the score was assessed with

221 Cronbach's alpha coefficients.<sup>20</sup> The association between FG-DASH score quartiles and  
222 blood pressure levels was assessed by the general linear model (GLM) adjusted for  
223 gender, age, antihypertensive therapy, and BMI. Results were expressed as mean and  
224 standard deviation.

## 225 **RESULTS**

226 The FG-DASH score ranged from 59.3 to 69.2 points (mean, 66.0±3.6 points).  
227 Table 2 describes individual component scores and the total scores for DASH Eating  
228 Plan menus<sup>14</sup> as obtained with the FG-DASH score, DASH Diet Index, DASH Score,  
229 DASH Adherence Score, and Constructed DASH Score. On individual component  
230 analysis of the FG-DASH Score, the scores were higher for intake of dairy products,  
231 legumes and nuts, and fats. FG-DASH scores for consumption of fruits, vegetables, and  
232 grains were lower than those obtained with all other scoring systems, except for the  
233 DASH score. Conversely, the FG-DASH score indicated greater adherence of meat and  
234 fat intake as compared to the other scores. As shown, all scores indicated adherence  
235 above 92%, except for the DASH Score.

236 As shown in Table 3, the analysis of dietary intake among hypertensive patients  
237 yielded a wide range of individual component scores and total scores. Total scores  
238 ranged from 21.4 (1<sup>st</sup> percentile) to 61.3 (99<sup>th</sup> percentile). For nearly all individual  
239 components, the 1st percentile had a score of zero, consistent with no consumption of  
240 the corresponding food, whereas beyond the 90<sup>th</sup> percentile, maximum scores were  
241 observed (except for grains, fruits, and meat). Maximum scores were achieved by at  
242 least 1% of the population on all FG-DASH score groups, except for the grains group.  
243 The dairy products, grains, and legumes groups had scores of zero up to the 25<sup>th</sup>

244 percentile for qualitative components, but no such finding was observed on analysis of  
245 quantitative components.

246 Assessment of concurrent criterion validity (Table 4) showed significantly lower  
247 mean FG-DASH scores in men ( $34.9 \pm 8.9$ ) than in women ( $38.4 \pm 8.9$ ). Similar  
248 differences were observed for all individual components, except in the nuts and legumes  
249 group. Most individual component scores increased with age, except in the fruits,  
250 vegetables, and nuts/legumes groups. Despite significant differences in scores for some  
251 food groups, no such differences were observed on sub-item analysis. Total FG-DASH  
252 scores were significantly higher among older individuals ( $38.6 \pm 8.8$ ) than among  
253 younger ones ( $35.5 \pm 9.0$ ).

254 Correlations between FG-DASH score component sub-items and total scores are  
255 shown in Table 5. As shown, all sub-items were positively correlated to the total score.  
256 Correlations between component sub-items and the total score ranged from 0.12 for  
257 whole grains to 0.61 for fruits. The highest correlations with total score were obtained  
258 for qualitative components and for the core items in DASH-type diets, such as fruits and  
259 vegetables. The non-standardized Cronbach's alpha coefficient for the FG-DASH score  
260 was 0.52 (standardized, 0.51).

261 To determine the association of the FG-DASH score with blood pressure levels,  
262 dietary records of 1,325 hypertensive individuals were evaluated and the FG-DASH  
263 Score total categorized into quartiles of adherence. Although individuals classified into  
264 the top quartile had 61% adherence, significant differences were observed on  
265 comparison with the bottom quartile both for systolic blood pressure ( $137.90 \pm 10.38$  vs.  
266  $133.58 \pm 11.76$  mmHg;  $P < 0.001$ ) and for diastolic blood pressure ( $86.60 \pm 7.70$  vs.  
267  $82.75 \pm 8.32$  mmHg;  $P < 0.001$ ). The mean differences observed between the extremes of

268 classification, although small, remained significant even after control for confounding  
269 factors such as age, sex, antihypertensive treatment, and body mass index (BMI) (Figure  
270 1).

## 271 **DISCUSSION**

272 The present study showed that the FG-DASH score achieved an adequacy rate  
273 similar to that obtained with the other scores, except the DASH score, which suggests  
274 ability to detect a theoretically high-quality diet. The quantitative distribution of the FG-  
275 DASH score items demonstrated achievement of maximum scores beyond the 90<sup>th</sup>  
276 percentile and near-zero scores at the lowest percentiles. Analysis of qualitative  
277 components showed scores above zero beyond the 50<sup>th</sup> percentile for the majority of  
278 food items. The FG-DASH score also shown differences between men and women and  
279 age groups, which is indicative of concurrent criterion validity. The interquartile range  
280 of FG-DASH scores was significantly and independently associated with lower systolic  
281 and diastolic blood pressure levels.

282 The mean percent adherence to the DASH diet as assessed with the FG-DASH  
283 score exceeded 90%, a rate similar to those observed with the DASH Diet Index, the  
284 DASH Adherence Score, and the Constructed DASH Score, all of which were  
285 developed using the hypothesis-oriented method.<sup>7,9,10</sup> This result seems to confirm that  
286 taking the number of servings consumed into account does not add discriminant  
287 ability.<sup>12</sup> Conversely, frequency of food group intake did not achieve the maximum  
288 scores for fruits, vegetables, and grains, although it did not significantly reduce the  
289 overall performance of the FG-DASH score.

290 The score developed by Fung et al.<sup>5</sup> was based on the exploratory method  
291 through factor analysis, enabling data reduction and classification of individuals in terms  
292 of proximity to an overall standard.<sup>21</sup> Although it summarizes dietary intake, the main  
293 limitation of this score is that the results were dependent on the studied population.  
294 Therefore, even if one identifies the main dietary patterns of the study population, these  
295 patterns will not necessarily represent an optimal dietary pattern. The development of a  
296 hypothesis-oriented instrument overcome these disadvantages.<sup>21</sup>

297 A food intake frequency-based score was adopted for a cohort study conducted  
298 in 27 U.S. cities, which identified an inverse association between dietary quality and all-  
299 cause mortality in women.<sup>22</sup> Diet quality was characterized by development of a  
300 Recommended Foods Score, calculated as the sum of 23 food items selected from a 62-  
301 item food frequency questionnaire. Each item was scored dichotomously, with the  
302 maximum score (1 point) assigned to items consumed at least once a week, for a  
303 maximum possible score of 23 points. The same method was used to define diet quality  
304 in an analysis of National Health Interview Survey data.<sup>23</sup> Unlike the scores proposed by  
305 Kant et al.,<sup>22,23</sup> the present study compared dietary intake frequency to a reference  
306 standard, which enabled detection of gradual differences in consumption of individual  
307 dietary components and their contribution to the establishment of an overall dietary  
308 pattern.

309 The percentile distribution observed for the FG-DASH suggests that this scoring  
310 system is sensitive enough to detect significant differences in dietary quality. The results  
311 of the present study agree with the findings of a previous investigation which showed  
312 that men consumed qualitatively worse diets than women. The linear association of  
313 quality diet with ageing was also observed.<sup>19</sup> The ability of the FG-DASH score to

314 discriminate groups of individuals who are known to differ in terms of dietary quality  
315 suggests that the score has concurrent validity. The results obtained for the FG-DASH  
316 score were similar to those reported in analyses of the validity and reliability of the  
317 Healthy Eating Index-2010 (HEI-2010).<sup>24</sup> In previous studies, internal consistency  
318 across items had lower<sup>25,26</sup> and in others higher<sup>24</sup> Cronbach's alpha coefficients than  
319 those observed in the present study. Classification of individuals into quartiles of  
320 adherence to the DASH-type diet and assessment of their association with blood  
321 pressure shown an inverse association, with a mean difference across extreme quartiles  
322 of similar magnitude to the difference observed in a clinical trial of effectiveness.<sup>27</sup>

323         Some limitations should be taken into account when using the score described  
324 herein. This score was developed as part of the methodology designed for a randomized  
325 clinical trial, and the studied population was a subgroup of highly cooperative  
326 individuals. This analysis was performed in the data collected at the screening  
327 enrollment for the study, previously to implement the lifestyle intervention. Therefore,  
328 the dietary assessment is unlikely to be biased toward the recommendations to follow a  
329 DASH-type diet. Use of an instrument based on food groups instead of individual food  
330 items could lead to underestimation of intake of less frequently consumed items.  
331 However, as information was provided for the food group as a whole, another item  
332 reported in the same group could serve as a valid substitute. Such instruments were not  
333 developed to estimate energy intake, but rather to assess variations in intake of different  
334 food groups and adequacy of the dietary pattern as compared to a DASH-type diet.

## 335 **CONCLUSION**

336         In conclusion, the present study described the development of a score to assess  
337 adherence to intake of a DASH-type diet. The FG-DASH score has both construct and

338 concurrent validity, as well as reliability, particularly in hypertensive individuals. The  
339 simplicity of this instrument as a means of obtaining information on food group intake,  
340 regardless of the number of servings consumed, makes it useful both for clinical practice  
341 and for use in public health settings, e.g., for the assessment of dietary intervention to  
342 prevent and control hypertension.

### 343 **ACKNOWLEDGMENTS**

344 Financial support was provided by CNPq, FINEP and FIPE-HCPA (Research  
345 and Events Support Fund at Hospital de Clínicas de Porto Alegre).

### 346 **REFERENCES**

- 347 1. Appel LJ, Moore TJ, Obarzanek E, et al. A clinical trial of the effects of dietary  
348 patterns on blood pressure. *N Engl J Med.* 1997;336(16):1117-1124.
- 349 2. Sacks FM, Obarzanek E, Windhauser MM, et al. Rationale and design of the  
350 Dietary Approaches to Stop Hypertension trial (DASH): a multicenter  
351 controlled-feeding study of dietary patterns to lower blood pressure. *Ann*  
352 *Epidemiol.* 1995;5(2):108-118.
- 353 3. Sacks FM, Svetkey LP, Vollmer WM, et al. Effects on blood pressure of reduced  
354 dietary sodium and the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet.  
355 *N Engl J Med.* 2001;344(1):3-10.
- 356 4. Chen ST, Maruthur NM, Appel LJ. The effect of dietary patterns on estimated  
357 coronary heart disease risk: results from the Dietary Approaches to Stop  
358 Hypertension (DASH) trial. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes.* 2010;3(5):484-  
359 489.

