Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública

Efeito da ingestão de chocolate e erva mate no perfil lipídico e oxidativo de indivíduos com HIV/AIDS em uso de terapia antirretroviral.

Suelen Jorge de Souza

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição em Saúde Pública para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Nutrição em Saúde Pública

Orientadora:
Prof[a] Titular Patrícia Helen de Carvalho Rondó

São Paulo
2013

Efeito da ingestão de chocolate e erva mate no perfil lipídico e oxidativo de indivíduos com HIV/AIDS em uso de terapia antirretroviral.

Suelen Jorge de Souza

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição em Saúde Pública para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Nutrição em Saúde Pública

Orientadora:
Prof[a] Titular Patrícia Helen de Carvalho Rondó

São Paulo

2013

É expressamente proibida a comercialização deste documento tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

Dedicatória

*À minha mãe, **Marilene**, por todo amor, carinho, pelas orações e grande apoio.*

Agradecimentos

Sou grata primeiramente a **Deus** pela Sua misericórdia e por mostrar, até nos pequenos detalhes, que Ele está na minha vida. Esta dissertação de mestrado é a prova de que Deus cumpre as Suas promessas e no tempo certo entrega a vitória na nossa mão.

À minha orientadora Profa Titular Patrícia Helen de Carvalho Rondó, pela oportunidade de realizar este trabalho, pela orientação, paciência e competência, contribuindo para a minha formação acadêmica.

À Dra. Liania Alves Luzia, pela oportunidade de fazer parte do seu projeto e por ter sido um anjo que Deus colocou no meu caminho! Muito obrigada por toda ajuda, desde o começo até o final deste trabalho. Pela força, apoio, alegria... Deus te

abençoe por tudo!

Á profa Dra. Nágila Raquel Teixeira Damasceno pela colaboração e apoio técnico ao disponibilizar espaço e equipamentos do laboratório de Nutrição Humana e por toda contribuição no desenvolvimento deste trabalho.

Á profa Dra. Sigrid de Sousa dos Santos pela contribuição e colaboração para o desenvolvimento da dissertação.

Ao prof Titular José Maria Pacheco de Souza por toda dedicação, contribuição, paciência e apoio durante as análises estatísticas deste trabalho.

À profa Dra. Priscilla Efraim da UNICAMP, Arali, Everaldo e Cláudio da JAF Inox®, pela contribuição e colaboração na formulação e confecção

dos chocolates utilizados neste estudo clínico.

À profa Dra. Deborah Helena Markowicz Bastos, à nutricionista Mariana Corrêa de Almeida e à farmacêutica Cristiane Dertinatti pela colaboração na formulação dos chás utilizados neste estudo clínico.

Ao prof Titular Aluisio Augusto Cotrim Segurado por ter possibilitado o desenvolvimento deste trabalho na Casa da AIDS e ao Instituto de Infectologia Emílio Ribas.

A todos os funcionários da Casa da AIDS e do Emílio Ribas, em especial à Karen, Camila, Ana Paula, Hatsue, Richard, dona Nilma, Marcos e Luciana, que muito contribuíram para o desenvolvimento desta pesquisa.

À Andrea Mariana Teixeira, amiga e grande companheira de mestrado, com quem pude compartilhar as dificuldades, alegrias, descobertas, confidências e claro, cafezinhos!

À Patrícia Pontilho, Aline Petrilli, Natália Dias, Jennifer Tanaka e Andrea Junqueira, amigas e companheiras desta jornada do mestrado.

Ao Augusto Carioca (mais um anjo!), Caroline Pappiani, Patrícia Azevedo e Sara, por toda ajuda nas análises no laboratório de Nutrição Humana e por fazer com que esta fase difícil e trabalhosa se tornasse em algo alegre e divertido, com todo alto astral!

Á Rosana e à Geni, pela colaboração no processo de randomização deste ensaio clínico, por todo apoio técnico e ótimas risadas!

À Verônica, também pela colaboração na randomização dos pacientes e por, juntamente com a Natália Castro, dividir angústias e trazer incentivo.

Aos funcionários da Faculdade de Saúde Pública, em especial à Ana Paula do laboratório de Técnica Dietética, ao motorista Joel, ao Bastos, ao Zé Bezerra, à Roseli e equipe do Departamento de Nutrição e à Vânia e à Alessandra da seção de pós-graduação.

Aos fornecedores Mais Doce®, pela doação do açúcar, Fonterra®, pela doação do leite, Duas Rodas®, pela doação do aroma de pêssego e do corante caramelo, Danisco Brasil®, pela doação da polidextrose e emulsificante PGPR e à Corn Products® também pela doação de corante caramelo.

Aos participantes da pesquisa, pelo tempo dedicado, pelo carinho demonstrado, pelas histórias compartilhadas, contribuindo não somente para o desenvolvimento desta pesquisa e para a ciência, mas também para o meu crescimento profissional e pessoal.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo auxílio financeiro ao projeto (n° processo: 2009/52250-5) e pela bolsa de mestrado (n° processo: 2011/05446-1).

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização desta pesquisa e finalização da dissertação.

Muito obrigada!

RESUMO

Souza, SJ. **Efeito da ingestão de chocolate e erva mate no perfil lipídico e oxidativo de indivíduos com HIV/AIDS em uso de terapia antirretroviral.** [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; 2013.

Introdução: Atualmente observa-se aumento das complicações cardiovasculares, como alterações no perfil lipídico e oxidativo, em indivíduos com HIV/AIDS, devido à própria infecção, bem como aos diferentes componentes da terapia antirretroviral (TARV). Vários estudos, em outras populações, mostram que os flavonóides presentes no cacau (*Theobroma cacao*) e erva mate (*Ilex paraguariensis*) podem melhorar a função cardiovascular devido às suas propriedades antioxidantes e hipolipemiantes. **Objetivo:** Avaliar o efeito da ingestão de chocolate e erva mate no perfil lipídico e oxidativo de indivíduos com HIV/AIDS em TARV. **Metodologia**: Ensaio clínico do tipo *cross-over*, aleatorizado, cego e controlado com placebo envolvendo 89 voluntários, de 28-59 anos de idade, em tratamento regular com TARV por, no mínimo, seis meses e com carga viral <500 cópias/mL. Os voluntários consumiram 65g de chocolate em barra (chocolate preto contendo 36g de cacau e placebo) e 3g de chá (erva mate solúvel e placebo) por 15 dias cada, seguido por 15 dias de *washout* entre cada período de suplementação. Foram avaliadas as seguintes características: perfil demográfico e socio-econômico, variáveis antropométricas, imunológicas, prática de atividade física, perfil lipídico (colesterol total, LDL-c, HDL-c, não HDL-c, triacilgliceróis e índices de Castelli I e II), e oxidação lipídica (LDL eletronegativa e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico-TBARS). As análises estatísticas do *cross-over* foram realizadas através de análises de variância (ANOVA) utilizando o procedimento *pkcross* no software Stata versão 11.0. Também se realizou teste t de *Student* pareado entre os parâmetros no *baseline* e após consumo dos suplementos de interesse (chocolate preto e erva mate). Considerou-se significante $p<0,05$. **Resultados:** Os pacientes eram na maioria do sexo masculino (62,9%), com média de idade de 44,6 (±7,1) anos. Observou-se média de 13,2 (±4,8) anos de diagnóstico de HIV/AIDS, com 10,6 (±5,1) anos de uso de TARV. Não houve diferença significativa comparando as médias das variáveis do perfil lipídico e oxidativo entre as diferentes suplementações (chocolate preto, erva mate e placebos) por ANOVA. Entretanto, na comparação entre as variáveis no *baseline* e após consumo de chocolate preto, pelo teste t de *Student* pareado, observou-se aumento de colesterol total ($p=0,005$), HDL-c ($p=0,019$) e LDL-c ($p=0,002$). **Conclusão:** Este é o primeiro estudo clínico que avaliou o efeito da ingestão de chocolate (cacau) e chá mate (erva mate) no perfil lipídico e oxidativo de indivíduos com HIV/AIDS em TARV. No presente estudo, o consumo tanto do cacau quanto da erva mate por 15 dias cada, não foi suficiente para melhorar o perfil lipídico e oxidativo destes indivíduos, apesar do aumento de HDL-c observado após o consumo do chocolate preto. Tal resultado neste grupo de indivíduos pode ser devido ao seu metabolismo diferenciado, o qual sofre alterações não apenas pela própria infecção, mas também pela TARV, a quantidade e biodisponibilidade dos flavonóides nos suplementos e ao tempo de intervenção.

Descritores: Perfil lipídico, Oxidação, HIV/AIDS, Terapia Antirretroviral, Chocolate, Erva Mate.

ABSTRACT

Souza, SJ. Effect of chocolate and yerba mate consumption on lipid and oxidative profile of individuals with HIV/AIDS on antiretroviral therapy. [Dissertation]. São Paulo (BR): Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; 2013.

Introduction: Nowadays there is an increase of cardiovascular complications, such as changes on the lipid and oxidative profile of individuals with HIV/AIDS due to the infection itself, as well as to the different components of the antiretroviral therapy (ART). Several studies in other populations, show that flavonoids in cocoa (*Theobroma cacao*) and yerba mate (*Ilex paraguariensis*) may improve cardiovascular function due to its antioxidant and lipid lowering. **Objective:** To evaluate the effect of chocolate intake and yerba mate on the lipid and oxidative profile of individuals with HIV/AIDS on ART. **Methodology**: Randomized, placebo-controlled, blinded cross-over trial involving 89 volunteers ages 28-59 years, in ART for at least six months and with viral load <500 copies/mL. The volunteers consumed 65g chocolate bar (36g dark chocolate containing cocoa or placebo) and 3g of tea (yerba mate soluble and placebo) for 15 days each, followed by 15 days washout period before the subsequent treatment. The following characteristics were evaluated: demographic and socio-economic, anthropometric, immunologic, physical activity, lipid profile (total cholesterol, LDL-c, HDL-c, non-HDL-c, triglycerides and Castelli I and II indices), and lipid oxidation profile (electronegative LDL and thiobarbituric acid reactive substances- TBARS). Statistical analyzes were performed by the cross-over analysis of variance (ANOVA) using the procedure pkcross in Stata version 11.0. The paired Student's t-test was also utilized. A p value <0.05 was considered significant. **Results**: Patients were mostly male (62.92%) with a mean age of 44.6 (± 7.1) years. The mean time of HIV/AIDS diagnosis was 13.2 (± 4.8) years, with 10.6 (± 5.1) years of ART. There was no statistically significant difference comparing the lipid profile and lipid oxidation profile of the individuals under the different supplementations (dark chocolate, yerba mate, and placebo) by ANOVA. However, comparing the variables in the baseline period and after consumption of dark chocolate by the paired Student's t-test, there were increases in total cholesterol (p=0.005), HDL-c (p=0.019) and LDL-c (p=0.002). **Conclusion:** This is the first clinical study that evaluated the effect of chocolate (cocoa) and mate tea (yerba mate) consumption on lipid and oxidative profile of individuals with HIV/AIDS on ART. In the present study, daily consumption of neither cocoa nor yerba mate for 15 days was sufficient to improve lipid and oxidative profile of these individuals, despite the increase in HDL-c observed after consumption of dark chocolate. Such an outcome in this group of individuals can be distinguished due to its metabolism, which is altered not only by the infection itself, but also by the ART, the amount and bioavailability of flavonoids in supplements and timing of intervention.

Keywords: Lipid profile, Oxidation, HIV/AIDS, Antiretroviral Therapy, Chocolate, Yerba Mate.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO 22
1.1 INFECÇÃO PELO HIV E A AIDS 22
1.2 EPIDEMILOGIA DO HIV/AIDS 23
1.3 TERAPIA ANTIRRETROVIRAL 24
1.4 TERAPIA ANTIRRETROVIRAL E ALTERAÇÕES LIPÍDICAS 27
1.5 ESTRESSE OXIDATIVO E INFECÇÃO PELO HIV 29
1.6 CACAU 31
1.7 ERVA MATE 32
2. JUSTIFICATIVA 33
3. HIPÓTESE 33
4. OBJETIVO 33
5. CASUÍSTICA E MÉTODOS 34
5.1 LOCAL E POPULAÇÃO DE ESTUDO 34
5.1.1 Critérios de Inclusão da População 34
5.1.2 Critérios de Exclusão da População 34
5.2 DESENHO DO ESTUDO 35
5.3 INTERVENÇÃO 38
5.4 SUPLEMENTOS 40
5.4.1 Chocolate 40
5.4.2 Chá 41
5.4.3 Análise dos Compostos Bioativos no Chocolate e Chá mate 42
5.4.3.1 Compostos Fenólicos 42
5.4.3.2 Metilxantinas 43
5.5 COLETAS DE DADOS 43
5.5.1 Pré-teste 43
5.5.2 Avaliação do Perfil Demográfico e Socio-econômico 43
5.5.3 Avaliação do Estado Nutricional 44
5.5.4 Avaliação da Prática de Atividade Física 46
5.5.5 Colheita Sanguínea 47
5.5.6 Análise Laboratorial 48
5.5.6.1 Análise Imunológica e Virológica 48
5.5.6.2 Determinação de Lipídios Plasmáticos 49
5.5.6.3 Classificação dos Níveis Lipídicos Plasmáticos 50
5.5.6.4 Detecção da LDL (-) 50
5.5.6.5 Determinação de TBARS 52
5.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS 52
5.7 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS 53
6. RESULTADOS 54
6.1 CARACTERIZAÇÃO DOS INDIVÍDUOS DO ENSAIO CLÍNICO 56
6.1.1 Fatores Demográficos e Socio-econômicos 56
6.1.2 Uso de drogas lícitas e ilícitas 58

6.1.3 Histórico familiar de doenças 58
6.1.4 História Clínica 60
6.1.5 Avaliação Nutricional 63
6.1.6 Avaliação da Atividade Física 66
6.1.7 Caracterização do Perfil Imunológico e Virológico 66
6.1.8 Adesão aos Suplementos
6.2 CARACTERIZAÇÃO DOS INDIVÍDUOS DO ENSAIO CLÍNICO DE ACORDO COM A ADESÃO AOS SUPLEMENTOS E AS VARIÁVEIS ANTROPOMÉTRICAS 67
6.2.1 Adesão aos Suplementos 67
6.2.2 Variáveis Antropométricas 68
6.2 CARACTERIZAÇÃO DOS INDIVÍDUOS DO ENSAIO CLÍNICO DE ACORDO COM AS VARIÁVEIS DE DESFECHO (PERFIL LIPÍDICO E OXIDATIVO) 70
7. DISCUSSÃO 75
7.1 PERFIL LIPÍDICO E OXIDATIVO DOS INDIVÍDUOS 75
7.2 EFEITO DA INGESTÃO DE CHOCOLATE E ERVA MATE NO PERFIL LIPÍDICO E OXIDATIVO DOS INDIVÍDUOS 79
7.2.1 Chocolate Preto 81
7.2.2 Erva Mate 84
7.2.3 Biodisponibilidade dos Polifenóis no Chocolate Preto e Erva Mate 87
8. CONCLUSÃO 90
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 91
APÊNDICES
APÊNDICE 1 . Questionário de recusa 104
APÊNDICE 2 . Modelos de esquema para controle da intervenção 105
ANEXOS
ANEXO 1 . Carta de aprovação da pesquisa no Comitê de ética da FSP/ USP 107
ANEXO 2 . Carta de aprovação da pesquisa no Comitê de ética da FM/USP 108
ANEXO 3 . Termo de Consentimento livre esclarecido 109
ANEXO 4 . Artigo de Revisão Publicado 113
CURRÍCULO LATTES

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

3TC - lamivudina

5-CQA - ácido 5-cafeoilquínico

ABC - abacavir

AIDS – síndrome da imunodeficiência adquirida

ANOVA - análise de variância

APO A – apolipoproteína AI

APO B – apolipoproteína B-100

ATP III – *adult treatment panel III*

ATV - atazanavir

AVC – acidente vascular cerebral

AZT - zidovudina

BHT - butylated hydroxytoluene

CAPPesq - Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa

CC – circunferência da cintura

CNS – Conselho Nacional de Saúde

CT- colesterol total

d4T - estavudina

DCVs – doenças cardiovasculares

ddI - didanosina

DNA - ácido desoxirribonucleico

DM – Diabetes *mellitus*

DRV - darunavir

DST – doença sexualmente transmissível

EDTA - ácido etileno diamino-tetra-acético

EFV - efavirenz

ELISA - *Enzime Linked ImmunoSorbent Assay*

EO – estresse oxidativo

EROS – espécies reativas de oxigênio

FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

FM/USP – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

FSP/USP – Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo

GPs - glicoproteínas

HAART - *Highly Active Antiretroviral Therapy*

HDL-c – colesterol associado à lipoproteína de alta densidade

HIV – vírus da imunodeficiência humana

HPLC – *High Performance Liquid Chromatography*

IAM – infarto agudo do miocárdio

IDF - *International Diabetes Federation*

IDV - indinavir

IMC – índice de massa corporal

IL-6 – interleucina 6

IP – inibidores de protease

IPAQ - Questionário Internacional de Atividade Física

ITAL – Instituto de Tecnologia de Alimentos

ITRN - inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos

ITRNN – inibidores da transcriptase reversa não análagos de nucleosídeos

LANPOP - Laboratório de Avaliação Nutricional de Populações

LDL-c - colesterol associado à lipoproteína de baixa densidade

LDL (-) - lipoproteína de baixa densidade eletronegativa ou minimamente oxidada

LEP – Laboratório de Estudos Populacionais

LPV - lopinavir

MDA - malondialdeído

MVC - maraviroque

NCEP - *National Cholesterol Education Program*

NFV - nelfinavir

NVP - nevirapina

OMS – Organização Mundial da Saúde

PBS - *phosphate-buffered saline*

PMSF- fluoreto de fenilmetilsulfonila

RAL - raltegravir

RTV - ritonavir

SEAP – Serviço de Atendimento ao Paciente HIV/AIDS “Casa da AIDS”

SQV - saquinavir

SUS – Sistema Único de Saúde

T-20- enfuvirtida

TACO – Tabela Brasileira de Composição de Alimentos

TARV – terapia antirretroviral

TAT – proteína transregulatória

TBA – ácido tiobarbitúrico

TBARS – substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TCLE – termo de consentimento livre esclarecido

TDF - tenofovir

TG – triacilgliceróis

TMB - 3,3,5,5 tetrametilbenzima

TNF-α - fator de necrose tumoral alfa

TPV - tipranavir

TSH – hormônio estimulante da tireóide

VLDL - lipoproteína de muito baixa densidade

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Efeitos benéficos dos compostos bioativos da erva mate. **32**

Tabela 2. Composição nutricional do chocolate preto e placebo. **41**

Tabela 3. Distribuição de adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral que não foram incluídos na pesquisa, segundo motivos de exclusão. São Paulo, 2013. **55**

Tabela 4. Distribuição, médias e desvios- padrão (DP) de adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral incluídos na pesquisa, segundo características demográficas e socio-econômicas (n=89). São Paulo, 2013. **56**

Tabela 5. Distribuição de adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral, segundo uso de drogas lícitas e ilícitas (n=89). São Paulo. 2013. **58**

Tabela 6. Distribuição, médias e devio-padrão (DP) de adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral, segundo o histórico familiar (pai e mãe) (n=89). São Paulo, 2013. **59**

Tabela 7. Distribuição, médias e desvios-padrão (DP) de adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral, segundo as variáveis de história clínica (n=89). São Paulo, 2013. **61**

Tabela 8. Distribuição de adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral, segundo tipos de drogas antirretrovirais utilizadas (n=89). São Paulo, 2013. **62**

Tabela 9. Distribuição, médias e desvios-padrão (DP) de adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral, segundo as variáveis antropométricas (n=89). São Paulo, 2013. **65**

Tabela 10. Distribuição de adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral, segundo classificação da prática de atividade física (n=89). São Paulo, 2013. **66**

Tabela 11. Distribuição, médias e desvios-padrão (DP) de adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral, segundo as variáveis do perfil imunológico no *baseline* (n=89). São Paulo, 2013. **67**

Tabela 12. Distribuição, médias e desvios-padrão (DP) da adesão aos suplementos (barras/sachês) dos adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral. São Paulo, 2013. **68**

Tabela 13. Variáveis antropométricas no *baseline* e nas diferentes suplementações em adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral. São Paulo, 2013. **69**

Tabela 14. Distribuição, médias e desvios-padrão (DP) de adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral, segundo as variáveis do perfil lipídico no *baseline* (n=89). São Paulo, 2013. **71**

Tabela 15. Variáveis do perfil lipídico e oxidativo no *baseline* e nas diferentes suplementações em adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral [indivíduos que completaram todas as 4 fases (n=79)]. São Paulo, 2013. **72**

Tabela 16. Variáveis do perfil lipídico e oxidativo no *baseline* e nas diferentes suplementações em adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral [indivíduos que completaram todas as 4 fases (n=79) + indivíduos que completaram ao menos 2 fases (n=10)]. São Paulo, 2013. **74**

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Drogas antirretrovirais de acordo com classe terapêutica. **26**

Quadro 2. Valores de referência para índice de massa corporal (IMC). **45**

Quadro 3. Valores de referência de circunferência da cintura (CC) para classificação de obesidade abdominal. **45**

Quadro 4. Classificação da Prática de Atividade Física. **47**

Quadro 5. Valores de referência de lipídios plasmáticos. **50**

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Distribuição de adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral, segundo motivos de recusa em participar da pesquisa (n=267). São Paulo, 2013. **54**

Gráfico 2. Distribuição de adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral, segundo tipo de esquema antirretroviral atual (n=89). São Paulo, 2013. **63**

Gráfico 3. Distribuição de adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral, segundo classificação do IMC (kg/m^2) (n=89). São Paulo, 2013. **64**

Gráfico 4. Distribuição de adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral, segundo classificação da circunferência da cintura (CC) em cm (n=89). São Paulo, 2013. **64**

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo replicativo do HIV e locais de ação dos medicamentos antirretrovirais. **27**

Figura 2. Fluxograma do recrutamento. **37**

Figura 3. Fluxograma da intervenção. **40**

1. INTRODUÇÃO

1.1 INFECÇÃO PELO HIV E A AIDS

A síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) é a expressão clínica do estágio mais avançado da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV). Trata-se de uma doença que acomete o sistema imunológico, deixando o organismo mais vulnerável a diversas comorbidades (MS, 2013a).

O HIV é um retrovírus pertencente à família Retroviridae, gênero Lentivirus e constitui-se de partícula icosaédrica, envelopado, apresentando em sua superfície uma membrana lipídica proveniente da membrana celular do hospedeiro e duas principais glicoproteínas virais (GPs), a gp120 e gp41 (SABINO et al., 2009; FANALES-BELASIO et al., 2010).

Através de suas GPs de superfície, o HIV adere à célula hospedeira e introduz seu material genético no citoplasma da célula, em seguida, ocorre o processo de transcrição reversa, formação de fita dupla de DNA pró-viral a partir de uma das fitas de RNA viral. O DNA pró-viral é transportado para o núcleo da célula hospedeira e integrado ao seu material genético pela enzima integrase. A transcrição do RNA genômico viral e dos RNAs mensageiros que codificam as proteínas virais é realizada pela RNA polimerase II. Os RNAs mensageiros codificam as poliproteínas virais produzidas no retículo endoplasmático rugoso ou em ribossomos. As poliproteinas e as cadeias de RNA genômicos organizam-se em partículas virais imaturas. Durante ou imediatamente após a liberação da membrana plasmática da célula hospedeira, o vírus sofre maturação por clivagem das poliproteínas virais pela enzima viral protease, tornando-se infectante (MARQUES e MASUR, 2009; FANALES-BELASIO et al., 2010).

O HIV pode infectar diversas células, as quais se tornam veículos de transmissão do vírus. Estas células infectadas podem transferir o HIV para células do sistema imune, principalmente células dendríticas foliculares, macrófagos e linfócitos T CD4+, bem como células de revestimento vaginal ou mucosa anorretal (FANALES-BELASIO et al., 2010).

A transmissão viral ocorre pela exposição do indivíduo sadio ao sangue ou secreções contaminadas através de: relação sexual, infecção materno-infantil (transmissão vertical), transfusão de sangue, uso de drogas injetáveis, transplantes e outros procedimentos hospitalares ou por acidente. Todos os indivíduos portadores do HIV podem transmitir a infecção, mas pacientes sintomáticos com maior carga plasmática de HIV apresentam maior transmissibilidade (RIBEIRO et al., 2009).

A infecção aguda por HIV se desenvolve em 40 a 90% dos pacientes com período de incubação de três a seis semanas. Ocorre alta viremia (>10^5 cópias/mL) e queda transitória da contagem de linfócitos T CD4+ no sangue periférico. Nesta fase ocorre o surgimento dos primeiros sinais e sintomas da doença, sendo os mais comuns: febre, poliadenomegalia, faringite, exantema e mialgia. Com as novas metodologias diagnósticas, pode-se diagnosticar a infecção por HIV após três semanas do contato. O diagnóstico pode ser mais precoce utilizando-se técnicas moleculares para detecção do RNA do HIV. No entanto, o diagnóstico definitivo é sorológico, sendo necessário aguardar de três a quatro semanas para a realização do teste (MARQUES e MASUR, 2009; SANTOS e LI, 2012; MS, 2013b).

A infecção aguda é seguida por um período de latência clínica, o qual está associado à queda dos níveis de viremia do HIV e a maioria dos pacientes não apresenta sintomas (MARQUES e MASUR, 2009; MS, 2013b).

Na fase sintomática ocorre alta redução dos linfócitos T CD4+. Na ausência de tratamento, a duração média da soroconversão até o desenvolvimento da AIDS é de 10 anos, período marcado pela lenta queda dos linfócitos T CD4+ (com concentrações menores que 200 células/mL) e presença de infecções oportunistas por bactérias, vírus, fungos, parasitas e tumores, devido à disfunção grave do sistema imune (MARQUES e MASUR, 2009; FANALES-BELASIO et al., 2010; MS, 2013b).

1.2 EPIDEMILOGIA DO HIV/AIDS

Os primeiros casos da AIDS foram descritos em homens homossexuais nos Estados Unidos, no início dos anos 80. Em seguida foi relatada a descrição da síndrome em hemofílicos, hemotransfundidos, usuários de drogas, crianças nascidas

de mães infectadas e parceiros sexuais de indivíduos infectados (RIBEIRO et al., 2009).

Atualmente, de acordo com o relatório anual do Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS, existem no mundo aproximadamente 34 milhões de indivíduos infectados com HIV e em 2011 foram infectados cerca de 2,5 milhões de pessoas, sendo que, o continente Africano é a região mais atingida pela epidemia (UNAIDS, 2012).

No Brasil, de 1980 a junho de 2012 foram notificados 656.701 casos de AIDS. Segundo critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS), o Brasil tem uma epidemia estável. A taxa de incidência oscila em torno de 20,2 casos de AIDS por 100 mil habitantes. A faixa etária em que a AIDS é mais incidente, em ambos os sexos, é de 25 a 49 anos de idade. Atualmente, a doença ainda é predominante no sexo masculino, mas essa diferença vem diminuindo ao longo dos anos, chegando em 2011 a 1,7 casos em homens para 1 em mulheres. É importante ressaltar que o maior número de casos acumulados está concentrado na região Sudeste (56%) (MS, 2013c).

O estado de São Paulo compreende 33,5% do total de notificações do país desde 1980, sendo que em 2012 este Estado representou aproximadamente 22% dos casos notificados no país (MS, 2013d). O município de São Paulo é o que apresenta o maior número absoluto de casos de AIDS, devido a sua densidade populacional e suas demais características de grande centro urbano (SANTOS et al., 2002). Desde o início da epidemia da AIDS nos anos 1980 até hoje, muito tem sido feito para proporcionar melhor qualidade de vida aos portadores do HIV (MS, 2013d).

1.3 TERAPIA ANTIRRETROVIRAL

Em 1986 o Ministério da Saúde criou o Programa Nacional de DST/AIDS e em 1987 passou a disponibilizar a zidovudina (AZT) em monoterapia. Em 1996 verificou-se que a associação de drogas com diferentes mecanismos de ação conferia maior potência ao tratamento antirretroviral, sendo chamada terapia antirretroviral altamente potente ou *Highly Active Antiretroviral Therapy* (HAART). Atualmente, o esquema preferencial de tratamento antirretroviral combina três medicamentos

antirretrovirais: dois inibidores de transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (ITRN) associados a um inibidor de transcriptase reversa não análogo de nucleosídeos (ITRNN) ou a um inibidor de protease (IP). (LOMAR e DIAMENT, 2009; MS, 2013e).

O objetivo da terapia antirretroviral (TARV) é diminuir a morbidade e mortalidade consequentes à infecção pelo HIV. A supressão da replicação viral leva à recuperação ou preservação da função imune e, com isso, à diminuição da frequência de infecções e neoplasias oportunistas (MS, 2013e).

O início da terapia é recomendado para indivíduos sintomáticos, independentemente da contagem de linfócitos T CD4+; para àqueles assintomáticos com contagem de linfócitos T CD4+ menor ou igual a 500 células/mm^3 e para gestantes, independente da presença de sintomas e da contagem de linfócitos T CD4+ (MS, 2013e).

A TARV também deve ser considerada para pacientes com contagem de CD4+ maior que 500 células/mm^3, na presença das seguintes condições: coinfecção pelo vírus da hepatite B (em pacientes com indicação de tratamento para hepatite B); doença cardiovascular estabelecida ou com risco elevado (acima de 20%, segundo escore de Framingham) (WILSON et al., 1998); neoplasias não definidoras de AIDS com indicação de quimioterapia ou radioterapia.

Recomenda-se monitorização frequente para definir possível início mais precoce da terapia nas seguintes situações: coinfecção pelo vírus da hepatite C e carga viral acima de 100.000 cópias/mL (MS, 2013e).

Atualmente existem seis classes de medicamentos antirretrovirais, conforme descrito no Quadro 1.

Quadro 1. Drogas antirretrovirais de acordo com classe terapêutica.

IP	ITRN	ITRNN	Inibidor de Fusão	Inibidor de CCR5 (inibidor de entrada)	Inibidor da integrase
Atazanavir (ATV) Darunavir (DRV) Fosamprenavir (FPV) Indinavir (IDV) Lopinavir (LPV) Nelfinavir (NFV) Ritonavir (RTV) Saquinavir (SQV) Tipranavir (TPV)	Abacavir (ABC) Didanosina (ddI) Emtricitabina (FTC) Estavudina (d4T) Lamivudina (3TC) Tenofovir (TDF) Zidovudina (AZT)	Efavirenz (EFV) Etravirina (ETR) Nevirapina (NVP)	Enfuvirtida (T-20)	Maraviroque (MVC)	Raltegravir (RAL)

Legendas: IP= Inibidores de protease; ITRN = inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos; ITRNN= inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos.
Fonte: SOUZA et al. 2013.

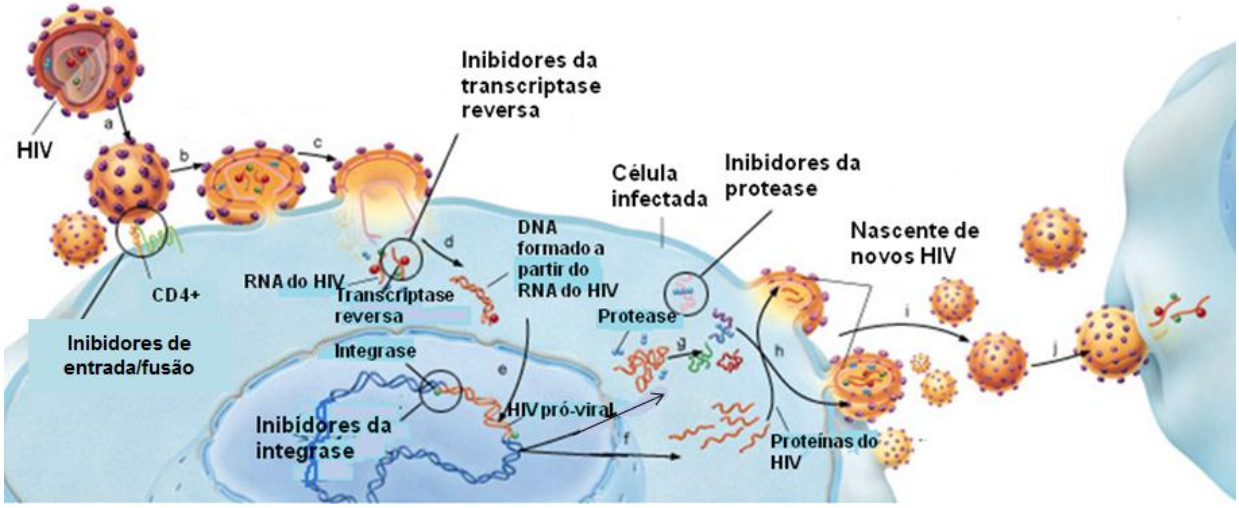
Os locais de ação dos medicamentos antirretrovirais (LOMAR e DIAMENT, 2009; MS, 2013f) podem ser observados na Figura 1 e estão descritos abaixo:

- IP - atuam na enzima viral protease, inibindo a maturação viral, tornando-o incapaz de infectar outra célula;
- ITRN - inibem a transcrição reversa do RNA viral para DNA, de forma competitiva com os nucleosídeos celulares;
- ITRNN- inibem enzima transcriptase reversa de forma não competitiva,

impedindo, também, a transcrição do RNA viral para DNA pró-viral;

- Inibidores de fusão - atuam se ligando à molécula gp41 do vírus e, desta forma, inibindo a fusão da partícula viral à célula do hospedeiro;
- Inibidores de entrada - atuam inibindo a entrada do vírus nas células do hospedeiro, bloqueando a ligação do HIV com o receptor quimioquina CCR5 também necessário à entrada do vírus para o interior da célula;
- Inibidores da integrase - bloqueia a atividade da enzima integrase, responsável pela inserção do DNA do HIV ao DNA humano. Assim, inibe a replicação do vírus e sua capacidade de infectar novas células.

Figura 1. Ciclo replicativo do HIV e locais de ação dos medicamentos antirretrovirais.



Adaptado do *website*: www.paxtonprovitera.com/research/pics/hivcycle2.jpg

1.4 TERAPIA ANTIRRETROVIRAL E ALTERAÇÕES LIPÍDICAS

Antes do início da terapia antirretroviral, vários estudos já mostravam alterações lipídicas em pacientes com HIV/AIDS devido à própria infecção (GRUNFELD et al., 1989; DRONDA, 2004). Pacientes soropositivos para HIV sem tratamento antirretroviral, quando comparados com controles não infectados por HIV, apresentam concentrações séricas mais elevadas de triacilgliceróis (TG), além de redução de colesterol total (CT), lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) e

lipoproteína de alta densidade (HDL-c) (GRUNFELD et al., 1989; NGUEMAÏM et al., 2010; FOURIE et al., 2010).

