Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública

**Efeito da ingestão de chocolate e erva mate
na elasticidade arterial de indivíduos
com HIV/aids em terapia antirretroviral**

Andrea Mariana Nunes da Costa Teixeira

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

Área de concentração: Nutrição

Orientadora: Prof^a. Titular Patrícia Helen de Carvalho Rondó

São Paulo

2013

Efeito da ingestão de chocolate e erva mate na elasticidade arterial de indivíduos com HIV/aids em terapia antirretroviral

Andrea Mariana Nunes da Costa Teixeira

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

Área de concentração: Nutrição

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 tese/dissertação.

*Aos pacientes.
Pela disponibilidade, contribuição, convívio e aprendizado*

A Deus, por sua presença constante, iluminando meus caminhos.

Aos meus pais, Ana e Antonio, e meu irmão Antonio, por me fazerem desenvolver o prazer pelo estudo, e me incentivarem a sempre ir além.

Ao Cassiano, meu amigo, meu confidente, meu cúmplice. Fortalecemos nossos laços apesar da ausência e das dificuldades, e iniciamos novo ciclo na nossa caminhada.

Aos meus sogros, Vally e Fúlvio, por todo o apoio e amizade.

Aos meus amigos, os quais eu prefiro não nomear sob o risco de esquecer, pela confiança, pela paciência, pelo desencontro, pelo incentivo.

Aos meus alunos, coordenadores e colegas de trabalho, por serem lembrança viva do meu objetivo.

Agradeco

A minha orientadora Prof^a Patricia Helen de Carvalho Rondó pela oportunidade, pelo tempo concedido, pela agradável companhia durante essa jornada.

A Dra. Liania Alves Luzia, por permitir que eu fizesse parte do seu projeto. Pela disposição em ajudar, em ouvir... e pelas risadas - mesmo nos momentos mais inoportunos.

Ao Prof^o José Maria Pacheco pela dedicação durante suas contribuições nas análises estatísticas.

A Prof^a Sigrid Santos por todo apoio durante a execução da pesquisa.

A Prof^a Sandra Roberta Gouvea Ferreira Violo pela compreensão e pelas "provocações," essenciais ao enriquecimento do trabalho.

A Prof^a Deborah Helena Markowicz Bastos, nutricionista Mariana Corrêa de Almeida e farmacêutica Cristiane Dertinatti pelo auxílio na formulação da erva mate.

A Dra. Priscilla Efraim da UNICAMP, e a Arali, Everaldo e Cláudio da JAF Inox® pela grande ajuda no desenvolvimento das barras de chocolate.

Ao Profº Aluisio Augusto Cotrim Segurado e ao Hospital Emílio Ribas por terem possibilitado a realização da pesquisa nas Instituições.

Aos funcionários da "Casa da Aids" e do Hospital Emílio Ribas, em especial à Camila, Karen, Hatsue, Ana Paula, Richard, Nilma, Marcos e Luciana, que contribuíram de maneira fundamental para o desenvolvimento dessa pesquisa.

À Suelen, paciente amiga e companheira, com quem pude dividir o encantamento, as lágrimas, os sorrisos, as orações, e as xícaras de café.

À Aline Petrilli, Patrícia Pontilho, Natália Dias, Jennifer Tanaka, Andrea Junqueira, Antonio Augusto e outros tantos companheiros de mestrado, pelo companheirismo e suporte.

A Rosana, do laboratório de bromatologia, pela disposição, pela aleatorização das intervenções e principalmente, pelas gargalhadas.

Aos funcionários da Faculdade de Saúde Pública, em especial a Dra. Geni do laboratório de bromatologia, Dra. Ana Paula do laboratório de Técnica Dietética, ao motorista Joel, ao Bastos, a secretária do Departamento de Nutrição Roseli, e a Vânia e a 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 corante caramelo, a Danisco Brasil® pela doação da polidextrose e do emulsificante poliglicerol poliricinolato, e a Corn Products® pela doação do corante caramelo.

A Fundação de Amparo a Pesquisa de São Paulo - FAPESP (Processo 2009/52250-5) pelo auxílio financeiro concedido para a realização da pesquisa.

A todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização desta pesquisa e finalização da dissertação.