- 360 5. Fung TT, Chiuve SE, McCullough ML, Rexrode KM, Logroscino G, Hu FB.  
361 Adherence to a DASH-style diet and risk of coronary heart disease and stroke in  
362 women. *Arch Intern Med.* 2008;168(7):713-720.
- 363 6. Levitan EB, Wolk A, Mittleman MA. Consistency with the DASH diet and  
364 incidence of heart failure. *Arch Intern Med.* 2009;169(9):851-857.
- 365 7. Folsom AR, Parker ED, Harnack LJ. Degree of concordance with DASH diet  
366 guidelines and incidence of hypertension and fatal cardiovascular disease. *Am J*  
367 *Hypertens.* 2007;20(3):225-232.
- 368 8. Willett WC, McCullough ML. Dietary pattern analysis for the evaluation of  
369 dietary guidelines. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2008;17 Suppl 1:75-78.
- 370 9. Günther AL, Liese AD, Bell RA, Dabelea D, Lawrence JM, Rodriguez BL,  
371 Standiford DA, Mayer-Davis EJ. Association between the dietary approaches to  
372 hypertension diet and hypertension in youth with diabetes mellitus.  
373 *Hypertension.* 2009;53(1):6-12.
- 374 10. InterAct Consortium. Adherence to predefined dietary patterns and incident type  
375 2 diabetes in European populations: EPIC-InterAct Study. *Diabetologia.*  
376 2014;57(2):321-333.
- 377 11. Schulze MB, Hoffmann K. Methodological approaches to study dietary patterns  
378 in relation to risk of coronary heart disease and stroke. *Br J Nutr.*  
379 2006;95(5):860-869.
- 380 12. Willett, Walter. Reproducibility and Validity of Food Frequency Questionnaires.  
381 In: *Nutritional epidemiology*, 2nd Ed. New York: Oxford University Press,  
382 2012.
- 383 13. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística-IBGE. Estimativas da população.  
384 Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Accessed: june, 27 2015.

- 385 14. National Heart Lung and Blood Institute. Your guide to lowering your blood  
386 pressure with DASH. Bethesda, MD: National Institutes of Health; 2006. NIH  
387 publication no. 06-4082.
- 388 15. Fuchs FD, Fuchs SC, Moreira LB, et al. A comparison between diuretics and  
389 angiotensin-receptor blocker agents in patients with stage I hypertension  
390 (PREVER-treatment trial): study protocol for a randomized double-blind  
391 controlled trial. *Trials*. 2011 Feb 24;12:53.
- 392 16. Lichtenstein AH, Appel LJ, Brands M, et al. Diet and lifestyle recommendations  
393 revision 2006: a scientific statement from the American Heart Association  
394 Nutrition Committee. *Circulation*. 2006 Jul 4;114(1):82-96.
- 395 17. Henn RL, Fuchs SC, Moreira LB, Fuchs F. Development and validation of a  
396 food frequency questionnaire (FFQ-Porto Alegre) for adolescent, adult and  
397 elderly populations from Southern Brazil. *Cad. Saúde Pública*, 2010;  
398 26(11):2068-2079.
- 399 18. Block G, Hartman AM, Dresser CM, Carroll MD, Gannon J, Gardner L. A data-  
400 based approach to diet questionnaire design and testing. *Am J Epidemiol*.  
401 1986;124(3):453-69.
- 402 19. Korn EL, Graubard BI. *Analysis of health surveys*. New York: John Wiley &  
403 Sons; 2011.
- 404 20. Cronbach LJ. Coefficient alpha and the internal structure of tests. *Psychometrika*  
405 1951;16:297-333
- 406 21. Jacques PF, Tucker KL. Are dietary patterns useful for understanding the role of  
407 diet in chronic disease? *Am J Clin Nutr*. 2001;73(1):1-2.
- 408 22. Kant AK, Schatzkin A, Graubard BI, Schairer C. A prospective study of diet  
409 quality and mortality in women. *JAMA*. 2000;283(16):2109-2115.

- 410 23. Kant A, Thompson FE. Measures of overall diet quality from a food frequency  
411 questionnaire: national health interview survey, 1992. *Nutrition Research*.  
412 1997;17(9):1443-1456.
- 413 24. Guenther PM, Kirkpatrick SI, Reedy J, et al. The Healthy Eating Index-2010 is a  
414 valid and reliable measure of diet quality according to the 2010 Dietary  
415 Guidelines for Americans. *J Nutr*. 2014;144(3):399-407.
- 416 25. Guenther PM, Reedy J, Krebs-Smith SM, Reeve BB, Basiotis P. Development  
417 and Evaluation of the Healthy Eating Index-2005: Technical Report. Center for  
418 Nutrition Policy and Promotion, U.S. Department of Agriculture 2007.  
419 Available at <http://www.cnpp.usda.gov/HealthyEatingIndex.htm>
- 420 26. Andrade SC, Previdelli AN, Marchioni DML, Fisberg RM. Evaluation of the  
421 reliability and validity of the Brazilian Healthy Eating Index Revised. *Rev Saúde*  
422 *Pública* 2013;47(4):1-7
- 423 27. Svetkey LP, Harsha DW, Vollmer WM, et al. Premier: a clinical trial of  
424 comprehensive lifestyle modification for blood pressure control: rationale,  
425 design and baseline characteristics. *Ann Epidemiol*. 2003 Jul;13(6):462-471.

**Table 1.** Components of the FG-DASH Score

<b>Food group</b>	<b>Maximum score</b>	<b>Frequency of minimum score</b>	<b>Frequency of maximum score</b>
<b>Fruits</b>	<b>10</b>	0 times/day	$\geq 4$ times/Day
<b>Vegetables</b>	<b>10</b>	0 times/day	$\geq 4$ times/Day
<b>Dairy products</b>	<b>10</b>		
Total	5	0 times/day	$\geq 2$ times/Day
Low-fat	5	0% of frequency of all dairy products consumed	$\geq 75\%$ of frequency of all dairy products consumed
<b>Grains</b>	<b>10</b>		
Total	5	0 times/Day	$\geq 6$ times/Day
Whole grains	5	0% of frequency of all grains consumed	$\geq 50\%$ of frequency of all grains consumed
<b>Nuts and legumes</b>	<b>10</b>		
Total	5	0 times/week	$\geq 4$ times/week
Nuts	5	0% of frequency of all nuts consumed	$\geq 25\%$ of frequency of all nuts consumed
<b>Meats</b>	<b>10</b>		
Total	5	$\leq 2$ times/Day	$\geq 4$ times/Day
White meats	5	0% of frequency of all meats consumed	$\geq 75\%$ of frequency of all meats consumed
<b>Oils and fats</b>	<b>10</b>		
Total	5	$\leq 3$ times/Day	$\geq 6$ times/day
Vegetable oils	5	0% of frequency of all oils and fats consumed	$\geq 75\%$ of frequency of all oils and fats consumed

**Table 2.** Calculated scores for DASH Eating Plan menus, as obtained with the FG-DASH score, DASH Diet Index, DASH Score, DASH Adherence Score, and Constructed DASH Score with individual component scores and total scores.

<b>Score component</b>	<b>FG-DASH score</b>	<b>DASH Diet Index</b>	<b>DASH score</b>	<b>DASH Adherence Score</b>	<b>Constructed DASH Score</b>
<b>Fruits**</b>	9.64 ± 0.10 (10)	1.00 ± 0.00 (1)	3.43 ± 1.40 (5)	10.00 ± 0.00 (10)	10.00 ± 0.00 (10)
<b>Vegetables**</b>	8.93 ± 1.34 (10)	1.00 ± 0.00 (1)	4.00 ± 1.15 (5)	10.00 ± 0.00 (10)	10.00 ± 0.00 (10)
<b>Dairy products**</b>	10.00 ± 0.00 (10)	1.00 ± 0.00 (1)	-	10.00 ± 0.00 (10)	10.00 ± 0.00 (10)
Total	5.00 ± 0.00	-	-	5.00 ± 0.00	5.00 ± 0.00
Regular	5.00 ± 0.00	-	-	5.00 ± 0.00	-
Low-fat	-	-	3.29 ± 1.60 (5)	-	5.00 ± 0.00
<b>Grains**</b>	8.59 ± 0.64 (10)	-	-	9.64 ± 0.65 (10)	9.64 ± 0.65 (10)
Total	3.69 ± 0.81	0.71 ± 0.39 (1)	-	4.64 ± 0.65	4.64 ± 0.65
Whole grains	4.89 ± 0.28	1.00 ± 0.00 (1)	3.29 ± 1.60 (5)	5.00 ± 0.00	5.00 ± 0.00
<b>Nuts and legumes**</b>	10.00 ± 0.00 (10)	1.00 ± 0.00 (1)	3.29 ± 1.89 (5)	10.00 ± 0.00 (10)	10.00 ± 0.00 (10)
Total	5.00 ± 0.00	-	-	-	-
Nuts	5.00 ± 0.00	-	-	-	-
<b>Meats**</b>	9.05 ± 1.88 (10)	0.86 ± 0.24 (1)	2.71 ± 1.80 (5)	7.14 ± 1.73 (10)	7.14 ± 1.73 (10)
Total	5.00 ± 0.00	-	-	-	-

White meats	4.05 ± 1.89	-	-	-	-
<b>Sweets</b>	-	1.00 ± 0.00 (1)	5.00 ± 0.00 (5)	10.00 ± 0.00 (10)	10.00 ± 0.00 (10)
<b>Oils and fats</b>	10.00 ± 0.00 (10)	-	-	9.76 ± 0.64 (10)	9.76 ± 0.64 (10)
Total	5.00 ± 0.00	-	-	-	-
Vegetable oils	5.00 ± 0.00	-	-	-	-
<b>Total fat</b>	-	1.00 ± 0.00 (1)	-	-	-
<b>Saturated fat</b>	-	1.00 ± 0.00 (1)	-	-	-
<b>Sodium</b>	-	0.64 ± 0.24 (1)	5.00 ± 0.00 (5)	-	-
<b>Total score</b>	65.97 ± 3.62 (70)	10.21 ± 0.64 (11)	29.86 ± 4.26 (40)	76.54 ± 1.95 (80)	76.54 ± 1.95 (80)
<b>% Adherence**</b>	94.24 ± 5.16	92.86 ± 5.78	74.65 ± 10.65	95.68 ± 2.44	95.68 ± 2.44

---

\*\* Significant difference (p <0.01) for comparison of percent adherence, defined by the maximum score for each individual group and by the total score, between the DASH Score and the other scores.

**Table 3.** Percentile distributions of individual components and calculated total score, estimated by FG-DASH score analysis

Component	Percentiles								
	1 <sup>st</sup>	5 <sup>th</sup>	10 <sup>th</sup>	25 <sup>th</sup>	50 <sup>th</sup>	75 <sup>th</sup>	90 <sup>th</sup>	95 <sup>th</sup>	99 <sup>th</sup>
<b>Fruits</b>	0.00	0.15±0.18	1.22±0.39	2.54±0.22	4.40±0.70	6.53±0.90	8.48±0.58	10.00	10.00
<b>Vegetables</b>	0.00	0.00	0.30±0.54	2.91±0.65	4.36±0.15	5.31±0.83	10.00	10.00	10.00
<b>Dairy</b>	0.00	0.36±0.00	1.36±0.52	3.28±0.72	5.18±0.34	7.72±0.65	9.26±0.34	10.00	10.00
Total	0.00	0.36±0.00	1.38±0.52	2.76±0.29	3.97±0.40	5.00	5.00	5.00	5.00
Low-fat	0.00	0.00	0.00	0.00	0.22±0.56	3.62±0.65	5.00	5.00	5.00
<b>Grains</b>	1.20±0.19	1.70±0.09	2.12±0.16	2.90±0.31	4.54±0.72	6.49±0.47	7.71±0.19	8.52±0.41	9.89±0.21
Total	0.97±0.12	1.33±0.10	1.75±0.13	2.28±0.19	2.80±0.16	3.50±0.20	4.14±0.16	4.67±0.13	5.00
Whole	0.00	0.00	0.00	0.00	0.51±0.90	3.97±0.50	5.00	5.00	5.00
<b>Nuts and Legumes</b>	0.00	0.51±0.62	3.11±0.63	5.00±0.00	5.11±0.42	8.34±0.73	10.00	10.00	10.00
Total	0.00	0.57±0.63	3.13±0.67	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Nuts	0.00	0.00	0.00	0.00	0.79±0.62	3.95±0.41	5.00	5.00	5.00
<b>Meat</b>	2.05±0.67	3.63±0.37	4.53±0.21	5.39±0.43	6.94±0.45	8.46±0.43	9.59±0.15	10.00	10.00
Total	1.12±0.85	2.69±0.18	4.05±0.49	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
White	0.00	0.00	0.05±0.13	0.93±0.28	2.16±0.45	3.79±0.52	5.00	5.00	5.00

<b>Fats and oils</b>	5.00±0.00	5.00±0.00	5.77±0.86	8.73±0.64	9.81±0.07	10.00	10.00	10.00	10.00
Total	2.94±0.25	4.28±0.56	-	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Vegetable oil	0.00	0.00	1.02±1.14	3.84±0.57	4.86±0.06	5.00	5.00	5.00	5.00
<b>Total Score</b>	21.38±1.22	24.92±0.97	28.72±1.32	33.72±1.59	39.85±1.86	45.88±1.81	50.79±1.03	55.68±2.01	61.34±1.57

---

**Table 4.** Mean estimates of individual components and total scores from the FG-DASH score in adults aged  $\geq 40$  years, by gender and age group.