A concentração sérica diminuída de HDL-c pode ser utilizada como marcador de atividade inflamatória crônica (LLIBRE et al., 2006). Em estudo de coorte realizado na Espanha, pacientes infectados por HIV sem tratamento apresentavam redução do HDL-c, especialmente se já tivessem feito uso de terapia antirretroviral (BERNAL et al., 2008). Entretanto, mesmo pacientes em uso de terapia antirretroviral com adequada supressão viral e reconstituição imune ainda apresentam diminuição de HDL-c, sugerindo que a atividade inflamatória não é completamente controlada (LLIBRE et al., 2006).

Com a introdução da terapia antirretroviral houve uma melhora substancial do prognóstico dos pacientes com HIV/AIDS observando-se diminuição da morbidade e mortalidade por doenças oportunistas e consequente melhora da qualidade de vida. (MEHTA e REYLLY, 2005; BOCCARA, 2008).

No entanto, evidências associam a terapia antirretroviral à síndrome lipodistrófica, constituída por diversas características: resistência periférica à insulina, dislipidemia, redistribuição da gordura corporal com presença de obesidade visceral e acúmulo de gordura cervical (“*buffalo hump”)* (BOCCARA, 2008; TROLL, 2011).

Estudos recentes têm demonstrado a frequência crescente de complicações cardiovasculares associadas com maior risco de mortalidade em indivíduos com HIV/AIDS, devido à própria infecção, bem como aos diferentes componentes da terapia (BOCCARA, 2008; BAKER et al. 2009).

A dislipidemia associada à terapia antirretroviral se caracteriza por aumento das concentrações séricas de CT, TG, LDL-c, lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), diminuição do HDL-c e aumento da apolipoproteina B (apo B) constituindo perfil lipídico aterogênico (DUCOBU e PAYEN, 2000; DRONDA, 2004,SOUZA et al., 2013).

A prevalência de dislipidemia e de outros fatores de risco para doenças cardiovasculares (DCVs) é significativa em indivíduos com infecção por HIV/AIDS em terapia antirretroviral, variando de 20 a 80%, dependendo do desenho de estudo e da população investigada (TROLL, 2011).

Inicialmente, essas alterações lipídicas foram descritas em pacientes em uso de esquemas antirretrovirais incluindo drogas IP. Posteriormente, foram observadas em pacientes que utilizavam esquemas compostos de ITRN e de ITRNN (ELÍAS-CALLES e CALERO, 2010).

Os IP, ITRN e ITRNN são as drogas mais associadas às alterações no metabolismo lipídico e resistência à insulina (ZOU e BERGLUND, 2007; MALLEWA et al., 2009), mas os medicamentos que compõem cada classe também apresentam efeitos metabólicos distintos (GRINSPOON e CARR, 2005; WARE et al., 2009; SOUZA et al., 2013).

1.5 ESTRESSE OXIDATIVO E INFECÇÃO PELO HIV

A infecção pelo HIV leva a ativação do sistema imunológico, o que induz estresse oxidativo (EO) local e sistêmico (COACCIOLI et al., 2010).

EO é o termo geralmente usado para descrever o desbalanço entre oxidantes e antioxidantes em favor dos oxidantes, com associação a ruptura do circuito redox e ou dano molecular e com participação das espécies reativas de oxigênio (EROS) (JONES, 2006).

Proteínas do HIV, como a proteína transregulatória (TAT), induzem ao aumento das EROS em pacientes infectados, incluindo o pró-oxidante H_2O_2 (LACHGAR et al. 1999; PYO et al., 2008), através da geração mitocondrial de ânion superóxido que pode, por sua vez, ativar o fator de transcrição nuclear NF-$_k$B e induzir a expressão e replicação do HIV (ALLARD et al. 1998; MANDAS et al., 2009). Além disso, a infecção pelo HIV pode, indiretamente, inibir a síntese de glutationa, que é a principal antioxidante endógena (MANDAS et al., 2009).

O aumento da produção das EROS também pode ser influenciado pela terapia antirretroviral, a qual contribui para o desequilíbrio oxidativo por mecanismos ainda não esclarecidos (MANDAS et al., 2009).

Indivíduos infectados pelo HIV apresentam concentrações aumentadas de hidroperóxidos e malondialdeído (MDA) quando comparados aos indivíduos soronegativos, indicando maior peróxidação lipídica mediada pelas EROS (FAVIER et al., 1994; URSO e CLARKSON, 2003).

As EROS podem induzir a produção de citocinas pró-inflamatórias, incluindo fator de necrose tumoral alfa (TNF-α), levando a geração de mais EROS. Além disso, o EO tem a habilidade de induzir a apoptose e pode, hipoteticamente, promover a apoptose das células T CD4+ (GIL et al., 2005). Concomitante a isso, alguns estudos têm confirmado que indivíduos infectados pelo HIV apresentam baixa concentração de antioxidantes (AUKRUST et al., 2003; STEHBENS, 2004; PRICE et al, 2005; GIL et al., 2010).

O EO também pode gerar danos ao DNA, às proteínas e também tem implicações na patogênese de várias doenças em humanos, que incluem: doença de Alzheimer, diabetes, hipercolesterolemia, síndrome hepatorrenal, entre outras, além de estar envolvido no processo normal de envelhecimento (HULGAN et al., 2003). No sistema cardiovascular, o EO contribui para o início e a progressão da hipertensão, aterosclerose, hipertrofia cardíaca e infarto do miocárdio (ABRESCIA e GOLINO, 2005).

O aumento das EROS induz à oxidação das partículas de LDL-c, levando a formação de sub-frações eletronegativas, denominadas LDL eletronegativa [LDL(-)] ou LDL minimamente oxidada, a qual vem sendo considerada como um biomarcador de oxidação e inflamação devido suas propriedades citotóxicas, pró-inflamatórias e pró-aterogênicas. (SÁNCHEZ-QUESADA et al, 2004; DAMASCENO et al, 2006; OLIVEIRA et al, 2006; MELLO et al., 2011).

Em contrapartida, o aumento da HDL-c e de sua principal proteína de superfície, a apolipoproteína AI (apo A) é fator importante para diminuição de DCVs em indivíduos com HIV/AIDS, pois a primeira apresenta propriedades antiinflamatórias, antitrombóticas e antioxidantes (FLORENTIN et al, 2008) e a segunda está relacionada de forma negativa ao risco cardiovascular (PARISH et al.,2009). Já as altas concentrações plasmáticas de apo B estão relacionadas positivamente com o risco cardiovascular, pois trata-se da principal proteína de superfície da LDL-c (PARISH et al.,2009).

1.6 CACAU

O cacau é derivado da semente da *Theobroma cacao*, árvore nativa da América do Sul. Historicamente, os povos Olmec, Maya e Azteca consideravam que o cacau possuía grandes propriedades medicinais. Já foram documentadas várias aplicações desse vegetal, incluindo tratamento ou prevenção de infecções, inflamações, palpitações cardíacas e angina (DILLINGER et al, 2000).

O termo cacau também é usado para referir-se ao componente não gorduroso do líquor extraído do fruto cacau, enquanto que o chocolate representa a combinação de cacau, manteiga de cacau, açúcar e outros ingredientes em forma de alimento sólido (COOPER et al., 2008).

O cacau e o chocolate são ricos em polifenóis e são únicos nos tipos de flavonóides existentes, particularmente em flavan-3 ols ou flavonóis, como formas monoméricas (-) – epicatequina e (+) – catequinas e as formas oligoméricas, como as procianidinas. Dentre os flavonóides do cacau/chocolate a epicatequina é a de maior destaque, pois representa quase 60% do total de catequinas (MURSU et al., 2004).

Vários estudos em humanos têm relatado que os flavonóides do cacau podem melhorar o perfil lipídico e outros marcadores cardiovasculares (OSAKABE et al. 2001; MURSU et al., 2004; JIA et al. 2010). Tais benefícios podem ser atribuídos a propriedades antioxidantes dos flavonóides, com provável diminuição do EO nos tecidos (OSAKABE et al. 2001; MURSU et al., 2004; JIA et al. 2010). No entanto, alguns estudos não observaram melhorias com o uso deste suplemento no perfil lipídico de indivíduos saudáveis, hipercolesterolêmicos ou hipertensos (ENGLER e ENGLER, 2004; BABA et al. 2007; GRASSI et al. 2008; SHIINA et al. 2009). Estas divergências de resultados em relação aos potenciais benefícios do cacau mostram a necessidade da realização de estudos clínicos controlados, do tipo *cross-over*, para a determinação do efeito dos flavonóides do cacau sobre o perfil lipídico (RIMBACH et al. 2009), em diferentes populações .

1.7 ERVA MATE

A *Ilex paraguariensis* (erva mate) é originária da América do Sul e o Brasil é um dos três maiores produtores mundiais. A erva mate é utilizada na preparação de vários tipos de bebidas, como o "chimarrão", "tererê" e chás, sendo que na região Sudeste do Brasil é comum a utilização da erva torrada para o preparo de chá mate (FILIP et al., 2001; BASTOS et al., 2007a).

As bebidas à base de erva mate contêm diversos compostos bioativos naturais (Tabela 1), que têm sido destacados por oferecerem benefícios cardiovasculares, ação hipolipemiante e prevenção da oxidação da LDL-c (CHANDRA e MEJIA, 2004; BRAVO et al., 2007; HECK e MEJIA, 2007; SILVA et al., 2008; COELHO et al., 2010).

Entre os fitoquímicos ativos no extrato da erva mate, os dois maiores são os polifenóis (ácidos fenólicos) e as xantinas (cafeína e teobromina). Os principais ácidos fenólicos são os ácidos clorogênicos, como ácido 5-cafeoilquínico (5-CQA), ácido caféico, ácido 3,4-dicafeoilquínicos, ácido 3,5-dicafeoilquínicos, ácido 4,5-dicafeoilquínicos e flavonóides (canferol, quercetina e rutina) (FILIP et al., 2001; BASTOS et al., 2007b; HECK e MEJIA, 2007).

Tabela 1. Efeitos benéficos dos compostos bioativos da erva mate.

Compostos	**Benefícios**
Xantinas	Vasodilatador e estimulante do sistema nervoso central
Ácidos fenólicos	Atividade antioxidante
Saponinas	Atividade de redução do colesterol e antioxidante
Flavonóides	Atividade antioxidante e vasodilatador

Adaptado de: HECK e MEJIA, 2007.

Em sua maioria, as pesquisas com consumo de chá fazem referência ao chá verde ou preto proveniente da *Camellia sinensis*. Estudos com erva mate são recentes, datam de meados da década de 90 (GUGLIUCCI, 1996) e a maioria apresenta resultados *in vitro* e em animais, havendo poucos estudos em humanos (MATSUMOTO et al., 2009).

Estudos envolvendo humanos mostraram efeitos benéficos dos compostos bioativos da erva mate sobre o perfil lipídico e oxidativo de indivíduos dislipidêmicos e saudáveis (SILVA et al., 2008; MATSUMOTO et al., 2009; de MORAIS et al., 2009), não sendo encontrados estudos que avaliem o efeito deste tipo de chá em indivíduos com HIV/AIDS.

2. JUSTIFICATIVA

Tendo em vista a alta prevalência de alterações lipídicas em indivíduos com HIV/AIDS em uso de terapia antirretroviral, o elevado risco cardiovascular dessa população e os relatos benéficos do uso de cacau e erva mate em outras populações, faz-se pertinente a condução de um ensaio clínico, aleatorizado, cego e controlado com placebo que avalie o efeito do uso desses suplementos no perfil lipídico e oxidativo da população em questão. Os resultados poderão contribuir para a formulação de estratégias de intervenção não farmacológicas mais eficientes, bem como fornecerão subsídios para a formulação de políticas e programas públicos de saúde.

3. HIPÓTESE

A intervenção com cacau e erva mate em indivíduos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral pode melhorar o perfil lipídico (CT, HDL-c, não-HDL-c, LDL-c, triacilgliceróis, índices de Castelli I e II, apolipoproteínas AI e B) e o perfil oxidativo (LDL eletronegativa e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico-TBARS) e consequentemente modificar o risco cardiovascular.

4. OBJETIVO

Avaliar o efeito da ingestão de chocolate e erva mate no perfil lipídico e oxidativo de indivíduos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral.

5. CASUÍSTICA E MÉTODOS

O projeto em questão foi um subprojeto pertencente a um projeto maior intitulado "Efeito da ingestão de chocolate e chá mate no endotélio de indivíduos com HIV/AIDS: ensaio clínico randomizado, cego, controlado por placebo", o qual envolveu uma equipe de pesquisadores (protocolos Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP Auxílio Regular à Pesquisa: 2009/52250-5 e Bolsa Mestrado 2011/05446-1). Este estudo clínico possui registro no *Nederlands Trial Register* (NTR) com o n° 3176.

5.1 LOCAL E POPULAÇÃO DE ESTUDO

O estudo foi desenvolvido de março de 2011 até junho de 2012 no Serviço de Atendimento ao Paciente HIV/AIDS "Casa da AIDS" (SEAP), Divisão de Moléstias Infecciosas e Parasitárias do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP (FMUSP). E entre junho de 2012 até abril de 2013 a coleta dos dados teve continuidade no Instituto de Infectologia "Emílio Ribas" da Secretaria Estadual de Saúde do Estado de São Paulo.

5.1.1 Critérios de Inclusão da População

Pacientes cadastrados no SEAP e no Instituto de Infectologia "Emílio Ribas", com diagnóstico de HIV/AIDS, em tratamento regular com terapia antirretroviral por no mínimo seis meses, com carga viral < 500 cópias/mL, de ambos os sexos e na faixa etária de 19 a 59 anos.

5.1.2 Critérios de Exclusão da População

Foram excluídos os pacientes que apresentavam pelo menos um dos critérios: histórico de infarto agudo do miocárdio ou acidente vascular cerebral; arritmia

cardíaca; doença de Chagas; insuficiência cardíaca; em uso de medicamento hipolipemiante, peso superior a 150kg; diabetes *mellitus*; em uso de medicamento anti-hipertensivo; doença renal (creatinina > 2,0mg/dL); doença intestinal grave que impossibilite o uso da dieta; hipotireoidismo (TSH > 6,0UI/mL); insuficiência hepática; neoplasia maligna; infecção oportunista ativa; gravidez; alcoolismo crônico; dieta vegetariana; indivíduos participando de outra pesquisa, e intolerância aos suplementos ou a qualquer um dos seus componentes.

5.2 DESENHO DO ESTUDO

Ensaio clínico do tipo *cross-over*, aleatorizado, cego para as coletas de dados e análises.

O delineamento do tipo *cross-over* é comumente utilizado em experimentos clínicos envolvendo indivíduos com doenças crônicas, com o objetivo de avaliar o efeito entre diferentes tratamentos. Os indivíduos formam grupos que recebem tratamentos distintos, como a administração de alguma substância ativa (como um medicamento ou um suplemento, por exemplo) ou placebo (tratamento sem a substância ativa de interesse). Após receberem o primeiro tratamento, os grupos passam por período de *washout* em que não é administrado qualquer tratamento e espera-se que, durante este período, o efeito da substância ativa consumida anteriormente desapareça. Em seguida, os grupos trocam de tratamento, ou seja, quem recebeu a substância ativa passa a receber o placebo e *vice-versa.* Com a utilização do período de *washout* pode-se evitar o efeito acumulativo entre os tratamentos, denominado *carryover* (SENN, 2002).

Neste presente ensaio clínico, os participantes foram aleatorizados para que todos passassem pelos quatro tratamentos: dois com intervenção e dois com placebo.

A pesquisa foi divulgada pelos médicos infectologistas, por *banner* e cartazes afixados no ambulatório, bem como pela entrega de *folders* explicativos.

Os indivíduos foram convidados a participar da pesquisa na sala de espera que antecipa as consultas de rotina ou na retirada de medicamentos, devendo manifestar voluntariamente o interesse em sua participação.

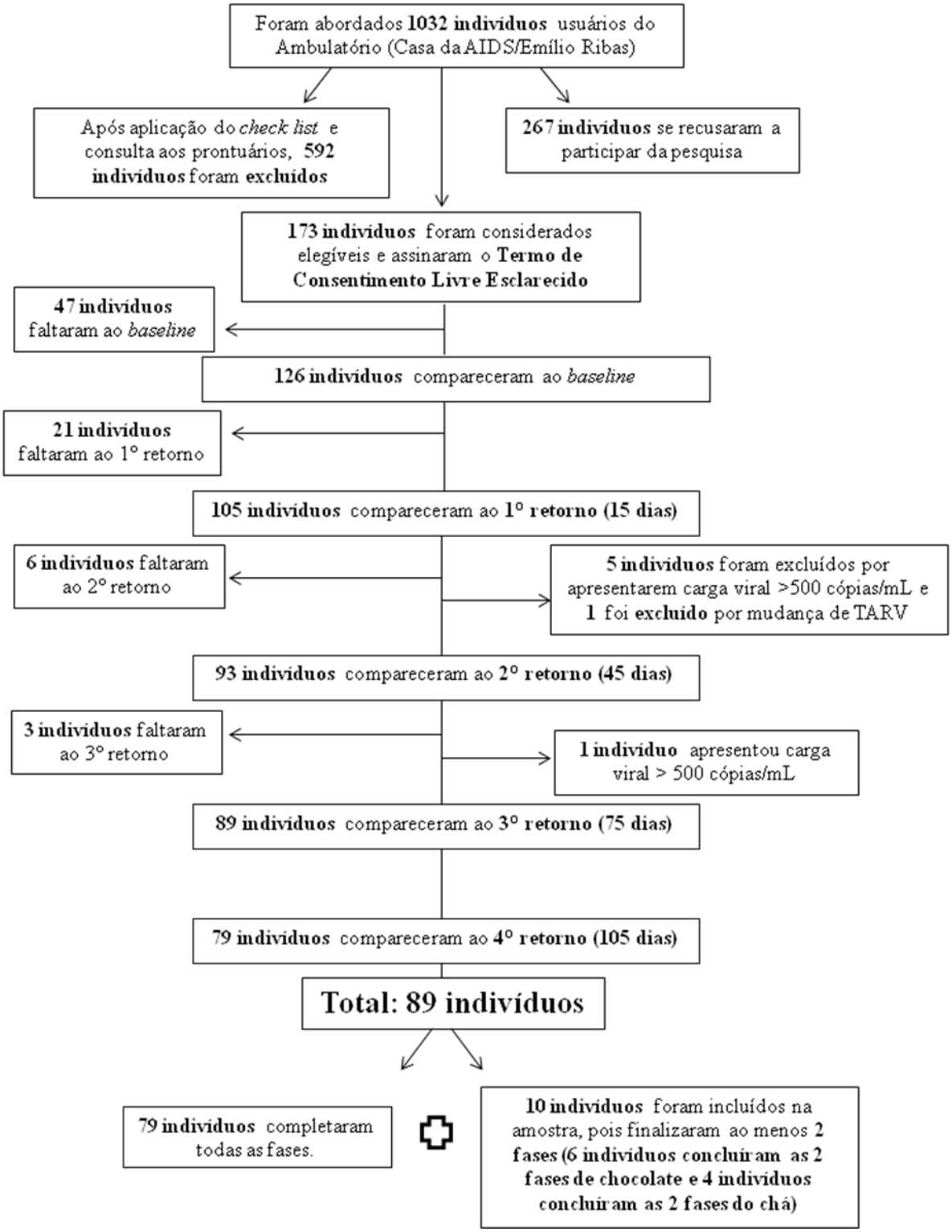
Os indivíduos que demonstraram interesse na participação do estudo foram

questionados com relação aos critérios de inclusão e exclusão por meio de *check list*, sendo as informações posteriormente confirmadas em prontuário médico. Após a confirmação da elegibilidade, foi agendada uma data, de acordo com a disponibilidade do voluntário, para a primeira tomada de dados (*baseline*). Os indivíduos que não preencheram os requisitos de inclusão para a pesquisa, receberam explicações detalhadas sobre os motivos de exclusão.

Caso o indivíduo se recusasse a participar, era convidado a responder um questionário de recusa (Apêndice 1), onde foi indicado o motivo de sua não disponibilidade em participar do estudo.

A Figura 2 apresenta o fluxograma do recrutamento dos pacientes.

Figura 2. Fluxograma do recrutamento.



5.3 INTERVENÇÃO

Para intervenção, foram fornecidas barras de chocolates de 65g com 36g de cacau (OSAKABE et al., 2001; GRASSI et al., 2008) e 3g de mate solúvel (BASTOS et al., 2007a; MATSUMOTO et al., 2009) para serem consumidos durante 15 dias cada. Como placebos foram utilizados barras com aproximadamente 65g de chocolate branco e 3g de pó solúvel similar à bebida à base de mate (pó à base de maltodextrina, corante comestível de caramelo e aroma artificial de pêssego).

O período de intervenção foi de 60 dias, dividido em quatro fases de 15 dias cada uma, correspondendo às quatro possibilidades de suplementação. Cada término de fase foi sucedido por período de *washout* de 15 dias antes do início da próxima intervenção, totalizando aproximadamente 105 dias de duração da pesquisa.

A aleatorização foi realizada por meio de tabela de números aleatórios gerada no programa *Microsoft Excel®*. Com intuito de garantir o sigilo de alocação e evitar vieses de seguimento, os pesquisadores envolvidos com a coleta de dados e análise estatística não tiveram acesso à informação sobre o suplemento (intervenção ou placebo) utilizado em cada um dos grupos.

Por tratar-se de pesquisa de seguimento, com a finalidade de reduzir a possível perda de dados, optou-se por aleatorizar a intervenção apenas no *baseline*. Assim, no momento do *baseline*, os voluntários elegíveis foram aleatorizados assegurando o recebimento de uma das quatro sequências de suplementação: sequência A = 1,4,3,2; sequência B= 2,3,4,1; sequência C = 3,2,1,4; sequência D= 4,1,2,3. Sendo: 1 = Chocolate Preto; 2= Placebo de Erva Mate; 3= Erva Mate; 4= Placebo de Chocolate.

O Apêndice 2 apresenta o impresso entregue aos participantes para auxiliá-los no controle da intervenção. No impresso continha a data e horário de retorno ao ambulatório, a explicação de como deveria ser consumido o suplemento, incluindo um pequeno calendário que deveria ser assinalado pelo participante a cada dia de ingestão do suplemento.

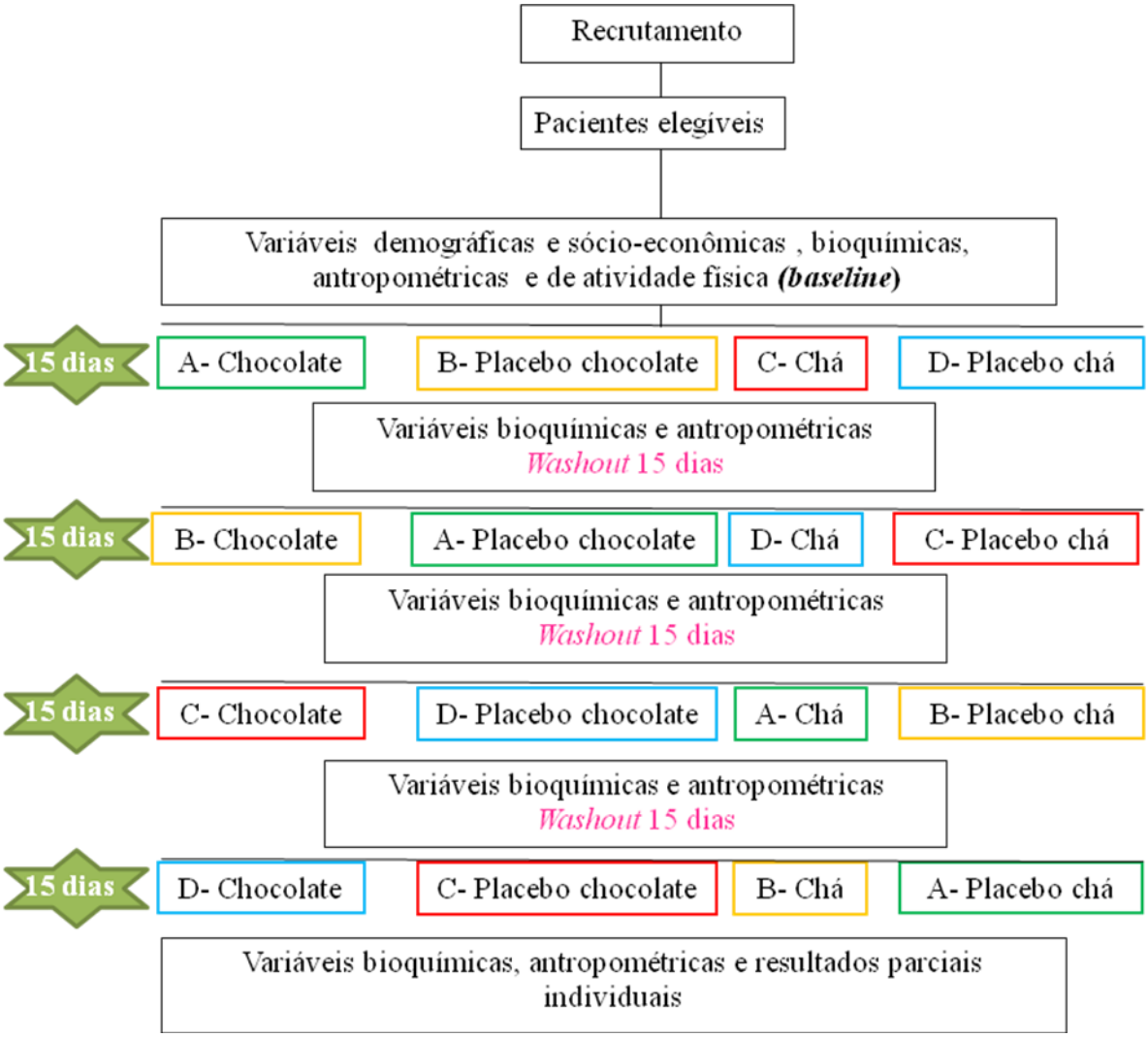
A adesão à suplementação foi monitorada por contato telefônico, e-mail e questionários a cada retorno, e ao final da pesquisa. Os pacientes tinham disponíveis um número de telefone fixo, um número de telefone celular e um endereço de e-mail

criado exclusivamente para comunicação direta dos participantes com os pesquisadores visando diminuir eventuais dúvidas. A Figura 3 apresenta o fluxograma de intervenção, indicando todas as fases da suplementação e coleta de dados.

Os pacientes foram orientados a manter dieta habitual, mas evitando o consumo de qualquer outro tipo de chocolate e chá durante todo o período do estudo. Ao final da pesquisa (fase pós 105 dias de intervenção), os pacientes receberam os resultados parciais individuais por escrito e posteriormente serão contatados para receber os resultados finais do estudo.

Na ocorrência de intolerância aos suplementos, problemas de saúde ou introdução de hipolipemiantes ou antihipertensivos durante qualquer fase da intervenção, os pesquisadores analisavam individualmente os casos e, quando necessário, os voluntários eram informados sobre a impossibilidade da sua continuidade na pesquisa.

Figura 3. Fluxograma da intervenção.



5.4 SUPLEMENTOS

5.4.1 Chocolate

Foram fornecidas barras de chocolates de 65g com 36g de cacau, contendo de 2148 a 2864mg de polifenóis por porção (OSAKABE et al., 2001; GRASSI et al., 2008). Como placebo do chocolate, inicialmente seria utilizado o chocolate branco colorido com corante caramelo em pó, para obtenção de produto com aparência similar à de chocolate rico em polifenóis. Contudo, optou-se por aceitar a coloração branca natural do placebo, uma vez que não foi possível a homogeneização adequada

do corante caramelo. Desta forma, foram elaborados tabletes de chocolate branco de aproximadamente 65g com 0g de cacau.

Tanto o chocolate preto quanto o placebo de chocolate foram formulados no Instituto de Tecnologia de Alimentos de Campinas (ITAL/SP) e produzidos pelos próprios pesquisadores (mestrandas e colaboradores) na unidade experimental da empresa JAF Inox®, Sistemas Integrados do Cacau ao Chocolate na Cidade de São Roque/SP, seguindo as Boas Práticas de Fabricação e Manipulação de Alimentos.

Para evitar a diferenciação dos suplementos, chocolate preto e placebo foram acondicionados em embalagens idênticas de BOPP metalizado.

O chocolate preto e seu placebo apresentam composição nutricional semelhante (Tabela 2).

Tabela 2. Composição nutricional do chocolate preto e placebo.

Suplementos	**Energia (kcal)**	**Carboidratos (g)**	**Proteínas (g)**	**Lipídios (g)**	**Ác.Graxos Saturados (g)**	**Fibras (g)**
Chocolate Preto	330	28	4	22	14	6
Placebo	345	30	4	22	14	7

Nota: Cálculo baseado no valor nutricional dos ingredientes. Referência: Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO).

Como tentativa de evitar o ganho de peso, os pacientes foram orientados a consumirem o chocolate em substituição ao lanche, ou como sobremesa.

5.4.2 Chá

A intervenção com chá foi feita utilizando-se erva mate solúvel comercial adicionado de maltodextrina e aroma artificial de pêssego, sendo fornecido aproximadamente 3g deste chá, o qual continha aproximadamente 28mg/g de 5-CQA, 15mg/g de cafeína, 79mg/g de outros fenólicos e 107mg/g de fenólicos totais (BASTOS et al., 2007a; MATSUMOTO et al., 2009).

O placebo do chá mate foi constituído de aproximadamente 3g de chá à base de maltodextrina, corante comestível de caramelo e aroma artificial de pêssego,

uma vez que o aroma artificial de mate não foi encontrado no mercado e a utilização de aroma natural não é possível devido ao conteúdo de fenóis que poderia interferir nos resultados da pesquisa. Em ambas as formulações de chá (intervenção e placebo) foram adicionadas de sorbato de potássio para conservação.

Ambos os chás foram formulados no Laboratório de Bromatologia da FSP/USP e foram confeccionados pelos próprios pesquisadores, a partir da pesagem dos ingredientes em balança analítica e homogeneização em graal com pistilo. Em seguida, os chás foram porcionados utilizando-se medidas caseiras padronizadas e embalados em sachês de BOPP metalizados. Todas as embalagens utilizadas foram idênticas para chá intervenção e placebo.

Os pacientes foram orientados a diluir o chá em aproximadamente 200 mL de água, adoçar a gosto e consumir no horário mais conveniente, e não poderiam ingerí-lo juntamente com medicamentos, para evitar possível interação droga-nutriente.

5.4.3 Análise dos Compostos Bioativos no Chocolate e Chá mate

5.4.3.1 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos foram previamente extraídos do chocolate e do chá mate empregando-se micro extração em fase sólida. A separação, identificação e quantificação dos compostos fenólicos isolados do chá mate e do chocolate foram analisadas por *High-Performance Liquid Chromatography* (HPLC) em fase reversa ou fase normal, utilizando-se equipamento de cromatografia líquida *Shimadzu®*, equipado com uma bomba quaternária LC 10AT VP, injetor automático e detector de arranjo de diodos SPD M10AVP. A quantificação dos compostos fenólicos (ácidos fenólicos, flavonóides e procianidinas) foi feita por padronização externa, utilizando-se padrões com grau de pureza ≥95% da marca Sigma-Aldrich® (Alemanha). A identificação foi realizada por meio da comparação do tempo de retenção e do espectro de absorção dos ácidos fenólicos com o padrão. Os procedimentos estão descritos em NATSUME et al. (2000) e BASTOS et al.(2005). Todas as análises foram feitas em duplicatas.

5.4.3.2 Metilxantinas

Os métodos para extração, identificação e quantificação das metilxantinas (cafeína e teobromina) foi o descrito por MAZZAFERA (1997) e BASTOS et al (2005) em que extratos aquosos foram analisados por HPLC em coluna de fase reversa e detector de arranjo de diodos. A quantificação foi feita por padronização externa, utilizando-se uma curva de 5 pontos e a identificação, pela comparação do tempo de retenção e do espectro de absorção relativamente ao padrão de cafeína e de teobromina marca Sigma Aldrich® (Alemanha), ambos com grau de pureza ≥95%. Todas as análises foram feitas em duplicatas.

5.5 COLETA DE DADOS

Todos os dados coletados foram armazenados eletronicamente utilizando o *software EpiData* fornecido pelo Laboratório de Estudos Populacionais (LEP) da FSP/USP e, posteriormente transferidos para o programa *Microsoft Excel*®. Todos os dados digitalizados foram duplamente conferidos.

5.5.1 Pré-teste

No período de outubro/2010 a março/2011 foi realizado pré-teste do projeto principal com 19 indivíduos, em que foram testados os instrumentos utilizados para coleta de dados (questionário socio-econômico, análises antropométricas e laboratoriais, entre outros) e a aceitabilidade dos suplementos alimentares e placebos que seriam utilizados na pesquisa.

5.5.2 Avaliação do Perfil Demográfico e Socio-econômico

No *baseline* foi aplicado questionário demográfico e socio-econômico e por meio dos prontuários foram acessados os dados relacionados à saúde (tempo de

infecção pelo HIV, presença de comorbidade e medicamentos utilizados). A adesão à terapia antirretroviral foi avaliada no *baseline*, 15, 45, 75 e 105 dias de intervenção. Nesses momentos, os pacientes foram questionados sobre o consumo dos antirretrovirais durante os três dias anteriores à entrevista segundo metodologia de NEMES et al. (2004).

5.5.3 Avaliação do Estado Nutricional

Para avaliação do estado nutricional dos indivíduos foram aferidos peso (kg) e altura (cm) para determinação do Índice de Massa Corporal (IMC) kg/m^2, circunferência da cintura (CC) em cm e dados da composição corporal (porcentagem de gordura e massa muscular em kg).

O peso e a composição corporal, bem como a determinação do IMC foram realizados com o aparelho Segmental *Composition Analyser*, tetrapolar, modelo MC 180 MA, da marca TANITA® (Tokyo, Japan), capacidade de 270kg. Os participantes foram orientados a retirarem calçados e meias e ficarem com roupas leves.

A altura foi determinada por meio de estadiômetro da marca "M*icrotoise*" com capacidade de 80 a 220cm; precisão ± 2mm em 220cm e resolução em milímetros. Para esta medida, o indivíduo deve estar ereto com os pés descalços e pernas paralelas, peso distribuído em ambos os pés, braços relaxados ao lado do corpo e palmas das mãos voltadas para o corpo. A face posterior do indivíduo deve estar voltada para a superfície vertical do estadiômetro. Os calcanhares, as panturrilhas, os glúteos, as escápulas e a região do occipital são posicionados na superfície do estadiômetro ou parede. A cabeça do indivíduo é posicionada no plano de Frankfurt (margem inferior da abertura do orbital e a margem superior do meatus auditivo externo estão em uma mesma linha horizontal). Quando não era possível encostar os cinco pontos (calcanhares, panturrilhas, nádegas, escápulas e parte posterior do occipital) na superfície posterior do estadiômetro foram posicionados ao menos três deles e a cabeça no plano de Frankfurt (LOHMAN et al., 1988).