Teixeira AMNC. **Efeito da ingestão de chocolate e erva mate na elasticidade arterial de indivíduos com HIV/aids em terapia antirretroviral** [Dissertação de Mestrado em Nutrição em Saúde Pública] São Paulo. Faculdade de Saúde Pública da USP; 2013.

Introdução - Estudos mostram maior ocorrência de complicações cardiovasculares na população HIV/aids. Alguns estudos envolvendo animais e indivíduos saudáveis ou com outras doenças observaram benefícios no consumo de chocolate e erva mate na função endotelial e vasodilatação. **Objetivo** – Avaliar o efeito da ingestão de chocolate e erva mate na elasticidade arterial de indivíduos com HIV/aids em terapia antirretroviral. **Métodos** – Ensaio clínico cruzado, aleatorizado e duplo-cego, envolvendo 89 indivíduos com HIV/aids entre 19 e 59 anos, em tratamento regular com antirretrovirais por no mínimo 6 meses, e carga plasmática do HIV <500 cópias/ml. Os indivíduos receberam suplementação diária com aproximadamente 65g de chocolate amargo, 3g de erva mate ou respectivos placebos por 15 dias, com *washout* de igual tempo entre as intervenções. A aferição da elasticidade arterial foi realizada por análise do formato da onda de pulso com o equipamento HDI/PulseWaveTM CR-2000®. Também foram avaliados: composição corporal, glicemia, perfil lipídico, proteína C-reativa e concentração plasmática de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). As respostas entre tratamentos foram avaliadas por ANOVA e por teste t de *Student* pelo Stata® 11.0, considerando-se $p < 0,005$. **Resultados** – A população foi composta principalmente por homens (62,9%) caucasianos (46,1%) com idade média de $44,6 \pm 7,1$ anos. O tempo médio de diagnóstico de HIV/aids foi de $13,2 \pm 4,8$ anos com $10,6 \pm 5,1$ anos de terapia antirretroviral. Não foram encontradas diferenças significantes na elasticidade arterial dos pequenos e grandes vasos após as suplementações. **Conclusão** – Este é o primeiro estudo a avaliar o efeito da ingestão de erva mate e chocolate na elasticidade arterial de indivíduos com HIV/aids. Apesar das evidências positivas desses alimentos na saúde cardiovascular de animais e indivíduos com outras doenças, os mesmos efeitos não foram observados neste estudo. Provavelmente o tempo de suplementação, a biodisponibilidade das substâncias bioativas e o metabolismo alterado desses indivíduos interferiram nos resultados obtidos, sugerindo a necessidade de melhor investigação desses fatores.

Descritores: Elasticidade arterial, HIV, Terapia antirretroviral, Doenças cardiovasculares, Cacau, *Ilex paraguariensis*.

Teixeira AMNC. **Efeito da ingestão de chocolate e erva mate na elasticidade arterial de indivíduos com HIV/aids em terapia antirretroviral / The effect of chocolate and *yerba maté* intake on arterial elasticity of HIV/aids patients on antiretroviral therapy** [Dissertation] São Paulo (BR): Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; 2013.

Introduction – There has been an increase on cardiovascular diseases occurrence in the HIV/aids population. Some studies involving animals and healthy individuals or individuals with other pathologies have shown benefits on endothelial function and vasodilation under use of chocolate and *yerba maté*. **Objective** – To evaluate the effect of chocolate and *yerba maté* intake on HIV/aids patient's arterial elasticity. **Methods** – Double-blind crossover trial including 89 HIV/aids patients, 19 to 59 years of age, on antiretroviral therapy for at least six months, and with viral load <500copies/ml. The individuals consumed daily approximately 65g of dark chocolate, 3g of *yerba maté* or placebo during 15 days, followed by a 15-day washout period after each intervention. Arterial elasticity was measured using the HDI/PulseWave™ CR-2000 CardioVascular Profiling System®, which provides a pulse wave contour analysis. Body composition, glycemie index, lipid profile, C-reactive protein and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) were also assessed. The crossover analysis was performed using analysis of variance (ANOVA) on Stata®. The paired Student's t-test was also applied. A p value <0.05 was considered significant. **Results** – Most of the individuals were men (62.9%), caucasian (46.1%) aging 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 antiretroviral therapy. There were no significant alterations on elasticity of either large or small arteries after chocolate and *yerba maté* intake. **Conclusion** – This is the first research to evaluate the effect of chocolate and *yerba maté* intake on HIV/aids patient's arterial elasticity. Despite of the positive evidence of these foods on cardiovascular health of animals and populations with other pathologies, the same effects were not observed in this study. Most probably the time of intervention, the bioavailability of the bioactive substances and the altered metabolism of this individuals interfered on the results, which indicates the need for further investigation.