Components	Gender		P-value	Age (years)			P-value
	Women (n=762)	Men (n=563)		40-49 (n=434)	50-59 (n=517)	$\leq 60$ (n=374)	
<b>Fruits</b>	4.23 $\pm$ 2.89	3.36 $\pm$ 2.56	<0.001	3.69 $\pm$ 2.84	3.81 $\pm$ 2.77	4.11 $\pm$ 2.74	0.09
<b>Vegetables</b>	4.18 $\pm$ 3.16	3.62 $\pm$ 2.95	<0.001	3.82 $\pm$ 3.13	3.97 $\pm$ 3.13	4.04 $\pm$ 2.97	0.58
<b>Dairy</b>	4.97 $\pm$ 2.78	4.19 $\pm$ 2.81	<0.001	4.24 $\pm$ 2.82	4.56 $\pm$ 2.80	5.22 $\pm$ 2.75	<0.001
Total	3.55 $\pm$ 1.64	3.15 $\pm$ 1.72	<0.001	3.10 $\pm$ 1.71	3.34 $\pm$ 1.69	3.75 $\pm$ 1.58	<0.001
Low-fat	1.42 $\pm$ 2.00	1.04 $\pm$ 1.77	<0.001	1.14 $\pm$ 1.85	1.22 $\pm$ 1.90	1.46 $\pm$ 2.00	0.04
<b>Grains</b>	4.30 $\pm$ 2.23	3.95 $\pm$ 2.05	<0.01	3.99 $\pm$ 2.07	4.05 $\pm$ 2.12	4.47 $\pm$ 2.30	<0.01
Total	2.57 $\pm$ 0.94	2.70 $\pm$ 0.96	0.12	2.66 $\pm$ 0.91	2.58 $\pm$ 0.96	2.64 $\pm$ 0.97	0.463
Whole	1.73 $\pm$ 2.03	1.25 $\pm$ 1.82	<0.001	1.33 $\pm$ 1.84	1.47 $\pm$ 1.92	1.83 $\pm$ 2.10	<0.01
<b>Nuts and Legumes</b>	5.53 $\pm$ 2.80	5.79 $\pm$ 2.54	0.08	5.55 $\pm$ 2.50	5.61 $\pm$ 2.84	5.80 $\pm$ 2.72	0.40
Total	4.19 $\pm$ 1.51	4.43 $\pm$ 1.26	<0.01	4.37 $\pm$ 1.32	4.19 $\pm$ 1.52	4.36 $\pm$ 1.37	0.09
Nuts	1.34 $\pm$ 2.11	1.36 $\pm$ 2.06	0.85	1.18 $\pm$ 1.97	1.42 $\pm$ 2.14	1.44 $\pm$ 2.15	0.13
<b>Meat</b>	6.75 $\pm$ 2.01	5.96 $\pm$ 2.04	<0.001	6.18 $\pm$ 1.94	6.39 $\pm$ 2.11	6.71 $\pm$ 2.10	<0.01
Total	4.70 $\pm$ 0.84	4.36 $\pm$ 1.27	<0.001	4.52 $\pm$ 1.05	4.54 $\pm$ 1.08	4.61 $\pm$ 1.04	0.04
White	2.05 $\pm$ 1.72	1.60 $\pm$ 1.46	<0.001	1.66 $\pm$ 1.52	1.86 $\pm$ 1.64	2.10 $\pm$ 1.71	<0.01

<b>Fats and oils</b>	8.68 ± 1.80	8.46 ± 1.84	0.03	8.43 ± 1.87	8.59 ± 1.80	8.77 ± 1.76	0.03
Total	4.86 ± 0.53	4.80 ± 0.63	0.08	4.81 ± 0.65	4.84 ± 0.56	4.86 ± 0.50	0.50
Vegetable oil	3.82 ± 1.71	3.66 ± 1.71	0.09	3.61 ± 1.76	3.75 ± 1.70	3.92 ± 1.67	0.44
<b>Total Score</b>	38.38 ± 8.92	34.94 ± 8.85	<0.001	35.51 ± 8.98	36.78 ± 9.09	38.59 ± 8.82	<0.001

---

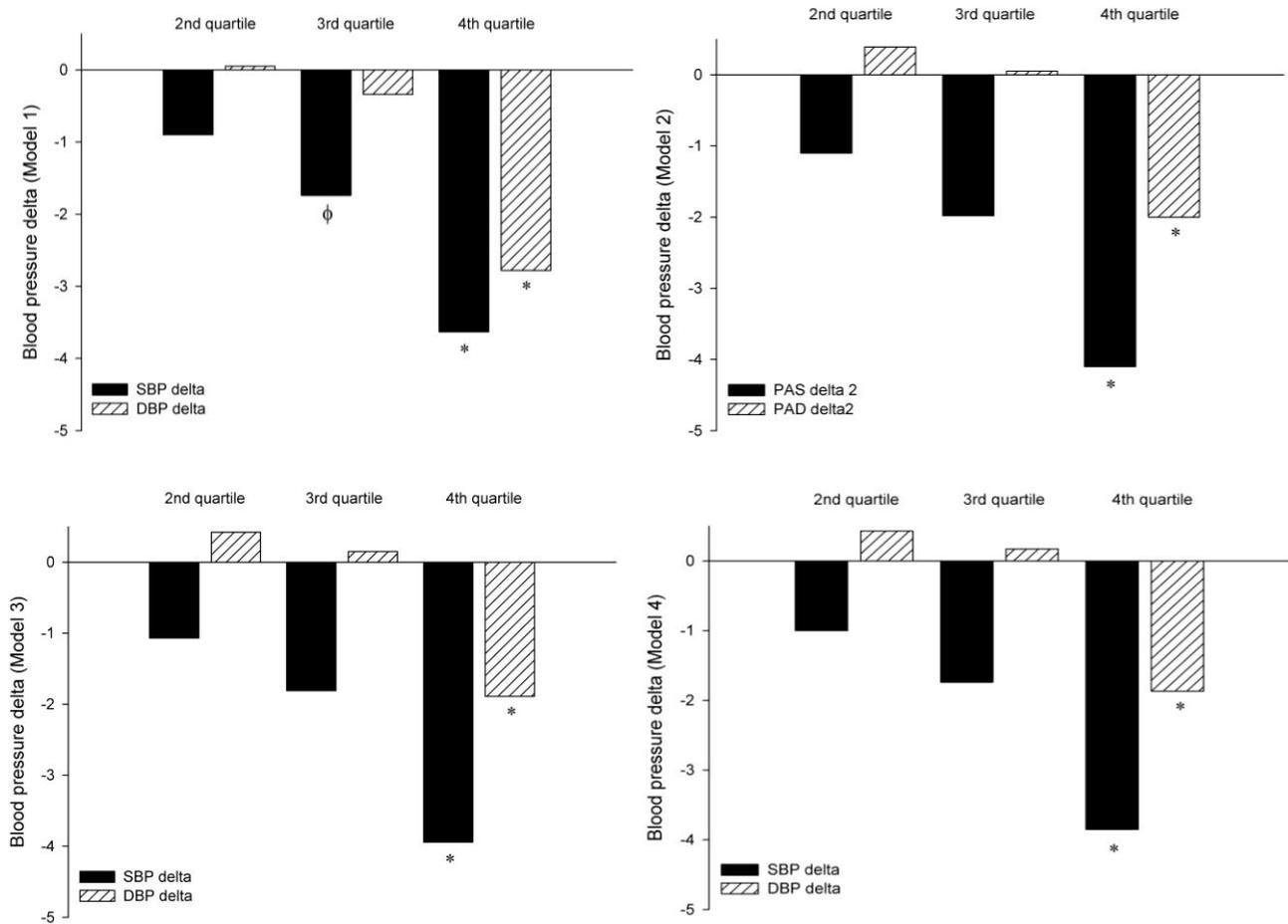
**Table 5.** Correlation estimates for the components of FG- DASH Score and the total score

	<b>Fruits</b>	<b>Vegetables</b>	<b>Total Dairy</b>	<b>Low-fat Dairy</b>	<b>Total Grains</b>	<b>Whole Grains</b>	<b>Total Legumes</b>	<b>Nuts</b>	<b>Total Meat</b>	<b>White Meat</b>	<b>Total Fat</b>	<b>Vegetable Oils</b>
Vegetables	0.28**											
Total Dairy	0.12**	0.09**										
Low-fat Dairy	0.17**	0.13**	0.20**									
Total Grains	0.23**	0.16**	0.28**	0.20**								
Whole Grains	0.10**	0.09**	-0.05	0.11**	-0.02							
Total Legumes	0.16**	0.10**	0.07**	0.13**	0.22**	-0.03						
Nuts	0.02	0.15**	-0.04	0.03	-0.04	0.16**	0.15					
Total Meat	0.21**	0.12**	0.13**	0.06**	0.18**	-0.08**	0.05**	-0.05*				
White Meat	0.01	-0.04	0.09**	-0.01	0.14**	-0.23**	0.02	-0.08**	0.15**			
Total Fat	-0.01	0.09**	0.14**	-0.08**	0.12**	0.07**	0.06	0.043	0.02**	0.05**		
Vegetable oil	0.04	-0.01	0.06*	0.04	0.08**	-0.21**	0.01	-0.05*	0.06**	0.19*	0.05	
<b>Total Score</b>	<b>0.61**</b>	<b>0.60**</b>	<b>0.44**</b>	<b>0.43**</b>	<b>0.56**</b>	<b>0.12**</b>	<b>0.44**</b>	<b>0.24**</b>	<b>0.38**</b>	<b>0.17**</b>	<b>0.33**</b>	<b>0.13**</b>