Foi calculado o IMC obedecendo aos critérios preconizados pela OMS (2000) conforme descrito no Quadro 2.

Quadro 2. Valores de referência para índice de massa corporal (IMC).

IMC (Kg/m²)	Classificação
< 18,5	Baixo Peso
18,5 |–25	Eutrofia
25 |–30	Excesso de Peso
30 |–35	Obesidade grau I
35|– 40	Obesidade grau II
≥ 40	Obesidade grau III

Fonte: Organização Mundial da Saúde – OMS (2000).

A medida da CC em cm foi realizada com fita métrica inextensível no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca, com o indivíduo ereto, com os braços relaxados ao lado do corpo, pés juntos e abdômen relaxado. A medição foi realizada ao final da expiração normal (LOHMAN et al.,1988).

Os valores de referência para CC foram classificados segundo a definição de obesidade abdominal estabelecida pela *International Diabetes Federation* (IDF, 2006), onde se apresenta cortes para cada grupo étnico e sexo. Os valores de referência estão descritos no Quadro 3.

Quadro 3. Valores de referência de circunferência da cintura (CC) para classificação de obesidade abdominal.

Critérios	Obesidade Abdominal (cm)
Homens brancos de origem europeia e negros	≥ 94
Mulheres brancas de origem europeia e negras	≥ 80

Fonte: *International Diabetes Federation* (IDF, 2006).

Em relação à classificação da porcentagem de gordura, foram considerados normais os seguintes valores: de 15-25% para homens adultos e de 20-30% para mulheres adultas (ARMATRUDA e LINEMEYER, 2001)

Todos pesquisadores do estudo foram treinados para avaliação das variáveis antropométricas no Laboratório de Avaliação Nutricional de Populações (LANPOP) da Faculdade de Saúde Pública da USP (FSP/USP). Todas as medidas foram coletadas em duplicata, sendo utilizado o valor médio entre as medidas.

5.5.4 Avaliação da Prática de Atividade Física

A prática de atividade física foi avaliada no *baseline* com o objetivo de caracterizar o perfil de atividade física dos indivíduos participantes do estudo. Esta avaliação foi realizada de acordo com o Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ) – versão curta 8.0, desenvolvido pela OMS e adaptado e validado para a população brasileira (MATSUDO et al., 2001; HALLAL et al., 2003; IPAQ, 2013; OMS, 2013). Os indivíduos foram orientados a manterem o mesmo estilo de vida durante todo o período do seguimento para evitar possíveis alterações nas variáveis de interesse e manutenção do delineamento *cross-over*.

A classificação da prática de atividade física está descrita no Quadro 4.

Quadro 4. Classificação da Prática de Atividade Física.

Classificação	Descrição
Sedentário	• Indivíduo que não realiza atividade física alguma por pelo menos 10 minutos durante a semana.
Irregularmente ativo	• Indivíduo realiza atividade física, mas não cumpre as recomendações de frequência ou duração.
Ativo	• Indivíduo que realiza atividades vigorosas por ≥3 dias/semana durante ≥20minutos/sessão; ou • Indivíduo que realiza atividades moderadas ou caminhada por ≥5 dias/semana durante ≥30minutos/sessão; ou • Indivíduo que soma ≥150minutos/semana em 5dias/semana entre as várias atividades.
Muito ativo	• Indivíduo que realiza atividades vigorosas por ≥5 dias/semana durante 30minutos/sessão; ou • Indivíduo que realiza atividades vigorosas por ≥3 dias/semana durante 20minutos/sessão, e realiza atividades moderadas ou caminhada por ≥5dias/semana por ≥30minutos/semana.

Fonte: *International Physical Activity Questionnaire (IPAQ)* , 2013.

5.5.5 Colheita Sanguínea

Foram realizados cinco momentos de colheita de sangue, ou seja, no *baseline* e a cada período pós intervenção. Para todas as colheitas sanguíneas, os pacientes obedeceram 12 horas de jejum.

As amostras sanguíneas foram realizadas por punção venosa periférica, em um total de aproximadamente 20mL, por paciente, pelo sistema *vacutainer*. O sangue foi colhido em tubos com EDTA (ácido etileno diamino-tetra-acético 1,0 mg/mL) (BD – Brasil), e seco. Este procedimento de colheita foi realizado por profissional habilitado, seguindo padrões pré-estabelecidos de segurança, com utilização de material descartável, o que praticamente eliminou qualquer risco maior.

Após a colheita, a extração de soro e de plasma foi realizada pela centrifugação do sangue a 3000 rpm, por 15 minutos, a temperatura ambiente.

Os resíduos biológicos do experimento foram descartados seguindo Normas de Segurança Laboratorial (OMS, 2004).

5.5.6 Análise Laboratorial

A partir do sangue obtido foram realizadas as seguintes análises citológicas, moleculares e bioquímicas:

- Contagem de linfócitos T (CD4+ e CD8+) no sangue total;
- Quantificação de Ácido Nucléico - carga viral do HIV no plasma;
- Colesterol total e frações (HDL-c, LDL-c e calculados não-HDL-c e índices de Castelli I e II) no soro;
- Triacilgliceróis no soro;
- Apo A e apo B no soro;
- LDL eletronegativa [LDL (-)] no plasma;
- Determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no plasma.

As análises imunológicas e de CT, HDL-c, LDL-c, TG, apo A e apo B foram realizadas no Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo. Já as análises de LDL eletronegativa e TBARS foram realizadas no laboratório de Nutrição Humana da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (FSP/USP).

5.5.6.1 Análise Imunológica e Virológica

A contagem das subpopulações de linfócitos T (CD4+ e CD8+) foi realizada através de análises qualitativas e quantitativas com o auxílio do citômetro de fluxo FACSCalibur após marcação dessas células com anticorpos monoclonais fluorescentes específicos. Para a carga plasmática do HIV-1 (carga viral), foi utilizado o método bDNA 3.0 (branched DNA 3.0 Versant), um procedimento para a

quantificação direta do RNA do vírus HIV, que amplifica o sinal emitido por sondas de ácido nucléico que hibridizam a região do gene da polimerase viral, usando o System 340 dDNA Analyzer Bayer®.

5.5.6.2 Determinação de Lipídios Plasmáticos

a) *Determinação de colesterol total e triacilgliceróis.*

As análises de CT e TG foram realizadas de forma automatizada obedecendo ao método enzimático-colorimétrico, utilizando "Kits" bioquímicos da marca Roche®.

b) *HDL-c*

As análises referentes à HDL-c foram realizadas de forma automatizada obedecendo ao método enzimático-colorimétrico, utilizando "Kits" bioquímicos da marca Roche®. A dosagem de HDL-c foi realizada mediante a separação, por precipitação seletiva, das demais lipoproteínas e no sobrenadante, separado por centrifugação, onde as HDL se encontram.

c) *Determinação do colesterol não associado a HDL (não-HDL-c)*

Os valores de não-HDL-c foram calculados pela subtração do HDL-c pelo CT plasmático.

d) *LDL-c*

Para encontrar os valores de LDL-c utilizou-se cálculo baseado na equação de FRIEDEWALD (1972)*.

***** LDL-c = CT-(HDL-c + TG/5)

Aplicou-se a fórmula quando a concentração de TG foi menor que 400mg/dL. Para os voluntários que apresentaram TG maior que 400mg/dL, os valores de LDL-c foram obtidos de forma direta, utilizando "Kits" bioquímicos da marca Roche®.

e) *Determinação dos índices de Castelli I e II*

O índice de Castelli I foi determinado como a razão entre o CT e o HDL-c e o de Castelli II como a razão entre LDL-c e HDL-c (CASTELLI et al., 1983).

f) Apolipoproteínas AI e B – apo A e apo B

As concentrações de apo A e apo B foram determinadas no soro por nefelometria com o aparelho Array 360 Beckman.

5.5.6.3 Classificação dos Lipídicos Plasmáticos

Para classificação dos lipídicos plasmáticos utilizou-se às recomendações do *National Cholesterol Education Program* (NCEP ATP III, 2002) (Quadro 5).

Quadro 5. Valores de referência de lipídios plasmáticos.

Lipídios	Valores (mg/dL)	Classificação
Colesterol Total	<200	Desejável
	200|– 240	Limite alto
	≥240	Alto
LDL-c	<100	Ótimo
	100|– 130	Próximo/ abaixo de ótimo
	130|– 160	Limite alto
	160|– 190	Alto
	≥190	Muito Alto
HDL-c	<40	Baixo
	40|– 60	Adequado
	≥60	Alto
Triacilgliceróis	<150	Normal
	150|– 200	Limite alto
	200|– 500	Alto
	≥500	Muito Alto

Fonte: NCEP ATP III, 2002.

5.5.6.4 Detecção da LDL (-)

Separou-se 1mL do plasma sanguíneo, o qual foi colocado em tubos com alíquotas contendo os seguintes inibidores de proteases: aprotinina (10,0 μg / mL), benzamidina (10,0 μM), e fluoreto de fenilmetilsulfonila (PMSF, 5,0 μM), além do

antioxidante 2,6-di-tert-butil-p-hidroxitolueno (BHT; 100,0 µM) e armazenados a temperatura de -30°C por um período de até 30 dias no laboratório de Micronutrientes da FSP/USP e depois transferidos para ultrafreezer onde foram armazenados à -80°C até a realização das análises.

A LDL(-) foi detectada através de *ELISA* (*Enzime Linked ImmunoSorbent Assay)* sanduíche, ou seja, ensaio imunoenzimático do tipo sanduíche, seguindo protocolo padronizado por FAULIN et al. (2008). A sensibilização das placas (Costar®, modelo 3690, Corning, USA) foi feita com Anticorpo Monoclonal Anti-LDL(-) (MAb-1A3) (0,5 µg/mL, 50,0 µL/poço), diluído em tampão Carbonato-Bicarbonato, (0,25 M, pH 9,6), sendo as placas incubadas overnight a 4°C. Após esse período, os sítios livres foram bloqueados com leite desnatado (Molico, Nestlé, São Paulo, Brasil), diluído a 2% em tampão Fosfato Salina 0,01mol/L (PBS-Tween (0,01%) - pH 7,4) e incubados a 37°C por 90 min. Em seguida, as placas foram lavadas três vezes com PBS-Tween (0,05%). Foi adicionado 50,0 µL/poço de plasma diluído 1:1000 em tampão PBS-Tween (0,01%) leite 1%, sendo a placa incubada por 90 min a 37°C. Após essa etapa, a placa foi lavada, conforme descrito anteriormente, e foi adicionado 50,0 µL/poço de anticorpo monoclonal anti-LDL(-) biotinilado (MAb-2C7) (0,5 µg/mL, 50,0 µL/poço). As placas foram incubadas a 37°C por 1 horas, em seguida, foram lavadas conforme descrito acima. Após essa etapa, foram adicionados 50,0 µL/poço de estreptoavidina-peroxidase(1:100.000) diluída em PBS-Tween (0,01%) leite 1%. As placas foram incubadas por 1 hora, a 37°C, novamente lavadas, conforme descrito anteriormente. A reação de cor foi desenvolvida através da adição de substrato composto por OPD, tampão citrato-fosfato (0,1 M, pH 4,2) e H2O2 (30%). As placas foram incubadas por 10 minutos a 37°C. A reação foi bloqueada com 50µL/poço de H2SO4 (2,0 M) e a absorbância monitorada em 490 nm. Os resultados foram expressos a partir da média das absorbâncias das amostras menos o background e, posteriormente, aplicados à curva padrão e multiplicados pela respectiva diluição, sendo os resultados expressos em U/L, com 1 unidade representando 1,0g/L de apo B oxidada.

Todas as análises foram realizadas em duplicata e todos os reagentes foram Sigma® Chemical (St. Louis,MO,USA).

5.5.6.5 Determinação de TBARS

A concentração de TBARS foi mensurada para indicar a ocorrência de peroxidação lipídica no plasma. A 1 mL de solução de ácido tiobarbitúrico (0,046M), ácido tricloroacético (0,92M) e ácido clorídrico (0,25M) foi adicionado o plasma (50µl) sendo posteriormente aquecido em banho-maria (100°C) por 30 minutos. Após este procedimento as amostras foram submetidas à centrifugação refrigerada Sigma® 318-K (rotação de 8000 x g, a 4ºC por 15 minutos). A absorbância de 200ul do sobrenadante foi lida em espectrofotômetro Shimadzu UV 1650 PC com comprimento de onda de 535 nm. A quantificação foi realizada através de curva padrão de 1,1,3,3 tetraetoxiprapano (TEP) com 96% de pureza, intervalo de concentração de 0,2 a 4 µmol/L (ANTOLOVICH et al. 2002; CIRICO e OMAYE 2006 e MURSU et al. 2005). Os valores foram expressos em µmol de TBARS/L de plasma. Todas as análises foram realizadas em duplicata.

5.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram digitados em planilhas do *Microsoft Excel®* para o adequado armazenamento das informações. Inicialmente foi realizada estatística descritiva do padrão de distribuição de cada variável, com distribuição de frequências para variáveis qualitativas e por média, desvio padrão, valores mínimos e máximos para variáveis quantitativas.

Para análise do *cross-over* foi realizada utilizando análise de variância (ANOVA) para avaliar as diferenças de respostas intra-individual entre os tratamentos (erva mate/chocolate preto e placebos) em relação às variáveis de desfecho do perfil lipídico (CT, HDL-c, não-HDL-c, LDL-c, triacilgliceróis, índices de Castelli I e II, apolipoproteínas AI e B) e do perfil oxidativo (LDL eletronegativa e TBARS). Tais análises foram realizadas através do procedimento *pkcross* no software Stata versão 11.0, admitindo-se que não houve efeito acumulativo entre os tratamentos (*carryover).* Valores de $p<0,05$ foram considerados significativos.

Em relação às comparações incluindo o *baseline*, optou-se por realizar teste t de *Student* pareado.

5.7 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

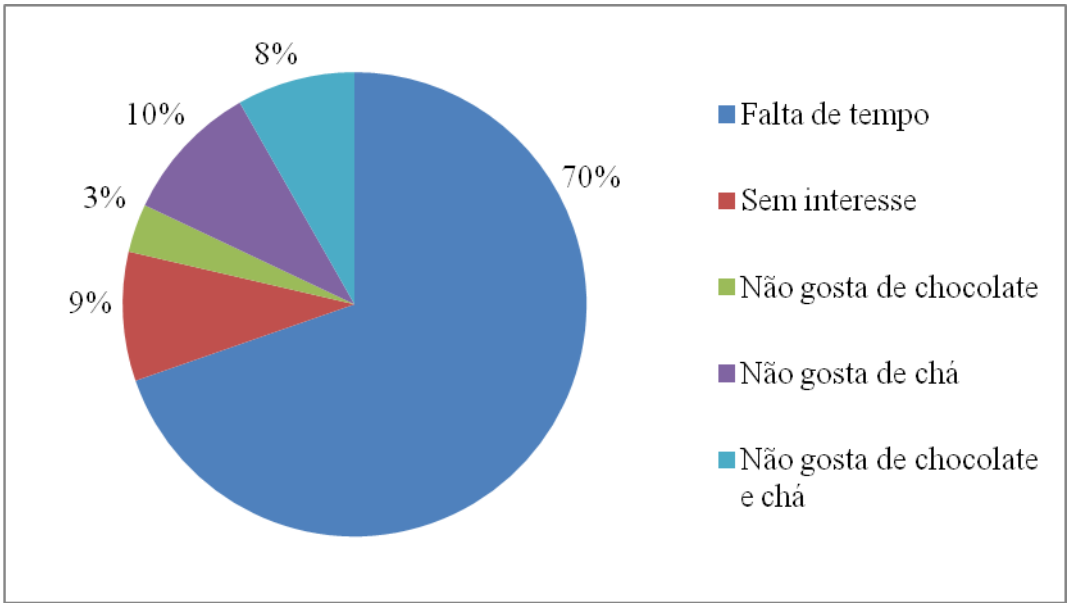
Conforme mencionado anteriormente, este projeto fez parte de um projeto maior intitulado "Efeito da ingestão de chocolate e chá mate no endotélio de indivíduos com HIV/AIDS: ensaio clínico randomizado, cego, controlado por placebo", o qual foi aprovado pelo Comitê de Ética da FSP/USP (protocolo n° 2018) (Anexo 1) e pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da FM/USP (protocolo n° 0753/10) (Anexo 2).

Os pacientes foram informados que os suplementos seriam doados e que a participação era gratuita e voluntária, e a recusa em participar ou desistência, em qualquer momento, não afetaria a rotina do atendimento na Casa da AIDS e no Instituto de Infectologia Emílio Ribas. Foi assegurada confidencialidade dos dados e garantia de receberem retorno sobre os resultados da pesquisa e análises clínicas em reuniões após o período da intervenção. As dúvidas que surgiram foram esclarecidas durante todo o tempo da pesquisa e, os voluntários que aceitaram participar assinaram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido – TCLE (Anexo 3) seguindo as normas do Conselho Nacional de Saúde no que se refere à Ética em pesquisas com Seres Humanos (CNS - BRASIL, 1996). No referente à ética ambiental, os resíduos químicos produzidos foram acondicionados de forma adequada e encaminhados à empresa especializada AMBICAMP. Os resíduos biológicos foram acondicionados em sacos de lixo próprios para material infectante, em lixeiras específicas disponíveis no Laboratório de Micronutrientes da FSP/USP, sendo que este material foi entregue ao Centro de Saúde Escola Geraldo Paula Souza (Av. Dr. Arnaldo n° 925 – Cerqueira César – SP. CEP: 01255 000), localizado junto às dependências da FSP/USP, para posterior recolhimento pela empresa LOGA, contratada pela Limpurb para retirada de lixo hospitalar do local. A forma de descarte e acondicionamento dos resíduos obedeceu às boas práticas laboratoriais (OMS, 2004).

6. RESULTADOS

Conforme apresentado na Figura 2 foram convidados a participar da pesquisa um total de 1032 indivíduos cadastrados nos ambulatórios (Casa da AIDS e Instituto de Infectologia "Emílio Ribas"). Destes, 267 (179 homens e 88 mulheres) se recusaram a participar, respondendo um questionário de recusa. Os motivos de recusa estão descritos no Gráfico 1, no qual observa-se que "falta de tempo" foi o motivo mais relatado pelos indivíduos.

Gráfico 1. Distribuição de adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral, segundo motivos de recusa em participar da pesquisa (n=267). São Paulo, 2013.



Após o preenchimento do *check list* e confirmação das informações nos prontuários, 592 indivíduos (386 homens e 206 mulheres) foram excluídos devido aos seguintes motivos descritos na Tabela 3.

Tabela 3. Distribuição de adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral que não foram incluídos na pesquisa, segundo motivos de exclusão. São Paulo, 2013.

Motivos de exclusão	n	%
Uso de hipolipemiantes	126	21,3
Mais de um motivo	124	20,9
Outros motivos*	60	10,1
DM	55	9,3
Tempo de TARV < 6 meses	42	7,1
Idade (< 19 ou > 59 anos)	35	5,9
Moradia distante	33	5,6
Uso de antihipertensivos	33	5,6
Não HIV	26	4,4
Intolerância aos suplementos	26	4,4
Doenças hepáticas**	22	3,7
Doenças cardiovasculares***	10	1,7
Total	592	100,0

Notas: DM, Diabetes *mellitus*; HIV, vírus da imunodeficiência humana; TARV, terapia antirretroviral.
*Outros motivos: doença de Chagas, Cânceres, doenças oportunistas, gestação, vegetarianismo, pancreatite, diagnóstico de HIV/AIDS não confirmado.
** Doenças hepáticas: Hepatite B, Hepatite C, Cirrose e Insuficiência hepática.
*** Doenças cardiovasculares: arritmia cardíaca, infarto agudo do miocárdio e acidente vascular cerebral.

Observou-se que o motivo de exclusão mais encontrado foi o uso de hipolipemiantes (21,3%), além do grande número de indivíduos (20,9%) excluídos por mais de um motivo.

Após a confirmação das informações obtidas no *check list* por meio de consultas aos prontuários, 173 indivíduos foram considerados elegíveis para iniciarem a pesquisa e assinaram o TCLE. No entanto, apenas 89 indivíduos foram incluídos na amostra deste estudo, sendo que destes, 79 concluíram integralmente as 4 fases de suplementação e 10 finalizaram ao menos 2 fases [6 indivíduos concluíram as 2 fases de chocolate (chocolate preto/placebo) e 4 indivíduos concluíram as 2 fases do chá (erva mate/placebo)], perfazendo o total de 85 e 83 indivíduos que completaram as 2 fases de chocolate e chá, respectivamente **(Figura 2).**

6.1 CARACTERIZAÇÃO DOS INDIVÍDUOS DO ENSAIO CLÍNICO

6.1.1 Fatores Demográficos e Socio-econômicos

Dos indivíduos incluídos na pesquisa, a maioria era do sexo masculino (62,9%) com idade média de 44,6 (±7,1) anos, variando de 28 a 59 anos. Quanto à etnia/raça, aproximadamente 46,1% auto-referiram serem da cor branca (caucasianos). Praticamente metade dos indivíduos da amostra era solteira ou morava sozinha e era natural de São Paulo (48,3%), 65,2% concluíram o ensino médio e 33,8% completaram o ensino superior. Mais da metade dos indivíduos relataram não ter filhos (56,2%) e aproximadamente 74,2% referiram ter alguma ocupação, sendo que a renda per capita média foi de R$1574,4 variando de R$120,00 a R$8.000,00 (Tabela 4).

Tabela 4. Distribuição, médias e desvios- padrão (DP) de adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral incluídos na pesquisa, segundo características demográficas e socio-econômicas (n=89). São Paulo, 2013.

Variáveis	n	%	Média (DP)	Valor mínimo	Valor máximo
Sexo					
Masculino	56	62,9			
Feminino	33	37,1			
Faixa etária					
19|–|29	1	1,1	44,6 (7,1)	28,0	59,0
30|–|39	21	23,6			
40|–|49	43	48,3			
50|–|59	24	27,0			
Etnia/Raça					
Branca	41	46,1			
Preta	15	16,8			
Parda	31	34,8			
Oriental	2	2,2			

(Continua)

Tabela 4. Distribuição, médias e desvios- padrão (DP) de adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral incluídos na pesquisa, segundo características demográficas e socio-econômicas (n=89). São Paulo, 2013.

(Continuação)

Variáveis	n	%	Média (DP)	Valor mínimo	Valor máximo
Estado Civil					
Solteiro/mora sozinho	43	48,3			
Casado/mora com companheiro	30	33,7			
Separado/Divorciado	11	12,4			
Viúvo	5	5,6			
Naturalidade					
São Paulo	43	48,3			
Sudeste (outros estados)	10	11,2			
Sul	13	14,6			
Norte	1	1,1			
Nordeste	21	23,6			
Distrito Federal	1	1,1			
Escolaridade (anos)					
< 8	1	1,1			
8|–|11	58	65,2			
≥ 12	30	33,8			
Filhos					
Sim	39	43,8			
Não	50	56,2			
Ocupação					
Sim	66	74,2			
Não	20	22,5			
Aposentado	3	3,4			
Renda per capita*			1574,4 (1534,03)	120,00	8000,00
<1	27	30,3			
1|–2	26	29,2			
2|–3	18	20,2			
3|–4	4	4,5			
4|–5	5	5,6			
≥ 5	8	9,0			
Não referido	1	1,1			

Nota: * Referência salário mínimo Brasil R$ 678,00 (Ministério do Trabalho e Renda, 2013).

6.1.2 Uso de drogas lícitas e ilícitas

Em relação ao hábito de fumar, verificou-se que a maioria não era fumante (62,9%) e 15,7% eram ex-fumantes. Quanto ao consumo habitual de bebida alcoólica, 52,3% referiram este hábito e a maioria relatou não ser usuário de drogas ilícitas (87,6%) (Tabela 5).

Tabela 5. Distribuição de adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral, segundo uso de drogas lícitas e ilícitas (n=89). São Paulo. 2013.

Variáveis	**n**	**%**
Tabagismo		
Sim	19	21,3
Não	56	62,9
Ex	14	15,7
Consumo de bebida alcoólica		
Sim	46	52,3
Não	40	45,4
Ex	2	2,3
Uso de drogas ilícitas*		
Sim	11	12,4
Não	78	87,6

Nota: * maconha, cocaína, *ecstasy*.

6.1.3 Histórico familiar de doenças.

A Tabela 6 apresenta a descrição do histórico familiar (pai e mãe) de comorbidades relacionadas a doenças cardiovasculares. Nesta tabela pode-se observar que os relatos das comorbidades mais comuns relativas aos pais dos indivíduos da pesquisa foram: dislipidemia, hipertensão arterial e diabetes.

Tabela 6. Distribuição, médias e devio-padrão (DP) de adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral, segundo o histórico familiar (pai e mãe) (n=89). São Paulo, 2013.

Histórico familiar	Mãe		Pai	
Obesidade	**n (%)**		**n (%)**	
Sim	16 (17,9)		7 (7,9)	
Não	72 (80,9)		69 (77,5)	
Não sabe	1 (1,1)		13 (14,6)	
DM				
Sim	24 (27,0)		18 (20,2)	
Não	60 (67,4)		51 (57,3)	
Não sabe	5 (5,6)		20 (22,5)	
Dislipidemia				
Sim	26 (29,2)		16 (18,0)	
Não	41 (46,1)		42 (47,2)	
Não sabe	22 (24,7)		31 (34,8)	
Hipertensão Arterial				
Sim	40 (44,9)		31 (34,8)	
Não	36 (40,4)		28 (31,4)	
Não sabe	13 (14,6)		30 (33,7)	
Trombose				
Sim	6 (6,7)		1 (1,1)	
Não	76 (85,4)		64 (71,9)	
Não sabe	7 (7,9)		24 (26,9)	
AVC/IAM		**Idade do evento**		**Idade do evento**
Sim	20 (22,5)	< 65 anos (n=14)	20 (22,5)	< 55 anos (n=5)
Não	66 (74,1)		50 (56,2)	
Não sabe	3 (3,4)		19 (21,3)	
Outras doenças*				
Sim	26 (29,2)		23 (25,8)	
Não	63 (70,8)		65 (73,0)	
Não sabe	(—)		1 (1,1)	

Nota: AVC, acidente vascular cerebral; DM, Diabetes *mellitus*; IAM, infarto agudo do miocárdio.
* Hipotireoidismo, Doenças Respiratórias, Câncer.

6.1.4 História Clínica.

Em relação à história clínica dos indivíduos participantes da pesquisa, 32,6% apresentavam outras comorbidades clínicas além da infecção pelo HIV. Porém, 47,2% faziam uso de outros medicamentos além da TARV, como antiulcerosos, antidepressivos, antibióticos e antifúngicos. O tempo de infecção pelo HIV foi, em média, de 13,2 (±4,8) anos, com início da terapia, em média, de 10,6 (± 5,1) anos e tempo médio de terapia atual de 3,4 (±2,7) anos. Em relação à adesão a terapia, 88,6% dos indivíduos relataram ter ingerido de acordo com o prescrito os comprimidos antirretrovirais nos últimos 3 dias anteriores a data da entrevista (Tabela 7).

Em relação ao uso de IP, ITRN e ITRNN, classes de TARV mais associadas às alterações no metabolismo lipídico, observou-se na Tabela 7 que, 48,3%, 100,0% e 56,2% faziam uso das drogas presentes nestas classes, respectivamente.

Tabela 7. Distribuição, médias e desvios-padrão (DP) de adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral, segundo as variáveis de história clínica (n=89). São Paulo, 2013.

Variáveis	n	%	Média (DP)	Valor mínimo	Valor máximo
Comorbidades Clínicas					
Sim	29	32,6			
Não	60	67,4			
Uso de outros medicamentos (além da TARV)					
Sim	42	47,2			
Não	47	52,8			
Tempo de Diagnóstico do HIV (anos)			13,2 (4,8)	1,0	24,0
Tempo de início da TARV (anos)			10,6 (5,1)	1,0	18,0
Tempo de uso da TARV atual (anos)			3,4 (2,7)	0,0	15,0
Adesão à TARV					
Sim	78	88,6			
Não	10	11,4			
Uso de IP					
Sim	43	48,3			
Não	46	51,7			
Uso de ITRN					
Sim	89	100,0			
Não	0	0,0			
Uso de ITRNN					
Sim	50	56,2			
Não	39	43,8			

Notas: TARV, terapia antirretroviral; IP, Inibidores de protease; ITRN, inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos; ITRNN, inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos.

Em relação aos tipos de drogas utilizadas pelos indivíduos incluídos neste estudo de acordo com as classes terapêuticas, observa-se na Tabela 8 que, entre os que faziam uso de IP, cerca de metade fazia uso da combinação Lopinavir/Ritonavir (43,8%). Verificou-se que todos os indivíduos faziam uso de Lamivudina, seguido por 67,4% em uso de Tenofovir, drogas da classe ITRN. E, em relação às drogas da classe ITRNN, 52,8% faziam uso de Efavirenz. Os outros tipos de drogas encontrados foram Enfuvirtida e Raltegravir.

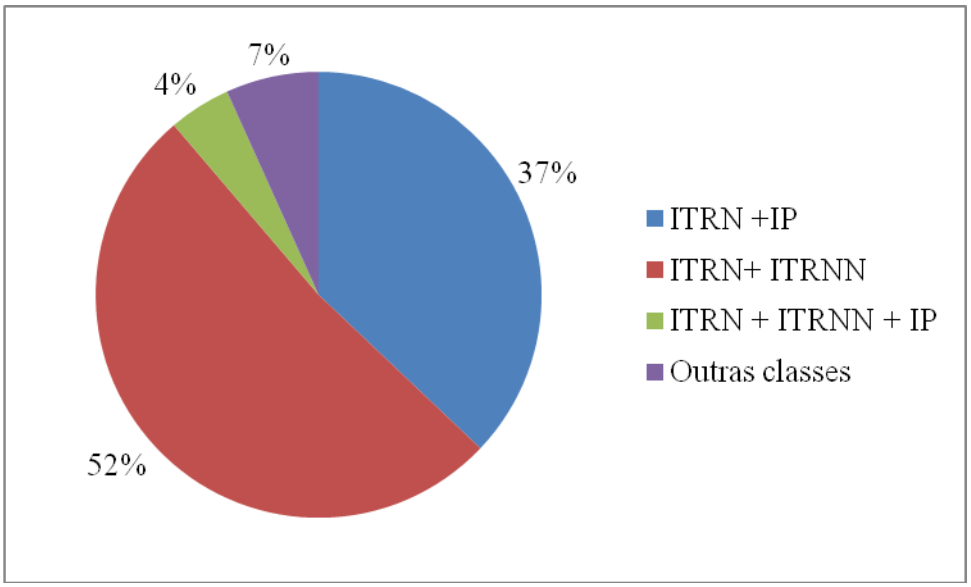
Tabela 8. Distribuição de adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral, segundo as drogas antirretrovirais utilizadas (n=89). São Paulo, 2013.

Medicamentos da TARV	n	%
IP		
Atazanavir	10	11,2
Lopinavir/Ritonavir	39	43,8
Darunavir	8	9,0
ITRN		
Didanosina	2	2,2
Lamivudina	89	100,0
Tenofovir	60	67,4
Zidovudina	31	34,8
ITRNN		
Efavirenz	47	52,8
Nevirapina	3	3,4
Inibidor de Fusão		
Enfuvirtida	2	2,2
Inibidor da Integrase		
Raltegravir	6	6,7

Nota: TARV, terapia antirretroviral; IP, Inibidores de protease; ITRN, inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos; ITRNN, inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos.

Em relação aos esquemas de TARV, ou seja, as combinações de classes terapêuticas, pouco mais que a metade dos indivíduos (52,0%) faziam uso da combinação ITRN + ITRNN.

Gráfico 2. Distribuição de adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral, segundo tipo de esquema antirretroviral atual (n=89). São Paulo, 2013.

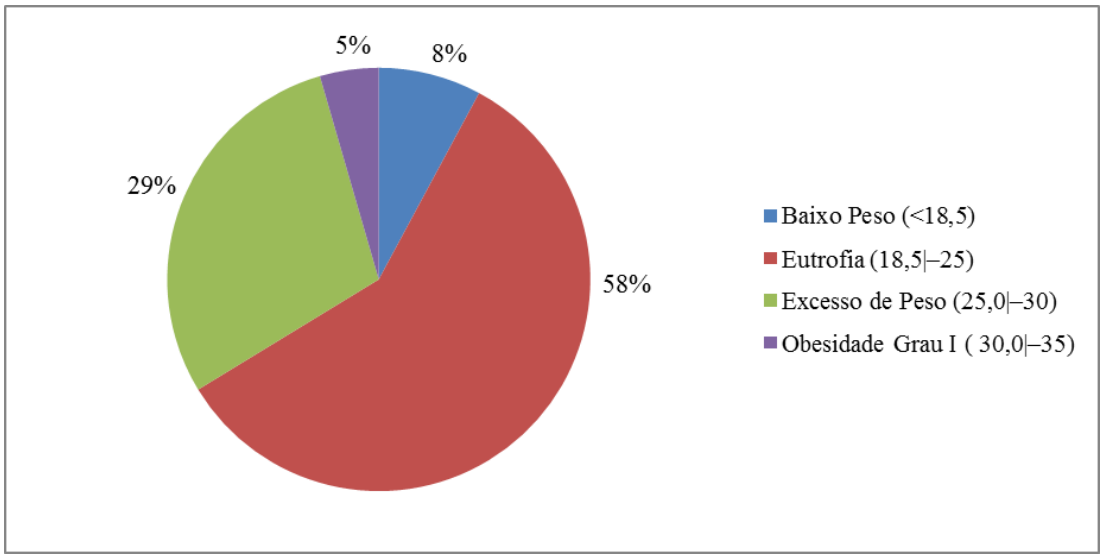


Nota: IP, Inibidores de protease; ITRN, inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos; ITRNN, inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos. **Outras classes:** combinações entre IP, ITRN, ITRNN e outras classes (inibidor de fusão e inibidor da integrase).

6.1.5 Avaliação Nutricional

Observa-se no Gráfico 3 a classificação do estado nutricional dos indivíduos de acordo com o IMC. Em relação a este parâmetro, 58,0% dos indivíduos foram considerados eutróficos e 29,0% apresentaram excesso de peso.