Key words: Arterial elasticity, HIV, Antiretroviral therapy, Cardiovascular diseases, Cacao, *Ilex paraguariensis*.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	19
1.1 FISIOPATOLOGIA DA INFECÇÃO POR HIV	19
1.2 EPIDEMIOLOGIA DA INFECÇÃO POR HIV	21
1.3 TERAPIA ANTIRRETROVIRAL	22
1.4 RISCO CARDIOVASCULAR E HIV/aids	25
1.5 AVALIAÇÃO DA ELASTICIDADE ARTERIAL	31
1.6 ALIMENTOS E SISTEMA VASCULAR	34
1.6.1 Cacau	34
1.6.2 Erva Mate	36
2. JUSTIFICATIVA	39
3. OBJETIVO	40
4. MÉTODOS	41
4.1 LOCAL DO ESTUDO	41
4.2 PREPARAÇÃO PARA COLETA DE DADOS	41
4.2.1 Pré Teste	41
4.2.2 Treinamento dos Pesquisadores	42
4.3 SELEÇÃO DA AMOSTRA	42
4.4 INTERVENÇÃO	43
4.4.1 Chocolate	46
4.4.2 Erva Mate	47
4.5 COLETA DE DADOS	48
4.5.1 Coleta de Sangue	48
4.5.2 Avaliação Clínica	49
4.5.3 Avaliação da Elasticidade Arterial	50
4.5.4 Avaliação do Estado Nutricional	52
4.5.5 Avaliações Laboratoriais	56

	10
4.6 QUESTÕES ÉTICAS	57
4.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	58
<u>5. RESULTADOS</u>	<u>62</u>
5.1 ABRANGÊNCIA DO ESTUDO	62
5.2 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA AMOSTRA	65
5.2.1 Características Demográficas e Socioeconômicas	65
5.2.2 Estilo de Vida	67
5.2.3 Infecção Por HIV, Uso de Medicamentos e História Familiar	68
5.2.4 Estado Nutricional	69
5.2.5 Exames Bioquímicos	72
5.3 DESCRIÇÃO DA INTERVENÇÃO E VARIÁVEIS RESPOSTA	74
5.3.1 Alocação dos Indivíduos nos Diferentes Tratamentos	74
5.3.2 Adesão aos Suplementos	74
5.3.3 Acompanhamento das Variáveis Biológicas	76
5.3.4 Elasticidade Arterial	78
<u>6. DISCUSSÃO</u>	<u>86</u>
6.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA AMOSTRA	86
6.2 ELASTICIDADE ARTERIAL	90
6.2.1 Tempo e Dose de Tratamento	92
6.2.2 Biodisponibilidade dos Compostos Bioativos	97
6.2.3 Metabolismo de Indivíduos com HIV/Aids	101
<u>7. CONCLUSÕES</u>	<u>104</u>
<u>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	<u>105</u>
<u>9. APÊNDICES</u>	<u>125</u>
APÊNDICE 1 – Cartaz de divulgação da pesquisa	125
APÊNDICE 2 – Folheto de divulgação da pesquisa	126
APÊNDICE 3 – Questionário de recusa	127