\* P < 0.01 for correlation between the evaluated items

\*\* P < 0.01 for correlation between the evaluated items

**Figure 1.** Delta systolic and diastolic blood pressure between quartiles of adherence to a DASH-type diet as defined by the FG-DASH score



**Legend:**

1<sup>st</sup> quartile =  $\leq 30.5$  ; 2<sup>nd</sup> quartile = 30.6–36.3; 3<sup>rd</sup> quartile = 36.7–42.8; 4<sup>th</sup> quartile =  $\geq 42.9$

φ P < 0.05 vs. 1<sup>st</sup> quartile

\* P < 0.001 vs. 1<sup>st</sup> quartile

Model 1. Analysis adjusted for gender (0.58);

Model 2. Analysis adjusted for gender (0.58) and age group (1.995);

Model 3. Analysis adjusted for gender (0.58), age group (1.995), and antihypertensive therapy (0.73);

Model 4. Analysis adjusted for gender (0.58), age group (1.995), antihypertensive therapy (0.73), and body mass index (2.24)

## ARTIGO 2

PAPEL DOS AGEs COMO MEDIADORES DA ASSOCIAÇÃO ENTRE DIETA DASH E MARCADORES DE INFLAMAÇÃO VASCULAR E SISTÊMICA EM PACIENTES COM PRÉ-HIPERTENSÃO E HIPERTENSÃO ARTERIAL

*Francisca Mosele, Doutoranda em Epidemiologia pela UFRGS;*

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL (UFRGS)

**A ser enviado ao “Journal of Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Disease”.**

## PÁGINA DO TÍTULO

TÍTULO DO ARTIGO:

PAPEL DOS AGEs COMO MEDIADORES DA ASSOCIAÇÃO ENTRE DIETA DASH E MARCADORES DE INFLAMAÇÃO VASCULAR E SISTÊMICA EM PACIENTES COM PRÉ-HIPERTENSÃO E HIPERTENSÃO ARTERIAL

INFORMAÇÃO DOS AUTORES

Mosele F<sup>a,b</sup>, Fuchs SC<sup>a,b</sup>.

<sup>a</sup> Hospital de Clinicas de Porto Alegre. Rua Ramiro Barcelos, 2350 - Santa Cecilia, Porto Alegre - RS, Brasil.

<sup>b</sup> Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia. Faculdade de Medicina. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Rua Ramiro Barcelos, 2400 - 2º andar Porto Alegre, RS, Brasil.

AUTOR CORRESPONDENTE

Sandra Costa Fuchs, Hospital de Clinicas de Porto Alegre. Rua Ramiro Barcelos, 2350 - Santa Cecilia, Porto Alegre - RS, Brasil. Telephone number: 55+51 – 3359.7621. E-mail: [scfuchs@terra.com.br](mailto:scfuchs@terra.com.br)

## RESUMO

**Introdução e objetivos:** Produtos finais da glicação avançada (AGEs) correspondem a produtos avançados com significativa ação pró-oxidante e pró-inflamatória oriundos da dieta. Nós avaliamos o papel dos AGEs como mediadores da associação entre adesão a dieta DASH e marcadores de inflamação vascular e sistêmica em pacientes com pré-hipertensão e hipertensão arterial.

**Métodos e Resultados:** *Quasi-experimento* em 361 indivíduos pré-hipertensos e hipertensos, de ambos os sexos, não-diabéticos, sem doenças cardiovasculares, crônicas limitantes ou dano renal. Participantes orientados para adoção de estilo de vida saudável. Consumo alimentar avaliado na linha de base e após 12 semanas de intervenção. Adesão dietética definida pelo Escore DASH de frequência de consumo de grupos alimentares (FG-DASH Score). Amostras biológicas obtidas ao final do protocolo. Níveis plasmáticos de AGEs através da análise de N-carboximetil-lisina (CML). Definição de inflamação vascular e sistêmica a partir da criação de escores. Maiores escores observados para maioria dos componentes individuais ao final do protocolo, mas não FG-DASH Score total. CML correlaciona-se com componentes inflamatórios exceto sICAM, sVCAM e Adiponectina. Não houve associação entre FG-DASH Escore e CML, escore de inflamação vascular ou sistêmica. Contudo verificou-se uma associação inversa entre níveis de AGEs e escore de inflamação sistêmica, mesmo após estratificação de acordo com níveis pressóricos e inclusão de fatores de confusão. A análise de mediação pelo CML entre FG-DASH Escore e escore de inflamação vascular e sistêmica não foi verificada

**Conclusão:** Os AGEs se associam inversamente com inflamação sistêmica, mas não vascular, entretanto, esses não se comportaram como mediadores da associação entre

adesão à dieta tipo DASH e marcadores de inflamação. **Número de registro:**

Plataforma Brasil - 14250713.2.0000.5327.

## ABSTRACT

**Background and Aims:** Advanced glycation end products (AGEs) correspond to advanced products with action pro-oxidant and pro-inflammatory derived from the diet. We evaluated the role of AGEs as mediators of the association between adherence to DASH diet and markers of vascular and systemic inflammation in patients with prehypertension and hypertension.

**Methods and Results:** *Quasi-experiment* in 361 pre-hypertensive and hypertensive individuals, of both sexes, non-diabetics without cardiovascular disease, limiting chronic diseases or kidney damage. Participants were instructed to adopt healthy lifestyle. Food consumption assessed at baseline and after 12 weeks of intervention. Dietary adherence defined by DASH score consumption frequency of food groups (FG-DASH Score). Biological samples obtained at the end of the protocol. Plasma levels of AGEs by N-carboxymethyl-lysine (CML) analysis. Definition of vascular and systemic inflammation from the creation of scores. Higher scores observed for most of the individual components at the end of the protocol, but not FG-DASH Total Score. CML correlates with inflammatory components except sICAM, sVCAM and Adiponectin. There was no association between FG- DASH score and CML, vascular or systemic inflammation score. However there was an inverse association between levels of AGEs and systemic inflammation score, even after stratification according to blood pressure levels and inclusion of confounding factors. Mediation analysis by CML between FG-DASH score and vascular and systemic inflammation score was not observed.

**Conclusion:** AGEs was inversely associated with systemic inflammation, but not vascular, however, these did not behave as mediators of the association between

adherence to the DASH diet and markers of inflammation. **Registration number:**

Platform Brazil - 14250713.2.0000.5327.

## INTRODUÇÃO

Dieta DASH [Dietary Approach to Stop Hypertension] é uma das intervenções mais eficazes para manejo e prevenção de hipertensão (HAS). Estima-se que seu impacto sobre os níveis pressóricos represente redução no risco para doença cardiovascular [1]. Os mecanismos hipotensores propostos para explicar os efeitos da Dieta DASH sobre DCV privilegiam seu alto teor de cálcio, potássio e magnésio. Entretanto, a inconsistência dessa associação em ensaios clínicos [2] e, efeitos da dieta DASH sobre outros fatores de risco para DCV como glicemia em jejum, hemoglobina glicada, colesterol total e lipoproteína de baixa densidade [3-4], inflamação [5], biodisponibilidade de óxido nítrico [6] e níveis de homocisteína [7] geram a hipótese de que haja efeitos derivados de outros nutrientes [8].

A composição da Dieta DASH sugere que a adesão seja capaz de reduzir o pool dietético de produtos finais da glicação avançada (AGEs) os quais exercem ação pró-oxidante e pró-inflamatória [9]. O pool corporal de AGEs reflete tanto a síntese endógena quanto ingestão exógena, efeitos da imunidade inata, modificações oxidativas celulares, e excreção de oxidantes renais. A formação endógena de AGEs é incrementada na presença de hiperglicemia e níveis elevados de estresse oxidativo [10]. Entretanto, está na dieta importante fonte modificável de AGEs. A quantidade de AGEs dietéticos refletem a composição nutricional, temperatura, umidade, pH e, tempo de cozimento [11]. Alimentos de origem animal com alto teor gordura e proteína são ricos em AGEs e mais propensos a formação de novos AGEs durante o cozimento [12]. Por outro lado, alimentos ricos em carboidratos como legumes, frutas, grãos integrais e laticínios, contêm níveis relativamente baixos de AGEs, sofrendo pouca alteração durante ao cozimento [12].

Considerando-se que a base da dieta DASH possa ser limitante para ingestão de AGEs e que seu efeito sobre perfil inflamatório vascular e sistêmico possam associar-se a redução nos níveis pressóricos, sugere-se que a ingestão de dieta tipo DASH poderia acarretar benefícios no controle da hipertensão e, subsequente prevenção de DCV. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar o papel dos AGEs como mediadores da associação entre adesão a dieta tipo DASH e marcadores de inflamação vascular e sistêmica em pacientes com pré-hipertensão e hipertensão arterial.

## **MÉTODOS**

### **Delineamento e aspectos éticos**

Este estudo consiste em um quasi-experimento (registro plataforma Brasil: 14250713.2.0000.5327) aninhado aos ensaios clínicos do PREVER [13,14] registrados no Clinical Trials sob os números NCT00970931 e NCT00971165. O projeto e os termos de consentimento foram aprovados pelo Comitê de Ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (registro nº 08-621), que é credenciado pelo *Office of Human Research Protections* como um Conselho de Revisão Institucional. Todos os participantes assinaram o termo de consentimento para participar do estudo.

### **Participantes**

Os participantes foram arrolados no centro de pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre entre março de 2011 e agosto de 2012, durante avaliação de elegibilidade para receber a intervenção para mudança no estilo de vida. Eram elegíveis indivíduos de ambos os sexos, com pré-hipertensão (pressão arterial sistólica (PAS) 120-139 e pressão arterial diastólica (PAD) 80-89 mmHg), com 30 a 70 anos, e indivíduos com hipertensão estágio I (PAS 140-159 ou PAD 90-99 mmHg) ou em uso

de um medicamento anti-hipertensivo e com pressão controlada (PAS <140 e PAD <90 mmHg), com idade entre 40 e 70 anos. Excluíram-se indivíduos com diagnóstico de hipertensão secundária, história de DCV, doença crônica limitante, e uso de antiinflamatórios nos últimos 30 dias. Adicionalmente, para essas análises excluíram-se participantes com diagnóstico de diabetes mellitus (DM) em uso de hipoglicemiante, glicemia em jejum  $\geq 100$  mg/dL ou hemoglobina glicada  $\geq 6,5\%$  e ainda presença de dano renal determinado pela presença de creatinina (maior que 1,3 mg/dL para mulheres e maior que 1,6 mg/dL para homens) ou microalbuminúria (maior ou igual a 25 mg/L).

### **Intervenções**

Confirmando-se a elegibilidade, inclusive de pressão arterial aferida de forma padronizada [15] os participantes receberam orientações para adoção de estilo de vida saudável: cessação de tabagismo, redução no consumo de bebidas alcoólicas, prática de atividade física regular, adesão ao padrão alimentar DASH com restrição de sódio e controle de peso [16]. A intervenção consistiu em orientação verbais e impressas, através de material educativo desenvolvido para o Estudo PREVER [13,14]. O livreto apresentava orientações detalhadas sobre cada um dos componentes de mudança de estilo de vida. Em relação a dieta DASH, apresentava seus componentes utilizando medidas caseiras ou unidades usuais e detalhava cardápios para prover 1600 kcal, 2000 kcal e 2500 kcal. Além disso, fornecia informações sobre consumo de sal e peso adequado – baseado em índice de massa corporal. As orientações foram fornecidas por profissionais treinados em consultas individualizadas. Participantes recebendo anti-hipertensivos foram orientados a manter o tratamento durante o período de 12 semanas, após o qual os participantes foram reavaliados para mudança de estilo de vida.