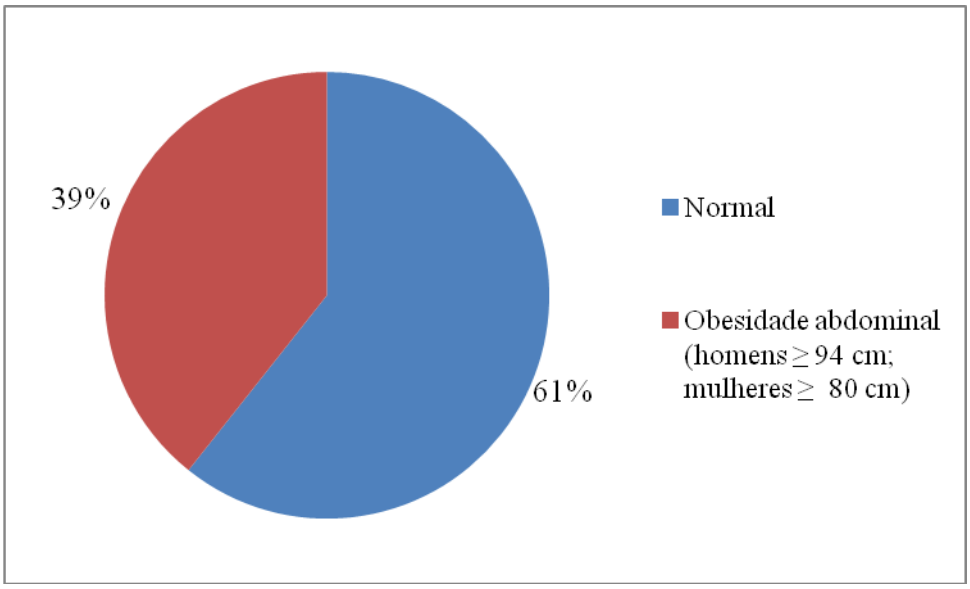
Gráfico 3. Distribuição de adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral, segundo classificação do IMC (kg/m^2) (n=89). São Paulo, 2013.



Fonte: OMS (2000).

Em relação à classificação da CC, observa-se no Gráfico 4 que 39,0% dos indivíduos apresentaram obesidade abdominal.

Gráfico 4. Distribuição de adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral, segundo classificação da circunferência da cintura (CC) em cm (n=89). São Paulo, 2013.



Fonte: *International Diabetes Federation* (IDF, 2006).

A Tabela 9 apresenta todas as variáveis antropométricas avaliadas no *baseline*. A média de peso foi 68,0 (± 11,9) kg, de altura foi 169,2 (±8,3) cm e do IMC foi 23,7(±3,8)kg/m^2. Na classificação da CC segundo sexo, é importante observar que apesar da maioria se encontrar dentro da faixa de normalidade (61,0%), cerca de 69,0% das mulheres e 24,1% dos homens apresentaram obesidade abdominal. A análise da composição corporal mostrou como esperado, a maior média de percentual de gordura nas mulheres (45,0%), e a maior quantidade de massa muscular nos homens (56,6 ±6,1 kg).

Tabela 9. Distribuição, médias e desvios-padrão (DP) de adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral, segundo as variáveis antropométricas (n=89). São Paulo, 2013.

Variáveis	**n**	**%**	**Média (DP)**	**Valor mínimo**	**Valor máximo**
Peso (kg)			68,0 (11,9)	38,3	97,3
Altura (cm)			169,2 (8,3)	144,5	184,9
Índice de Massa Corporal (kg/m^2)*			23,7 (3,8)	13,8	34,5
Circunferência da Cintura (cm)**			86,6 (9,6)	64,2	109,4
Mulheres			85,5 (10,3)	64,2	107,0
<80 (Normal)	11	34,4			
≥80 (Obesidade abdominal)	22	68,7			
Homens			87,2 (9,2)	67,2	109,4
<94 (Normal)	43	79,6			
≥ 94 (Obesidade abdominal)	13	24,1			
Gordura Corporal (%)***			19,8 (8,6)	3,0	41,8
Mulheres			26,5 (7,9)	13,7	41,8
< 20	7	21,2			
20|–|30 (Normal)	11	33,3			
>30	15	45,4			
Homens			16,0 (6,3)	3,0	28,1
<15	24	42,9			
15|–|25 (Normal)	27	48,2			
>25	5	8,9			
Massa Muscular (kg)			51,3 (8,9)	31,1	69,4
Mulheres	33	37,1	42,3 (4,6)	31,1	53,5
Homens	56	62,9	56,6 (6,1)	39,8	69,4

Fonte: *OMS (2000); ** IDF (2006);*** ARMATRUDA e LINEMEYER (2001).

6.1.6 Avaliação da Atividade Física

Após a avaliação da prática de atividade física pelo IPAQ – versão curta 8.0, observou-se que a maioria dos indivíduos (68,5%) foi classificada como ativa fisicamente (Tabela 10).

Tabela 10. Distribuição de adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral, segundo classificação da prática de atividade física (n=89). São Paulo, 2013.

Variáveis	**n**	**%**
Sedentários	4	4,5
Irregularmente ativos	20	22,5
Ativos	61	68,5
Muito ativos	4	4,5

6.1.7 Caracterização do Perfil Imunológico e Virológico

Foram incluídos neste estudo indivíduos que apresentavam carga viral <500 cópias/mL no *baseline* e ao longo do seguimento. A metodologia de bDNA apenas consegue detectar viremias acima de 50 cópias de RNA do HIV-1 por mililitro. A maioria absoluta dos pacientes (97,6%) apresentava carga viral indetectável no *baseline* e apenas dois pacientes (2,3%) apresentaram detecção de baixa viremia (carga viral 50-500 cópias/mL) que é chamada de "*blibs*" e não está associada à falência do tratamento (IBRAHIM et al., 2012). As médias de linfócitos T CD4+ e CD8+ foram 605,3 (±279,9) células/mm^3 e 825,9 (±21,9) células/mm^3, respectivamente (Tabela 11).

Tabela 11. Distribuição, médias e desvios-padrão (DP) de adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral, segundo as variáveis do perfil imunológico no *baseline* (n=89). São Paulo, 2013.

Variáveis	Média (DP)	Valor mínimo	Valor máximo
Linfócitos T CD4+ (cél/mm^3)	605,3 (279,9)	144,0	1314,0
Linfócitos T CD8+ (cél/mm^3)	825,9 (349,2)	234,0	1950,0

6.2 CARACTERIZAÇÃO DOS INDIVÍDUOS DO ENSAIO CLÍNICO DE ACORDO COM A ADESÃO AOS SUPLEMENTOS E AS VARIÁVEIS ANTROPOMÉTRICAS

6.2.1 Adesão aos Suplementos

A Tabela 12 apresenta o padrão de distribuição da adesão dos indivíduos a cada suplemento. Para classificação da adesão à intervenção em estudos clínicos, a literatura internacional considera como boa e baixa adesão o consumo de ≥80% e <80% dos suplementos, respectivamente (GRANGER et al., 2005; NUNES et al., 2009; NACHEGA et al., 2012). Observou-se no presente estudo que, em geral, a média de adesão foi próxima a 15 barras/sachês, pois a maioria dos indivíduos consumiu de 80-100% dos suplementos oferecidos, sendo que apenas seis indivíduos consumiram menos que 80% dos suplementos e após a realização dos testes estatísticos (ANOVA e teste t de *Student* pareado) verificou-se que a inclusão destes seis indivíduos na amostra não alterou os resultados observados.

Os indivíduos relataram maior dificuldade no consumo de chocolate placebo, alegando sabor muito adocicado e maior aceitação no consumo de chá placebo. Por outro lado, alguns participantes referiram sabor muito amargo para o chocolate e erva mate.

Apenas 24% dos indivíduos relataram efeitos adversos no consumo dos suplementos. Em relação aos chocolates foram: enjoos, aumento da frequência ou

ressecamento intestinal, aumento da saciedade e aumento da oleosidade da pele. Em relação aos chás: aumento da frequência ou ressecamento intestinal e aumento de apetite. No entanto, os indivíduos tiveram dificuldade em associar esses sintomas ao uso dos suplementos, considerando-se que diversos outros fatores poderiam ocasionar tais sintomas. Além disso, não foi necessária a exclusão de nenhum participante em decorrência destas observações.

Tabela 12. Distribuição, médias e desvios-padrão (DP) da adesão aos suplementos (barras/sachês) dos adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral. São Paulo, 2013.

Suplemento	n	%	Média (DP)
			14,63 (1,1)
Chocolate Preto	71	100,00	
	10	80-97	
	4	< 80	
			14,62 (1,1)
Chocolate Placebo	69	100,00	
	15	80-97	
	1	< 80	
			14,71 (0,9)
Erva Mate	70	100,00	
	12	80-97	
	1	< 80	
			14,77 (0,6)
Chá Placebo	70	100,00	
	13	80-93	

Notas: Chocolate Preto e Chocolate Placebo n=85; Erva Mate e Chá Placebo n=83.

6.2.2 Variáveis Antropométricas

Na Tabela 13, com o intuito de mostrar se houve modificações nas variáveis antropométricas ao longo do seguimento, apresentou-se as médias destas variáveis nas diferentes suplementações. Observou-se que não houve alterações significativas do estado nutricional ao longo do seguimento do estudo.

Tabela 13. Variáveis antropométricas no *baseline* e nas diferentes suplementações em adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral. São Paulo, 2013.

Variáveis	*Baseline* (DP)*	Chocolate Preto (DP)*	Chocolate Placebo (DP)*	Erva Mate (DP)*	Chá Placebo (DP)*	*P***
Peso (kg)	68,0 (11,9)	68,2 (11,5)	68,2 (11,7)	67,7 (11,9)	67,4 (11,7)	0,68
IMC (kg/m^2)	23,7 (3,8)	23,7 (3,7)	23,7 (3,7)	23,6 (3,7)	23,5 (3,7)	0,95
CC (cm)	86,6 (9,6)	86,8 (9,4)	86,3 (9,3)	86,2 (9,6)	86,1 (9,5)	0,51
Gordura Corporal (%)	19,8 (8,6)	19,3 (8,6)	19,2 (8,6)	19,7 (8,7)	20,3 (11,0)	0,69
Massa Muscular (kg)	51,3 (8,9)	51,8 (8,5)	51,8 (8,7)	50,8 (10,3)	50,7 (9,0)	0,87

Notas: CC, circunferência da cintura; DP, desvios padrão; IMC, índice de massa corporal.
* *Baseline* n=89; Chocolate Preto e Chocolate Placebo n=85; Erva Mate e Chá Placebo n=83.
**Comparação das médias (ANOVA) entre todas as suplementações.

6.3 CARACTERIZAÇÃO DOS INDIVÍDUOS DO ENSAIO CLÍNICO DE ACORDO COM AS VARIÁVEIS DE DESFECHO (PERFIL LIPÍDICO E OXIDATIVO)

A Tabela 14 apresenta algumas variáveis que compõem o perfil lipídico no *baseline* de acordo com a classificação do NCEP ATP III (2002).

Observou-se que, dos indivíduos incluídos neste estudo, 55,1% apresentaram concentrações adequadas de CT, sendo que 10,1% tiveram concentrações aumentadas. Em relação às frações lipídicas, 27,0% e 39,3% apresentaram concentrações normais e próximas dos valores de referência de LDL-c, respectivamente. Ainda em relação ao LDL-c, 4,5% e 2,2%, respectivamente, estavam com concentrações aumentadas e muito aumentadas desta fração. Em relação ao HDL-c, 55,1% e 25,8% estavam com valores normais e abaixo do normal, respectivamente. Acima de metade dos indivíduos (57,3%) e 25,8% apresentavam valores normais e no limite da normalidade em relação ao TG, respectivamente; 15,7% valores aumentados e 1,1% valores muito aumentados.

Os indivíduos que apresentaram concentrações alteradas das variáveis do perfil lipídico (valores acima da normalidade) foram mantidos no estudo, pois não fizeram uso de hipolipemiantes na ocasião do *baseline* e ao longo do seguimento.

Tabela 14. Distribuição, médias e desvios-padrão (DP) de adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral, segundo as variáveis do perfil lipídico no *baseline* (n=89). São Paulo, 2013.

Variáveis	n	%	Média (DP)	Valor mínimo	Valor máximo
CT (mg/dL)			195,8 (36,3)	125,0	313,0
<200 Desejável	49	55,1			
200|– 240 Limite alto	31	34,8			
≥240 Alto	9	10,1			
LDL-c (mg/dL)			117,7 (33,7)	24,0	285,0
<100 Ótimo	24	27,0			
100|–130 Próximo/abaixo de ótimo	35	39,3			
130|–160 Limite alto	24	27,0			
160|–190 Alto	4	4,5			
≥190 Muito Alto	2	2,2			
HDL-c (mg/dL)			49,7 (15,3)	6,0	96,0
<40 Baixo	23	25,8			
40|–60 Adequado	49	55,1			
≥60 Alto	17	19,1			
TG (mg/dL)			145,6 (76,9)	40,0	559,0
<150 Normal	51	57,3			
150|–200 Limite alto	23	25,8			
200|–500 Alto	14	15,7			
≥500 Muito Alto	1	1,1			

Fonte: NCEP ATP III, 2002. Nota: CT, colesterol total; LDL-c, lipoproteína de baixa densidade; HDL-c, lipoproteína de alta densidade; TG, triacilgliceróis.

A Tabela 15 apresenta as médias das variáveis de desfecho dos indivíduos que completaram todas as fases de suplementação (n=79). Observou-se que não houve diferença significativa nas comparações entre todas as suplementações, Erva Mate *versus* Chocolate Preto e Chocolate Placebo *versus* Chá Placebo. Tais comparações somente poderiam ser realizadas com os indivíduos que completaram todas as fases de suplementação, pois desta forma mantêm-se o delineamento do tipo *cross-over*, em que observamos medidas dos mesmos indivíduos em cada fase de intervenção.

Tabela 15. Variáveis do perfil lipídico e oxidativo no *baseline* e nas diferentes suplementações em adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral [indivíduos que completaram todas as 4 fases (n=79)]. São Paulo, 2013.

Variáveis	n	*Baseline* (DP)	n	Chocolate Preto (DP)	n	Chocolate Placebo (DP)	n	Erva Mate (DP)	n	Chá Placebo (DP)	*P* [1]	*P* [2]	*P* [3]
Apo A (mg/dL)	79	142,0 (29,2)	79	144,4 (24,5)	79	145,1 (26,3)	78♦	143,2 (26,8)	77♦	139,9 (25,1)	0,46	0,76	0,98
Apo B (mg/dL)	79	94,1 (26,1)	79	93,2 (24,7)	79	96,0 (22,9)	78♦	93,8 (21,7)	77♦	91,9 (22,7)	0,88	0,92	0,86
CT (mg/dL)	79	192,3 (34,2)	79	198,1 (37,9)	79	197,8 (35,3)	79	197,7 (37,4)	79	191,7 (38,3)	0,94	0,99	0,78
HDL-c (mg/dL)	79	49,8 (14,4)	79	52,1 (14,6)	79	50,7 (14,2)	79	50,4 (14,4)	79	49,5 (14,0)	0,74	0,92	0,99
LDL-c (mg/dL)	79	114,7 (28,6)	79	120,0 (35,6)	79	120,4 (32,0)	79	117,9 (32,7)	79	114,8 (32,7)	0,80	0,94	0,55
Não HDL-c	79	142,6 (32,5)	79	146,1 (36,0)	79	147,2 (32,7)	79	146,8 (36,8)	79	142,3 (36,3)	0,96	0,99	0,78
Castelli I	79	4,1 (1,1)	79	4,02 (1,0)	79	4,1 (1,1)	79	4,16 (1,2)	79	4,1 (1,1)	0,84	0,98	0,99
Castelli II	79	2,5 (0,9)	79	2,5 (0,9)	79	2,5 (0,8)	79	2,5 (0,9)	79	2,5 (0,9)	0,80	0,85	0,84
TG (mg/dL)	79	143,3 (76,9)	79	135,0 (59,1)	79	139,1 (75,3)	79	144,1 (61,3)	79	141,4 (74,6)	0,49	0,32	0,61
LDL (-) (U/L)	74♦	8,8 (13,7)	79	9,1 (14,0)	79	9,3 (14,5)	79	9,1 (13,0)	79	8,5 (13,5)	0,96	0,99	0,99
TBARS (µmol/L)	74♦	11,6 (4,4)	79	12,1 (5,4)	79	12,2 (4,9)	79	11,9 (4,5)	79	11,5 (5,1)	0,82	0,93	0,77

Notas: Apo A, apolipoproteína AI; apo B, apolipoproteína B; CT, colesterol total; DP, desvios padrão; HDL-c, lipoproteína de alta densidade; LDL-c, lipoproteína de baixa densidade; LDL (-), lipoproteína de baixa densidade eletronegativa;TBARS, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; TG, triacilgliceróis.
Comparação das médias (ANOVA): [1] entre todas as suplementações, [2] Erva Mate *versus* Chocolate Preto, [3]Chocolate Placebo *versus* Chá Placebo.
♦ n menor devido à hemólise ou quantidade insuficiente de plasma.

Para as comparações dos indivíduos nas fases Erva Mate *versus* Chá Placebo, Chocolate Preto *versus* Chocolate Placebo, *baseline versus* Chocolate Preto e *baseline versus* Erva Mate, optou-se por incluir os indivíduos que completaram ao menos 2 fases de suplementação (n=10), sendo n=6 para as fases de chocolate e n=4 para as fases com chá (vide **Figura 2**). Desta forma, o número total da amostra foi de 89 indivíduos, sendo que o número de indivíduos que completaram as 2 fases de chocolate e chá foi igual a 85 e 83, respectivamente, conforme mencionado anteriormente.

Observou-se na Tabela 16 que não houve diferença significativa nas comparações entre os suplementos de interesse (Chocolate Preto/Erva Mate) e placebos, por ANOVA. Entretanto, nas comparações entre os suplementos de interesse em relação ao *baseline*, observou-se que após o consumo do Chocolate Preto, houve aumento significativo de CT (p=0,005), HDL-c (p=0,019) e LDL-c (p=0,002).

Tabela 16. Variáveis do perfil lipídico e oxidativo no *baseline* e nas diferentes suplementações em adultos com HIV/AIDS em terapia antirretroviral [indivíduos que completaram todas as 4 fases (n=79) + indivíduos que completaram ao menos 2 fases (n=10)]. São Paulo, 2013.

Variáveis	n	*Baseline* (DP)	n	Chocolate Preto (DP)	n	Chocolate Placebo (DP)	n	Erva Mate (DP)	n	Chá Placebo (DP)	*P* [1]	*P* [2]	*P* [3]	*P* [4]
Apo A (mg/dL)	89	141,1 (31,6)	85	143,2 (27,4)	84♦	143,9 (29,1)	82♦	142,8 (26,5)	81♦	140,8 (25,2)	0,23	0,3	0,31	0,84
Apo B (mg/dL)	89	96,0 (29,0)	85	95,5 (32,2)	84♦	97,6 (28,3)	82♦	94,5 (21,7)	81♦	92,4 (22,3)	0,96	0,77	0,37	0,38
CT (mg/dL)	89	195,8 (36,3)	85	200,5 (41,9)	85	199,3 (37,9)	83	197,9 (37,0)	83	193,2 (38,2)	0,96	0,99	*0,005	0,09
HDL-c (mg/dL)	89	49,7 (15,3)	85	51,6 (15,0)	85	50,5 (15,0)	83	50,1 (14,1)	83	49,7 (14,0)	0,73	0,66	*0,019	0,69
LDL-c (mg/dL)	89	117,7 (33,7)	85	122,8 (43,1)	85	121,7 (37,5)	83	119,1 (32,5)	83	116,0 (32,5)	0,88	0,86	*0,002	0,10
Não HDL-c	89	146,1 (37,6)	85	148,9 (43,3)	85	148,8 (38,6)	83	147,8 (36,4)	83	143,5 (35,9)	0,98	0,92	0,051	0,08
Castelli I	89	4,6 (5,2)	85	4,5 (4,7)	85	4,5 (3,6)	83	4,2 (1,1)	83	4,1 (1,1)	0,78	0,5	0,15	0,19
Castelli II	89	3,0 (4,9)	85	2,9 (4,5)	85	2,8 (3,4)	83	2,5 (0,9)	83	2,5 (0,9)	0,78	0,48	0,46	0,73
TG (mg/dL)	89	145,6 (76,9)	85	135,3 (60,4)	85	141,5 (78,5)	83	143,5 (60,2)	83	141,3 (72,9)	0,57	0,65	0,18	0,93
LDL (-) (U/L)	82♦	8,6 (13,3)	85	8,8 (13,6)	85	9,1 (14,2)	83	8,9 (12,7)	83	8,4 (13,3)	0,95	0,94	0,20	0,30
TBARS (µmol/L)	82♦	12,3 (4,9)	85	12,6 (5,5)	85	12,6 (5,0)	82♦	12,2 (4,6)	83	11,8 (5,2)	0,91	0,68	0,54	0,93

Notas: Apo A, apolipoproteína AI; apo B, apolipoproteína B; CT, colesterol total; DP, desvios padrão; HDL-c, lipoproteína de alta densidade; LDL-c, lipoproteína de baixa densidade; LDL (-), lipoproteína de baixa densidade eletronegativa;TBARS, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; TG, triacilgliceróis.
Comparação das médias (ANOVA): [1] Erva Mate *versus* Chá Placebo, [2] Chocolate Preto *versus* Chocolate Placebo.
Teste t de *Student* pareado: [3] *baseline versus* Chocolate Preto, [4] *baseline versus* Erva Mate.
*p monocaudal à esquerda <0,025.
♦ n menor devido à hemólise ou quantidade insuficiente de plasma.

7. DISCUSSÃO

7.1. PERFIL LIPÍDICO E OXIDATIVO DOS INDIVÍDUOS

O metabolismo lipídico e oxidativo dos indivíduos com HIV/AIDS em TARV sofre diversas alterações devido à própria infecção pelo vírus e por efeitos da terapia, havendo maior risco cardiovascular associado à dislipidemia aterogênica e EO (MANDAS et al., 2009; SOUZA et al., 2013).

No presente estudo para caracterizar o perfil lipídico e oxidativo destes indivíduos foram avaliadas as seguintes variáveis: perfil lipídico - CT, HDL-c, não-HDL-c, LDL-c, TG, índices de Castelli I e II, apo A e apo B e o perfil oxidativo - LDL (-) e TBARS.

Em relação às modificações lipídicas observadas em pacientes com HIV/AIDS em TARV, SOUZA et al. (2013), verificaram em estudo de revisão (Anexo 4) que os regimes terapêuticos da TARV provocam alterações distintas no metabolismo lipídico. Os IP são comumente associados à ocorrência de infarto agudo do miocárdio, hipercolesterolemia, elevação do LDL-c, redução de HDL-c e hipertrigliceridemia, particularmente no caso do Indinavir e do Lopinavir. O uso do IP Atazanavir foi associado a menores alterações do perfil lipídico.

Pacientes em uso de ITRNN podem apresentar hipertrigliceridemia, além da hipercolesterolemia. No entanto, particularmente a Nevirapina foi associada a concentrações elevadas de HDL-c, fator protetor do risco cardiovascular (SOUZA et al., 2013).

Alguns ITRN, como Estavudina, Didanosina e Zidovudina, são potenciais indutores de alterações lipídicas, especialmente lipoatrofia e hipertrigliceridemia. Entretanto, os esquemas contendo Tenofovir foram associados a um melhor perfil metabólico (SOUZA et al., 2013). O efeito de regimes contendo Tenofovir pode indicar uma ação hipolipemiante desse ITRN, diferindo de outras drogas da mesma classe de antirretrovirais (FREDRICKSON 1993; FRIIS-MØLLER et al., 2007; LU et al., 2011; SOUZA et al., 2013).

Corroborando com estes autores, no presente estudo observou-se que os indivíduos faziam uso, em sua maioria, dos medicamentos antirretrovirais

Lamivudina e Tenofovir da classe ITRN, os quais são associados a menores alterações do metabolismo lipídico (FRIIS-MØLLER et al., 2007; LU et al., 2011; SOUZA et al., 2013). Tais observações podem justificar o perfil lipídico encontrado no *baseline* dos indivíduos deste estudo, que na grande maioria se encontrava dentro da normalidade, com base na classificação da NCEP ATP III (2002).

Padrão diferente ocorreu quando se observou os efeitos do tratamento sobre o dano oxidativo. O uso de alguns ITRN, como a Zidovudina, utilizado por aproximadamente 35% dos pacientes, pode contribuir para aumento do EO (CARON et al., 2007) que pode estar associado a presença de citocinas inflamatórias, como o TNF-α e IL-6, as quais parecem provocar ativação endotelial e plaquetária, peroxidação lipídica e produção de EROS (GRUNFELD et al., 1991; DUCOBU e PAYEN, 2000).

Os ITRN podem induzir toxicidade mitocondrial, que parece estar associada aos marcadores de EO (CARON et al., 2007). Os medicamentos desta classe podem diminuir a lipogênese e diferenciação de adipócitos no tecido subcutâneo, sendo uma das possíveis causas da toxicidade mitocondrial, inibindo a DNA polimerase γ mitocondrial e esgotando o DNA mitocondrial (LLIBRE et al., 2006; TUNGSIRIPAT et al., 2010). As mitocôndrias são sítios susceptíveis ao EO devido à capacidade de gerar EROS (LEWIS et al., 2003).

O aumento das EROS induz modificações oxidativas nas partículas de LDL-c que levam a formação de LDL (-) ou LDL minimamente oxidada, que vem sendo considerada como biomarcador de peroxidação lipídica precoce, pois induz aterogênese por diversas atividades biológicas, incluindo citotoxidade e estímulo de vários componentes do sistema imune (como macrófagos, interleucinas, TNF-α) (BAO et al., 2010), que contribuem para alteração no endotélio vascular, aumentando o risco cardiovascular (CHEN et al., 2007; PEDROSA et al., 2010).

A LDL (-) se encontra aumentada em indivíduos com hipercolesterolemia familiar, hipertrigliceridemia (SÁNCHEZ-QUESADA et al., 2002; SÁNCHEZ-QUESADA et al., 2003; BENÍTEZ et al., 2003; BENÍTEZ et al., 2004), Diabetes *mellitus* (SÁNCHEZ-QUESADA et al., 2005; BENÍTEZ et al., 2007) , doença coronária (TOMASIK et al., 2003; OLIVEIRA et al, 2006), dentre outras condições clínicas associadas a maior risco cardiovascular.

Em indivíduos em hemodiálise, por exemplo, LOBO et al. (2013) observaram concentrações aumentadas de LDL (-) em comparação a indivíduos saudáveis, com valores detectados por ELISA de 0,12-0,18 U/L e 0,08-0,10 U/L ($p<0,04$), respectivamente. Em estudo envolvendo indivíduos dislipidêmicos, eutróficos e com excesso de peso em uso de estatinas, BOTELHO et al. (2012) observaram altos valores de oxidação da LDL (19,61± 10,24 U/L) utilizando a mesma metodologia de ELISA sanduíche do presente estudo.

Infelizmente não existem estudos na literatura internacional avaliando LDL (-) em indivíduos com HIV/AIDS, e por esse motivo não foi possível comparar os nossos resultados com outros estudos envolvendo essa população. Além disso, não existem valores de referência deste biomarcador para população saudável.

Desta forma, comparando com estudos envolvendo outras patologias, pode-se afirmar que os indivíduos com HIV/AIDS em TARV do presente estudo apresentaram concentrações muito aumentadas deste biomarcador de peroxidação lipídica, pois no *baseline* e ao longo do seguimento da intervenção, os valores de LDL (-) ficaram próximos a 8,0 U/L.

Em relação ao aspecto de oxidação da LDL em indivíduos com HIV/AIDS, verificou-se na literatura que, aparentemente, apenas o estudo de DUONG et al. (2006) avaliou esta temática. No entanto, esses pesquisadores avaliaram o estágio mais avançado de oxidação da LDL, o que mostra, como já mencionado, que o presente estudo no Brasil foi o primeiro a apresentar o perfil de peroxidação lipídica precoce destes indivíduos, com o biomarcador LDL (-).

DUONG et al. (2006), em estudo que envolveu 44 indivíduos infectados pelo HIV em uso de TARV, sendo 22 com lipodistrofia, investigaram as concentrações de LDL oxidada na presença ou ausência de lipodistrofia *versus* controle sem HIV. Os autores relataram que os indivíduos com HIV em TARV apresentaram concentrações de LDL oxidada significativamente maiores quando comparados com controle não HIV (0,8±0,3mg/dL e 0,6±0,12mg/dL, $p=0,007$), sendo que, o tempo de exposição ao Efavirenz, da classe ITRNN, e ao IP Ritonavir foi associado a maiores concentrações deste marcador de oxidação lipídica. Tais drogas antirretrovirais também foram utilizadas por praticamente metade dos indivíduos do presente estudo.

GIL et al. (2010) também verificaram o EO em indivíduos com HIV em relação ao tempo de uso de TARV. Foram incluídos no estudo 84 indivíduos, sendo que 28 não se encontravam em uso de TARV e 56 foram alocados em dois grupos com diferentes combinações de TARV: grupo I – Zidovudina+Lamivudina+Indinavir; grupo II – Estavudina+Lamivudina+Nevirapina. Neste estudo, a peroxidação lipídica foi avaliada através da dosagem de MDA e outros marcadores. Os autores observaram que após seis meses do início da TARV as concentrações de MDA aumentaram significativamente de 7,61±1,81 nmol no *baseline* para 9,95±1,75 nmol ($p < 0,001$).

O presente estudo se assemelha ao de GIL et al. (2010) pois também se observou valores aumentados de peroxidação lipídica e tempo de uso da TARV e terapia atual > 6 meses. No entanto, o método utilizado para avaliação de peroxidação lipídica foi TBARS. Nesta análise, o MDA, um dos principais produtos formados no processo oxidativo, reage com ácido tiobarbitúrico (TBA), para formar um pigmento cor de rosa (TBARS) (ANTOLOVICH et al.,2002). Este método de avaliação do MDA ainda é comumente utilizado mesmo não tendo alta especificidade, pois outras substâncias que ocorrem em materiais biológicos também reagem com o TBA (LIMA e ABDALLA, 2001).

Nos estudos de VASSIMON et al. (2010) e NGONDI et al. (2006), o monitoramento da peroxidação lipídica também foi realizado pela dosagem do marcador TBARS, semelhante ao presente estudo.

VASSIMON et al. (2010) compararam três grupos de homens: HIV com lipodistrofia (n=10), HIV sem lipodistrofia (n=22) e controle não HIV (n=12). A contagem de linfócitos T CD4+ dos dois grupos com HIV com e sem lipodistrofia foi 551,0 ± 300,0 cels/mm^3 e 454,0 ± 186,0 cels/mm^3 ($p>0,05$), respectivamente; apenas cinco indivíduos apresentaram valores de carga viral maiores que 50 cópias/mm^3, o tempo de diagnóstico e uso da TARV era semelhante em ambos os grupos, sendo que a maioria fazia uso da combinação ITRN + ITRNN. Os autores observaram os seguintes valores de TBARS: HIV com lipodistrofia = 5,5± 2,6 µmol/L; HIV sem lipodistrofia = 6,0± 4,0 µmol/L e controle não HIV = 7,7±8,0 µmol/L, mas sem diferença significativa entre os grupos, ao contrário do que era esperado pelos autores. Entretanto, NGONDI et al. (2006) verificaram dosagens de TBARS

semelhantes ao estudo de VASSIMON et al. (2010), em relação ao uso de TARV, mas com diferenças significativas. NGONDI et al. (2006) para verificar o efeito da TARV e de diferentes combinações desta terapia em indivíduos com HIV/AIDS, realizaram estudo comparando 3 grupos: HIV negativo (n=90), pré-TARV (n=65) e TARV (n=85). Eles observaram os seguintes valores de TBARS para estes grupos, respectivamente: 1,3 ±0,12µmol/L; 4,2 ±0,77µmol/L e 6,28 ±1,3µmol/L ($p<0,0001$). Já nas comparações das diferentes combinações de TARV, o grupo que fazia uso de Estavudina+Lamivudina+Nevirapina apresentou maiores concentrações de TBARS (7,2 ±2,58µmol/L, $p<0,01$).

O presente estudo observou dosagens de TBARS relativamente maiores do que os detectados por VASSIMON et al. (2010) e NGONDI et al. (2006), valores próximos a 12,0µmol de TBARS/L no *baseline* e ao longo da intervenção, o que aparentemente, mostra a presença de peroxidação lipídica aumentada em indivíduos com HIV/AIDS em TARV.

Semelhante ao biomarcador LDL (-), também não foi encontrado na literatura internacional valor de referência de TBARS para população saudável.

7.2. EFEITO DA INGESTÃO DE CHOCOLATE E ERVA MATE NO PERFIL LIPÍDICO E OXIDATIVO DOS INDIVÍDUOS

Este é o primeiro ensaio clínico que buscou avaliar o efeito da ingestão de chocolate e erva mate no perfil lipídico e oxidativo de indivíduos com HIV/AIDS em TARV.

Estes alimentos são ricos em polifenóis, os quais têm sido foco de diversos estudos por suas características hipolipemiantes e antioxidantes, podendo diminuir o risco cardiovascular de diferentes populações (OSAKABE et al. 2001; MURSU et al., 2004; SILVA et al., 2008; MATSUMOTO et al., 2009; de MORAIS et al., 2009; JIA et al. 2010).

Observou-se que houve boa adesão aos suplementos por parte dos indivíduos participantes deste estudo, com médias de adesão próximas a 15 barras ou sachês. Este perfil pode ser justificado pelo tempo de escolaridade destes indivíduos, em que,

a maioria concluiu o ensino médio, facilitando a compreensão sobre a importância do consumo dos suplementos. Além disso, os indivíduos deste estudo, por serem portadores de uma doença crônica, necessitam de acompanhamento frequente no ambulatório (Casa da AIDS ou Instituto de Infectologia Emílio Ribas), para o tratamento médico com infectologista e demais profissionais de saúde e também retiradas de medicamentos. Desta forma existe certa "dependência", por parte dos indivíduos participantes aos locais onde foi realizado o projeto de intervenção. Esta "dependência" promove vínculo entre os pacientes e os profissionais de saúde, bem como com os membros da equipe de pesquisa, o que pode ter facilitado a relação de confiança e interesse dos indivíduos em consumir os suplementos, promovendo boa adesão ao estudo.

Entretanto, mesmo com a boa adesão à suplementação, o consumo de chocolate preto e erva mate durante 15 dias cada, não foi suficiente para alterar o perfil lipídico e oxidativo, marcadores de risco cardiovascular, conforme observado nas comparações por ANOVA. No entanto, após a realização de teste t de *Student* pareado para comparar o *baseline* com os tratamentos de interesse observou-se que, após o consumo do Chocolate Preto, houve aumento significativo de CT (p=0,005), HDL-c (p=0,019) e LDL-c (p=0,002). Tais alterações serão posteriormente discutidas.