APÊNDICE 4 - <i>Checklist</i> de participação na pesquisa	128
APÊNDICE 5 –Panfleto para controle de intervenção dos pacientes	129
APÊNDICE 6 – Embalagens utilizadas para os suplementos	130
APÊNDICE 7 - Questionário socioeconômico	131
APÊNDICE 8– Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	133
APÊNDICE 9 – Análises estatísticas considerando os pacientes com adesão aos suplementos acima de 80% e que completaram a pesquisa	136
APÊNDICE 10 - Características somente dos indivíduos que completaram todas as fases de intervenção	141
APÊNDICE 10 - Análise estatística das variáveis resposta somente para os indivíduos que completaram todas as fases de intervenção	142
<u>10. ANEXOS</u>	<u>147</u>
ANEXO 1 – Questionário Internacional de Atividade Física –versão curta	147
ANEXO 2 – Exemplo de formulário de resultados de elasticidade arterial	149
ANEXO 3 – Diretriz de Elasticidade Arterial.	150
ANEXO 4 - Carta de aprovação da pesquisa no Comitê de ética da FSP/ USP	151
ANEXO 5 - Carta de aprovação da pesquisa no Comitê de ética da FM/USP	152
<u>11. CURRÍCULO LATTES</u>	<u>153</u>

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição nutricional das barras de chocolate (65g) utilizadas na intervenção. São Paulo, 2013.	46
Tabela 2. Valores de referência para índice de massa corporal (IMC).	53
Tabela 3. Valores de referência para circunferência de cintura.	53
Tabela 4. Valores de referência para percentual de gordura.	54
Tabela 5. Distribuição de adultos com HIV/aids em terapia antirretroviral e motivos de exclusão da pesquisa, segundo sexo. São Paulo, 2013.	65
Tabela 6. Distribuição, médias e desvio-padrão dos participantes da pesquisa, segundo características demográficas e socioeconômicas. São Paulo, 2013.	66
Tabela 7. Distribuição dos participantes da pesquisa, segundo hábitos de vida. São Paulo, 2013.	67
Tabela 8. Distribuição, médias e desvio-padrão (DP) dos participantes segundo peso, altura e IMC. São Paulo, 2013.	70
Tabela 9. Distribuição, médias e desvio-padrão (DP) dos participantes da pesquisa, de acordo com características antropométricas. São Paulo, 2013.	71
Tabela 10. Distribuição, médias e desvio-padrão (DP) dos participantes da pesquisa, de acordo com exames bioquímicos. São Paulo, 2013.	73
Tabela 11. Distribuição dos participantes da pesquisa segundo tratamento e fase da pesquisa. São Paulo, 2013.	74
Tabela 12. Mínimo, máximo, médias e desvios padrão (DP) da ingestão dos suplementos pelos participantes da pesquisa. São Paulo, 2013.	75
Tabela 13. Médias e desvios padrão (DP) das variáveis antropométricas e bioquímicas dos pacientes de acordo com os tipos de intervenção. São Paulo, 2013	77
Tabela 14. Médias e desvio padrão (DP) da elasticidade arterial no <i>baseline</i> e após suplementação com chocolate e placebo de chocolate dos participantes que completaram a pesquisa (n=79). São Paulo, 2013.	78

- Tabela 15.** Diferenças (Δ) médias e desvio padrão (DP) da elasticidade arterial dos participantes após suplementação com chocolate e placebo de chocolate em relação ao *baseline* (n=85). São Paulo, 2013. 80
- Tabela 16.** Diferenças (Δ) médias e desvio padrão (DP) da elasticidade arterial dos participantes após suplementação com erva mate e placebo de erva mate em relação ao *baseline* (n=83). São Paulo, 2013. 80
- Tabela 17.** Análise de variância da elasticidade arterial dos grandes vasos (LAEI) dos participantes que completaram a pesquisa (n=79) após as suplementações com chocolate, placebo de chocolate, erva mate e placebo de erva mate. São Paulo, 2013. 81
- Tabela 18.** Análise de variância de elasticidade arterial dos pequenos vasos (SAEI) dos participantes que completaram a pesquisa (n=79) após as suplementações com chocolate, placebo de chocolate, erva mate e placebo de erva mate. São Paulo, 2013. 81
- Tabela 19.** Médias, desvio padrão (DP) e análise de variância de elasticidade arterial dos grandes vasos (LAEI) dos participantes que consumiram o chocolate e placebo de chocolate (n=85). São Paulo, 2013. 82
- Tabela 20.** Médias, desvio padrão (DP) e análise de variância de elasticidade arterial dos pequenos vasos (SAEI) dos participantes que consumiram o chocolate e placebo de chocolate. São Paulo, 2013. 82
- Tabela 21.** Médias, desvio padrão (DP) e análise de variância de elasticidade arterial dos grandes vasos (LAEI) dos participantes que consumiram a erva mate e placebo de erva mate. São Paulo, 2013. 83
- Tabela 22.** Médias, desvio padrão (DP) e análise de variância de elasticidade arterial dos pequenos vasos (SAEI) dos participantes que consumiram a erva mate e placebo de erva mate. São Paulo, 2013. 83
- Tabela 23.** Médias, desvio padrão (DP) e análise de variância de elasticidade arterial dos grandes vasos (LAEI) dos participantes que completaram a pesquisa (n=79) após suplementação com chocolate e erva mate. São Paulo, 2013. 84
- Tabela 24.** Médias, desvio padrão (DP) e análise de variância de elasticidade arterial dos pequenos vasos (SAEI) dos participantes que completaram a pesquisa (n=79) após suplementação com chocolate e erva mate (n=79). São Paulo, 2013. 84