### **Coleta de dados**

Características demográficas, socioeconômicas e de estilo de vida foram avaliadas no arrolamento e reavaliadas após 12 semanas, utilizando-se questionários padronizados e por equipe treinada. Atividade física foi investigada através da versão curta do *International Physical Activity Questionnaire* (IPAQ) e analisada de acordo com protocolo [17]. A ingestão alimentar foi avaliada através de questionário de frequência de grupos alimentares (QFGA) composto por 40 itens organizados nos seguintes grupos: (1) produtos lácteos; (2) cereais; (3) frutas e legumes; (4) feijões e nozes; (5) carnes; (6) óleos e gorduras; (7) alimentos processados; (8) café e doces. Para cada item alimentar o participante indicava a frequência de ingestão na última semana. Não foram investigados o número de porções ou o tamanho das mesmas. O Tabagismo foi avaliado a partir de questionário padronizado.

Realizou-se aferição de peso e altura com os participantes vestindo roupas leves e sem calçados. Estadiômetro com haste móvel fixado à parede foi utilizado para determinação da altura e balança digital fixa para a avaliação do peso, ambos realizados em duplicata e, determinados a partir da média dos valores obtidos. Índice de massa corporal (IMC) através da razão entre peso (kg) e altura ao quadrado ( $m^2$ ).

Pressão arterial foi aferida através de monitor digital validado (Microlife® BP3AC1-1PC), com manguitos adequados ao perímetro braquial utilizando-se a média de quatro aferições em duas consultas seqüenciais. As de sangue foram obtidas ao final do período de intervenção com participantes em jejum de 12 horas, sendo centrifugadas (10 minutos a 3.000 RPM), para separação de plasma e sangue total e, aliqüotadas para armazenamento em freezer – 80° C.

### **Definição de adesão à Dieta DASH**

Adesão a dieta tipo DASH foi analisada utilizando-se o Escore DASH de frequência de consumo de grupos alimentares (FG-DASH Escore) criado com base nas recomendações descritas no estudo DASH original, utilizando-se a frequência de consumo diária ou semanal [18]. Adequação à dieta DASH foi avaliado através de índice composto por sete grupos de alimentos (grãos, legumes, frutas, laticínios, carne, nozes/sementes/leguminosas e gorduras/óleos). Para cada grupo de alimentos, uma pontuação máxima de 10 poderia ser alcançada quando a ingestão atendesse à recomendação e, consumos menores foram pontuados proporcionalmente. Grãos, laticínios, carnes, nozes/sementes/leguminosas e, gorduras/óleos são pontuados a partir de dois componentes um quantitativo e outro qualitativo. Pontuação reversa foi aplicada para os grupos de carnes e gorduras/óleos sendo que a pontuação de zero foi aplicada para ingestão maior ou igual a 200% do nível superior recomendado [18]. O somatório dos escores obtidos nos sete grupos individuais foram utilizados para criar do FG-DASH escore global, que pode variar de 0 a 70.

### **Análises laboratoriais e definição de perfil inflamatório**

Níveis plasmáticos de AGEs foram determinados através da análise de N-carboximetil-lisina (CML) por método de ELISA utilizando-se Human Carboxymethyl Lysine (CML) ELISA Kit (Cell Biolabs). As moléculas de adesão, seletinas e adiponectina foram avaliadas através de Painel Multiplex disponível para análise simultânea de sE-Selectin, sICAM-1, sVCAM-1 e Adiponectina pela tecnologia Luminex (Milliplex Map Human Cardiovascular Disease Panel 1-04 Plex ref. HCVD1-67AK-04 - sVCAM, sICAM, e-seletina, Adiponectina) assim como os marcadores de inflamação sistêmica e VEGF (Milliplex Map, Human Cytokine/Chemokine Panel 1-05 ref. MPXHCYTO-60K – IL-1, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ , VEGF).

Inflamação vascular e sistêmica foi definida a partir da criação de escores onde atribui-se um ponto para valores maiores que a mediana da amostra avaliada para cada um dos marcadores exceto IL-10 e Adiponectina onde pontuação foi atribuída a valores menores que a mediana [19]. A inflamação vascular baseou-se nas dosagens de sVCAM, sICAM, e-seletina e VEGF, agregadas em um escore que variou de 0 a 4 pontos. A inflamação sistêmica foi definida através das dosagens de adiponectina, interleucinas (IL-1, IL-6, IL-10) e TNF- $\alpha$  agregadas para gerar um escore que variou de 0 a 5 pontos.

### **Análises estatísticas**

As análises foram conduzidas no Statistical Package for the Social Sciences version 19 (SPSS Inc., Chicago, IL) e a significância estatística definida por valor  $P < 0,05$ . Para determinação da diferença entre o FG-DASH Escore, seus componentes e, frequência de consumo utilizou-se teste T para amostras pareadas. Para determinação da correlação entre as variáveis utilizadas na definição dos escores de inflamação vascular e sistêmica bem como CML utilizou-se correlação de Spearman para dados não paramétricos.

O modelo de análise baseou-se na avaliação dos AGEs como mediadores na associação entre adesão a dieta tipo DASH e marcadores de inflamação vascular e sistêmica. A Figura 1 apresenta a abordagem proposta [20] utilizando modelo de regressão linear múltipla. A abordagem prevê análise em quatro etapas, nas quais são conduzidas várias análises de regressão e a significância dos coeficientes é examinada em cada etapa. A Figura 1 sumariza o modelo geral de análise de mediação. As etapas 1 a 3 permitem estabelecer as associações entre as variáveis. Se uma dessas associações não for estatisticamente significativa, indica que mediação não é possível ou provável. Assumindo-se que as associações sejam significativas nas etapas 1 a 3, realizar-se-á a

Etapa 4, para avaliar mediação completa. Se o efeito de M (caminho b) sobre Y permanecer significativo após controlar para X, indica que há alguma forma de mediação. Se X não for mais significativo quando M for controlado, indica mediação completa e, finalmente, se X e M forem significativos como preditores de Y, indica mediação parcial. A obtenção de significância estatística nas associações entre dieta e AGES e entre AGES e inflamação vascular ou sistêmica permitirá avaliar a presença de mediação indireta, utilizando um ou mais métodos [21].

## **RESULTADOS**

Entre os 876 indivíduos inicialmente avaliados 569 eram elegíveis para participar da intervenção para mudanças no estilo de vida. Excluindo-se indivíduos com DM, creatinina anormal, microalbuminúria e, aqueles que não possuíam todas as dosagens laboratoriais, 361 indivíduos foram incluídos nas análises. Tabela 1 descreve as características demográficas e de estilo de vida mostrando que houve distribuição semelhante de homens e mulheres, com em média de 53,1 anos de idade. Entre os participantes 59,6% apresentaram diagnóstico de hipertensão sendo que 40,5% desses hipertensão controlada em monoterapia.

Tabela 2 apresenta a variação do FG-DASH Score e em seus componentes individuais. Ao final de 12 semanas, observaram-se escores mais elevados em todos os componentes individuais, exceto para o grupo de leguminosas/oleaginosas onde não houve diferença significativa. De maneira geral, o aumento na pontuação esteve relacionado a variações no componente qualitativo. Entretanto, o componente quantitativo do grupo de gorduras se associou a maior pontuação enquanto no grupo dos grãos maiores pontuações foram resultantes do aumento na adequação tanto do componente quantitativo quanto qualitativo. Escores mais elevados foram observados

para os grupos das carnes e gorduras tanto na linha de base quanto ao final das 12 semanas. Contudo, não se observou aumento no FG-DASH Escore total ao final do protocolo.

Valores medianos de CML, marcadores de inflamação vascular e sistêmica e correlação entre variáveis incluídas nos escore de inflamação vascular e sistêmica estão apresentados na tabela 3. Correlação entre CML e os componentes inflamatórios exceto sICAM, sVCAM e Adiponectina. Correlações moderadas entre as variáveis incluídas no escore vascular foram observadas exceto para VEGF, que se correlacionou com variáveis incluídas no escore sistêmico. De forma semelhante, entre as variáveis incluídas no cálculo do escore de inflamação sistêmico, verificou-se correlação positiva entre as citocinas pró-inflamatórias, mas não com Adiponectina que se correlacionou moderadamente com os componentes do escore de inflamação vascular.

A tabela 4 mostra que não houve associação entre FG-DASH Escore e escore de inflamação vascular. Entre indivíduos com pressão inferior a 140/90 mmHg observou-se uma associação inversa, mas após controle para fatores de confusão perdeu significância. A análise de mediação pelo CML entre FG-DASH Escore e escore de inflamação vascular não foi verificada, nem mesmo após o controle para fatores de confusão.

A associação entre Escore FG-DASH e escore de inflamação sistêmica não obteve significância estatística (Tabela 5). Da mesma forma, o Escore FG-DASH não se associou com AGEs. Contudo verificou-se uma associação inversa entre níveis de AGEs e escore de inflamação sistêmica, persistindo mesmo após estratificação de acordo com hipertensão arterial e a inclusão de fatores de confusão. O efeito mediador de AGEs na associação entre Escore FG-DASH e escore de inflamação sistêmica não foi confirmado.

Frente a ausência de associação estatisticamente significativa entre a principal exposição - Escore FG-DASH - e a variável mediadora – AGEs – não foi subsequentemente avaliada a mediação indireta.

## **DISCUSSÃO**

Este estudo buscou avaliar a hipótese de que os AGEs poderiam atuar como mediadores da associação entre dieta tipo DASH e marcadores de inflamação vascular e sistêmica. A ausência de associação entre FG-DASH Escore e AGEs refutam a hipótese de que a adesão ao padrão alimentar DASH leve a redução nos níveis plasmáticos de AGEs. A hipótese subsequente envolvendo um efeito direto entre os AGEs e marcadores de inflamação vascular e sistêmica foi confirmada entre CML, submetido a transformação logarítmica e escore de inflamação sistêmica, mas não vascular. A consistência desse achado, verificado para o total de participantes e, para indivíduos com e sem hipertensão, sugere que apesar de a associação ser mais forte entre os hipertensos, manteve-se mesmo entre indivíduos com pressão controlada e pré-hipertensos.