Os indivíduos foram orientados a manter o mesmo estilo de vida em relação à atividade física e dieta habitual durante todo o seguimento, além de não consumir outro tipo de chocolate ou chá. Estas recomendações foram preconizadas para não haver interferências nas variáveis de desfecho e manutenção do delineamento *cross-over*. Recomendações semelhantes foram observadas em outros estudos de intervenção com chocolate ou erva mate (BABA et al.,2007; de MORAIS et al., 2009). Sendo assim, devido a tais orientações, observou-se, como já esperado, que não houve alteração do estado nutricional dos indivíduos ao longo do presente estudo, levando também em consideração o curto período de intervenção (15 dias para cada alimento). Entretanto, em relação ao chocolate e placebo de chocolate, os quais são ricos em lipídios e energia, é importante ressaltar que o consumo diário pode causar aumento de peso quando ingerido por longo prazo (MURSU et al., 2004).

7.2.1 Chocolate Preto

Neste estudo não se observaram alterações significativas nas variáveis do perfil lipídico e oxidativo nas comparações por ANOVA entre chocolate preto e placebo de chocolate.

Em relação à quantidade de chocolate preto, conteúdo de polifenóis e tempo de consumo, vários estudos apresentaram semelhanças com o presente ensaio clínico, em que os indivíduos consumiram uma barra de 65g/dia, contendo de 2148 a 2864mg de polifenóis por porção, durante 15 dias. Na maioria dos estudos foram observadas poucas alterações significantes nos parâmetros do perfil lipídico e oxidativo dos indivíduos investigados.

Em indivíduos saudáveis, OSAKABE et al. (2001) realizaram estudo clínico para avaliar o efeito do consumo de derivados de cacau no perfil lipídico. As quantidades dos suplementos alimentares, de polifenóis e o tempo de administração foram semelhantes aos utilizados no presente estudo, sendo 36g de cacau em pó/dia por duas semanas. Os autores observaram aumento da resistência da LDL-c à oxidação, mas não encontraram alterações significativas nos demais lipídios plasmáticos (OSAKABE et al., 2001).

SHIINA et al. (2009) em estudo randomizado, cego conduzido por duas semanas em 39 homens saudáveis com média de idade de 29,7±3,9 anos, que consumiram diariamente 45g de chocolate rico em polifenóis (550mg/dia, com 200kcal) *versus* controle (chocolate branco com 0 polifenóis), não verificaram diferenças significativas no perfil lipídico (concentrações de CT, LDL-c, HDL-c e TG).

Investigando indivíduos hipertensos, GRASSI et al. (2008) realizaram estudo clínico também com chocolate rico em fenóis (100g de chocolate com 1008mg de fenóis totais) consumido durante 15 dias e observaram diminuição das concentrações de LDL-c, mas sem alterações significativas nas concentrações de HDL-c e TG.

Ainda em relação ao consumo do chocolate preto, JIA et al. (2010) realizaram meta-análise com oito estudos clínicos aleatorizados envolvendo 215 sujeitos com fatores de risco para doença cardiovascular que passaram por intervenção com chocolate preto. Os autores referiram que o consumo por até 6 semanas deste tipo de

chocolate foi significativamente associado com redução nas concentrações séricas de LDL-c quando comparado ao grupo placebo, mas não teve efeito no CT e HDL-c. Os autores justificaram estas divergências de resultados devido aos oito estudos serem heterogêneos, ou seja, populações e condições clínicas distintas, como diabéticos, hipertensos, esportistas, saudáveis e outros.

Tais divergências de resultados também foram relatadas na recente revisão de OSAKABE (2013) que mostrou vários estudos clínicos, randomizados e controlados que também investigaram os efeitos do chocolate ou produtos com cacau, especialmente o chocolate preto, nos fatores de risco da síndrome metabólica, como hipertensão, disfunção endotelial, intolerância à glicose e dislipidemia.

FAROUQUE et al. (2006) em estudo clínico, randomizado, duplo-cego e controlado com placebo, envolvendo 40 indivíduos (30 homens) com doença cardiovascular prévia e idade média de 61±8 anos, que consumiram durante seis semanas chocolate contendo 444mg/dia de polifenóis, também não observaram melhorias significativas nas concentrações de CT, LDL-c, HDL-c e TG.

Semelhante aos nossos resultados, mas utilizando menor quantidade de polifenóis, NOGUEIRA et al. (2012) em estudo envolvendo 20 indivíduos hipertensos e com excesso de peso (10 homens e 10 mulheres) com idade média de 44 anos que consumiram durante quatro semanas 50g/dia de chocolate 70% cacau contendo 2135mg de polifenóis, não observaram alterações significativas no perfil lipídico e na LDL-c oxidada. Os indivíduos deste estudo apresentaram médias de concentrações lipídicas no *baseline* dentro da faixa de normalidade de acordo com NCEP ATP (2001), o que pode explicar a ausência de melhoria do perfil lipídico. Tal explicação também pode ser aplicada ao presente estudo, onde os indivíduos com HIV/AIDS em TARV também apresentaram, em geral, concentrações lipídicas normais.

Entretanto, após a realização do teste t de *Student* pareado entre *baseline* e chocolate preto, verificou-se aumento significativo de CT (p=0,005), HDL-c (p=0,019) e LDL-c (p=0,002).

Este aumento nas concentrações de CT e LDL-c pode estar relacionado à quantidade de ácidos graxos saturados presentes no chocolate utilizado (14g/barra) que, associado à dieta, pode ter contribuído para aumento dos conteúdos alimentares

de ácidos graxos saturados, além do recomendado, influenciando as concentrações lipídicas plasmáticas (SPOSITO et al., 2007; SANTOS et al., 2013). O chocolate frequentemente foi associado ao efeito hipercolesterolêmico devido esta grande quantidade de ácidos graxos saturados. No entanto, a presença do ácido graxo esteárico, que representa aproximadamente 30% dos ácidos graxos saturados presentes no chocolate, parece promover efeito considerado neutro em relação ao CT e LDL-c e efeito positivo sobre a HDL-c (MENSINK et al., 2003, MURSU et al., 2004).

No entanto, este efeito neutro do chocolate em relação ao CT e LDL-c ainda não é um consenso e o chocolate foi classificado com grau de recomendação II e nível de evidência C pela I Diretriz sobre o consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular da Sociedade Brasileira de Cardiologia (SANTOS et al., 2013).

Mesmo assim, é interessante ressaltar que, apesar do aumento das concentrações de CT e LDL-c após o consumo de chocolate preto, suas médias ficaram na faixa limítrofe de acordo com a classificação do NCEP ATP III (2002) e também foi observado aumento nas concentrações de HDL-c.

Em relação ao aumento de HDL-c, sabe-se que esta partícula apresenta propriedades anti-aterogênicas, promovendo proteção cardiovascular (FLORENTIN et al, 2008) e portanto, este aumento observado deve ser considerado importante.

Estudos anteriores também mostraram aumento de HDL-c após o consumo de derivados de cacau. Com quantidades dos suplementos alimentares e tempo de administração semelhantes aos utilizados no presente estudo, MURSU et al. (2004) realizaram ensaio clínico com indivíduos saudáveis oferecendo 75g de chocolate preto (274mg de polifenóis) ou chocolate preto enriquecido com polifenóis (418mg de polifenóis) por 3 semanas. Os autores verificaram diminuição de LDL-c e também detectaram aumento das concentrações de HDL-c (11% e 14% para chocolate preto e chocolate preto enriquecido com polifenóis, respectivamente).

Apesar do oferecimento de chocolate preto (em pó ou barra) rico em polifenóis por períodos de tempo maiores, BABA et al. (2007), em estudo clínico envolvendo homens japoneses eutróficos, normocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos que consumiram 26g de cacau em pó rico em polifenóis por 12

semanas, observaram aumento significativo de HDL-c (23,4%), mas não detectaram melhorias nas concentrações de LDL-c, TG e LDL oxidada.

Estes achados em relação a HDL-c podem ser associados aos componentes do chocolate, como os ácidos graxos e polifenóis (flavan-3-ols, flavonols). Tais componentes do chocolate podem promover o aumento da HDL-c por mecanismos ainda não esclarecidos (MENSINK et al., 2003, MURSU et al., 2004).

Desta forma, vários estudos de intervenção com chocolate preto ou derivados de cacau, ricos em polifenóis, mostraram resultados benéficos do consumo destes suplementos mesmo que em poucos parâmetros do perfil lipídico e oxidativo de populações clinicamente distintas. Mas, em geral, os resultados são controversos, o que corroboram com os desfechos obtidos no presente ensaio clínico.

Além disso, a maioria dos estudos que encontraram resultados benéficos envolveram indivíduos com prévia alteração cardiovascular, como hipertensos e hipercolesterolêmicos, diferente das condições clínicas dos indivíduos com HIV/AIDS em TARV do presente estudo, os quais, em geral, eram eutróficos, ativos e com concentrações lipídicas plasmáticas dentro da normalidade.

7.2.2 Erva Mate

Para este ensaio clínico foi utilizado aproximadamente 3g de chá mate elaborado com erva mate solúvel comercial adicionado de maltodextrina e aroma artificial de pêssego para serem diluídos em aproximadamente 200mL de água quente ou fria. Em relação à quantidade de fenólicos, este chá continha 28mg/g de 5-CQA, 15mg/g de cafeína, 79mg/g de outros fenólicos e 107mg/g de fenólicos totais (BASTOS et al., 2007a; MATSUMOTO et al., 2009).

Comparando os resultados do presente estudo com os dados de estudo *in vivo* de MOSIMANN et al. (2006), o qual envolveu 32 ratos divididos em 4 grupos (controle, mate-controle, hipercolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos-mate), verificou-se que mesmo com quantidade e tempo maior de administração de chá mate (2 meses de tratamento com 400mL de extrato de mate/ dia), não houve alteração do perfil lipídico ou do colesterol hepático do grupo controle ou

hipercolesterolêmicos. No entanto, houve diminuição da área aterosclerótica no grupo hipercolesterolêmico-mate, mas sem alteração das concentrações de TBARS. Tais resultados se assemelham aos dados observados no presente ensaio clínico em humanos, em que não se constatou mudanças no perfil lipídico e nas concentrações de TBARS.

Em humanos, BOAVENTURA et al. (2012) realizaram estudo clinico randomizado com 74 indivíduos com dislipidemia, os quais foram separados em 3 grupos: chá mate, intervenção dietética e chá mate com intervenção dietética. Nos 2 grupos que receberam chá mate, o consumo foi de 1L/dia com coletas e avaliações após 20, 40, 60 e 90 dias. Em relação ao perfil lipídico, apenas os participantes do grupo com chá mate apresentaram redução significativa na fração LDL-c após 90 dias de intervenção e os demais grupos não mostraram diferenças significativas nas concentrações de CT, HDL-c, não-HDL-c e TG.

De MORAIS et al. (2009) com o objetivo de verificar o efeito do consumo de erva mate nos parâmetros lipídicos de humanos, realizaram estudo clínico randomizado, cego e controlado com 102 indivíduos (44 homens e 74 mulheres) alocados em 3 grupos: normocolesterolêmicos (n=15, eutróficos), dislipidêmicos (n=57, com excesso de peso) e hipercolesterolêmicos em uso de estatinas (n=30, com excesso de peso), com idade média variando de 42 a 55 anos de idade. Estes indivíduos consumiram 330mL, 3 vezes/dia de chá mate por 40 dias. Observou-se diminuição significativa das concentrações de LDL-c no grupo normocolesterolêmico, mas não houve alteração das concentrações de CT, HDL-c, não HDL-c, TG, apo B ou apo B/apo A. Ainda neste estudo, comparando com o *baseline*, a ingestão de erva mate por 20 e 40 dias diminuiu a LDL-c, não-HDL-c, apo B e aumentou a HDL-c no grupo dislipidêmico. Em todos os grupos não foram observadas alterações significativas nas concentrações de TG. Em relação ao grupo hipercolesterolêmico em uso de estatinas, verificou-se efeito adicional de diminuição de LDL-c de 10% e 13,1% após 20 e 40 dias do consumo da erva mate, respectivamente, e aumento da HDL-c após 40 dias (de MORAIS et al.,2009).

Também em humanos, MATSUMOTO et al. (2009), em estudo com 15 mulheres saudáveis [idade média 25±3 anos, eutróficas e com perfil lipídico normal no *baseline*], orientadas a consumirem 5g de chá mate instantâneo diluído em 500mL

de água, uma vez por dia, durante 7 dias, verificaram após a administração aguda (após 1 hora da ingestão) e crônica de chá mate (após 7 dias de ingestão) redução da peroxidação lipídica (diminuição das concentrações de TBARS), bem como redução da ingestão energética.

Em relação ao marcador de oxidação LDL (-), aparentemente existe na literatura apenas um estudo de intervenção com fenólicos e efeito sobre a LDL (-). Este estudo avaliou o efeito do consumo de café, um alimento rico no fenólico ácido clorogênico, semelhante a erva mate, sobre o perfil oxidativo de 10 indivíduos saudáveis. No tempo zero (0), os valores de LDL (-) foram 4,7± 2,4% do total da LDL e após 30 e 60 minutos depois do consumo do café [1 copo de café (200mL)], os valores foram 4,6± 2,8% e 4,5± 2,8%, respectivamente. Ou seja, os autores também não observaram alteração no marcador oxidativo LDL (-) (NATELLA et al., 2007).

Os estudos em animais e humanos envolvendo o consumo de chá mate utilizaram quantidades maiores desta bebida (de 400mL a 1L/dia) e tempo de consumo variando de 7 a 90 dias (MOSIMANN et al., 2006; MATSUMOTO et al., 2009; BOAVENTURA et al., 2012).

Para este presente ensaio clínico, optou-se por oferecer menor quantidade desta bebida (aproximadamente 200mL), devido a possível dificuldade de adesão ao seguimento, considerando que os indivíduos foram orientados a consumir 4 diferentes suplementos durante 15 dias cada, intercalados por 15 dias de *washout.*

Com base nos resultados da literatura conclui-se que o consumo da erva mate aparentemente é benéfico em alguns parâmetros lipídicos e oxidativos de indivíduos saudáveis e dislipidêmicos. Mas no presente estudo, não se verificou resultados benéficos, o que pode ser explicado pelas diferenças entre as populações, as condições clínicas dos indivíduos, a quantidade de chá mate consumida e o tempo de consumo desta bebida.

7.2.3 Biodisponibilidade dos Polifenóis no Chocolate Preto e Erva Mate

O termo “biodisponibilidade”, em relação aos alimentos, é definido como a proporção de um nutriente ou substância do alimento que é digerida, absorvida e metabolizada, sendo frequentemente denominada biodisponibilidade relativa (D’ARCHIVIO et al., 2007).

Alguns polifenóis somente são encontrados no chocolate preto e em derivados do cacau, como flavan-3 ols ou flavonóis, nas formas monoméricas (-) – epicatequina e (+) – catequinas e nas formas oligoméricas, como as procianidinas (MURSU et al., 2004).

Em relação a erva mate, os principais ácidos fenólicos são os ácidos clorogênicos, como o 5-CQA, ácido caféico, ácido 3,4-dicafeoilquínicos, ácido 3,5-dicafeoilquínicos, ácido 4,5-dicafeoilquínicos e flavonóides (canferol, quercetina e rutina) (FILIP et al., 2001; BASTOS et al., 2007b; HECK e MEJIA, 2007).

Outro fator importante que pode interferir na ação dos suplementos utilizados neste estudo é a biodisponibilidade destes polifenóis.

Pesquisas sobre a absorção e biodisponibilidade de polifenóis ainda são escassas, principalmente devido às limitações de métodos analíticos devidamente validados. A maioria destes compostos está presente nos alimentos na forma de ésteres, glicosídeos ou polímeros que não são possíveis de serem absorvidos na sua forma nativa (SCALBERT et al., 2005).

Muitos fatores podem alterar a biodisponibilidade de compostos bioativos, como os polifenóis nos alimentos, como a complexidade da matrix alimentícia, a forma química do composto de interesse, estrutura e quantidade de outros compostos ingeridos concomitantemente (fatores exógenos), o tempo de trânsito intestinal, esvaziamento gástrico, metabolismo do composto, composição da microbiota intestinal, a variabilidade individual, dentre outros fatores (SHOLZ e WILLIAMSON, 2007; CROZIER et al., 2009; OLIVEIRA e BASTOS, 2011).

Após a ingestão, os compostos fenólicos são conjugados no intestino delgado e mais tarde no fígado. Aparecem no plasma de 1 às 7h após sua ingestão, geralmente conjugados com ácido glucurônico ou como compostos sulfatados e metilados (NARDINI et al., 2002; MANACH et al., 2004; SCALBERT et al., 2005).

Em relação ao cacau, os flavonóides, como as catequinas, constituem os compostos fenólicos sobre os quais existem maiores informações na literatura sobre a absorção e metabolismo (SHOLZ e WILLIAMSON, 2007; CROZIER et al., 2009). Entretanto, ainda não existe consenso sobre a estabilidade gástrica destes polifenóis. SPENCER et al. (2000) mostraram que no ambiente ácido do estômago, as procianidinas são hidrolizadas a misturas de monômeros e dímeros de epicatequinas. Entretanto, RIOS et al. (2002) observaram que durante o trânsito gástrico, as procianidinas atingiram o intestino delgado intactas, disponíveis para absorção ou metabolismo.

Alguns dos possíveis efeitos das procianidinas na saúde podem ser associados à formação de metabólitos pela microbiota. Esta hipótese condiz com os achados de GONTHIER et al. (2003) que mostraram que não detectaram proantocianidinas com alto peso molecular no plasma e urina, enquanto que os monômeros e ácidos aromáticos produzidos durante o metabolismo pela microbiota intestinal foram detectados.

Já em relação aos ácidos clorogênicos, polifenóis presentes em grande quantidade na erva mate, estudos em animais indicam que a absorção do 5-CQA inicia-se no estômago, onde uma pequena parcela é absorvida intacta (KONISHI et al., 2006, LAFAY et al., 2006). Por outro lado, outros trabalhos não conseguiram detectar ácidos clorogênicos no plasma ou urina após o consumo de fenólicos isolados ou alimentos ricos nestes compostos (AZUMA et al., 2000, NARDINI et al., 2002).

Ainda em relação aos ácidos clorogênicos, a microbiota do cólon exerce um papel essencial no metabolismo destes polifenóis e de compostos fenólicos em geral. Após a clivagem da ligação éster, os ácidos livres podem seguir por duas vias: 1) absorção pela mucosa intestinal e passagem para a corrente sanguínea ou 2) permanência no cólon e metabolização adicional pela microbiota (WILLIAMSON e MANACH, 2005).

Os mecanismos de ação dos compostos fenólicos em geral ainda não estão elucidados. Para isto, além da identificação e quantificação dos metabólitos formados, é importante identificar os tecidos alvo em que os metabólitos se depositam (CROZIER et al., 2009). Dados sobre concentrações teciduais de compostos

fenólicos são escassos e, no caso de ácidos clorogênicos, como o 5-CQA, inexistentes até o momento (OLIVEIRA e BASTOS, 2011).

Desta forma, ainda não existe um consenso sobre a biodisponibilidade relativa dos polifenóis em geral, ou seja, a porcentagem da quantidade ingerida que efetivamente é absorvida e metabolizada, principalmente pela falta de dados consistentes sobre seus metabólitos (OLIVEIRA e BASTOS, 2011; ANDÚJAR et al., 2012; OSAKABE, 2013).

Estes dados controversos sobre a biodisponibilidade dos polifenóis do cacau e da erva mate e os seus diversos interferentes podem explicar os resultados obtidos neste presente estudo em relação aos efeitos sobre o perfil lipídico e oxidativo dos indivíduos com HIV/AIDS em TARV.

8. CONCLUSÃO

Este é o primeiro estudo clínico da literatura internacional que avaliou o efeito da ingestão de chocolate (cacau) e chá mate (erva mate) no perfil lipídico e oxidativo de indivíduos com HIV/AIDS em TARV. O consumo destes suplementos por 15 dias cada, não foi suficiente para melhorar o perfil lipídico e oxidativo destes indivíduos e, apesar do aumento de CT e LDL-c após o consumo de chocolate preto, também se verificou o aumento de HDL-c, fator de proteção cardiovascular.

Os resultados observados no estudo podem ser devido ao: 1) metabolismo diferenciado dos indivíduos com HIV/AIDS em TARV, os quais apresentam alterações metabólicas devido à própria infecção e também pelo uso da terapia; 2) tempo de intervenção e quantidade de suplementos oferecidos; 3) concentração de polifenóis nos suplementos, que pode não ter sido suficiente para gerar alterações importantes nas variáveis de desfecho.

Além disso, ainda não existe um consenso na literatura sobre a biodisponibilidade dos polifenóis presentes nos suplementos administrados, e de outros fatores que podem alterar esta ação metabólica.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abrescia P, Golino P. Free radicals and antioxidants in cardiovascular diseases. Expert Rev Cardiovasc Ther. 2005;3:159-71.

Allard JP, Aghdassi E, Chau J, Tam C, Kovacs CM, Salit IE, Walmsley SL. Effects of vitamin E and C supplementation on oxidative stress and viral load in HIV-infected subjects. JAIDS. 1998;12:1653-9.

Andújar MC, Giner RM, Ríos JL. Cocoa Polyphenols and Their Potential Benefits for Human Health. Oxid Med and Cel Long. 2012.

Antolovich M, Prenzler PD, Patsalides E, McDonald S, Robards K. Methods for testing antioxidant activity. Analyst. 2002;127:183–98

Armatruda JM, Linemeyer DL. Obesity. In: Felig P. Frohmann LA. Endocrinology Metabolism. 4 ed. USA: McGraw Hill; 2001.p.945-79.

Aukrust P, Muller F, Svardal A, Ueland T, Berge RK, Froland SS. Disturbed glutathione metabolism and decreased antioxidants levels in human immunodeficiency virus-infected patients during highly active antiretroviral therapy – Potential immunomodulatory effects of antioxidants. J Infect Dis. 2003;188:232-8.

Azuma K, Ipposushi K, Nakayama M, Ito H, Higashio H, Terao J. Absorption of chlorogenic acid and caffeic acid in rats after oral administration. J. Agric Food Chem. 2000;48:5496.

Baba S, Osakabe N, Kato Y, Natsume M, Yasuda A, Kido T et al. Continuous intake of polyphenolic compounds containing cocoa powder reduces LDL oxidative susceptibility and has beneficial effects on plasma HDL-cholesterol concentrations in humans. Am J Clin Nutr. 2007;85:709-17.

Baker JV, Henry K, Neaton JD. The consequences of HIV infection and antiretroviral therapy use for cardiovascular disease risk: shifting paradigms. Curr Opin HIV AIDS. 2009;4:176–82.

Bao B, Prasad AS, Beck FW, Fitzgerald JT, Snell D, Bao GW et al. Zinc decreases C-reactive protein, lipid peroxidation, and inflammatory cytokines in elderly subjects a potential implication of zinc as an atheroprotective agent. Am J Clin Nutr. 2010:1634–41.

Bastos DHM, Oliveira DM, Matsumoto RLT, Carvalho PO, Ribeiro ML. Yerba maté: Pharmacological Properties, Research and Biotechnology. Med and Arom Plant Sci and Biotechnol. 2007a;1:37-46.

Bastos DH, Saldanha LA, Catharino RR, Sawaya AC, Cunha IB, Carvalho PO. Phenolic Antioxidants Identified by ESI-MS from Yerba Maté (*Ilex paraguariensis*) and Green Tea *(Camelia sinensis*) Extracts. Molecules. 2007b;12:423-432.

Bastos DHM, Fornari AC, Queiroz YS, Soares RAM, Torres EAFS. The Chlorogenic Acid and Caffeine Content of Yerba Maté. Acta Farm Bonaerense. 2005;24.

Benítez S, Sánchez-Quesada JL, Ribas V, Jorba O, Blanco-Vaca F, González-Sastre F et al. Platelet-activating factor acetyl- hydrolase is mainly associated with electronegative low-density lipoprotein subfraction. Circulation. 2003;108:92–6.

Benítez S, Ordóñez-Llanos J, Franco M, Marin C, Paz E, López-Miranda J et al. Effect of simvastatin in familial hypercholesterolemia on the affinity of electronegative low-density lipopro- tein subfractions to the low-density lipoprotein receptor. Am J Cardiol. 2004;93:414–20.

Benítez S, Pérez A, Sánchez-Quesada JL, Wagner AM, Rigla M, Arcelus R et al. Electronegative low-density lipoprotein subfraction from type 2 diabetic subjects is proatherogenic and unrelated to glycemic control. Diabetes Metab Res Rev. 2007; 23:26–34.

Bernal E, Masiá M, Padilla S, Gutiérrez F. High-density lipoprotein cholesterol in HIV-infected patients: evidence for an association with HIV-1 viral load, antiretroviral therapy status, and regimen composition. AIDS Patient Care STDs. 2008;22:569-75.

Boaventura BCB, Di Pietro PF, Stefanuto A, Klein GA, de Morais EC, Andrade F et al. Association of mate tea (Ilex paraguariensis) intake and dietary intervention and effects on oxidative stress biomarkers of dyslipidemic subjects. Nutrition. 2012;657–64.

Boccara F. Cardiovascular complications and atherosclerotic manifestations in the HIV-infected population: type, incidence and associated risk factors. AIDS. 2008; 22:S19–S26.

Botelho PB, Fioratti CO, Rogero MM, Barroso LP, Bertolami MC, Castro IA. Association between diet and polymorphisms in individuals with statin-controlled dyslipidaemia grouped according to oxidative stress biomarkers. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2012;48.

Bravo L, Goya L, Lecumberri E. LC/MS characterization of phenolic constituents of mate (Ilex paraguariensis, St. Hil.) and its antioxidant activity compared to commonly consumed beverages. Food Res. 2007;40:393-405.

Caron M, Vigouroux C, Bastard JP, Capeau J. Adipocyte dysfunction in response to antiretroviral therapy: clinical, tissue and in-vitro studies. Curr Opin HIV AIDS. 2007;2:268-73.

Castelli WP, Abootт RD, Mcnamara PM. Summary Estimates of Cholesterol used to predict Coronary heart Disease. Circulation. 1983;67:730-4.

Chandra S, Mejia EG. Polyphenolic compounds, antioxidant capacity, and quinone reductase activity of an aqueous extract of Ardisia compressa in comparison to mate

(Ilex paraguariensis) and green (Camellia sinensis) teas. J Agric Food Chem. 2004; 52:3583-89.

Chen HH, Hosken BD, Huang M, Gaubatz JW, Myers CL, Macfarlane RD et al. Electronegative LDL from familial hypercholesterolemic patients are physicochemically heterogeneous but uniformly proapoptotic. J Lipid Res. 2007; 48:177–84.

Cirico TL, Omaye ST. Additive or synergetic effects of phenolic compounds on human low density lipoprotein oxidation. Food and Chem Tox. 2006;510–16.

[CNS] Conselho Nacional de Saúde Brasil. Resolução nº196/96. Diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Diário Oficial da União, Brasília, 16 out 1996;21082-85.

Coaccioli S, Crapa G, Fantera M, Del Giorno R, Lavagna A, Standoli ML et al. Oxidant/antioxidant status in patients with chronic HIV infection. Clin Ter. 2010; 161:55-8.

Coelho GC, Gnoatto SB, Bassani VL, Schenkel EP. Quantification of saponins in extractive solution of mate leaves (*Ilex paraguariensis* a St.-Hil.). J Med Food. 2010; 13:439-43.

Cooper KA, Donovan JL, Waterhouse AL, Williamson G. Cocoa and health: a decade of research. Brit J Nutr. 2008;99:1–11.

Crozier A, Jaganath IB, Clifford MN. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. Nat Prod Rep. 2009;26:1001.

Damasceno NRT, Sevanian A, Apolinário E, Oliveira JMA, Fernandes I, Abdalla DSP. Detection of electronegative low density lipoprotein (LDL-) in plasma and atherosclerotic lesions by monoclonal antibody-based immunoassays. Clin Biochem. 2006;39:28–38.

D'Archivio M, Filesi C, Di Benedetto R, Gargiulio R, Giovannini C, Masella R. Ann Ist Super Sanitá. 2007;43:348.

de Morais EC, Stefanuto A, Klein GA, Boaventura BC, de Andrade F, Wazlawik E, et al. Consumption of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) improves serum lipid parameters in healthy dyslipidemic subjects and provides an additional LDL-cholesterol reduction in individuals on statin therapy. J Agric Food Chem. 2009; 23;57:8316-24.

Dillinger TL, Barriga P, Escarcega S, Jimenez M, Salazar Lowe D, Grivetti LE. Food of the gods: cure for humanity? A cultural history of the medicinal and ritual use of chocolate. J Nutr. 2000;130:2057S-72S.

Dronda F. Cardiovascular risk in patients with chronic HIV-1 infection: a controversy with therapeutic, clinical and prognostic implications.enferm Infecc Microbiol Clin. 2004;22:40-5.

Ducobu J, Payen MC. Lipids and AIDS. Rev Med Brux. 2000;21:11-7.

Duong M, Petit JM, Mtarvha B, Galland F, Piroth L,Walldner A, Grappin M et al. Concentration of circulating oxidized LDL in HIV-infected patients treated with antiretroviral agents: relation to HIV-related lipodystrophy. HIV Clin Trials. 2006; 7:41-7.

Elías-Calles LC, Calero TMG. Dislipidemia y virus de inmunodeficiencia adquirida/sida. Rev. Cubana de Endocrinología. 2010; 21:202-222.

Engler MB, Engler MM, Chen CY, Malloy MJ, Browne A, Chiu EY et al. Flavonoid-rich dark chocolate improves endothelial function and increases plasma epicatechin concentrations in healthy adults. J Am Coll Nutr. 2004;23:197–204.

Fanales-Belasio E, Raimondo M, Suligoi B, Buttò S. HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. Ann Ist Super Sanità. 2010;46:5-14

Farouque HMO, Leung M, Hope SA, Baldi M, Schechter C, Cameron JD et al. Acute and chronic effects of flavanol- ich cocoa on vascular function in subjects with coronary artery disease: a randomized double-blind placebo-controlled study.Clinical Science. 2006;111:71–80.

Faulin TES, Sena KCM, Telles ERA, Grosso DM, Faulin EJB, Abdalla DSP. Validation of a novel ELISA for measurement of electronegative low-density lipoprotein. Clin Chem Lab Med. 2008;46:1769–1775.

Favier A, Sappey C, Leclerc P, Faure P, Micoud M. Antioxidant status and lipid peroxidation in patients infected with HIV. Chem Biol Interact.1994;9:165–180.

Filip R, López P, Gilbert G, Coussio J, Ferraro G. Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. Fitoterapia. 2001;72:774-8.

Florentin M, Liberopoulos EN, Wierzbicki AS, Mikhailidis DP. Multiple actions of high-density lipoprotein. Curr Opin Cardiol. 2008;23:370–378.

Fourie CM, Van Rooyen JM, Kruger A, Schutte AE. Lipid abnormalities in a never-treated HIV-1 subtype C-infected African population. Lipids. 2010;45:73-80.

Fredrickson DS. Phenotyping – On reaching base camp (1950-1975). Circulation. 1993;87(suppl III) : III-1-III-15.

Friedewald WT, Levy RJ, Friedrickson DS. Estimation of the concentration of Low-density-lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultra centrifuge. Clin Chem. 1972;499-502.

Friis-Møller N, Reiss P, Sabin CA, Weber R, Monforte A, El-Sadr W et al. DAD Study Group. Class of antiretroviral drugs and the risk of myocardial infarction. N Engl J Med. 2007;356:1723-35.

Gil L, Pérez D, Tápanes R, Pérez J, Grune T. Does mitochondrial dysfunction during

antiretroviral therapy in human immunodeficiency virus infection suggest antioxidant supplementation as a beneficial option? Redox Rep. 2005;10:113-9.

Gil L, Tarinas A, Hernández D, Riverón BV, Pérez D, Tápanes R et al. Altered oxidative stress indexes related to disease progression marker in human immunodeficiency virus infected patients with antiretroviral therapy. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2010;2976:8.

Gonthier MP, Donovan JL, Texier O, Felgines C, Remesy C, Scalbert A. Metabolism of dietary procyanidins in rats. Free Radical Biology and Medicine. 2003;35;8:837–844.

Granger BB, Swedberg K, Ekman I, Granger CB, Olofsson B, McMurray JJ et al. Adherence to candesartan and placebo and outcomes in chronic heart failure in the CHARM programme: double-blind, randomised, controlled clinical trial. Lancet. 2005;366(9502):2005-11.

Grassi D, Desideri G, Necozione S, Lippi C, Casale R, Properzi G et al. Blood pressure is reduced and insulin sensitivity increased in glucose-intolerant, hypertensive subjects after 15 days of consuming high-polyphenol dark chocolate. J Nutr. 2008;138:1671-6.

Grinspoon S, Carr A. Cardiovascular risk and body fat abnormalities in HIV infected adults. N Engl J Med. 2005;352:48-62.

Grunfeld C, Kotler DP, Hamadeh R, Tierney A, Wang J, Pierson RN. Hypertriglyceridemia in the acquired immunodeficiency syndrome. Am J Med.1989;86:27-31.

Grunfeld C, Kotler DP, Shigenaga JK, Doerrler W, Tierney A, Wang J et al. Circulating interferon-alpha levels and hypertriglyceridemia in the acquired immunodeficiency syndrome.Am J Med. 1991;90:154-62.

Gugliucci A. Antioxidant effects of Ilex Paraguariensis: induction of decreased oxidability of human LDL in vivo. Biochem Biophy Res Commun. 1996; 224:338–44.

Hallal PC, Vistora CG, Wells JCK, Lima RC. Physical Inactivity: Prevalence and Associated Variables in Brazilian Adults. Medicine and science in sports and exercise. 2003;35:1894-900.

Heck CI, de Mejia EG. Yerba Mate Tea (Ilex paraguariensis): A Comprehensive Review on Chemistry, Health Implications, and Technological Considerations. J Food Sci. 2007;72: R138-151.

Hulgan T, Morrow J, D'Aquila RT, Raffanti S, Morgan M, Rebeiro P et al. Oxidant stress is increased during treatment of human immunodeficiency virus infection. Clin Infect Dis. 2003; 37:1711-7.

Ibrahim KY, Recordon-Pinson P, Malvy D, Fleury H, Segurado AC. Intermittent

HIV-1 viremia (blips) and virological failure in a cohort of people living with HIV from São Paulo, Brazil. AIDS Patient Care STDS. 2012;26:512-5.

[IDF]. Clinical Guidelines Task Force. Global Guideline for Type 2 Diabetes: recommendations for standard, comprehensive, and minimal care. Diabet Med. 2006; 23:579-93.