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Recomendações para o início de terapia antirretroviral.	23
Quadro 2. Antirretrovirais disponíveis segundo classes de medicamentos.	24
Quadro 3. Comparação dos métodos mais utilizados para avaliação não invasiva da elasticidade arterial na prática clínica.	31
Quadro 4. Bioativos da erva mate e efeitos cardioprotetores apontados.	37
Quadro 5. Classificação dos níveis de atividade física	50

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1.** Distribuição dos participantes da pesquisa segundo sexo e motivos de recusa da participação na pesquisa. São Paulo, 2013. 64
- Gráfico 2.** Distribuição dos participantes da pesquisa, segundo classificação da prática de atividade física. São Paulo, 2013. 68
- Gráfico 3.** Distribuição de dos participantes, segundo esquema de terapia antirretroviral utilizada no tratamento. São Paulo, 2013. 69
- Gráfico 4.** Distribuição (%) dos participantes da pesquisa, segundo sexo e risco cardiometabólico, de acordo com medida de circunferência de cintura. São Paulo, 2013. 71
- Gráfico 5.** Distribuição (%) dos participantes da pesquisa segundo sexo e estado nutricional, de acordo com percentual de gordura. São Paulo, 2013. 72
- Gráfico 6.** Distribuição dos participantes da pesquisa de acordo com o consumo dos suplementos. São Paulo, 2013. 75
- Gráfico 7.** Distribuição dos participantes de acordo com a classificação da elasticidade arterial dos grandes vasos. São Paulo, 2013. 79
- Gráfico 8.** Distribuição dos participantes de acordo com a classificação da elasticidade arterial dos pequenos vasos. São Paulo, 2013. 79

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação gráfica das camadas arteriais.	26
Figura 2. Fluxograma de intervenção do estudo.	44
Figura 3. Foto do equipamento <i>HDI/Pulsewave TM CR-2000®</i> .	51
Figura 4. Realização do exame de elasticidade arterial.	51
Figura 5. Foto do equipamento <i>Segmental Composition Analyser, MC 180-A®</i> .	55
Figura 6. Modelo de banco de dados utilizado para análise de variância.	59
Figura 7. Fluxograma de recrutamento dos indivíduos.	63

LISTA DE ABREVIATURAS

Aids - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ANOVA – Análise de variância
AVC – Acidente Vascular Cerebral
CDC- *Centers for Disease Control and Prevention*
CT – Colesterol Total
DCV – Doenças cardiovasculares
FM – Faculdade de Medicina
FSP – Faculdade de Saúde Pública
HDL – Lipoproteína de Alta Densidade
HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana
HPLC – *High Performance Liquid Chromatography*
IAM – Infarto Agudo do Miocárdio
IE - Inibidores de Entrada
IF - Inibidores de Fusão
II – Inibidores da Integrase
IMC – Índice de Massa Corporal
IP – Inibidores de Protease
IPAQ – Questionário Internacional de Atividade Física
ITAL – Instituto de Tecnologia de Alimentos
ITRN – Inibidores Nucleosídicos da Transcriptase Reversa
ITRNN – Inibidores Não Nucleosídicos da Transcriptase Reversa
LAEI – Índice de Elasticidade das Grandes Artérias
LDL – Lipoproteína de Baixa Densidade
MS – Ministério da Saúde
NO – Óxido Nítrico
OMS – Organização Mundial da Saúde
SAEI – Índice de Elasticidade das Pequenas Artérias
SEADE – Fundação Sistema Estadual de Análise de Dados
SEAP – Serviço de Atendimento ao Paciente HIV/aids “Casa da Aids”
TARV – Terapia Antirretroviral