O papel da dieta DASH sobre marcadores inflamatórios têm sido investigado em diferentes cenários. Análise transversal implementada na coorte das enfermeiras norte-americanas (*Nurses Health Study*) sugeriu que o quintil mais alto de adesão à Dieta DASH estava independentemente associado a menores níveis plasmático de PCR e IL-6 [22]. Em mulheres na pós-menopausa, a adoção de padrão alimentar DASH esteve associado ao aumento dos níveis de óxido nítrico (NO) e redução nos níveis de endotelina-1, sE-seletina, sVCAM, IL-6, IL-18, PCR e proteína amilóide sérica A, sem modificação nos níveis de sICAM e TNF- $\alpha$  [5]. Entretanto, as reduções nos níveis de PCR não foram reproduzidas em gestantes com diabetes gestacional [23], pacientes pré-hipertensos e hipertensos [24]. Os resultados controversos reforçam a complexidade da

operacionalização da exposição subjacente a padrões alimentares sobre marcadores inflamatórios e sua associação com doenças crônicas. Assim, na tentativa de melhor caracterizar a exposição inflamatória utilizamos escores para definição da presença de inflamação vascular e sistêmica. A utilização desses escores foi capaz de atenuar a variabilidade presente nas associações entre marcadores individuais criando padrões de comportamento inflamatório que nos permitiram determinar a ausência de associação direta entre dieta DASH e marcadores de inflamação vascular e sistêmica nessa população.

A investigação de mediadores na associação entre dieta DASH e marcadores inflamatórios tem se focado no papel das fibras, sugerindo que o aumento no seu consumo induzido pela adoção do padrão alimentar DASH leve a redução nos níveis de PCR [25]. Entretanto, esses efeitos parecem mais pronunciados entre participantes normotensos eutróficos na comparação com hipertensos obesos [25]. Esses achados contrastam com estudos epidemiológicos demonstrando que o consumo de dietas ricas em fibras e alimentos de baixo índice glicêmico possa levar a redução nos níveis de PCR [26,27], sugerindo que essa associação poderia resultar de fatores de confusão residual não avaliados na dieta DASH. Com isso, em nosso estudo, avaliamos a possibilidade de que a associação entre dieta DASH e marcadores de inflamação vascular e sistêmica pudesse ser mediada pelos AGEs.

A dieta é considerada importante fonte modificável de AGEs, estudos cinéticos têm demonstrado que em torno de 10% dos AGEs dietéticos ingeridos são absorvidos no intestino e distribuídos nos tecidos, sendo somente um terço desses eliminados na urina ou fezes [28]. Associação entre conteúdo de AGEs dietéticos e níveis séricos de AGEs, estresse oxidativo e mediadores inflamatórios têm sido demonstrados em indivíduos

saudáveis [29], diabéticos [30] e com insuficiência renal [31]. A possibilidade de que a dieta DASH seja capaz de reduzir a ingestão de AGEs reside no reconhecimento do conteúdo de AGEs presente naturalmente em seus componentes e a ocorrência da reação de Maillard nesses durante seu processamento térmico.

Nesse sentido alimentos protéicos e lipídicos, restringidos no padrão alimentar DASH, pela presença de açúcares redutores, compostos intermediários da degradação de açúcares e capacidade de geração de espécies reativas de oxigênio no decorrer de reações de liperoxidação induzidas pelo cozimento, possuem não só os mais altos níveis, mas são os mais propensos a geração de novos AGEs durante o cozimento [12]. Em contraste, fontes de carboidratos presentes na dieta DASH como frutas, verduras, legumes, laticínios desnatados e grão integrais, pela presença de açúcares não redutores, maior conteúdo de água, antioxidantes e vitaminas que podem reduzir a formação de novos AGEs nesses alimentos apresentam os mais baixos níveis [12]. Entre os mais bem estudados AGEs estão a N-carboximetil-lisina (CML) e, os derivados altamente reativos do metilglioxal (MG), ambos derivados da glicação de proteínas e lipídeos [32]. A escolha da análise de AGEs através de CML residiu no fato de esta ser uma molécula mais estável e relativamente inerte [33] considerada ainda a forma de AGEs mais prevalente *in vivo* [34]. Apesar disso não fomos capazes de determinar impacto da adesão à dieta tipo DASH sobre os níveis plasmáticos de AGEs.

É reconhecido que a interação dos AGEs com os receptores de AGEs (RAGE) levam a inflamação prolongada. Em células endoteliais humanas, os AGEs são capazes de induzir a expressão de moléculas de adesão, incluindo VCAM-1, ICAM-1 e E-selectina, de modo RAGE-dependente [35-37]. A interação AGE-RAGE em células musculares lisas ainda esta associada ao aumento na migração quimioestática e

proliferação celular [38]. Em monócitos o acoplamento AGE-RAGE induz um fenótipo de macrófagos ativados que se manifesta pela indução do fator de crescimento derivado de plaquetas [39], fator de crescimento semelhante à insulina-1 [40] e, citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-1 e TNF- $\alpha$  [41]. A incapacidade de confirmarmos resultados prévios sobre a associação de AGEs e marcadores de inflamação vascular, não exclui a possibilidade da ativação de mecanismos paralelos pela dieta DASH como o aumento na biodisponibilidade de NO [3,42] que além de efeito hipotensor pode exercer efeitos anti-inflamatórios, anti-trombóticos e anti-proliferativos [43].

Aumento nos níveis plasmáticos de TNF- $\alpha$ , IL-6, PCR [44], moléculas de adesão ICAM-1, VCAM-1 e E-seletina [45] têm sido caracterizado em indivíduos hipertensos. O aumento da expressão de moléculas de adesão, ativação de células imunológicas e infiltração, liberação de citocinas e estresse oxidativo parecem ser mecanismos ativados na hipertensão. Relação entre redução nos níveis pressóricos induzido pelo tratamento da hipertensão e redução de marcadores inflamatórios [45] sugere ainda que o efeito hipotensor da dieta DASH possa ser importante mecanismo na atenuação da resposta inflamatória nesses pacientes. Entretanto, considerando-se o papel da inflamação no risco para DCV a redução na resposta inflamatória sistêmica associada a menores níveis de AGEs poderia ainda ser considerado importante mecanismo na redução do risco para DCV.

Os resultados desse estudo devem ser avaliados considerando suas limitações. No presente estudo, os participantes apenas receberam orientações para adotarem uma dieta tipo DASH ao invés de receberem os alimentos prontos para essa finalidade. A ingestão dietética foi avaliada através de questionário de frequência alimentar e, a adequação a dieta tipo DASH foi definida com um escore de avaliação a partir da

frequencia de consumo alimentar previamente validado. Apesar de esse padrão alimentar não ter obtido efeito exatamente como proposto, as análises empregadas permitiram definir associações de acordo com o grau de adesão. Adicionalmente, a realização das análises bioquímicas somente ao final do protocolo, não exclui a possibilidade de redução nos níveis plasmáticos de AGEs em nível individual. Nosso estudo deve ter boa validade externa uma vez que a amostra foi composta por pacientes pré-hipertensos e hipertensos estágio I controlados ou não em monoterapia sem outras doenças concomitantes. Durante o estudo, a prescrição medicamentosa foi mantida evitando vieses nos resultados observados.

## **CONCLUSÃO**

A dieta DASH por sua composição pode ser considerada uma dieta teoricamente pobre em AGEs entretanto, os resultados desse estudo refutam a hipótese de que adesão a esse padrão alimentar se associe a menores níveis plasmáticos de AGEs. Apesar da associação inversa entre AGEs e marcadores de inflamação sistêmica, esses não parecem atuar como mediadores da associação entre dieta DASH e marcadores inflamatórios. Dado o reconhecimento do papel dos AGEs nas complicações clínicas e risco cardiovascular associados a condições inflamatórias como diabetes mellitus e insuficiência renal crônica, os resultados desse estudo sugerem que em pacientes pré-hipertensos e hipertensos a redução na resposta inflamatória sistêmica associada a menores níveis de AGEs poderia ainda ser considerado importante mecanismo na redução do risco para DCV.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao apoio financeiro fornecido pelo CNPq, FINEP e FIPE - HCPA (Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos do Hospital de Clínicas de Porto Alegre)

## REFERÊNCIAS

1. Salehi-Abargouei A, Maghsoudi Z, Shirani F, Azadbakht L. Effects of Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH)-style diet on fatal or nonfatal cardiovascular diseases--incidence: a systematic review and meta-analysis on observational prospective studies. *Nutrition*. 2013 Apr;29(4):611-8.
2. Al-Solaiman Y, Jesri A, Mountford WK, Lackland DT, Zhao Y, Egan BM. DASH lowers blood pressure in obese hypertensives beyond potassium, magnesium and fibre. *J Hum Hypertens*. 2010 Apr;24(4):237-46.
3. Azadbakht L, Fard NR, Karimi M, Baghaei MH, Surkan PJ, Rahimi M, et al. Effects of the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) eating plan on cardiovascular risks among type 2 diabetic patients: a randomized crossover clinical trial. *Diabetes Care*. 2011 Jan;34(1):55-7.
4. Lien LF, Brown AJ, Ard JD, Loria C, Erlinger TP, Feldstein AC, et al. Effects of PREMIER lifestyle modifications on participants with and without the metabolic syndrome. *Hypertension*. 2007 Oct;50(4):609-16.
5. Azadbakht L, Surkan PJ, Esmailzadeh A, Willett WC a. The Dietary Approaches to Stop Hypertension eating plan affects C-reactive protein, coagulation abnormalities, and hepatic function tests among type 2 diabetic patients. *J Nutr*. 2011 Jun;141(6):1083-8.
6. Lin PH, Allen JD, Li YJ, Yu M, Lien LF, Svetkey LP. Blood Pressure-Lowering Mechanisms of the DASH Dietary Pattern. *J Nutr Metab*. 2012;2012:472396.

7. Appel LJ, Miller ER 3rd, Jee SH, Stolzenberg-Solomon R, Lin PH, Erlinger T, et al. Effect of dietary patterns on serum homocysteine: results of a randomized, controlled feeding study. *Circulation*. 2000 Aug 22;102(8):852-7.
8. Most MM. Estimated phytochemical content of the dietary approaches to stop hypertension (DASH) diet is higher than in the Control Study Diet. *J Am Diet Assoc*. 2004 Nov;104(11):1725-7.
9. Baumann M. Role of advanced glycation end products in hypertension and cardiovascular risk: human studies. *J Am Soc Hypertens*. 2012 Nov-Dec;6(6):427-35.
10. Vlassara H, Uribarri J, Cai W, Striker G. Advanced glycation end product homeostasis: exogenous oxidants and innate defenses. *Ann N Y Acad Sci*. 2008 Apr;1126:46-52.
11. Goldberg T, Cai W, Peppas M, Dardaine V, Baliga BS, Uribarri J, et al. Advanced glycoxidation end products in commonly consumed foods. *J Am Diet Assoc*. 2004 Aug;104(8):1287-91.
12. Uribarri J, Woodruff S, Goodman S, Cai W, Chen X, Pyzik R, et al. Advanced glycation end products in foods and a practical guide to their reduction in the diet. *J Am Diet Assoc*. 2010 Jun;110(6):911-16.
13. Fuchs FD, Fuchs SC, Moreira LB, Gus M, Nóbrega AC, Poli-de-Figueiredo CE, et al. Prevention of hypertension in patients with pre-hypertension: protocol for the PREVER-prevention trial. *Trials*. 2011 Mar 5; 12:65.
14. Fuchs FD, Fuchs SC, Moreira LB, Gus M, Nóbrega AC, Poli-de-Figueiredo CE, et al. A comparison between diuretics and angiotensin-receptor blocker agents in patients with stage I hypertension (PREVER-treatment trial): study