[IPAQ] International Physical Activity Questionnaire [homepage na internet] Genebra, 2013. [acesso em 18 de junho de 2013] Disponível em https://sites.google.com/site/theipaq/home

Jia L, Liu X, Bai YY, Li SH, Sun K, He C et al. Short-term effect of cocoa product consumption on lipid profile: a meta-analysis of randomized controlled trials. Am J Clin Nutr. 2010; 92:218–25.

Jones DP. Redefining Oxidative Stress. Antioxid. Redox Signal. 2006; 8:1865–79.

Konishi Y, Zhao Z, Shimizu M. Phenolic acids are absorbed from the rat stomach with different absorption rates. J Agric Food Chem. 2006;54:7539.

Lachgar A, Sojic N, Arbault S, Bruce D, Sarasin A, Amatore C et al. Amplification of the inflammatory cellular redox state by human immunodeficiency virus type 1-immunosuppressive tat and gp160 proteins. J Virol. 1999;73:1447-52.

Lafay S, Gil-Izquierdo A, Manach C, Morand C, Besson C, Scalbert A. Chlorogenic acid is absorbed in its intact form in the stomach of rats. J Nutr. 2006;136:1192.

Lewis W, Day BJ, Copeland WC. Mitochondrial toxicity of NRTI antiviral drugs: an integrated cellular perspective. Nat Rev Drug Discov 2003;2:812-22.

Lima ES, Abdalla DSP. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2001;37:3.

Llibre JM, Domingo P, Palacios R, Santos J, Pérez-Elías MJ, Sánchez-de la Rosa R et al. Sustained improvement of dyslipidaemia in HAART-treated patients replacing stavudine with tenofovir. AIDS. 2006;20:1407-14.

Lobo J, Stockler-Pinto MB, Farage NE, Faulin T do E, Abdalla DS, Torres JP et al. Reduced Plasma Zinc Levels, Lipid Peroxidation, and Inflammation Biomarkers Levels in Hemodialysis Patients: Implications to Cardiovascular Mortality. Renal Failure. 2013;35:680–85

Lohman TG, Roche AF, Martorell R, Anthropometric Standarditazation Reference Manual. Human Kinetics Books. 1988.

Lomar AV, Diament D.Tratamento Antirretroviral. In: Veronesi-Focaccia R. Tratado de infectologia. 4° ed revista e atualizada. São Paulo: Atheneu; 2009.270-77.

Lu CL, Lin YH, Wong WW, Lin HH, Ho MW, Wang NC et al. Outcomes of switch to atazanavir-containing combination antiretroviral therapy in HIV-1-infected patients with hyperlipidemia. J Microbiol Immunol Infect. 2011;44:258-64.

Mallewa JE, Higgins SP, Garbett S, Saxena N, Vilar FJ. Cardiovascular disease risk management in HIV patients, experiences from Greater Manchester. Int J STD AIDS. 2009;20:425-6.

Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémesy C, Jiménez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. Am J Clin Nutr. 2004;79:727-47.

Mandas A, Iorio EL, Congiu MG, Balestrieri C, Mereu A, Cau D et al. Oxidative Imbalance in HIV-1 Infected Patients Treated with Antiretroviral Therapy. Hindawi Publishing Corporation Journal of Biomedicine and Biotechnology. 2009.

Marques AR, Masur H. História Natural. In: Veronesi-Focaccia R. Tratado de infectologia. 4° ed revista e atualizada. São Paulo: Atheneu; 2009.161-164.

Matsudo S, Araújo T, Marsudo V, Andrade D, Andrade E, Oliveira LC et al. Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ) : Estudo de Validade e Reprodutividade no Brasil. Rev Bras Ativ Fís Saúde. 2001;6:5-18.

Matsumoto RL, Bastos DH, Mendonça S, Nunes VS, Bartchewsky W, Ribeiro ML et al. Effects of mate tea (Ilex paraguariensis) ingestion on mRNA expression of antioxidant enzymes, lipid peroxidation, and total antioxidant status in healthy young women. J Agric Food Chem. 2009;57:1775-80.

Mazzafera P. Mate drinking: caffeine and phenolic acid intake. Food Chem.1997;60: 67-71.

Mehta N, Reilly M. Atherosclerotic cardiovascular disease risk in the HAART-treated HIV-1 population. Clin Trials. 2005; 6:5-24.

Mello APQ, Silva IT, Abdalla DSP, Damasceno NRT. Electronegative low-density lipoprotein: Origin and impact on health and disease. Atherosclerosis. 2011;257–265

Mensink RP, Zock PL, Kester AD, Katan MB. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. Am J Clin Nutr. 2003;77:1146-55.

Ministério da Saúde (MS). Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais: Portal sobre aids, doenças sexualmente transmissíveis e hepatites virais – Aids em números – Aids no Brasil; 2013a [acesso 2013 jan.16]. Disponível em: http://www.aids.gov.br/pagina/o-que-e-aids

Ministério da Saúde (MS). Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais: Portal sobre aids, doenças sexualmente transmissíveis e hepatites virais – Aids em números – Aids no Brasil; 2013b [acesso 2013 fev.22]. Disponível em: http://www.aids.gov.br/pagina/sintomas-e-fases-da-aids

Ministério da Saúde (MS). Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais: Portal sobre aids, doenças sexualmente transmissíveis e hepatites virais – Aids em números – Aids no Brasil; 2013c [acesso 2013 jan.16]. Disponível em: http://www.aids.gov.br/pagina/aids-no-brasil

Ministério da Saúde (MS). Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais: Portal sobre aids, doenças sexualmente transmissíveis e hepatites virais – Aids em números – Boletim Epidemiológico – Aids – DST Brasilia; 2013d [acesso 2013 jan.17]. Disponível em: http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2012/52654/boletim_jornalistas_pdf_22172.pdf

Ministério da Saúde (MS). Secretaria de Vigilancia em Saude, Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais, Ministerio da Saude, Secretaria de Vigilancia em Saude, Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais, Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Adultos Vivendo com HIV/AIDS. Versão preliminar. Brasilia – 2013e.

Ministério da Saúde (MS). Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais: Portal sobre aids, doenças sexualmente transmissíveis e hepatites virais – Aids– Medicamentos 2013f [acesso 2013 jan.16]. Disponível em: http://www.aids.gov.br/pagina/quais-sao-os-antirretrovirais

Mosimann ALP, Wilhelm Filho D, Silva EL. Aqueous extract of Ilex paraguariensis (mate) attenuates the progression of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. Bio Factors. 2006;26:59–70.

Mursu J, Voutilainen, S; Nurmi T, Rissanen T; Virtanen J; Kaikkonen J et al. Dark chocolate consumption increase HDL cholesterol concentration and chocolate fatty acids may inhibit lipid peroxidation in healthy human. Free Rad Bio Med. 2004; 37:1351-9.

Mursu J, Voutilainen S, Nurmi T, Helleranta, Rissanen T, Nurmi A et al. Polyphenol-Rich Phloem Enhances the Resistance of Total Serum Lipids to Oxidation in Men. J Agric Food Chem. 2005;53:3017-3022

Nachega JB, Uthman OA, Mills EJ, Quinn T. Adherence to Antiretroviral Therapy for the Success of Emerging Interventions to Prevent HIV Transmission: A Wake up Call. J AIDS Clinic Res. 2012.

Nardini M, Cirillo E, Natella F, Scaccini C. Absorption of phenolic acids in humans after coffee consumption. J Agric Food Chem. 2002;50:5735.

Natella F, Nardini M, Belelli F, Scaccini C. Coffee drinking induces incorporation of phenolic acids into LDL and increases the resistance of LDL to ex vivo oxidation in humans. Am J Clin Nutr. 2007;86:604 –9.

[NCEP] National Cholesterol Education Program. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment

Panel III). Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. Circulation. 2002; 106:3143-421.

Natsume M, Osakabe N, Yamagishi M, Takizawa T, Nakamura T, Miyatake H et al. Analyses of Polyphenols in Cacao Liquor, Cocoa, and Chocolate by Normal-Phase and Reversed-Phase HPLC. Biosc Biotechnol Biochem. 2000;64:2581-87.

Nemes MIB, Carvalho HB, Souza MFM. Antiretroviral therapy adherence in Brazil. AIDS. 2004; 18 (Suppl.3):S15-S20.

Nguemaïm NF, Mbuagbaw J, Nkoa T, Alemnji G, Této G, Fanhi TC et al. Serum lipid profile in highly active antiretroviral therapy-naïve HIV-infected patients in Cameroon: a case-control study.HIV Med. 2010;11:353-9.

Ngondi JL, Oben J, Forkah DM, Etame LH, Mbanya D. The effect of different combination therapies on oxidative stress markers in HIV infected patients in Cameroon. AIDS Res Ther. 2006;22;3:19.

Nogueira LP, Knibel MP, Torres MRSG, Neto JFN, Sanjuliani AF.Consumption of High-Polyphenol Dark Chocolate Improves Endothelial Function in Individuals with Stage 1 Hypertension and Excess Body Weight. International Journal of Hypertension. 2012.

Nunes V, Neilson J, O'Flynn N,Calvert N, Kuntze S, Smithson H et al. Clinical Guidelines and Evidence Review for Medicines Adherence: involving patients in decisions about prescribed medicines and supporting adherence. London: National Collaborating Centre for Primary Care and Royal College of General Practitioners (2009).

Oliveira JA, Sevanian A, Rodrigues RJ, Apolinário E, Abdalla DSP. Minimally modified electronegative LDL and its autoantibodies in acute and chronic coronary syndromes. Clin Biochem. 2006;39:708–14

Oliveira DM, Bastos DHM. Biodisponibilidade de ácidos fenólicos. Quim. Nova. 2011;34:1051-56.

[OMS] Organização Mundial da Saúde. Obesity: preventing and manging the global epidemic – report of a WHO consultation on obesity 2000; Geneva World Health Organization.

[OMS] Organização Mundial da Saúde. Manual de segurança biológica em laboratório. 3a Ed. 2004.

[OMS] Organização Mundial da Saúde. World Health Report. Waist Circumference and Waist–Hip Ratio. Geneva, 2008.

[OMS] Organização Mundial da Saúde. Global physical activity surveillance [homepage na internet]. Genebra; 2013 [acesso em 18 de junho de 2013]. Disponível em http://www.who.int/chp/steps/GPAQ/en/

Osakabe N, Baba S, Yasuda A, Iwamoto T, Kamiyama M, Takizawa T et al. Daily cocoa intake reduces the susceptibility of low-density lipoprotein to oxidation as demonstrated in healthy human volunteers. Free Radic Res. 2001;34:93-99.

Osakabe N. Health beneficial effects of food factors can be applicable to humans. J. Clin. Biochem. Nutr. 2013;52:186-192.

Parish S, Peto R, Palmer A,Clarke R,Lewington S,Offer A et al. The joint effects of apolipoprotein B, apolipoprotein A1, LDL cholesterol, and HDL cholesterol on risk: 3510 cases of acute myocardial infarction and 9805 controls. European Hetarv Journal. 2009;30:2137–2146.

Paxton Provitera [homepage na internet]. HIV cycle. Acesso em 16 fev 2012. Disponível em: www.paxtonprovitera.com/research/pics/hivcycle2.jpg

Pedrosa AM, Faine LA, Grosso DM, de Las Heras B, Boscá L, Abdalla DS. Electronegative LDL induction of apoptosis in macrophages: involvement of Nrf2. Biochim Biophys Acta. 2010;1801:430–37.

Price TO, Ercal N, Nakaoke R, Banks WA. HIV-1 viral proteins gp 120 and Tat induce oxidative stress in brain endothelial cells. Brain Res. 2005; 1045:57-63.

Pyo CW, Yang YL, Yoo NK, Choi SY. Reactive oxygen species activate HIV long terminal repeatvia post-translational control of NF-Jb. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2008;180–85.

Ribeiro AF, Veras MASM, Guerra MAT. Epidemiologia. In: Veronesi-Focaccia, R. Tratado de infectologia. 4° ed revista e atualizada. São Paulo: Atheneu; 2009.137-154.

Rimbach G, Melchin M, Moehring J, Wagner AE. Polyphenols from Cocoa and Vascular Health—A Critical Review. Int J Mol Sci. 2009;10:4290-4309.

Rios LY, Bennett RN, Lazarus SA, Rémésy C, Scalbert A, Williamson G. Cocoa procyanidins are stable during gastric transit in humans. American Journal of Clinical Nutrition. 2002;76:1106–10.

Sabino EC, Barreto CC, Sanabani SS. Etiologia e Subtipos do HIV. In: Veronesi-Focaccia R. Tratado de infectologia. 4° ed revista e atualizada. São Paulo: Atheneu; 2009.131-136.

Sánchez-Quesada JL, Benítez S, Otal C, Franco M, Blanco-Vaca,Ordóñez-Llanos J. Density distribution of elec- tronegative LDL in normolipidemic and hyperlipidemic subjects. J Lipid Res. 2002;43:699–705.

Sánchez-Quesada JL, Camacho M, Antón R, Benítez S, Vila L, Ordóñez-Llanos J. Electronegative LDL of FH subjects: chemical characterization and induction of chemokine release from human endothelial cells. Atherosclerosis.2003;166:261–70.

Sánchez-Quesada JL, Benítez S, Ordóñez-Llanos J. Electronegative low-density lipoprotein. Curr Opin Lipidol. 2004;15:329–35.

Sánchez-Quesada JL, Benítez S, Pérez A, Wagner AM, Rigla M, Carreras G. The inflammatory properties of electronegative low-density lipoprotein from type 1 diabetic patients are related to increased platelet-activating factor acetylhydrolase activity. Diabetologia 2005;48:2162–9.

Santos NJS, Tayra A, Silva SR, Buchalla CM, Laurenti R. A AIDS no Estado de São Paulo: as mudanças no perfil da epidemia e perspectivas da vigilância epidemiológica. Rev Bras Epidemiol. 2002; 3:286-310.

Santos SS, Li HY. Emergências Relacionadas à Infecção pelo HIV. In: Martins HS, Damasceno MCT, Awada SB. (Org.).Pronto-socorro: medicina de emergência. 3° ed. Barueri: Manole; 2012. 1064-1681.

Santos RD, Gagliardi ACM, Xavier HT, Magnoni CD, Cassani R, Lottenberg AM et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz sobre o consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular. Arq Bras Cardiol. 2013;100(1Supl.3):1-40

Scalbert A, Johnson IT, Saltmarsh M. Polyphenols: antioxidants and beyond. Am J Clin Nutr. 2005;81: S215-217.

Scholz S, Williamson G. Interactions affecting the bioavailability of dietary polyphenols in vivo Int J Vitam Nutr Res. 2007;77: 224.

Senn S. Statistics in Practice - Cross-over Trials in Clinical Research. 2° ed. London: Wiley; 2002.1-16.

Silva EL da, Neiva TJC, Shirai M, Terao J, Abdalla DSP. Acute ingestion of yerba mate infusion (Ilex paraguariensis) inhibits plasma and lipoprotein oxidation. Food Research International. 2008;41:973–79.

Shiina Y, Funabashi N, Lee K, Murayama T, Nakamura K, Wakatsuki Y et al. Acute effect of oral flavonoid-rich dark chocolate intake on coronary circulation, as compared with non-flavonoid white chocolate, by transthoracic Doppler echocardiography in healthy adults. Int J Cardiol. 2009;24:424-9.

Souza SJ, Luzia LA, Santos SS, Rondó PHC. Lipid profile of HIV-infected patients in relation to antiretroviral therapy: a review. Rev Assoc Med Bras. 2013;59:186-98.

Spencer J. P. E., Chaudry F., Pannala A. S., Srai S. K., Debnam E., and Rice-Evans C. Decomposition of cocoa procyanidins in the gastric milieu. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2000;272:236–41.

Sposito AC, Caramelli B, Fonseca FAH, Bertolami MC. IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. Arq Bras Cardiol. 2007;88:1.

Stehbens WE. Oxidative stress in viral hepatitis and AIDS. Exp Mol Pathol.2004; 77:121-32.

Tabela brasileira de composição de alimentos / NEPA – UNICAMP.- 4. ed. rev. e ampl. Campinas: NEPAUNICAMP, 2011.161 p.

Troll JG. Approach to Dyslipidemia, Lipodystrophy, and Cardiovascular Risk in Patients with HIV Infection. Curr Atheroscler Rep. 2011;13:51–6

Tomasik A, Jachec W, Skrzep-Poloczec B. Circulating electronegatively charged low-density lipoprotein in patients with angiographically docu- mented coronary artery disease. Scand J Clin Lab Invest. 2003;63:259–66.

Tungsiripat M, Kitch D, Glesby MJ, Gupta SK, Mellors JW, Moran L et al. A pilot study to determine the impact on dyslipidemia of adding tenofovir to stable background antiretroviral therapy: ACTG 5206.AIDS. 2010;24:1781-4.

UNAIDS - Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. Global HIV/AIDS Response. Epidemic update and health sector progress towards Universal Access Progress Report. UNAIDS: 2012. [acesso 2013 jan.16]. Disponível em: http://www.unaids.org.br/documentos/UNAIDS_GR2012_em_en.pdf

Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. Toxicol. 2003; 189:41-54.

Vassimon HS, Deminice R, Machado AA, Monteiro JP, Jordao AA. The association of lipodystrophy and oxidative stress biomarkers in HIV-infected men.Curr HIV Res. 2010;8:364-9.

Ware LJ, Jackson AG, Wootton SA, Burdge GC, Morlese JF, Moyle GJ et al. Antiretroviral therapy with or without protease inhibitors impairs postprandial TAG hydrolysis in HIV-infected men. Br J Nutr. 2009; 102:1038-46.

Williamson G, Manach C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies. Am J Clin Nutr. 2005;81:243S.

Wilson PWF, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. Circulation. 1998; 97:1837-47.

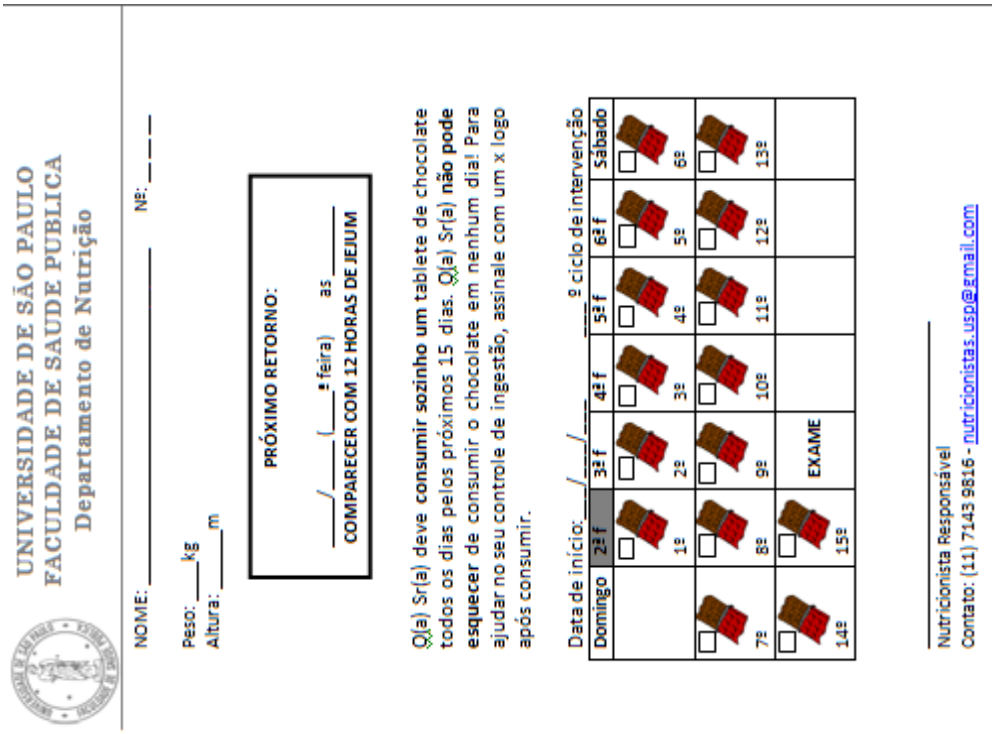
Zou W, Berglund L. HIV and highly active antiretroviral therapy: dyslipidemia, metabolic aberrations, and cardiovascular risk. Cardiol. 2007;10:96-103.

APÊNDICES

APÊNDICE 1 . Questionário de recusa

1. Nome _____
2. Identificação do paciente _____
3. Sexo 1. Masculino ☐ 2. Feminino ☐
4. Data de nascimento _ _/ _ _/ _ _ _ _
5. Idade _ _
6. Escolaridade EF 1☐ EM1☐ SP1☐
   EF2☐ EM2☐ SP2☐ PG ☐
7. Tempo de diagnóstico _ _ _ _anos
8. Tempo de tratamento _ _ _ _anos
9. Motivo da recusa _____

APÊNDICE 2 . Modelos de esquema para controle da intervenção



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE SAUDE PUBLICA
Departamento de Nutrição

NOME: _____ Nº: _ _ _

Peso: ____kg
Altura: ____m

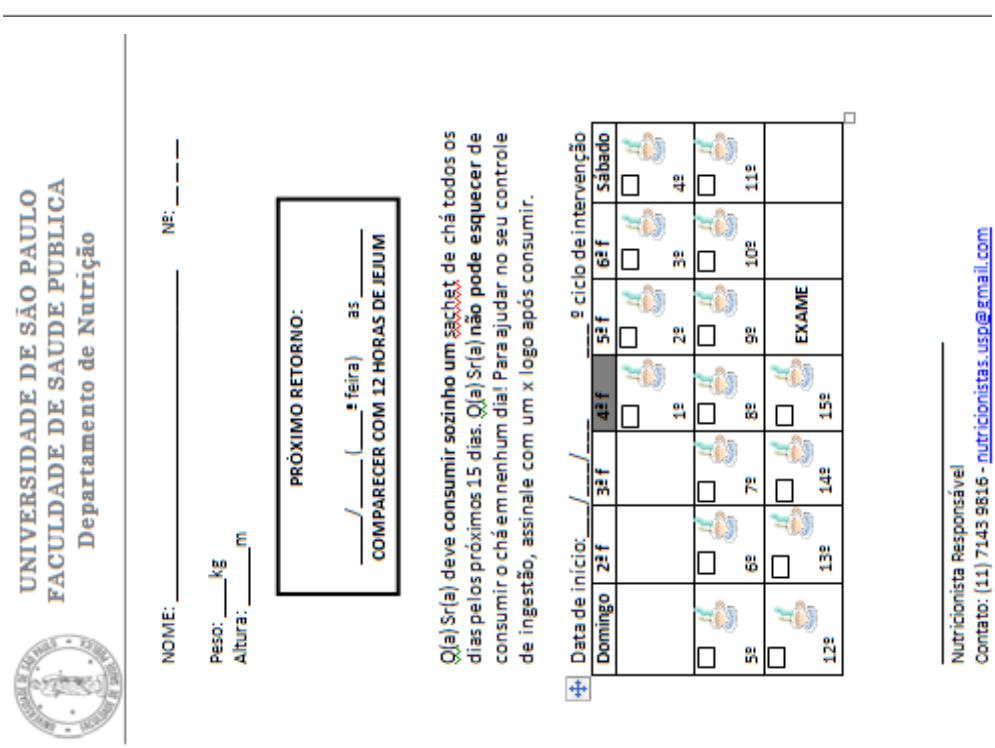
PRÓXIMO RETORNO:
_____/_____ (_____ª feira) as _____
COMPARECER COM 12 HORAS DE JEJUM

Q(a) Sr(a) deve **consumir sozinho um tablete de chocolate** todos os dias pelos próximos 15 dias. Q(a) Sr(a) **não pode esquecer** de consumir o chocolate em nenhum dia! Para ajudar no seu controle de ingestão, assinale com um x logo após consumir.

Data de início: ____/____/____ ____º ciclo de intervenção

Domingo	2ª f	3ª f	4ª f	5ª f	6ª f	Sábado
			1º	2º	3º	4º
5º	6º	7º	8º	9º	10º	11º
12º	13º	14º	15º	EXAME		

Nutricionista Responsável
Contato: (11) 7143 9816 - nutricionistas.usp@gmail.com



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE SAUDE PUBLICA
Departamento de Nutrição

NOME: _____ Nº: _ _ _

Peso: ____kg
Altura: ____m

PRÓXIMO RETORNO:
_____/_____ (_____ª feira) as _____
COMPARECER COM 12 HORAS DE JEJUM

Q(a) Sr(a) deve **consumir sozinho um sachet de chá** todos os dias pelos próximos 15 dias. Q(a) Sr(a) **não pode esquecer** de consumir o chá em nenhum dia! Para ajudar no seu controle de ingestão, assinale com um x logo após consumir.

Data de início: ____/____/____ ____º ciclo de intervenção

Domingo	2ª f	3ª f	4ª f	5ª f	6ª f	Sábado
			1º	2º	3º	4º
5º	6º	7º	8º	9º	10º	11º
12º	13º	14º	15º	EXAME		

Nutricionista Responsável
Contato: (11) 7143 9816 - nutricionistas.usp@gmail.com

ANEXOS

ANEXO 1 . Carta de aprovação da pesquisa no Comitê de ética da FSP/ USP

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – COEP/FSP
Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública

OF.COEP/328/09

17 de novembro de 2009.

Prezado(a) Pesquisador(a) e Orientador(a),

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo – COEP/FSP, ***analisou*** *em sua* ***9.ª/09 Sessão Ordinária*** *realizada em* ***13/11/2009****, de acordo com a Resolução N.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde – CNS e suas complementares o protocolo de pesquisa n.º* ***2018****, intitulado "****EFEITO DA INGESTÃO DE CHOCOLATE E CHÁ MATE NO ENDOTÉLIO DE INDIVÍDUOS COM HIV/AIDS: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO, CEGO, CONTROLADO POR PLACEBO****", área temática* ***GRUPO III****, sob responsabilidade do(a) pesquisador(a)* ***Liania Alves Luzia*** *e orientação do(a) professor(a)* ***Patricia Helen de Carvalho Rondo****, e considera o protocolo de pesquisa acima intitulado* ***APROVADO****.*

Cabe lembrar que conforme Resolução CN /196/96, são deveres do (a) pesquisador (a): ***1.*** *Comunicar, de imediato, qualquer alteração no projeto e aguardar manifestação deste CEP (Comitê de Ética em Pesquisa), para dar continuidade à pesquisa;* ***2.*** *Manter sob sua guarda e em local seguro, pelo prazo de 5 (cinco) anos, os dados da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP, no caso eventual auditoria;* ***3.*** *Comunicar, formalmente a este Comitê, quando do encerramento deste projeto;* ***4.*** *Elaborar e apresentar relatórios parciais e final;* ***5.*** *Justificar, perante o CEP, interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.*

Atenciosamente,

Cláudio Leone
Professor Titular
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa – COEP

Ilm.ª Sr.ª
Prof.ª Dr.ª Patricia Helen de Carvalho Rondo
Departamento de Nutrição
Faculdade de Saúde Pública – USP

Av. Dr. Arnaldo, 715 – Assessoria Acadêmica - CEP: 01246-904 – São Paulo – SP
Telefones: (55-11) 3061-7779 /7742 e-mail: coep@fsp.usp.br site www.fsp.usp.br

ANEXO 2 . Carta de aprovação da pesquisa no Comitê de ética da FM/USP

APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 02/02/2011, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **0753/10**, intitulado: "**EFEITO DA INGESTÃO DE CHOCOLATE E CHÁ MATE NO ENDOTÉLIO DE INDIVÍDUOS COM HIV/AIDS: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO, CEGO, CONTROLADO POR PLACEBO**" apresentado pelo Departamento de **MOLÉSTIAS INFECCIOSAS E PARASITÁRIAS**, inclusive o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10/10/1996, inciso IX.2, letra "c").

Pesquisador (a) Responsável: **Aluisio Segurado**
Pesquisador (a) Executante: **Liania Alves Luzia**

CAPPesq, 03 de Fevereiro de 2011

PROF. DR. EUCLIDES AYRES DE CASTILHO
Coordenador
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq

Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HCFMUSP da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo Rua Ovídio Pires de Campos, 225, 5º andar - CEP 05403 010 - São Paulo – SP Fone: 011 3069 6442 Fax: 011 3069 6492
e-mail: cappesq@hcnet.usp.br

ANEXO 3 . Termo de Consentimento livre esclarecido

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. DADOS DE IDENTIFICAÇÃO

NOME:.....
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : ..... SEXO : M □ F □
DATA NASCIMENTO: ...../...../.....
ENDEREÇO ..... Nº ..... APTO: .....
BAIRRO: ..... CIDADE .....
CEP:..... TELEFONE: DDD (.....) .....

II - DADOS SOBRE A PESQUISA

1.TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: **"**Efeito da ingestão de chocolate e chá mate no endotélio de indivíduos com HIV/AIDS: ensaio clínico randomizado, cego, controlado por placebo".

2. PESQUISADOR : Dr. Aluísio Augusto Cotrim Segurado

CARGO/FUNÇÃO: Coordenador Científico da Casa da AIDS/USP INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 39.767

UNIDADE DO HCFMUSP: CASA DA AIDS/USP

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO	x	RISCO MÉDIO	□
RISCO BAIXO	□	RISCO MAIOR	□

4. DURAÇÃO DA PESQUISA: 105 dias de intervenção.

1 – Essas informações estão sendo fornecidas para sua participação voluntária neste estudo, que tem por objetivo avaliar o impacto da ingestão de chocolate e chá mate nas paredes dos vasos sanguíneos de pacientes com HIV/AIDS.

2 – Os participantes do estudo serão suplementados com aproximadamente 65 g de chocolate em barra ou placebo de chocolate e com 3g de chá solúvel ou placebo de chá solúvel. A suplementação será diária com duração de 60 dias em quatro fases de 15 dias e monitorada por contato pessoal, telefônico entre os pesquisadores e os participantes e a cada período parcial e ao final será controlada por meio de respostas a questionários e coletas de sangue para exames laboratoriais.

3 – Estou ciente que devo seguir a suplementação prescrita pelos pesquisadores: consumo diário de 1 barra de chocolate ou 3g de chá durante 60 dias, conforme explicado anteriormente. Concordo em permitir a coleta de 20 mL de sangue venoso, antes do início da intervenção e 15, 45, 75 e 105 dias após o início da suplementação. Responderei a um questionário fornecendo dados referentes à minha doença e minhas condições sócio-econômicas; terei meu peso, altura e dados corporais medidos. Serei submetido a exame arterial realizado por aparelho semelhante ao utilizado para medir a pressão que não causará dor, no máximo um pequeno desconforto causado pelo ajuste da braçadeira. Por último autorizo consulta ao meu prontuário para obtenção de informações referentes a exames e medicamentos utilizados.

4 - Também foi esclarecido que a pesquisa envolve um risco mínimo, sendo este provavelmente relacionado com a punção venosa (uma agulha será introduzida em meu braço e será retirada uma pequena quantidade de sangue para análise), que poderá resultar em mancha roxa no local.

5 – Estou ciente que essa pesquisa será importante para avaliar se, a intervenção com os suplementos usados, é benéfica para pacientes com HIV/AIDS em terapia com antirretrovirais e para futura aplicação dos resultados obtidos. Pode não haver benefício direto para mim, mas no final do estudo poderá ser concluído benefício do uso dos suplementos para pacientes nas mesmas condições.

6 – Terei acesso, a qualquer momento, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive poderei esclarecer qualquer tipo de dúvida. A minha participação será voluntária e a desistência não trará qualquer tipo de prejuízo para a continuidade da assistência que venho recebendo neste serviço.

Os principais investigadores são: Dr. **Aluísio Augusto Cotrim Segurado**; Dra. **Patricia Helen de Carvalho Rondó** e Dra. **Liania Alves Luzia** que será a pesquisadora que aplicará os questionários e fará monitoria da suplementação, durante o período da pesquisa eles poderão ser encontrados no endereço: *Rua Frei Caneca nº 557,* Telefone(s) (11) 3120 5290 e (11) 3061 7868. Se você tiver alguma

consideração ou dúvida sobre a pesquisa poderá entrar em contato com eles. Se ainda restar alguma dúvida você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnet.usp.br
8 – Você poderá retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;

9 – Direito de confidencialidade – As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum paciente;

10 – Após a conclusão do estudo os pesquisadores divulgarão os resultados a todos os participantes;

11 – Despesas e compensações: você não terá nenhuma despesa pessoal adicional por participar do estudo, incluindo exames e consultas, tendo em vista que haverá distribuição de auxílio transporte para seu deslocamento até o serviço;

12 – Em caso de dano pessoal, comprovadamente causado pelos procedimentos ou tratamentos propostos neste estudo, você terá direito a tratamento médico na Instituição;

13 – Os pesquisadores se comprometem a utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente esclarecido a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo: “Efeito da ingestão de chocolate e chá mate no endotélio de indivíduos com HIV/AIDS: ensaio clínico randomizado, cego, controlado por placebo”.

Eu discuti com o **Dr. Aluísio Augusto Cotrim Segurado** ou com as **Dras Liania Alves Luzia e Patricia Helen de Carvalho Rondó** sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os objetivos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a

tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal Data ___/___/___

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo Data ___/___/___

Qualquer dúvida entrar em contato com uma das pesquisadoras executantes:

(11) 7143-9816 ou (11) 3061-7868

Ambulatório Frei Caneca: **(11) 3120-5290/Ramal: 214**

nutricionistas.usp@gmail.com

Nutricionistas: Andrea Mariana Nunes da Costa Teixeira

Patrícia de Moraes Pontilho

Suelen Jorge de Souza

ANEXO 4 . Artigo de Revisão Publicado

REV ASSOC MED BRAS. 2013;59(2):186–198

ELSEVIER

Revista da
ASSOCIAÇÃO MÉDICA BRASILEIRA

www.ramb.org.br

Review article

Lipid profile of HIV-infected patients in relation to antiretroviral therapy: a review☆

Suelen Jorge Souza[a], *Liania Alves Luzia*[a], *Sigrid Sousa Santos*[b], *Patrícia Helen Carvalho Rondó*[a,*]

[a] *Nutrition Department, School of Public Health, Universidade de São Paulo (USP), Sao Paulo, SP, Brazil*
[b] *Department of Medicine, Center of Biological Sciences and Health, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, Brazil*

ARTICLE INFO

Article history:
Received 5 April 2012
Accepted 4 November 2012

Keywords:
Human Immunodeficiency Virus
Acquired Immunodeficiency Syndrome
Antiretroviral therapy
Highly active antiretroviral therapy
Dyslipidemia

ABSTRACT

This study reviewed the lipid profile of human immunodeficiency virus/acquired immunodeficiency syndrome (HIV/AIDS) patients in relation to use of antiretroviral therapy (ART), and its different classes of drugs. A total of 190 articles published in peer-reviewed journals were retrieved from PubMed and LILACS databases; 88 of them met the selection criteria and were included in the review. Patients with HIV/AIDS without ART presented an increase of triglycerides and decreases of total cholesterol, low density lipoprotein (LDL-c), and high density lipoprotein (HDL-c) levels. Distinct ART regimens appear to promote different alterations in lipid metabolism. Protease inhibitors, particularly indinavir and lopinavir, were commonly associated with hypercholesterolemia, high LDL-c, low HDL-c, and hypertriglyceridemia. The protease inhibitor atazanavir is apparently associated with a more advantageous lipid profile. Some nucleoside reverse-transcriptase inhibitors (didanosine, stavudine, and zidovudine) induced lipoatrophy and hypertriglyceridemia, whereas abacavir increased the risk of cardiovascular diseases even in the absence of apparent lipid disorders, and tenofovir resulted in lower levels of cholesterol and triglycerides. Although non-nucleoside reverse-transcriptase inhibitors predisposed to hypertriglyceridemia and hypercholesterolemia, nevirapine was particularly associated with high HDL-c levels, a protective factor against cardiovascular diseases. Therefore, the infection itself, different classes of drugs, and some drugs from the same class of ART appear to exert distinct alterations in lipid metabolism.