TBARS – Espécies Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

TG – Triglicérides

UNAIDS - Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/aids

UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas

USP – Universidade de São Paulo

VIGITEL – Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por
inquérito telefônico

1. INTRODUÇÃO

1.1 FISIOPATOLOGIA DA INFECÇÃO POR HIV

O vírus da imunodeficiência humana (HIV), causador da síndrome da imunodeficiência adquirida (aids), é um retrovírus da família Retroviridae e do gênero Lentivírus, que foi trazido para a população através do contato com a carne contaminada de chimpanzés (SHARP e HAHN, 2011).

Como retrovírus, o HIV é um vírus RNA de fita simples, capaz de transformar-se em fita dupla de DNA (DNA pró viral) e assim integrar-se ao genoma de células infectadas no hospedeiro. Uma vez instalado, ainda utiliza mecanismos que garantem a reserva e disseminação viral no organismo, perpetuando sua existência (SABINO *et al.*, 2009).

A transmissão ocorre por meio da exposição percutânea ou via mucosa de um indivíduo saudável com fluidos orgânicos contaminados. Com exceção da urina e do suor, todos os fluidos orgânicos apresentam partículas virais, e, portanto, são potenciais contaminantes. Porém, o risco de infecção é proporcional à carga viral e à quantidade de fluidos a que o indivíduo se expõe (GUTIERREZ *et al.*, 2005; SABINO *et al.*, 2009). No Brasil, a via de transmissão mais comum prevalece sendo a sexual (MINISTÉRIO DA SAÚDE - MS, 2011a).

Após a entrada das partículas virais no hospedeiro, o HIV interage com as células imunes, principalmente através de receptores CD4 presentes em linfócitos T-CD4, monócitos, macrófagos, células dendríticas, dentre outras. Com a fusão das membranas celulares há liberação do conteúdo capsídico viral no citoplasma. O RNA viral é então transcrito em DNA de dupla hélice numa reação catalisada pela enzima transcriptase reversa, e em seguida, é incorporado ao núcleo e genoma da célula do hospedeiro pela enzima integrase, formando pró-vírus (GUTIERREZ *et al.*, 2005; SABINO *et al.*, 2009).

Subsequentemente a esse processo ocorre a tradução das proteínas virais na forma de poliproteínas precursoras, que junto com o RNA viral movem-se até a superfície da célula, possibilitando o brotamento da partícula viral imatura. Neste momento, a enzima protease quebra as poliproteínas em proteínas funcionantes,

amadurecendo o vírus e tornando-o capaz de infectar novas células (GUTIERREZ *et al.*, 2005; SABINO *et al.*, 2009).

A história natural da infecção por HIV varia de indivíduo a indivíduo, podendo ser estimada pela contagem de linfócitos T-CD4 em sangue periférico e pela carga plasmática viral. A evolução da infecção é caracterizada por uma ativação crônica do sistema imune e pode ser dividida em três fases, como segue: síndrome retroviral aguda, fase de latência clínica, fase de doença (aids) (FANALES-BELASIO *et al.*, 2010).

Após semanas do contato com o vírus, ocorre pico de viremia (carga viral 10^5 a 10^7 cópias/ml) e queda acentuada de linfócitos T-CD4 no sangue periférico. Nesse estágio, 40 a 90% dos infectados referem sintomas similares a uma gripe (SABINO *et al.*, 2009; DOUEK *et al.*, 2003).

Essa fase inicial é acompanhada de resposta imune do hospedeiro, havendo produção de anticorpos específicos contra HIV, detectáveis em três a quatro semanas do contato com o vírus, utilizando-se novas metodologias como os ensaios imunoenzimáticos (ELISA) de terceira ou quarta geração (MS, 2009; DASKALAKIS, 2011).