- protocol for a randomized double-blind controlled trial. *Trials*. 2011 Feb 24; 12:53.
15. Sociedade Brasileira de Cardiologia/Sociedade Brasileira de Hipertensão/  
Sociedade Brasileira de Nefrologia. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão.  
*Arq Bras Cardiol* 2010; 95(1 supl.1): 1-51.
  16. American Heart Association Nutrition Committee, Lichtenstein AH, Appel LJ,  
Brands M, Carnethon M, Daniels S, et al. Diet and lifestyle recommendations  
revision 2006: a scientific statement from the American Heart Association  
Nutrition Committee. *Circulation*. 2006 Jul 4;114(1):82-96.
  17. Hallal PC, Victora CG. Reliability and validity of the International Physical  
Activity Questionnaire (IPAQ). *Med Sci Sports Exerc*. 2004;36(3):556
  18. Mosele F. Efeitos da adequação à dieta DASH sobre níveis plasmáticos de  
AGEs e marcadores de inflamação vascular e sistêmica em pacientes com pré-  
hipertensão e hipertensão arterial. Development of a Score for Assessment of  
Dash-Type Diet Based on Frequency of Food Group Intake. Porto Alegre, Tese  
(Doutorado em Epidemiologia) Programa de Pós Graduação em Epidemiologia,  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). 2015;93-122.
  19. Duncan BB, Schmidt MI, Pankow JS, Ballantyne CM, Couper D, Vigo A, et al.  
Low-grade systemic inflammation and the development of type 2 diabetes: the  
atherosclerosis risk in communities study. *Diabetes*. 2003 Jul;52(7):1799-805.
  20. Baron RM, Kenny DA. The moderator-mediator variable distinction in social  
psychological research: Conceptual, strategic and statistical considerations. *J  
Pers Soc Psychol*. 1986;51:1173-82.
  21. Bollen KA, Stine R. Direct and indirect effects: Classical and bootstrap  
estimates of variability. *Sociol Methodol*. 1990;20:115-40.

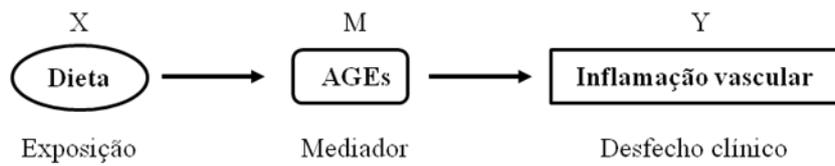
22. Fung TT, Chiuve SE, McCullough ML, Rexrode KM, Logroscino G, Hu FB.  
Adherence to a DASH-style diet and risk of coronary heart disease and stroke in women. *Arch Intern Med.* 2008 Apr 14;168(7):713-20.
23. Asemi Z, Samimi M, Tabassi Z, Sabihi SS, Esmailzadeh A. A randomized controlled clinical trial investigating the effect of DASH diet on insulin resistance, inflammation, and oxidative stress in gestational diabetes. *Nutrition.* 2013 Apr;29(4):619-24.
24. Erlinger TP, Miller ER 3rd, Charleston J, Appel LJ. Inflammation modifies the effects of a reduced-fat low-cholesterol diet on lipids: results from the DASH-sodium trial. *Circulation.* 2003 Jul 15;108(2):150-4.
25. King DE, Egan BM, Woolson RF, Mainous AG 3rd, Al-Solaiman Y, Jesri A. Effect of a high-fiber diet vs a fiber-supplemented diet on C-reactive protein level. *Arch Intern Med.* 2007 Mar 12;167(5):502-6.
26. Ludwig DS, Pereira MA, Kroenke CH, et al. Dietary fiber, weight gain, and cardiovascular disease risk factors in young adults. *JAMA.* 1999;282:1539–1546.
27. Liu S, Manson JE, Buring JE, et al. Relation between a diet with a high glycemic load and plasma concentrations of high-sensitivity C-reactive protein in middle-aged women. *Am J Clin Nutr.* 2002;75:492– 498.
28. Koschinsky T, He CJ, Mitsuhashi T, Bucala R, Liu C, Buenting C, et al. Orally absorbed reactive glycation products (glycotoxins): an environmental risk factor in diabetic nephropathy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997 Jun 10;94(12):6474-9.
29. Uribarri J, Cai W, Sandu O, Peppia M, Goldberg T, Vlassara H. Diet-derived advanced glycation end products are major contributors to the body's AGE pool

- and induce inflammation in healthy subjects. *Ann N Y Acad Sci.* 2005 Jun;1043:461-6.
30. Uribarri J, Cai W, Peppia M, Goodman S, Ferrucci L, Striker G, et al. Circulating glycotoxins and dietary advanced glycation endproducts: two links to inflammatory response, oxidative stress, and aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2007 Apr;62(4):427-33.
31. Uribarri J, Peppia M, Cai W, Goldberg T, Lu M, Baliga S, et al. Dietary glycotoxins correlate with circulating advanced glycation end product levels in renal failure patients. *Am J Kidney Dis.* 2003 Sep;42(3):532-8.
32. Abordo EA, Minhas HS, Thornalley PJ. Accumulation of alpha-oxoaldehydes during oxidative stress: a role in cytotoxicity. *Biochem Pharmacol.* 1999 Aug 15;58(4):641-8.
33. Fu MX, Requena JR, Jenkins AJ, Lyons TJ, Baynes JW, Thorpe SR. The advanced glycation end product, Nepsilon-(carboxymethyl)lysine, is a product of both lipid peroxidation and glycoxidation reactions. *J Biol Chem.* 1996 Apr 26;271(17):9982-6.
34. Ikeda K, Higashi T, Sano H, Jinnouchi Y, Yoshida M, Araki T, et al. N (epsilon)-(carboxymethyl)lysine protein adduct is a major immunological epitope in proteins modified with advanced glycation end products of the Maillard reaction. *Biochemistry.* 1996 Jun 18;35(24):8075-83.
35. Schmidt AM, Hori O, Brett J, Yan SD, Wautier JL, Stern D. Cellular receptors for advanced glycation end products. Implications for induction of oxidant stress and cellular dysfunction in the pathogenesis of vascular lesions. *Arterioscler Thromb.* 1994 Oct;14(10):1521-8.

36. Schmidt AM, Hori O, Chen JX, Li JF, Crandall J, Zhang J, et al. Advanced glycation endproducts interacting with their endothelial receptor induce expression of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in cultured human endothelial cells and in mice. A potential mechanism for the accelerated vasculopathy of diabetes. *J Clin Invest.* 1995 Sep;96(3):1395-403.
37. Basta G, Lazzerini G, Massaro M, Simoncini T, Tanganelli P, Fu C, et al. Advanced glycation end products activate endothelium through signal-transduction receptor RAGE: a mechanism for amplification of inflammatory responses. *Circulation.* 2002 Feb 19;105(7):816-22.
38. Higashi T, Sano H, Saishoji T, Ikeda K, Jinnouchi Y, Kanzaki T, et al. The receptor for advanced glycation end products mediates the chemotaxis of rabbit smooth muscle cells. *Diabetes.* 1997 Mar;46(3):463-72.
39. Kirstein M, Brett J, Radoff S, Ogawa S, Stern D, Vlassara H. Advanced protein glycosylation induces transendothelial human monocyte chemotaxis and secretion of platelet-derived growth factor: role in vascular disease of diabetes and aging. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990 Nov;87(22):9010-4.
40. Kirstein M, Aston C, Hintz R, Vlassara H. Receptor-specific induction of insulin-like growth factor I in human monocytes by advanced glycosylation end product-modified proteins. *J Clin Invest.* 1992 Aug;90(2):439-46.
41. Vlassara H, Brownlee M, Manogue KR, Dinarello CA, Pasagian A. Cachectin/TNF and IL-1 induced by glucose-modified proteins: role in normal tissue remodeling. *Science* 1988 June 10;240(4858):1546-48.
42. Hodson L, Harnden KE, Roberts R, Dennis AL, Frayn KN. Does the DASH diet lower blood pressure by altering peripheral vascular function? *J Hum Hypertens.* 2010 May;24(5):312-9.

43. Brunner H, Cockcroft JR, Deanfield J, Donald A, Ferrannini E, Halcox J, et al. Endothelial function and dysfunction. Part II: Association with cardiovascular risk factors and diseases. A statement by the Working Group on Endothelins and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens.* 2005 Feb;23(2):233-46.
44. Blake GJ, Ridker PM. Novel clinical markers of vascular wall inflammation. *Circ Res.* 2001 Oct 26;89(9):763-71.
45. Preston RA, Ledford M, Materson BJ, Baltodano NM, Memon A, Alonso A. Effects of severe, uncontrolled hypertension on endothelial activation: soluble vascular cell adhesion molecule-1, soluble intercellular adhesion molecule-1 and von Willebrand factor. *J Hypertens.* 2002 May;20(5):871-7.

**Figura 1.** Modelo de mediação



Etapas	Análise	Diagrama
1	RL de dieta como preditora de inflamação	
2	RL de dieta como preditora de AGEs para testar a via <i>a</i>	$X \xrightarrow{a} M$
3	RL de AGEs como preditor de inflamação para testar a significância da via <i>b</i>	$M \xrightarrow{b} Y$
4	RLM com dieta e AGEs como preditores de inflamação	

**Tabela 1.** Características da população em estudo

	<b>N (%) média ±DP</b>
Masculino	174 (48,2)
Idade (anos)	53,1 ± 9,5
Escolaridade (anos)	11,7 ± 3,8
Pré-hipertensão	146 (40,4)
PAS (mmHg)	130,7 ± 6,9
PAD (mmHg)	82,5 ± 5,7
Hipertensão controlada	87 (24,1)
PAS (mmHg)	128,3 ± 6,9
PAD (mmHg)	80,8 ± 6,8
Hipertensão não controlada	128 (35,5)
PAS (mmHg)	144,3 ± 6,6
PAD (mmHg)	90,9 ± 5,9
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	28,6 ± 4,7
Tabagismo atual	119 (33,0)
Nível de atividade física	
Baixo	242 (67,0)
Moderado	91 (25,2)
Vigoroso	27 (7,5)

IMC = índice de massa corporal; PAS = pressão arterial sistólica;

PAD = pressão arterial diastólica

**Tabela 2.** Distribuição dos escores e frequência de alimentos consumidos na linha de base e 12 semanas após intervenção.