© 2013 Elsevier Editora Ltda. All rights reserved.

Perfil lipídico de pacientes infectados pelo HIV em relação à terapia antirretroviral: uma revisão

Palavras-chave:
Vírus da Imunodeficiência Humana

RESUMO

Este estudo faz uma revisão sobre o perfil lipídico de pacientes com vírus da imunodeficiência humana/síndrome da imunodeficiência adquirida (HIV/AIDS) em relação ao uso da terapia antirretroviral (TARV), e suas diferentes classes de fármacos. Um total de 190 artigos

☆ Study conducted at Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil.

* *Corresponding author.* Nutrition Department, School of Public Health, University of São Paulo, Avenida Dr. Arnaldo, 715, Cerqueira César, São Paulo, SP, 01246-904, Brazil.
E-mail: phcrondo@usp.br (P.H.C. Rondó).

0104-4230/$ – see front matter © 2013 Elsevier Editora Ltda. All rights reserved.

http://dx.doi.org/10.1016/j.ramb.2012.11.003

Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
Terapia antirretroviral
Terapia antirretroviral de alta potência
Dislipidemia

publicados em revistas indexadas foram selecionados das bases de dados PubMed e LILACS; 88 deles preencheram os critérios de seleção e foram incluídos nesta revisão. Pacientes com HIV/AIDS sem uso de TARV apresentaram aumento de triglicérides e diminuição dos níveis de colesterol total, lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) e lipoproteína de alta densidade (HDL-c). Distintos regimes de TARV promoveram diferentes alterações no metabolismo lipídico. Inibidores de protease, particularmente indinavir e lopinavir, foram comumente associados com hipercolesterolemia, aumento de LDL-c, diminuição de HDL-c e hipertrigliceridemia. O inibidor de protease atazanavir aparentemente está associado a menores alterações do perfil lipídico. Alguns inibidores da transcripitase reversa análogos de nucleosídeos (didanosina, estavudina e zidovudina), induziram lipoatrofia e hipertrigliceridemia, enquanto o abacavir aumentou o risco cardiovascular mesmo na ausência de aparentes distúrbios lipídicos, e o tenofovir resultou em menores níveis de colesterol e triglicérides. Embora os inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos possam predispor a hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia, a nevirapina, particularmente, foi associada a maiores níveis de HDL-c, um fator de proteção contra doenças cardiovasculares. Portanto, a própria infecção, diferentes classes de fármacos e alguns fármacos da mesma classe de TARV podem exercer distintas alterações no metabolismo lipídico.

© 2013 Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

Introduction

Patients with human immunodeficiency virus (HIV)/acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) frequently present alterations in lipid metabolism due to infection with HIV itself, including elevated serum concentrations of triglycerides and low levels of total cholesterol.[1] The introduction of antiretroviral therapy (ART) in the mid-1990s led to substantial improvement in the prognosis of HIV/AIDS patients, with a reduction in morbidity and mortality due to opportunistic diseases and consequent improvement of the patient's quality of life.[2–7]

However, there is evidence that ART is associated with lipodystrophy syndrome, a disturbance of lipid metabolism characterized by insulin resistance, dyslipidemia, and fat maldistribution, usually presenting as visceral abdominal obesity and cervical fat pad accumulation (buffalo hump),[2,5,7–9] metabolic bone disease (osteopenia and/or osteoporosis), and lactic acidosis.[5,7,10–12]

ART-associated dyslipidemia is characterized by elevated serum concentrations of total cholesterol, triglycerides, low density lipoprotein (LDL-c), very low-density lipoprotein (VLDL), and apolipoprotein B (apoB), and low levels of high density lipoprotein (HDL-c), constituting an atherogenic lipid profile.[13,14] This lipid changes occurs within three months of initiating ART, and plateau after six to nine months.[15]

The prevalence of dyslipidemia and other risk factors for cardiovascular disease is significant in HIV/AIDS patients receiving ART, ranging from 20% to 80% depending on the study design and population investigated.[8] These lipid alterations were first described in patients who used antiretroviral regimens containing protease inhibitors, but also were later observed in patients who received regimens consisting of nucleoside reverse-transcriptase inhibitors (NRTI) and non-nucleoside reverse-transcriptase inhibitors (NNRTI).[16,17]

In view of the high prevalence of dyslipidemia and the increased risk for cardiovascular diseases among patients with HIV/AIDS, which is a matter of concern for public health, the present review aimed to describe the lipid profile of HIV-infected patients in relation to use of ART, and its different classes of drugs.

Methods

The PubMed (US National Library of Medicine, National Institutes of Health) and LILACS (Literatura Latino-Americana e do Caribe) databases were searched without restrictions on publication year or study design until August 2011. The keywords "HIV" [MESH] OR "Acquired Immunodeficiency Syndrome" [MESH] AND "Dyslipidemias" [MESH] were used for search in the PubMed database, and 169 articles were retrieved. The LILACS database was searched using "HIV and Dislipidemia", and 21 articles were retrieved. Thus, 190 articles were first selected, but one article appeared in both databases; therefore, 189 articles were selected for this review.

All studies investigating the association between lipid alterations in HIV/AIDS patients with or without treatment were identified and included in the review. Case report articles (12 articles from PubMed), articles related to lipid-lowering drugs (8 articles from PubMed), articles whose full text could not be accessed (35 articles from PubMed and five from LILACS), and articles not focusing on lipid alterations in HIV/AIDS patients (39 articles from PubMed and nine from LILACS) were excluded. 75 articles were thus selected from the PubMed database and six articles from the LILACS database. In addition, seven studies were identified in the references of these articles and retrieved for relevance, considering that the articles were useful to describe the possible metabolic mechanisms to explain the lipid alterations of the patients. Therefore, a total of 88 articles were included in the review (Fig. 1).

All the 88 articles were discussed in this review. Tables 1 and 3 presented the results of the original articles (n = 51) included in this search, excluding previously published reviews.

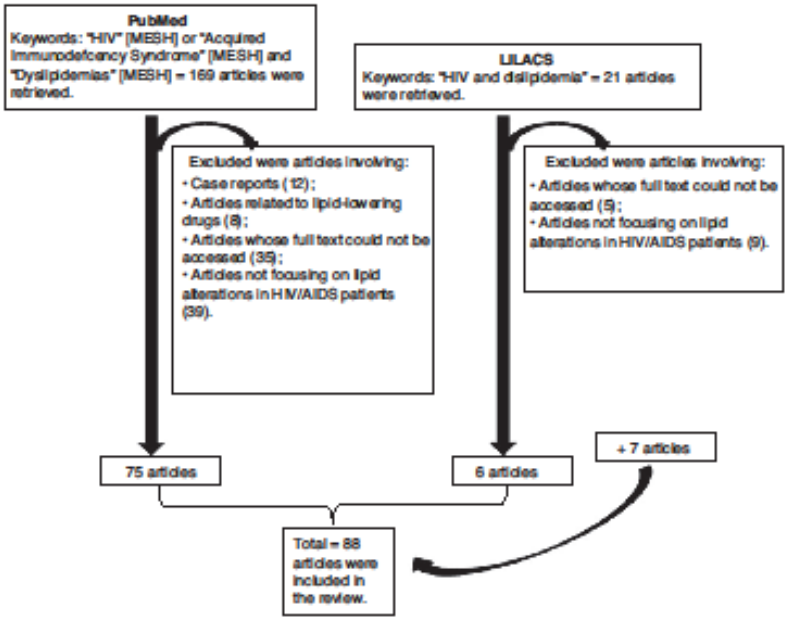


Fig. 1 – Research design.

Results and discussion

HIV/AIDS and lipid alterations

Lipid alterations in patients with HIV/AIDS caused by the infection itself had been reported before the implementation of ART.[1,13] In this respect, serum triglyceride concentrations were higher and the levels of total cholesterol, LDL-c and HDL-c were lower in HIV-seropositive patients receiving no ART when compared to uninfected controls.[1,18,19] These alterations were detected in patients infected with different HIV-1 subtypes.[19]

Low serum concentrations of HDL-c can be used as a marker of chronic inflammatory activity.[20] In a cohort study conducted in Spain, untreated HIV-infected patients presented low HDL-c levels, especially if they had already received antiretroviral therapy in the past.[21] However, HDL-c levels were found to be low even in patients receiving ART presenting adequate viral suppression and immune reconstitution, a finding that suggests that inflammatory activity was not completely controlled.[20]

Table 1 summarizes the results of the original studies (n = 3) that assessed the lipid profile of HIV/AIDS patients without ART.

Possible metabolic mechanisms

Factors that contribute to dyslipidemia in HIV infection are altered cytokine profile, decreased lipid clearance, and increased hepatic synthesis of VLDL.[23]

Cytokines such as tumor necrosis factor alpha (TNF-α) and interleukin-6 (IL-6) appear to promote lipid peroxidation, besides endothelial and platelet activation, and the production of reactive oxygen species.[14]

An increase in serum triglyceride concentrations is observed in HIV-infected patients as the disease progresses, particularly in the presence of opportunistic infections, possibly due to an increase in the levels of inflammatory cytokines (TNF- α, interleukins, and interferon alpha [IFN- α])[22,24] and steroid hormones.[1,18] The lower the CD4+ T lymphocyte count in peripheral blood, the higher the concentrations of triglycerides and the lower the levels of total cholesterol and LDL-c.[1,18] In contrast, low concentrations of HDL-c are found in HIV-infected patients, regardless of the CD4+ T lymphocyte count.[18,25]

HIV/AIDS, ART, and lipid alterations

Changes in lipid metabolism associated with ART use have been commonly reported in all age groups of HIV-infected patients.[5–7]

In relation to the metabolic side effects of ART, children are more vulnerable than adults because of their status as growing organisms and their longer exposure to ART.[5]

Cross-sectional studies with HIV-infected children and adolescents receiving ART have shown high frequency of dyslipidemia, lipodystrophy,[26–28] retinol, and b-carotene deficiencies[27] and, therefore, high risk for cardiovascular diseases.[28] In a multicenter study, HIV-infected children with symptoms of fat redistribution presented adiponectin

Table 1 – Studies assessing the lipid profile of patients with HIV/AIDS without ART.

Reference	Study design and treatment duration	Lipid profile alterations
Fourie et al. (2010)[19]	Sub-study from PURE HIV+ (n = 300) versus HIV− (n = 300): 12 years	- HIV+ versus HIV-: ↓HDL-c (1.23 versus 1.7 mmol/L); ↓LDL-c (2.6 versus 2.8 mmol/L); ↑TG (1.29 versus 1.15 mmol/L), ↑CRP (3.31 versus 2.13 mg/L); ↑IL-6 (4.7 versus 3.72 pg/L) - HIV-1 subtype C was associated with dyslipidemia
Grunfeld et al. (1991)[22]	AIDS (n = 45); HIV+ (without AIDS; n = 13); HIV− (controls; n = 17)	- AIDS: ↑IFN-α ($p < 0.001$ compared to controls); with detectable levels in 84% of AIDS patients - HIV+: three of 13 had detectable IFN-α - AIDS and HIV+: significant correlation between IFN-α and TG ($R = 0.44$, $p < 0.002$) IFN-α modulated lipid metabolism, and was probably responsible for the hypertriglyceridemia found in AIDS patients
Grunfeld et al. (1989)[1]	AIDS (n = 32); HIV+ (n = 8); HIV− (controls; n = 17)	- AIDS versus controls: ↑TG and prevalence of hypertriglyceridemia (50%) ($p < 0.002$ and $p < 0.005$, respectively)

ART, antiretroviral therapy; CRP, C-reactive protein; HDL-c, high density lipoprotein; IFN-α, interferon-alpha; IL, interleukin; LDL-c, low density lipoprotein; PURE, Prospective Urban and Rural Epidemiological study; TG, triglycerides.

decrease, associated with insulin resistance, increase of triglycerides and reduction of HDL-c.[29]

Pregnancy already is a condition that is characterized by important metabolic changes. The use of ART during pregnancy is associated with several concerns, which include potential teratogenicity, risk for the exposed and uninfected newborn, possible reduced efficacy of antiretroviral regimens in this particular condition, and safety considerations for the mother, including potentially increased risk of specific adverse events.[6]

HIV-infected older adults have a slower immunological response to ART and a higher risk for cardiovascular diseases, considering the factors: aging, HIV infection, and ART.[7] A multicenter cross-sectional study involving 179 elderly individuals indicated that 54% had dyslipidemia, 23% had cardiovascular diseases, and 58% had lipodystrophy.[30]

Six classes of antiretroviral drugs are currently available (Table 2).

Protease inhibitors, NRTIs, and NNRTIs are the drugs most frequently associated with lipodystrophy and alterations in lipid metabolism.[32,33] Furthermore, the drugs of each class exert distinct metabolic effects.[23]

Table 3 summarizes the results of the original studies (n = 48) that assessed the lipid profile of HIV/AIDS patients with ART.

Protease inhibitors

Elevated plasma lipid concentrations were observed in 70% to 80% of patients who received ART containing protease inhibitors. This class of antiretroviral drugs has been associated with the development of peripheral lipodystrophy, central adiposity, breast hypertrophy, and insulin resistance.[66,72–76]

Patients who use protease inhibitors for a long period of time frequently present hypertriglyceridemia, elevated concentrations of LDL-c, reduced HDL-c levels, and accumulation of apolipoprotein E and apolipoprotein CIII (apoCIII).[66,67,69,77] However, the reduction of HIV-1 viral load has been associated with an increase of serum HDL-c.[69]

In the first exploratory studies, various protease inhibitors (saquinavir, indinavir, nelfinavir, and ritonavir) were associated with different degrees of hyperlipidemia.[71,78] However, some authors found that dyslipidemic patients using protease inhibitors who switched to atazanavir-containing regimens showed improvement of lipid parameters, while the immunological and virological efficacy of the regimen was maintained.[36,42,53,79–81]

In a multicenter, prospective, observational study of 23,437 HIV-infected patients conducted by the Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs (DAD) Study Group (2007), an association was initially observed between the use of protease

Table 2 – Antiretroviral drugs by class.*

PI	NRTI	NNRTI	FI	CCR5 antagonist	Integrase inhibitor
Atazanavir (ATV) Darunavir (DRV) Fosamprenavir (FPV) Indinavir (IDV) Lopinavir (LPV) Nelfinavir (NFV) Ritonavir (RTV) Saquinavir (SQV) Tipranavir (TPV)	Abacavir (ABC) Didanosine (ddI) Emtricitabine (FTC) Stavudine (d4T) Lamivudine (3TC) Tenofovir (TDF) Zidovudine (AZT)	Efavirenz (EFV) Etravirine (ETR) Nevirapine (NVP)	Enfuvirtide (T-20)	Maraviroc (MVC)	Raltegravir (RAL)

PI, protease inhibitors; NRTI, nucleoside reverse-transcriptase inhibitors; NNRTI, non-nucleoside reverse-transcriptase inhibitors; FI, fusion inhibitor.

* Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents.[31]

Table 3 – Studies assessing the lipid profile of patients with HIV/AIDS receiving ART.

Reference	Type of ART	Study design and treatment duration	Lipid profile alterations
Podzamczer et al. (2011)[34]	NVP versus ATZ/RTV, both combined with TDF + FTC (ARTEN Study)	Prospective study (n = 569): baseline evaluation up to 48 weeks	- NVP promoted ↑ TC, ↑HDL-c, ↑LDL-c, and ↑apoA1, but not of apoB; ATZ/r was associated with ↑ TG; NVP versus ATZ/r: < TC/HDL-c ratio and < apoB/apoA ratio; - Low Framingham score in the two groups
MacInnes et al. (2011)[35]	MVC versus EFV	Intervention study: MVC (n = 360) versus EFV (n = 361), both combined with AZT/3TC for 96 weeks	- For patients with TC and LDL-c below the NCEP treatment thresholds at the beginning of the study (TC: 35% × 11% in the EFV group versus LDL-c: 23% × 8% in the MVC group) (p < 0.001) - For patients exceeding the NCEP thresholds: TC: 83% × 50% (p = 0.008); LDL-c: 86% × 55% (p = 0.03); HDL-c: 43% × 62% (p = 0.002) (values referring to an increase for patients with HDL-c < 40 mg/dL)
Lu et al. (2011)[36]	Two NRTI +ATV 1×/day or ATV/r 1×/day	Prospective observational study (n = 66): 48 weeks	- ATV regimen was well tolerated and resulted in significant improvement of hyperlipidemia
Crane et al. (2011)[37]	Comparison between NRTI pairs used in the first ART	Cohort study (n = 2,267): patients with at least two months of ART	- TDF/3TC or TDF/FTC associated with ↓ lipid levels (TC, TG, HDL-c, LDL-c and non-HDL-c); ddI/3TC associated with ↑ LDL-c; d4T/3TC with ↑TG; ddI/d4T with ↑ HDL-c
Adewole et al. (2010)[25]	NNRTI	Cross-sectional study (n = 130): 12 months	- NNRTI containing NVP promoted ↑ HDL-c and stabilization of TC and TG
Battistini et al. (2010)[27]	ART	Cross-sectional study with children and adolescents (n = 30): median duration with ART: 28.4 months	- Lipodystrophy: 53.3% - Dyslipidemia (AIDS versus controls): 60% versus 23% (p = 0.004) - ↑ Frequency of dyslipidemia, lipodystrophy, and retinol and b-carotene deficiencies, but it was not possible to demonstrate a correlation of these findings with lipid peroxidation
Randell et al. (2010)[38]	TDF/3TC + FPV/RTV versus TDF/3TC + LPV/RTV	Intervention study (n = 27): 2×/day Pharmacokinetics was evaluated up to two weeks	- ↑ 6.6% TC with FPV and 10.9% with LPV. Similar changes in lipids and lipoprotein subfractions in the groups with ↑ TG, ↑VLDL, ↑chylomicrons and ↑LDL-c. No significant alteration in HDL-c and ↓ small-HDL-c
Palios et al. (2010)[39]	HAART versus untreated	Cross-sectional study (n = 40)	- Patients on HAART presented ↑ TC compared to control
Nguemaïm et al. (2010)[18]	ART	Case-control study [HIV+ (n = 172) and HIV– (n = 172)]	HIV+ versus HIV- subjects: - CD4 < 50 cells/μL: ↓TC and ↓LDL-c (p < 0.0001); ↑TG (p < 0.001); > TC/HDL-c ratio (p < 0.01); > HDL-c/LDL-c ratio (p = 0.02) - CD4 50–199 cells/μL: ↓TC (p < 0.001) and ↑TG (p < 0.001) - CD4 200–350 cells/μL: ↑TG (p = 0.003); > TC/HDL-c (p < 0.0002); > HDL-c/LDL-c ratio (p = 0.04) - CD4 >350 cells/μL: > TC/HDL-c ratio (p < 0.0001); > HDL-c/LDL-c ratio (p < 0.001) - HIV+: < HDL-c irrespective of the CD4 cell count.
Tungsiripat et al. (2010)[40]	ART with TDF	Double-blind, placebo-controlled crossover study (n = 17): 12 weeks	TDF versus placebo: - ↓ non-HDL-c, ↓ LDL-c and ↓TC - TDF: lipid-lowering action
Werner et al. (2010)[28]	HAART	Cross-sectional study with children and adolescents (n = 43): three months	- Lipid abnormality: 88.3%; - Body shape change: 13.9%
Bunupuradah et al. (2009)[41]	Double-boosted PI combination, SQV and LPV/r	n = 50: 12 weeks (HIV-infected children who had failed on reverse transcriptase inhibitors)	- TC and HDL-c ↑significantly over time, whereas TG and LDL-c did not -Body shape changes: Approximately 50%
Calza et al. (2009)[42]	First HAART: ABC/3TC + ATV/RTV versus TDF/FTC + ATV/RTV	Clinical Trial [ABC/3TC (n=42); TDF/FTC (n=47)]:48 weeks	- ABC/3TC + ATV/RTV: higher CD4 - Both groups: ↓ TG. Similar TC and LDL-c

– Table 3 (Continued)

Reference	Type of ART	Study design and treatment duration	Lipid profile alterations
Carosi et al. (2009)[43]	ABC/3TC + FPV/RTV (1400 mg/100 mg), 1×/day versus ABC/3TC + FPV/RTV (700 mg/100 mg), 2×/day	Intervention study (n = 214): follow-up for 24 and 48 weeks	- No significant alteration in non-HDL-c values in either group
Kim et al. (2009)[44]	Different HAART regimens	Single center, retrospective cohort study (n = 178). (HIV-1 infected children with HAART versus HIV-1 infected children without medications [controls])	- 72.4% had TC > 180 mg/dl, 53.4% had TC > 200 mg/dl - For TC > 200, the multivariable analysis showed ↑ risk with NRTI/NNRTI (HR: 1.86, 95% CI: 1.34–2.19) and NRTI/PI (HR: 3.45, 95% CI: 2.65–4.51) when compared to controls
Sarni et al. (2009)[26]	ART (80% HAART and 30% with PI)	Cross-sectional study with children and adolescents (n = 30): median duration with ART = 28.4 months	- Lipodystrophy: 53.3% - Dyslipidemia: 60% - Children on HAART with PI: > % of mixed lipodystrophy
Tao et al. (2009)[45]	Comparison of patients on HAART with and without lipodystrophy	Cross-sectional study (n = 52)	- Prevalence of hypercholesterolemia, hypertriglyceridemia, and low HDL-c levels: 17.3%, 50.0%, and 17.3%, respectively - Patients with lipodystrophy: ↑ TG and ↓ HDL-c
Mothe et al. (2009)[30]	HAART	Multicenter cross-sectional study with HIV-1-infected population aged 70 years or more (n = 179)	- Dyslipidemia: 54% -Cardiovascular disease: 23% -Lipodystrophy: 58%
Williams et al. (2009)[46]	ART	Prospective observational study (n = 433): patients received ART for a mean of eight years	- 28% hypercholesterolemia - Patients receiving RTV or NNRTI (especially EFV) presented ↑ TC and TG
Estrada and Fuster (2008)[47]	TDF+FTC+DRV/RTV versus TDF+FTC+LPV/RTV	Intervention study: 48 weeks (ARTEMIS)	- Similar virological and immunological response. DRV/RTV was associated with a ↓ frequency of adverse lipid effects
Calza et al. (2008)[48]	FPV/RTV versus LPV/RTV.	Observational study (n = 82): 18 months	- LPV/RTV: ↑ TG
Farhi et al. (2008)[49]	HAART	Cross-sectional study (n = 235)	- 77.5% prevalence of dyslipidemia
Ananworanich et al. (2008)[50]	First HAART: two NRTI + SQV/RTV	Intervention study (n = 272): 24 weeks	- ↑ TC, ↑TG, ↑LDL-c, and ↑HDL-c
Pupulin et al. (2008)[51]	HAART (68% with PI)	Cross-sectional study (n = 60): use of HAART (mean: five years)	- ↑ TC (28%), ↑ HDL-c (83%), and ↑ LDL-c (3%) suggesting an effect of HIV infection and not of HAART. 21% of patients with hypertriglyceridemia
Domingo et al. (2008)[52]	Onset of ART with two NRTI + EFZ or two NRTI + LPV/RTV	Retrospective cohort (VACH) (n = 1,550): evaluation at zero to three; three to six; six to 12; 12-18; and >18 months	- Use of LPV/RTV was associated with higher risk of early hypertriglyceridemia
Bernal et al. (2008)[21]	ART (NNRTI and PI)	Cross-sectional (n = 219): two months	- Prevalence of low HDL-c: 45%
Colafigli et al. (2008)[53]	AZT	Observational study (n = 197): follow-up for at least one month	- AZT: ↓TC, ↓HDL-c, ↓non-HDL-c, and ↓TG. Marked reduction in patients with high baseline TC and TG values. Decrease of cardiovascular risk
Kosalaraksa et al. (2008)[54]	Double boosted PI, SQV and LPV/r	n= 50: 48-weeks (children who have failed NNRTI/NRTI- based regimens)	- ↑ median TC and TG (+ 35 mg/dL; + 37 mg/dL, respectively, $p < 0.001$)
Tassiopoulos et al. (2008)[55]	ART	Prospective cohort study (Pediatric AIDS Clinical Trials Group 219C) (n = 2,122 perinatally HIV-infected children free of hypercholesterolemia at entry): six years	- 13% of children had hypercholesterolemia at entry - + 13% developed hypercholesterolemia during follow-up for an incidence rate of 3.4 cases per 100 person-years (95% CI: 3.0-3.9) - After adjustment for age, boosted PI use (HR: 13.9, 95% CI: 6.73-28.6), nonboosted PI use (HR: 8.65, 95% CI: 4.19-17.9), and NNRTI use (HR: 1.33, 95% CI: 1.04-1.71) were associated with ↑ risk of hypercholesterolemia, and > viral load was protective (> 50 000 versus ≤ 400 copies/mL; HR: 0.59, 95% CI: 0.39-0.90)

REV ASSOC MED BRAS. 2013;59(2):186–198

– Table 3 (Continued)

Reference	Type of ART	Study design and treatment duration	Lipid profile alterations
Aurpibul et al. (2007)[56]	HAART (either NVP or EFV, together with 3TC and d4T) were prospectively followed	n = 90 (Children): 144 weeks	-Central lipohypertrophy: 46%; peripheral lipoatrophy: 20%; and combined type: 34% -Hypertriglyceridemia: 12%; hypercholesterolemia: 11% -Low HDL-c decreased from 94% at baseline to 12% at week 144 ($p < 0.01$)
Llibre et al. (2006)[20]	Replacement of d4T with TDF	Prospective multicenter study (n = 873): 12 months	- ↓TC, ↓LDL-c and ↓TG. Patients with hyperlipidemia presented marked reduction in LDL-c and TG. The greatest reduction in TG was observed in patients with severe hypertriglyceridemia
Kumar et al. (2006)[57]	ABC+3TC+AZT versus AZT+3TC+NFV versus d4T+3TC+NFV	Intervention study: 96 weeks	- ABC+3TC+AZT: lower LDL-c - TC: ABC+3TC+AZT<AZT+3TC+NFV< d4T+3TC+NF - No change in HDL-c with any treatment
Castro-Sansores et al. (2006)[58]	HAART	Cross-sectional study (n = 211)	- 44% hyperlipidemia; 20% hypercholesterolemia; 32% hypertriglyceridemia; 14% hypertriglyceridemia + hypercholesterolemia; NRTI: more frequent lipid alterations
De Luca et al. (2006)[59]	Onset of ART: two NRTI + EFV versus two NRTI + LPV/r	Prospective observational cohort: 2 NRTI + EFV (n = 481); 2 NRTI + LPV/r (n = 193)	- ART regimens containing EFV or LPV with similar efficacy and tolerability - LPV was associated with higher rates of hypertriglyceridemia
Floridia et al. (2006)[6]	PI and d4T use	Observational study with HIV-infected pregnant women (n = 248)	- ↑ mean lipid values progressively and significantly during pregnancy: 141.6 mg/dL for TG ($p < 0.001$), 60.8 mg/dL for TC ($p < 0.001$), 13.7 mg/dL for HDL-c ($p < 0.001$), and 17.8 mg/dL for LDL-c ($p = 0.001$) - Women with PI versus without PI (at all trimesters): > mean TG - d4T: dyslipidemic effect at first trimester only
Verkauskiene et al. (2006)[23]	HIV-infected children with ART (in the majority of children, treatment was > four years)	Multicenter study (n = 130): December 2000 to April 2002	- 32 children with fat redistribution syndrome: 14 with atrophic lipodystrophy and 18 with hypertrophic lipodystrophy - ↑ TG and ↓ HDL-c in atrophic lipodystrophy versus no lipodystrophy - HIV-infected children with symptoms of fat redistribution: ↓adiponectin, associated with dyslipidemia
Jones et al. (2005)[60]	First HAART using different regimens: two NRTI + one NNRTI versus two NRTI + one PI versus two NRTI + two PI	Prospective longitudinal study (n = 1,664)	- d4T and PI associated with hypercholesterolemia - TDF+3TC+EFV (28 patients) without ↑TC
Keiser et al. (2005)[61]	Two NRTI + one PI changing to two NRTI + ABC versus maintenance two NRTI + one PI	Evaluation after 28 weeks: ABC (n = 52) or PI (n = 52)	- ABC: ↓ TC, ↓LDL-c, and ↓TG. No difference in HDL-c
Viganò et al. (2005)[62]	Patients receiving HAART containing 3TC, d4T and a PI were randomized to switch PI to EFV and d4T to TDF at baseline (Group 1) or at week 24 (Group 2)	Prospective evaluation (n = 28: 48-weeks; HIV-infected children)	- Group 1: significant ↓ in cholesterol ($p < 0.05$), ↓ HDL-c ratio ($p < 0.01$), and ↓TG ($p < 0.05$) was observed 24 and 48 weeks after the switch of HAART -Group 2: unchanged lipids in 24 weeks prior to the switch of HAART and a significant improvement on cholesterol ($p < 0.05$), HDL-c ratio ($p < 0.01$), and TG ($p < 0.05$) were observed 24 weeks after the switch of HAART
Lucas et al. (2003)[63]	HAART	Cohort study (n = 444): five years	- After four years, 35% of the patients with viral suppression developed diabetes and hyperlipidemia

– Table 3 (Continued)

Reference	Type of ART	Study design and treatment duration	Lipid profile alterations
Christeff et al. (2002)[64]	ART	Cross-sectional study (n = 42; 27 of whom had symptoms of lipodystrophy)	- ↑IFN-α in lipodystrophy-positive versus lipodystrophy-negative and controls - ↑IFN-α: positive correlation with ↑TC, ↑TG, ↑VLDL, ↑ apoB and >apoB/apoAI ratio
Galli et al. (2002)[65]	Two NRTIs	Follow-up for three months (n = 335)	- 23%: hypertriglyceridemia - 10.5%: hypercholesterolemia
Fauvel et al. (2001)[66]	PI with two NRTIs (most frequently: IDV with d4T and 3TC)	Follow-up for three months (n = 60 male)	- Carriers of the -455C variant: 30% lower levels of HDL-c than non-carriers. TG↑ according to the number of variant alleles - Apo C-III polymorphisms: genetic predisposition to develop dyslipidemia under PI therapy
Rakotoambinina et al. (2001)[67]	HAART with PI	Cohort (n = 175): 24 months	- Lipoatrophy: ↑TG - Nucleoside analog: risk factor for lipoatrophy
Thiébaut et al. (2001)[68]	HAART (PI versus other HAART combinations)	Prospective cohort (n = 925): 25 months	- 70 experienced hypertriglyceridemia; 4.2 cases per 100 person years (CI=3.2 ±5.2) - Baseline TG level and being overweight were risk factors of hypertriglyceridemia, together with advanced HIV disease. The contribution of HAART was not demonstrated
Vergis et al. (2001)[69]	ART with PI	Prospective study (n = 56): one year	- ↑TG (> 250 mg/dL): 52% - Adherence > 80% to a PI versus adherence < 80%: ↑LDL-c (79%); severe ↑TG (> 800 mg/dL) (21%) - < Viral load was associated with > HDL-c level
Carr et al. (1999)[70]	ART with PI versus ART without PI	With PI (n = 113): follow-up mean 21 months Never treated with PI (n = 45; 28 with follow-up)	- Lipodystrophy: 83% of PI recipients and 4% of treatment-naïve patients (p = 0.0001) - < Body fat: independently associated with longer duration of PI therapy and < bodyweight before therapy, and more severe lipodystrophy was associated with ↑TG and ↑C-peptide (previous [p < 0.03] and current [p ≤ 0.01], and less peripheral and greater central fat [p = 0.005 and 0.09; respectively]) - Hyperlipidemia: 74% of treated patients versus 28% of naïve patients (p<0.001)
Schmidt et al. (1999)[71]	PI-treated patients versus control group	Prospective study (n = 98)	- 57%: Hyperlipidemia - PI-treated patients versus control group: LDL-c=146 mg/dL (range: 53-274 mg/dL) versus 105 mg/dL (range: 22-188 mg/dL; p < 0.001); VLDL = .5 mg/dL (5-253 mg/dL) versus 18 mg/dL (range: 3-94 mg/dL; p < .001) - > Frequency of the apolipoprotein E2 allele and E4 allele: hyperlipidemic subjects - Patients with excessive hypertriglyceridemia: ↓ lipoprotein lipase activity - >Lipodystrophy: hyperlipidemic

ABC, abacavir; APV, amprenavir; ART, antiretroviral therapy; ATV, atazanavir; AZT, zidovudine; 95% CI, 95% confidence interval; DRV, darunavir; ddI, didanosine; d4T, stavudine; EFV, efavirenz; ETR, etravirine; FPV, fosamprenavir; FTC, emtricitabine; HAART, highly active antiretroviral therapy; HR, hazard ratio; HDL-c, high density lipoprotein; IDV, indinavir;IL, interleukin; IFN-α, interferon alpha; LDL-c, low density lipoprotein; LPV, lopinavir; LPV/r, lopinavir with a booster of ritonavir; MVC, maraviroc; NCEP, National Cholesterol Education Program; NFV, nelfinavir; NNRTI, non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor; NRTI, nucleoside reverse-transcriptase inhibitor; NVP, nevirapine; PI, protease inhibitor; RTV, ritonavir; SQV, saquinavir; TC, total cholesterol; TDF, tenofovir; TG, triglycerides; TNF-α, tumor necrosis factor alpha; TPV, tipranavir; 3TC, lamivudine.

inhibitors and an increased risk of myocardial infarction. However, this risk was slightly lower after adjustment for lipid concentrations.[82] In a subsequent investigation by the DAD Study Group, the best model to predict the risk of myocardial infarction derived from a dataset of 22,625 HIV-infected patients without a history of cardiovascular disease should include age, gender, systolic blood pressure, smoking status, family history of cardiovascular diseases, diagnosis of diabetes, total cholesterol, HDL-c, time of indinavir and lopinavir exposure, and current use of abacavir.[83]

The Pediatric AIDS Clinical Trials Group 219C was the first large prospective cohort study to examine the effect of protease inhibitors and other antiretroviral medications on the incidence of hypercholesterolemia among HIV-infected children and adolescents. This group indicated that the use of protease inhibitors leads to a marked increase in total cholesterol levels.[55]

Kim et al., in a retrospective cohort study involving HIV-1 infected children with highly active antiretroviral therapy (HAART) *versus* HIV-1 infected children without HAART found that those using the NRTI/protease inhibitors-regimen presented significantly higher total cholesterol levels than NRTI and NRTI/NNRTI.[44]

For children who have failed on reverse transcriptase inhibitors-based regimens, double boosted protease inhibitors, saquinavir, lopinavir, and ritonavir represents an option for second line treatment. However, the drugs significantly increased the median levels of serum cholesterol and triglycerides after 48 weeks.[54] Bunupuradah et al., in the same population, showed that, after 12 weeks, total cholesterol and HDL-c increased significantly, whereas triglycerides and LDL-c did not.[41]

In an observational study with HIV-infected pregnant women, there were differences in lipid values at each trimester by protease inhibitors and stavudine use. HIV-positive pregnant women using protease inhibitors presented a progressive increase in triglycerides and cholesterol values from the first to the third trimester.[6]

Nucleoside reverse-transcriptase inhibitors

Antiretroviral treatment regimens containing NRTIs have also been associated with alterations in body fat deposition, particularly lipoatrophy, similar to the alterations observed with protease inhibitor-containing regimens. In addition, metabolic alterations, particularly changes in serum triglyceride concentrations, are observed.[65]

However, the alterations in lipid metabolism are less evident in patients using a combination of tenofovir + lamivudine compared to those using zidovudine + lamivudine, stavudine + lamivudine, or didanosine + lamivudine, with the observation of lower serum concentrations of LDL-c, total cholesterol, and triglycerides in the former.[37,40]

The effect of regimens containing tenofovir indicates a lipid-lowering action of this NRTI and differs from that of other drugs from the same class of antiretroviral drugs.[37,40,53] Replacement of NRTIs such as stavudine with tenofovir might be a useful strategy to improve the lipid profile of patients with dyslipidemia, particularly triglyceride levels, with a consequent reduction of cardiovascular risk.[20] For HIV-infected children, switching stavudine to tenofovir is virologically and immunologically safe and provides a significant improvement in lipid profile.[62]

In contrast, the use of the NRTIs abacavir and didanosine was found to be an independent risk factor for myocardial infarction in the DAD Study.[84] Subsequently, the same group found that current use of abacavir was an independent risk factor for myocardial infarction above the measurable metabolic effects of the drug.[83]

Floridia et al. showed that stavudine was associated with dyslipidemic effect in HIV-infected pregnant women in the first trimester only.[6]

Non-nucleoside reverse-transcriptase inhibitors

ART regimens containing nevirapine are associated with a better lipid profile, mainly because they provide higher serum concentrations of HDL-c.[34,85,86] Bernal et al. observed that an undetectable viral load and NNRTI regimens containing nevirapine protected against low levels of HDL-c.[21]

The lipid profile of patients with AIDS and a previous history of severe immunodepression who achieved immune reconstitution with ART has been shown to vary according to the antiretroviral regimen used. Patients treated with protease inhibitors (booster dose of ritonavir) or efavirenz presented a significant increase of total cholesterol and triglyceride concentrations, whereas an increase of serum HDL-c levels was observed in those receiving nevirapine.[46] However, for HIV-infected children, Viganò et al. demonstrated that switching the protease inhibitor to efavirenz improved the lipid profile.[62]

Aurpibul et al. showed that, in HIV-infected children who began HAART (either nevirapine or efavirenz, together with lamivudine and stavudine), low HDL-c decreased from 94% at baseline to 12% at week 144 ($p < 0.01$); dyslipidemia occurred only in 11% to 12% of children.[56]

Possible metabolic mechanisms

Protease inhibitors are known to inhibit lipogenesis and adipocyte differentiation and to stimulate lipolysis of subcutaneous fat. NRTIs, in turn, can also reduce lipogenesis and adipocyte differentiation in subcutaneous tissue and might be one of the possible causes of mitochondrial toxicity, inhibiting mitochondrial DNA polymerase γ, which leads to the depletion of mitochondrial DNA. In addition, antiretroviral drugs have been shown to increase central visceral fat and the levels of fatty acids in blood, with a further increase of fatty acids oxidation.[23,64]

Apparently, HIV/AIDS patients receiving ART who develop lipodystrophy have higher serum concentrations of inflammatory cytokines (IL-6 and TNF-α). In addition, evidence indicates a relationship between an increase of IFN-α and elevations of serum concentrations of total cholesterol, triglycerides, VLDL, apoB, and apoB/apoA1.[64] In this respect, protease inhibitors appear to bind to LDL receptor-related protein (LRP), reducing the cleavage of fatty acids from circulating triglycerides by the LRP-lipoprotein lipase complex on vascular endothelium, and impairing the uptake of remnant hepatic chylomicrons and VLDL.[76,87] Moreover, protease inhibitors may directly stimulate hepatic triglyceride synthesis through up-regulation of

mRNA production in hepatic cells for key enzymes involved in the triglyceride biosynthetic pathway, leading to the hepatic accumulation of triglyceride-rich lipoparticles.[77]

These drugs may also modify lipoprotein metabolism by interfering with the expression of inflammatory cytokine genes and oxidative stress-related genes.[87] The expression of genes in adipocytes and hepatocytes is modulated by protease inhibitors through sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs), cytoplasmic retinoic-acid binding protein type 1 (CRABP-1), peroxisome proliferator activated receptors (PPARs), and apoCIII, events that contribute to the development of atherogenic dyslipidemia.[3]

Carr et al. have proposed that the pathogenesis of lipodystrophy syndrome is based upon the structural similarity between the catalytic region of HIV-1 protease and CRABP-1 and LRP, probably establishing a high affinity among these elements.[76]

Protease inhibitor-induced peripheral lipodystrophy is a result of impaired CRABP1-mediated cis-9-retinoic acid stimulation of retinoid X receptor: PPAR-γ and of the capacity of protease inhibitors to inhibit cytochrome P450 3A, resulting in reduced differentiation and increased apoptosis of peripheral adipocytes. Hyperlipidemia is exacerbated by inhibition of LRP, leading to central obesity, breast fat deposition in the presence of estrogen, insulin resistance, and diabetes mellitus type 2.[76]

Bastard et al. found that protease inhibitors induce altered differentiation status of peripheral adipocytes by altering SREBP1 function *in vivo*, because this abnormal adipocyte differentiation is associated with greatly reduced SREBP1c expression.[88]

Nevertheless, the mechanisms that promote lipid alterations in HIV/AIDS patients are still not completely understood, and may be potentiated by genetic and environmental factors, as well as by medications.[23]

Conclusions

HIV-infected patients without ART presented lipid alterations associated with the infection itself, characterized by a decrease of total cholesterol, LDL-c, and HDL-c, and by an increase of triglyceride levels. In contrast, ART regimens promoted distinct alterations in the lipid metabolism of these patients. Protease inhibitors, particularly indinavir and lopinavir, were commonly associated with hypercholesterolemia, hypertriglyceridemia, elevated LDL-c, and reduced HDL-c. Fewer lipid alterations were observed with use of the protease inhibitor atazanavir. Some NRTIs (didanosine, stavudine, and zidovudine) more frequently induced lipid alterations, particularly lipoatrophy and hypertriglyceridemia. However, tenofovir-containing NRTI regimens resulted in a better metabolic profile. Patients using NNRTIs developed hypertriglyceridemia and hypercholesterolemia. The NNRTI nevirapine was particularly associated with elevated concentrations of HDL-c. Therefore, the infection itself, the different classes of drugs, and some drugs from the same class of ART appear to exert distinct alterations in lipid metabolism.

Conflict of interest

All authors declare to have no conflict of interest.

Acknowledgements

The authors acknowledge the financial support received from the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Brazil, grant (no. 2009/52250-5) and scholarship (no. 2011/05446-1).

REFERENCES

1. Grunfeld C, Kotler DP, Hamadeh R, Tierney A, Wang J, Pierson RN. Hypertriglyceridemia in the acquired immunodeficiency syndrome. Am J Med. 1989;86:27–31.
2. Boccara F. Cardiovascular complications and atherosclerotic manifestations in the HIV-infected population: type, incidence and associated risk factors. AIDS. 2008;3:S19–26.
3. Mehta N, Reilly M. Atherosclerotic cardiovascular disease risk in the HAART-treated HIV-1 population. Clin Trials. 2005;6:5–24.
4. Hoffmann C, Jaeger H. Cardiology and AIDS - HAART and the consequences. Ann N Y Acad Sci. 2001;946:130–44.
5. Leonard EG, McComsey GA. Metabolic complications of antiretroviral therapy in children. Pediatr Infect Dis J. 2003;22:77–84.
6. Floridia M, Tamburrini E, Ravizza M, Tibaldi C, Ravagni Probizer MF, Anzidei G, et al. Lipid profile during pregnancy in HIV-infected women. HIV Clin Trials. 2006;7:184–93.
7. Kramer AS, Lazzarotto AR, Sprinz E, Manfroi WC. Metabolic abnormalities, antiretroviral therapy and cardiovascular disease in elderly patients with HIV. Arq Bras Cardiol. 2009;93:561–8.
8. Troll JG. Approach to dyslipidemia, lipodystrophy, and cardiovascular risk in patients with HIV infection. Curr Atheroscler Rep. 2011;13:51–6.
9. Balasubramanyam A, Sekhar RV, Jahoor F, Jones PH, Pownall HJ. Pathophysiology of dyslipidemia and increased cardiovascular risk in HIV lipodystrophy: a model of 'systemic steatosis'. Curr Opin Lipidol. 2004;15:59–67.
10. Monier PL, Wilcox R. Metabolic complications associated with the use of highly active antiretroviral therapy in HIV-1-infected adults. Am J Med Sci. 2004;328:48–56.
11. Powderly WG. Long-term exposure to lifelong therapies. J Acquir Immune Defic Syndr. 2002;29 Suppl 1:S28–40.
12. Herman JS, Easterbrook PJ. The metabolic toxicities of antiretroviral therapy. Int J STD AIDS. 2001;12:555–62, quiz 563-4.
13. Dronda F. Cardiovascular risk in patients with chronic HIV-1 infection: a controversy with therapeutic, clinical and prognostic implications. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2004;22:40–5.
14. Ducobu J, Payen MC. Lipids and AIDS. Rev Med Brux. 2000;21(1):11–7.
15. Sherer R. HIV, HAART, and hyperlipidemia: balancing the effects. J Acquir Immune Defic Syndr. 2003;34 Suppl 2:S123–9.
16. Elías-Calles LC, Calero TMG. Dislipidemia y virus de inmunodeficiencia adquirida/SIDA. Rev Cuba Endocrinol. 2010;21:202–22.
17. Fantoni M, Autore C, Del Borgo C. Drugs and cardiotoxicity in HIV and AIDS. Ann N Y Acad Sci. 2001;946:179–99.
18. Nguemaïm NF, Mbuagbaw J, Nkoa T, Alemnji G, Této G, Fanhi TC, et al. Serum lipid profile in highly active antiretroviral

therapy-naïve HIV-infected patients in Cameroon: a case-control study. HIV Med. 2010;11:353–9.
19. Fourie CM, Van Rooyen JM, Kruger A, Schutte AE. Lipid abnormalities in a never-treated HIV-1 subtype C-infected African population. Lipids. 2010;45:73–80.
20. Llibre JM, Domingo P, Palacios R, Santos J, Pérez-Elías MJ, Sánchez-de la Rosa R, et al. Sustained improvement of dyslipidaemia in HAART-treated patients replacing stavudine with tenofovir. AIDS. 2006;20:1407–14.
21. Bernal E, Masiá M, Padilla S, Gutiérrez F. High-density lipoprotein cholesterol in HIV-infected patients: evidence for an association with HIV-1 viral load, antiretroviral therapy status, and regimen composition. AIDS Patient Care STDs. 2008;22:569–75.
22. Grunfeld C, Kotler DP, Shigenaga JK, Doerrler W, Tierney A, Wang J, et al. Circulating interferon-alpha levels and hypertriglyceridemia in the acquired immunodeficiency syndrome. Am J Med. 1991;90:154–62.
23. Grinspoon S, Carr A. Cardiovascular risk and body fat abnormalities in HIV infected adults. N Engl J Med. 2005;352:48–62.
24. Grunfeld C, Feingold KR. The role of the cytokines, interferon alpha and tumor necrosis factor in the hypertriglyceridemia and wasting of AIDS. J Nutr. 1992;122 3 (Suppl):749–53.
25. Adewole OO, Eze S, Betiku Y, Anteyi E, Wada I, Ajuwon Z, et al. Lipid profile in HIV/AIDS patients in Nigeria. Afr Health Sci. 2010;10:144–9.
26. Sarni ROS, Souza FIS, Battistini TRB, Pitta TS, Fernandes AP, Tardini PC, et al. Lipodystrophy in children and adolescents with acquired immunodeficiency syndrome and its relationship with the antiretroviral therapy employed. J Pediatr. 2009;85:329–34.
27. Battistini TR, Sarni RO, Souza FIS, Pitta TS, Fernandes AP, Hix S, et al. Lipodystrophy, lipid profile changes, and low serum retinol and carotenoid levels in children and adolescents with acquired immunodeficiency syndrome. Nutrition. 2010;26:612–6.
28. Werner MLF, Pone MVS, Fonseca VM, Chaves CRMM. Lipodystrophy syndrome and cardiovascular risk factors in children and adolescents infected with HIV/AIDS receiving highly active antiretroviral therapy. J Pediatr. 2010;86:27–32.
29. Verkauskiene R, Dollfus C, Levine M, Faye A, Deghmoun S, Houang M, et al. Serum adiponectin and leptin concentrations in HIV-infected children with fat redistribution syndrome. Pediatr Res. 2006;60:225–30.
30. Mothe B, Perez I, Domingo P, Podzamczer D, Ribera E, Curran A, et al. HIV-1 infection in subjects older than 70: a multicenter cross-sectional. Curr HIV Res. 2009;7:597–600.
31. US. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. In: Department of Health and Human Service. AIDSInfo 2011. [cited 2012 jan 21]. Available from: http://www.aidsinfo.nih.gov
32. Zou W, Berglund L. HIV and highly active antiretroviral therapy: dyslipidemia, metabolic aberrations, and cardiovascular risk. Cardiology. 2007;10:96–103.
33. Mallewa JE, Higgins SP, Garbett S, Saxena N, Vilar FJ. Cardiovascular disease risk management in HIV patients, experiences from Greater Manchester. Int J STD AIDS. 2009;20:425–6.
34. Podzamczer D, Andrade-Villanueva J, Clotet B, Taylor S, Rockstroh JK, Reiss P, et al. Lipid profiles for nevirapine vs. atazanavir/ritonavir, both combined with tenofovir disoproxil fumarate and emtricitabine over 48 weeks, in treatment-naïve HIV-1-infected patients (the ARTEN study). HIV Med. 2011;12:374–82.
35. MacInnes A, Lazzarin A, Di Perri G, Sierra-Madero JG, Aberg J, Heera J, et al. Maraviroc can improve lipid profiles in dyslipidemic patients with HIV: results from the MERIT trial. HIV Clin Trials. 2011;12:24–36.
36. Lu CL, Lin YH, Wong WW, Lin HH, Ho MW, Wang NC, et al. Outcomes of switch to atazanavir-containing combination antiretroviral therapy in HIV-1-infected patients with hyperlipidemia. J Microbiol Immunol Infect. 2011;44:258–64.
37. Crane HM, Grunfeld C, Willig JH, Mugavero MJ, Van Rompaey S, Moore R, et al. Impact of NRTIs on lipid levels among a large HIV-infected cohort initiating antiretroviral therapy in clinical care. AIDS. 2011;25:185–95.
38. Randell PA, Jackson AG, Boffito M, Back DJ, Tjia JF, Taylor J, et al. Effect of boosted fosamprenavir or lopinavir-based combinations on whole-body insulin sensitivity and lipids in treatment-naive HIV-type-1-positive men. Antivir Ther. 2010;15:1125–32.
39. Palios J, Ikonomidis I, Lekakis J, Tsiodras S, Poulakou G, Antoniadou A, et al. Microcirculatory vascular dysfunction in HIV-1 infected patients receiving highly active antiretroviral therapy. Microcirculation. 2010;17:303–10.
40. Tungsiripat M, Kitch D, Glesby MJ, Gupta SK, Mellors JW, Moran L, et al. A pilot study to determine the impact on dyslipidemia of adding tenofovir to stable background antiretroviral therapy: ACTG 5206. AIDS. 2010;24:1781–4.
41. Bunupuradah T, van der Lugt J, Kosalaraksa P, Engchanil C, Boonrak P, Puthanakit T, et al. Safety and efficacy of a double-boosted protease inhibitor combination, saquinavir and lopinavir/ritonavir, in pretreated children at 96 weeks. Antivir Ther. 2009;14:241–8.
42. Calza L, Manfredi R, Colangeli V, Pocaterra D, Rosseti N, Pavoni M, et al. Efficacy and safety of atazanavir-ritonavir plus abacavir-lamivudine or tenofovir-emtricitabine in patients with hyperlipidaemia switched from a stable protease inhibitor-based regimen including one thymidine analogue. AIDS Patient Care STDs. 2009;23:691–7.
43. Carosi G, Lazzarin A, Stellbrink H, Moyle G, Rugina S, Staszewsk S, et al. Study of once-daily versus twice-daily fosamprenavir plus ritonavir administered with abacavir/lamivudine once daily in antiretroviral-naïve HIV-1-infected adult subjects. HIV Clin Trials. 2009;10:356–67.
44. Kim JY, Zaoutis T, Chu J, Zhao H, Rutstein R. Effects of highly active antiretroviral therapy (HAART) on cholesterol in HIV-1infected children: a retrospective cohort study. Pharmacoepidemiol Drug Saf. 2009;18:589–94.
45. Tao MM, Zhang L, Qiu ZF, Xie J, Han Y, Yu W, et al. Adipokines and highly active antiretroviral therapy related lipodystrophy: clinical study of 52 cases. Zhonghua Yi Xue Za Zhi. 2009;89:867–71.
46. Williams P, Wu J, Cohn S, Koletar S, McCutchan J, Murphy R, et al. Improvement in lipid profiles over 6 years of follow-up in adults with AIDS and immune reconstitution. HIV Med. 2009;10:290–301.
47. Estrada V, Fuster M. Darunavir in treatment-naïve patients. The ARTEMIS study. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2008;26 Suppl 10:10–3.
48. Calza L, Manfredi R, Pocaterra D, Chiodo F. Efficacy and tolerability of a fosamprenavir-ritonavir-based versus a lopinavir-ritonavir-based antiretroviral treatment in 82 therapy-naïve patients with HIV-1 infection. Int J STD AIDS. 2008;19:541–4.
49. Farhi L, Lima DB, Cunha CB. Dyslipidemia in HIV/AIDS patients in antiretroviral therapy in a university hospital, Rio de Janeiro, Brazil. J Bras Patol Med Lab. 2008;44:175–84.
50. Ananworanich J, Gayet-Ageron A, Ruxrungtham K, Chetchotisakd P, Prasithsirikul W, Kiertiburanakul S, et al. Long-term efficacy and safety of first-line therapy with once-daily saquinavir/ritonavir. Antivir Ther. 2008;13:375–80.
51. Pupulin ART, Cassarotti D, Mosko L, Ando MH, Spack Junior SV, Amado CAB. Prevalence of cardiovascular risk in patients

who make use of antiretroviral therapy. Rev Bras Anal Clin. 2008;40:183–6.
52. Domingo P, Suárez-Lozano I, Torres F, Teira R, Lopez-Aldeguer J, Vidal F, et al. First-line antiretroviral therapy with efavirenz or lopinavir/ritonavir plus two nucleoside analogues: the SUSKA study, a non-randomized comparison from the VACH cohort. J Antimicrob Chemother. 2008;61:1348–58.
53. Colafigli M, Di Giambenedetto S, Bracciale L, Tamburrini E, Cauda R, De Luca A. Cardiovascular risk score change in HIV-1-infected patients switched to an atazanavir-based combination antiretroviral regimen. HIV Med. 2008;9:172–9.
54. Kosalaraksa P, Bunupuradah T, Engchanil C, Boonrak P, Intasan J, Lumbiganon P, et al. Double boosted protease inhibitors, saquinavir, and lopinavir/ritonavir, in nucleoside pretreated children at 48 weeks. Pediatr Infect Dis J. 2008;27:623–8.
55. Tassiopoulos K, Williams PL, Seage GR, 3rd, Crain M, Oleske J, Farley J. Association of hypercholesterolemia incidence with antiretroviral treatment, including protease inhibitors, among perinatally HIV-infected children. J Acquir Immune Defic Syndr. 2008;47:607–14.
56. Aurpibul L, Puthanakit T, Lee B, Mangklabruks A, Sirisanthana T, Sirisanthana V. Lipodystrophy and metabolic changes in HIV-infected children on non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor-based antiretroviral therapy. Antivir Ther. 2007;12:1247–54.
57. Kumar PN, Rodriguez-French A, Thompson MA, Tashima KT, Averitt D, Wannamaker PG, et al. A prospective, 96-week study of the impact of trizivir, combivir/nelfinavir, and lamivudine/stavudine/nelfinavir on lipids, metabolic parameters and efficacy in antiretroviral-naive patients: effect of sex and ethnicity. HIV Med. 2006;7:85–98.
58. Castro-Sansores CJ, Santos-Rivero A, Lara-Perera D, González-Martínez P, Alonso-Salomón G, Góngora-Biachi RA. Hyperlipidemia and glucose intolerance in patients with HIV infection receiving antiretroviral therapy. Salud Publica Mex. 2006;48:193–9.
59. De Luca A, Cozzi-Lepri A, Antinori A, Zaccarelli M, Bongiovanni M, Di Giambenedetto S, et al. Lopinavir/ritonavir or efavirenz plus two nucleoside analogues as first-line antiretroviral therapy: a non-randomized comparison. Antivir Ther. 2006;11:609–18.
60. Jones R, Sawleshwarkar S, Michailidis C, Jackson A, Mandalia S, Stebbing J, et al. Impact of antiretroviral choice on hypercholesterolaemia events: the role of the nucleoside reverse transcriptase inhibitor backbone. HIV Med. 2005;6:396–402.
61. Keiser PH, Session MG, DeJesus E, Rodriguez A, Olliffe JF, Williams VC, et al. Substituting abacavir for hyperlipidemia-associated protease inhibitors in HAART regimens improves fasting lipid profiles, maintains virologic suppression, and simplifies treatment. BMC Infect Dis. 2005;5:2.
62. Viganò A, Aldrovandi GM, Giacomet V, Merlo M, Martelli L, Beretta S, et al. Improvement in dyslipidaemia after switching stavudine to tenofovir and replacing protease inhibitors with efavirenz in HIV-infected children. Antivir Ther. 2005;10:917–24.
63. Lucas GM, Chaisson RE, Moore RD. Survival in an urban HIV-1 clinic in the era of highly active antiretroviral therapy: a 5-year cohort study. J Acquir Immune Defic Syndr. 2003;33:321–8.
64. Christeff N, Melchior JC, Truchis P, Perronne C, Gougeon ML. Increased serum interferon alpha in HIV-1 associated lipodystrophy syndrome. Eur J Clin Invest. 2002;32:43–50.
65. Galli M, Ridolfo AL, Adorni F, Gervasoni C, Ravasio L, Corsico L, et al. Body habitus changes and metabolic alterations in protease inhibitor-naïve HIV-1-infected patients treated with two nucleoside reverse transcriptase inhibitors. J Acquir Immune Defic Syndr. 2002;29:21–31.
66. Fauvel J, Bonnet E, Ruidavets JB, Ferrières J, Toffoletti A, Massip P, et al. An interaction between apo C-III variants and protease inhibitors contributes to high triglyceride/low HDL levels in treated HIV patients. AIDS. 2001;15:2397–406.
67. Rakotoambinina B, Médioni J, Rabian C, Jubault V, Jais JP, Viard JP. Lipodystrophic syndromes and hyperlipidemia in a cohort of HIV-1-infected patients receiving triple combination antiretroviral therapy with a protease inhibitor. J Acquir Immune Defic Syndr. 2001;27:443–9.
68. Thiébaut R, Dequae-Merchadou L, Ekouevi DK, Mercié P, Malvy D, Neau D, et al. Incidence and risk factors of severe hypertriglyceridaemia in the era of highly active antiretroviral therapy: the Aquitaine Cohort, France, 1996-99. HIV Med. 2001;2:84–8.
69. Vergis EN, Paterson DL, Wagener MM, Swindells S, Singh N. Dyslipidaemia in HIV-infected patients: association with adherence to potent antiretroviral therapy. Int J STD AIDS. 2001;12:463–8.
70. Carr A, Samaras K, Thorisdottir A, Kaufmann GR, Chisholm DJ, Cooper DA. Diagnosis, prediction, and natural course of HIV-1 protease-inhibitor-associated lipodystrophy, hyperlipidaemia, and diabetes mellitus: a cohort study. Lancet. 1999;353(9170):2093–9.
71. Schmidt HH, Behrens G, Genschel J, Stoll M, Dejam A, Haas R, et al. Lipid evaluation in HIV-1-positive patients treated with protease inhibitors. Antivir Ther. 1999;4:163–70.
72. Hruz PW, Murata H, Mueckler M. Adverse metabolic consequences of HIV protease inhibitor therapy: the search for a central mechanism. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2001;280:E549–53.
73. Graham NM. Metabolic disorders among HIV-infected patients treated with protease inhibitors: a review. J Acquir Immune Defic Syndr. 2000;25 Suppl 1:S4–11.
74. Panse I, Vasseur E, Raffin-Sanson ML, Staroz F, Rouveix E, Saiag P. Lipodystrophy associated with protease inhibitors. Br J Dermatol. 2000;142:496–500.
75. Mathé G. Human obesity and thinness, hyperlipidemia, hyperglycemia, and insulin resistance associated with HIV1 protease inhibitors. Prevention by alternating several antiproteases in short sequences. Biomed Pharmacother. 1999;53:449–51.
76. Carr A, Samaras K, Chisholm DJ, Cooper DA. Pathogenesis of HIV-1-protease inhibitor-associated peripheral lipodystrophy, hyperlipidaemia, and insulin resistance. Lancet. 1998;351(9119):1881–3.
77. Calza L, Manfredi R, Chiodo F. Hyperlipidaemia in patients with HIV-1 infection receiving highly active antiretroviral therapy: epidemiology, pathogenesis, clinical course and management. Int J Antimicrob Agents. 2003;22:89–99.
78. Fredrickson DS. Phenotyping. On reaching base camp (1950-1975). Circulation. 1993;87 4 Suppl:III1–15.
79. Zamora L, Gatell JM. Efficacy of atazanavir in simplification regimens. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2008;26 Suppl 17:14–21.
80. Portilla J, Boix V, Merino E, Reus S. Efficacy of atazanavir in rescue therapy. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2008;26 Suppl 17:22–7.
81. Moyle G. Overcoming obstacles to the success of protease inhibitors in highly active antiretroviral therapy regimens. AIDS Patient Care STDS. 2002;16:585–97.
82. DAD Study GroupFriis-Møller N, Reiss P, Sabin CA, Weber R, Monforte A, El-Sadr W, et al. Class of antiretroviral drugs and the risk of myocardial infarction. N Engl J Med. 2007;356:1723–35.
83. Friis-Møller N, Thiébaut R, Reiss P, Weber R, Monforte AD, De Wit S, et al. Predicting the risk of cardiovascular disease in

HIV-infected patients: the data collection on adverse effects of anti-HIV drugs study. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil. 2010;17:491–501.
84. Sabin CA, Worm SW, Weber R, Reiss P, El-Sadr W, Dabis F, et al., DAD Study Group. Use of nucleoside reverse transcriptase inhibitors and risk of myocardial infarction in HIV-infected patients enrolled in the DAD study: a multi-cohort collaboration. Lancet. 2008;371(9622): 1417–26.
85. Dubé MP, Stein JH, Aberg JA, Fichtenbaum CJ, Gerber JG, Tashima KT, et al. Guidelines for the evaluation and management of dyslipidemia in human immunodeficiency virus (HIV) – infected adults receiving antiretroviral therapy: recommendations of the HIV Medicine Association of the Infectious Disease Society of America and the Adult AIDS Clinical Trials Group. Clin Infect Dis. 2003;37:613–27.
86. Dubé MP, Sprecher D, Henry WK, Aberg JA, Torriani FJ, Hodis HN, et al. Preliminary guidelines for the evaluation and management of dyslipidemia in adults infected with human immunodeficiency virus and receiving antiretroviral therapy: recommendations of the Adult AIDS Clinical Trial Group Cardiovascular Disease Focus Group. Adult AIDS Clinical Trial Group Cardiovascular Disease Focus Group. Clin Infect Dis. 2000;31:1216–24.
87. Vergès B, Petit JM. Blood lipid abnormalities during treatment with protease inhibitors. Presse Med. 2001;30:911–4.
88. Bastard JP, Caron M, Vidal H, Jan V, Auclair M, Vigouroux C, et al. Association between altered expression of adipogenic factor SREBP1 in lipoatrophic adipose tissue from HIV-1-infected patients and abnormal adipocyte differentiation and insulin resistance. Lancet. 2002;359(9311):1026–31.

CURRÍCULO LATTES DA MESTRANDA

Suelen Jorge de Souza

Endereço para acessar este CV: http://lattes.cnpq.br/1887853050624102
Última atualização do currículo em 10/09/2013

Atualmente é Mestranda em Nutrição em Saúde Pública pela Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (FSP/USP). Nutricionista graduada pela FSP/USP (2010). **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome	Suelen Jorge de Souza
Nome em citações bibliográficas	SOUZA, S. J.;SOUZA, SUELEN JORGE

Endereço

Endereço Profissional	Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública. Av. Dr. Arnaldo, 715 Cerqueira Cesar 01246904 - Sao Paulo, SP - Brasil

Formação acadêmica/titulação

2011	Mestrado em andamento em Nutrição em Saúde Pública. Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Efeito da ingestão de chocolate e erva mate no perfil lipídico e oxidativo de indivíduos com HIV/AIDS em uso de terapia antirretroviral,Orientador: Patricia Helen de Carvalho Rondó. Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo. Palavras-chave: perfil lipídico; HIV/AIDS; Chocolate; Chá mate; Oxidação; Terapia Antirretroviral. Grande área: Ciências da Saúde / Área: Nutrição.
2006 - 2010	Graduação em Nutrição. Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

Formação Complementar

2011 - 2011	Extensão universitária em Curso de Difusão Pacote Estatístico STATA. (Carga horária: 24h). Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.
2010 - 2010	Capacitação em Terapia Cognitivo Comportamental. (Carga horária: 8h). Centro de Referência de Álcool, Tabaco e outras drogas.
2006 - 2006	IV Curso da Liga de Obesidade Infantil da Faculd. (Carga horária: 8h). Universidade de São Paulo, USP, Brasil.
2006 - 2006	XXVI Curso Introdutório à Liga de Controle de Di. (Carga horária: 12h). Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

CURRÍCULO LATTES DA ORIENTADORA

Patricia Helen de Carvalho Rondó

Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq - Nível 1B

Endereço para acessar este CV: http://lattes.cnpq.br/3061667720023102
Última atualização do currículo em 06/09/2013

Graduada em Medicina, Residência em Pediatria, Especializações em Pediatria e Saúde Pública, Mestrado em Saúde Pública pela Faculty of Medicine, Leeds University, Inglaterra (1988) e PhD em Saúde Pública pela Faculty of Medicine, University of London, Inglaterra (1994). Professor Visitante no Institute of Child Health, University of London em 2005-2006 (3 meses) com Bolsa Erasmus Mundus da Comunidade Européia. Atualmente é Professora Titular da Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo - USP e Diretora do Centro de Saúde Escola Geraldo de Paula Souza da Faculdade de Saúde Pública, USP. Membro do International Advisory Board do Journal of Tropical Pediatrics da Inglaterra e relatora de inúmeras revistas internacionais e nacionais como Lancet, European Journal of Clinical Nutrition, American Journal of Public Health, Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, Cadernos de Saúde Pública, Revista de Saúde Pública, etc. Fellow da Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene e da British Nutrition Society, Inglaterra. Consultora ad-doc da FAPESP, CNPq e CAPES, além de outras agências de fomento à pesquisa. Orientou 15 alunos de Pós-Graduação: 9 de mestrado e 6 de doutorado. Coordenou 13 projetos com financiamento da FAPESP e colaborou em 2 projetos da FAPESP e 1 projeto com financiamento da Overseas Development Agency, Inglaterra. Colaboração em pesquisa com as universidades de Londres e Southampton na Inglaterra. Experiência em Nutrição, Epidemiologia e Saúde Materno-Infantil, atuando principalmente nos seguintes temas: fatores de risco para baixo peso ao nascimento, restrição de crescimento intra -uterino e prematuridade; baixo peso ao nascer, restrição de crescimento intrauterino e doenças cronicas na idade adulta; avaliação e controle da deficiência de micronutrientes. **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome	Patricia Helen de Carvalho Rondó
Nome em citações bibliográficas	RONDÓ PHC;RONDÓ PHD;RONDO PH;SCHILLING PR;RONDO PHC;RONDO PHD;RONDO, P H C;RONDÓ, P H C;RONDÓ, PATRÍCIA HELEN CARVALHO;RONDÓ, P H

Endereço

Endereço Profissional	Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, Departamento de Nutrição. AV DOUTOR ARNALDO 715 CERQUEIRA CESAR 01246-904 - Sao Paulo, SP - Brasil Telefone: (11) 30617867 Fax: (11) 30822653 URL da Homepage: www.fsp.usp.br

Formação acadêmica/titulação

2007	Livre-docência. Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Peso ao nascimento e complacência arterial, Ano de obtenção: 2007. Palavras-chave: baixo peso ao nascer; complacência arterial. Grande área: Ciências da Saúde / Área: Medicina / Subárea: Saúde Materno-Infantil. Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Saúde Coletiva / Subárea: Saúde Pública. Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Nutrição. Setores de atividade: Nutrição e Alimentação; Cuidado À Saúde das Populações Humanas.
2006 - 2007	Pós-Doutorado. University Of London. Bolsista do(a): Erasmus Mundus-European Community.
1994 - 1997	Pós-Doutorado. Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Brasil. Grande área: Ciências da Saúde / Área: Nutrição / Subárea: Análise Nutricional de População / Especialidade: Antropometria. Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Nutrição / Subárea: Desnutrição e Desenvolvimento Fisiológico. Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Medicina / Subárea: Saúde Materno-Infantil.
1989 - 1993	Doutorado em Public Health. University of London, UL, Inglaterra.