	<b>Basal</b> (n=358)	<b>Após 12 semanas</b> (n=358)	<b>Delta</b>	<b>Valor P</b>
<b>Escore frutas</b>	<b>3,8 ± 2,6</b>	<b>4,7 ± 2,8</b>	<b>1,0 ± 2,6</b>	<b>&lt;0,01</b>
Frutas/suco*	1,6 ± 1,1	2,0 ± 1,5	0,5 ± 1,3	<0,01
<b>Escore vegetais</b>	<b>4,4 ± 2,7</b>	<b>5,0 ± 2,9</b>	<b>0,6 ± 2,6</b>	<b>&lt;0,01</b>
Verduras e legumes*	1,8 ± 1,1	2,0 ± 1,5	0,3 ± 1,1	<0,01
<b>Escore laticínios</b>	<b>5,0 ± 2,7</b>	<b>5,8 ± 3,1</b>	<b>0,8 ± 3,2</b>	<b>&lt;0,01</b>
Laticínios integrais*	1,4 ± 1,1	1,1 ± 1,1	-0,3 ± 1,1	<0,01
Laticínios desnatados*	0,5 ± 0,9	0,8 ± 1,0	0,3 ± 1,1	<0,01
<b>Escore grãos</b>	<b>4,6 ± 2,2</b>	<b>5,3 ± 2,3</b>	<b>0,7 ± 2,4</b>	<b>&lt;0,01</b>
Grãos refinados*	0,8 ± 1,0	1,9 ± 1,3	1,2 ± 1,8	<0,01
Grãos integrais*	0,8 ± 1,0	1,1 ± 1,1	0,3 ± 1,0	<0,01
<b>Escore oleaginosas/leguminosas</b>	<b>6,1 ± 2,8</b>	<b>5,9 ± 2,8</b>	<b>-0,2 ± 3,0</b>	<b>0,3</b>
Leguminosas**	5,4 ± 3,8	5,5 ± 4,0	0,1 ± 3,9	0,7
Oleaginosas**	1,7 ± 4,9	1,4 ± 3,0	-0,3 ± 4,5	0,2
<b>Escore carnes</b>	<b>6,1 ± 2,0</b>	<b>6,6 ± 1,9</b>	<b>0,5 ± 2,1</b>	<b>&lt;0,01</b>
Carnes vermelhas*	1,6 ± 0,8	1,5 ± 0,7	-0,1 ± 0,8	0,01
Carnes brancas*	0,3 ± 0,3	0,4 ± 0,3	0,1 ± 0,4	<0,01
<b>Escore óleos e gorduras</b>	<b>8,2 ± 2,1</b>	<b>8,7 ± 1,9</b>	<b>0,6 ± 2,2</b>	<b>&lt;0,01</b>
Gordura animal*	0,5 ± 0,7	0,3 ± 0,5	-0,2 ± 0,9	<0,01
Óleos vegetais*	0,9 ± 0,7	1,0 ± 0,7	0,1 ± 0,7	0,2
<b>FG-DASH Escore</b>	<b>38,1 ± 9,1</b>	<b>37,2 ± 8,5</b>	<b>-1,0 ± 7,8</b>	<b>0,02</b>

\* frequência de consumo diária; \*\* frequência de consumo semanal

**Tabela 3.** Mediana de marcadores inflamatórios e CML e, correlação entre componentes incluídos nos escores de inflamação vascular e sistêmicos

	Mediana (IQ25-75)	Correlação de Spearman								
		CML	Adiponectina	TNF- $\alpha$	IL-10	IL-6	IL1- $\beta$	VEGF	s-VCAM1	s-ICAM1
<b>sE-Seletina (ng/mL)</b>	0,4 (0,3-0,7)	-0,15**	0,40**	0,19**	0,09	0,11*	0,10	0,04	0,57**	0,65**
<b>sICAM (ng/mL)</b>	2,6 (1,8-3,6)	0,06	0,50**	-0,01	-0,12*	-0,09	-0,15**	-0,09	0,79**	
<b>sVCAM (ng/mL)</b>	18,0 (11,7-25,5)	0,06	0,59**	-0,05	-0,14**	-0,18**	-0,18**	-0,12*		
<b>VEGF (pg/mL)</b>	107,1 (81,2-147,1)	-0,16**	-0,04	0,27**	0,35**	0,46**	0,43**			
<b>IL1-<math>\beta</math> (pg/mL)</b>	0,9 (0,7-1,2)	-0,22**	-0,06	0,33**	0,43**	0,39**				
<b>IL-6 (pg/mL)</b>	0,9 (0,5-2,2)	-0,13*	-0,10	0,41**	0,42**					
<b>IL-10 (pg/mL)</b>	1,9 (1,3-2,8)	-0,16**	-0,11*	0,41**						
<b>TNF-alfa (pg/mL)</b>	5,6 (3,7-7,5)	-0,20**	-0,07							
<b>Adiponectina (ng/mL)</b>	178,8 (92,1-273,0)	-0,04								
<b>CML (<math>\mu</math>g/mL)</b>	1,65 (1,11-2,35)									

\*Correlação significativa  $P < 0,05$  (bicaudal); \*\*Correlação significativa  $P < 0,01$  (bicaudal).

**Tabela 4.** Análise de regressão linear múltipla aplicada a avaliação de mediação de AGES na associação entre escore de frequência de consumo de dieta tipo DASH (FG-DASH Escore) e escore de inflamação vascular de acordo com a pressão arterial

<b>Etapas de avaliação*</b>	Total		PA < 140/90		PA ≥ 140/90	
	<i>B</i>	Valor P	<i>B</i>	Valor P	<i>B</i>	Valor P
<b>Etapa 1:</b> Escore FG-DASH	0,07	0,2	-0,13	0,04	-0,10	0,3
<b>Etapa 2:</b> Escore FG-DASH	0,04	0,5	0,08	0,2	-0,06	0,5
<b>Etapa 3:</b> CML (log)	-0,04	0,5	-0,001	1,0	-0,13	0,18
<b>Etapa 4:</b>						
Escore FG-DASH	0,07	0,2	-0,13	0,04	-0,11	0,3
CML (log)	-0,04	0,4	-0,01	0,9	-0,41	0,16
<b>Modelo completo**</b>						
Escore FG-DASH	0,07	0,2	-0,12	0,07	-0,08	0,5
CML (log)	-0,06	0,3	-0,04	0,6	-0,13	0,2

\* Vide modelo conceitual, apresentado na Figura 1

\*\* Análise ajustada para sexo, idade, IMC e atividade física

**Tabela 5.** Análise de regressão linear múltipla aplicada a avaliação de mediação de AGES na associação entre escore de frequência de consumo de dieta tipo DASH (FG-DASH Escore) e escore de inflamação sistêmica de acordo com a pressão arterial

<b>Etapas de avaliação*</b>	Total		PA < 140/90		PA ≥ 140/90	
	<i>B</i>	Valor P	<i>B</i>	Valor P	<i>B</i>	Valor P
<b>Etapa 1:</b> Escore FG-DASH	-0,06	0,3	-0,10	0,11	0,05	0,6
<b>Etapa 2:</b> Escore FG-DASH	0,04	0,5	0,08	0,2	-0,06	0,5
<b>Etapa 3:</b> CML (log)	-0,23	<0,001	-0,18	0,004	-0,32	0,001
<b>Etapa 4:</b>						
Escore FG-DASH	-0,05	0,4	-0,09	0,16	0,03	0,7
CML (log)	-0,23	<0,001	-0,17	0,006	-0,31	0,001
<b>Modelo completo**</b>						
Escore FG-DASH	-0,08	0,12	-0,14	0,03	0,05	0,6
CML (log)	-0,24	<0,001	-0,18	0,006	-0,31	0,001

\* Vide modelo conceitual, apresentado na Figura 1

\*\* Análise ajustada para sexo, idade, IMC e atividade física

## CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente tese descreveu o desenvolvimento de um escore para avaliação de adesão a dieta tipo DASH. O FG-DASH escore apresentou validade de constructo e concorrente, bem como confiabilidade, particularmente em indivíduos hipertensos. A simplicidade desse instrumento, bem como, da obtenção das informações a partir de grupos alimentares, independente do tamanho e número de porções, o torna útil tanto na prática clínica quanto em saúde pública para a determinação do impacto de intervenções dietéticas para prevenção e controle da hipertensão.

Adicionalmente, esta tese buscou avaliar a hipótese de que os AGEs poderiam atuar como mediadores da associação entre dieta tipo DASH e marcadores de inflamação vascular e sistêmica. A ausência de associação entre FG-DASH Escore e AGEs refutam a hipótese de que a adesão ao padrão alimentar DASH leve a redução nos níveis plasmáticos de AGEs. A hipótese subsequente envolvendo um efeito direto entre os AGEs e marcadores de inflamação vascular e sistêmica foi confirmada entre CML, submetido a transformação logarítmica e escore de inflamação sistêmica, mas não vascular. A consistência desse achado, verificado para o total de participantes e, para indivíduos com e sem hipertensão, sugere que apesar de a associação ser mais forte entre os hipertensos, manteve-se mesmo entre indivíduos com pressão controlada e pré-hipertensos.

Dado o reconhecimento do papel dos AGEs nas complicações clínicas e risco cardiovascular associadas a condições inflamatórias como diabetes mellitus e insuficiência renal crônica, os resultados dessa tese ainda sugerem que em pacientes pré-hipertensos e hipertensos a redução na resposta inflamatória sistêmica associada a

menores níveis de AGEs poderia ainda ser considerado importante mecanismo na redução do risco para DCV.

## ANEXOS I

### Aprovação do adendo para inclusão da coleta de amostras biológicas dessa tese



**HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE**  
**Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação**  
COMISSÃO CIENTÍFICA E COMISSÃO DE PESQUISA E ÉTICA EM SAÚDE

A Comissão Científica e a Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde, que é reconhecida pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)/MS como Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA e pelo Office For Human Research Protections (OHRP)/USDHHS, como Institutional Review Board (IRB00000921) analisaram o projeto:

**Projeto:** 08-621

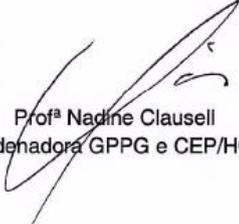
Pesquisador Responsável:
FLAVIO DANNI FUCHS

**Título:** PREVENÇÃO DE EVENTOS CARDIOVASCULARES EM PACIENTES COM PRÉ-HIPERTENSÃO E HIPERTENSÃO ARTERIAL - ESTUDO PREVER

<b>ADENDO 6</b>	<b>Data da Versão:</b> 23/08/2011
-----------------	--------------------------------------

Este documento referente ao projeto acima foi **APROVADO** em seus aspectos éticos e metodológicos, de acordo com as Diretrizes e Normas Internacionais e Nacionais, especialmente as Resoluções 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde.

Porto Alegre, 24 de agosto de 2011.

  
Profª Nadine Clausell  
Coordenadora GPPG e CEP/HCPA

## ANEXO II

### Status de Aprovação do Projeto na Plataforma Brasil

astros

Público Pesquisador Alterar Meus Dados FRANCISCA MOSELE - Assister

Sua sessão expira e

Você está em: Pesquisador > Gerir Pesquisa > Detalhar Projeto de Pesquisa

DETALHAR PROJETO DE PESQUISA

**Dados do Projeto de Pesquisa**

**Título da Pesquisa:** EFEITOS DA ADEQUAÇÃO À DIETA TIPO DASH SOBRE NÍVEIS PLASMÁTICOS DE AGES E MARCADORES DE INFLAMAÇÃO VASCULAR E SISTÊMICA EM PACIENTES COM PRÉ-HIPERTENSÃO E HIPERTENSÃO ARTERIAL

**Pesquisador:** Sandra C. P. Costa Fuchs

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 14250713.2.0000.5327

**Submetido em:** 01/11/2013

**Instituição Proponente:** Hospital de Clínicas de Porto Alegre

**Situação:** Aprovado

**Localização atual do Projeto:** Pesquisador Responsável

**Patrocinador Principal:** Hospital de Clínicas de Porto Alegre  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