Em decorrência da resposta imune inata e adquirida contra o vírus, há uma redução importante da carga plasmática do HIV, estabelecendo-se um nível estável (*set point*), e recuperação discreta dos linfócitos T-CD4. Segue-se período assintomático ou subclínico, a fase de latência clínica, com duração de aproximadamente uma década. Entretanto, o crônico estado de ativação imune leva a lenta e progressiva destruição das células imunes, particularmente dos linfócitos T-CD4 (FANALES-BELASIO *et al.*, 2010).

Por fim, com a deterioração imune, o organismo passa a ser mais susceptível a infecções, seguindo-se o estágio mais avançado da doença, a aids. Nesse momento a contagem de linfócitos T-CD4 atinge nível crítico, abaixo de 200 células/mm³, há novo aumento da viremia, e o sistema imune debilitado permite o aparecimento de doenças oportunistas, como sarcoma de Kaposi, tuberculose extrapulmonar ou neurotoxoplasmose, e pode, eventualmente, levar o indivíduo a óbito (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION - CDC, 1993; FANALES-BELASIO *et al.*, 2010).

1.2 EPIDEMIOLOGIA DA INFECÇÃO POR HIV

Os primeiros casos de aids foram detectados em grandes centros urbanos, entre homens, homossexuais, com maior nível socioeconômico, no início dos anos 80. Contudo, a partir da década de 90 rapidamente o perfil da infecção mudou, com aumento da incidência entre jovens e adultos, e no sexo feminino (DOURADO *et al.*, 2006; SABINO *et al.*, 2009; GRANGEIRO, ESCUDER e CASTILHO, 2010; SHARP e HAHN, 2011). Atualmente, cerca de 50% da população adulta mundial que convive com o vírus é constituída por mulheres (MS, 2011a; UNAIDS, 2011a).

De acordo com estimativa do Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/aids (UNAIDS), 34 milhões de pessoas estavam infectadas pelo vírus em 2011, sendo o continente africano o mais acometido. Apesar dessa diferença entre regiões, a incidência da infecção vem diminuindo ao longo dos anos. Em 2011 foram notificados 2.5 milhões de novos casos, o que representa uma redução de 20% em relação a 2001 (UNAIDS, 2012).

A América Latina é considerada como tendo uma endemia, com prevalência de 1.2 milhões de indivíduos. Da população latina infectada, um terço vive no Brasil. Ainda assim, a prevalência relativa de infectados no país atualmente é de 0,4%, e não chega a 1% há pelo menos uma década (DOURADO *et al.*, 2006; MS, 2011a; UNAIDS, 2012). Ainda se observa maior prevalência nos grupos de maior vulnerabilidade, como usuários de drogas injetáveis, profissionais do sexo e homossexuais masculinos (GRANGEIRO, ESCUDER e CASTILHO, 2010; BARRETO *et al.*, 2011).

No Brasil, o controle da incidência deve-se ao sucesso de programa governamental, que levou à diminuição da transmissibilidade do vírus pela disponibilização universal e gratuita de medicação antirretroviral, e por campanhas de prevenção (campanhas de conscientização, doação de seringas descartáveis, distribuição de preservativos, segurança na transfusão de produtos sanguíneos, entre outros) (BARRETO *et al.*, 2011; MS, 2011a; UNAIDS, 2011b; UNAIDS, 2012; VILLARINHO *et al.*, 2013). Contudo, o desafio de controle da infecção ainda persiste. É notável o aumento da incidência entre mulheres, adolescentes e idosos (PINTO *et al.*, 2012; MOURA *et al.*, 2013; OLIVEIRA, PAZ E MELO, 2013; SANCHEZ *et al.*, 2013; TORRES *et al.*, 2013). No Brasil, enquanto em 1985 existiam

26 casos entre homens para cada mulher, no ano de 2010 a relação foi de 1.7 casos masculinos para cada um feminino (MS, 2011a).

A região Sudeste detém o maior número de casos acumulados (56%) no país, sendo São Paulo responsável por 60% das notificações. O estado foi o primeiro a diagnosticar um caso da doença na década de 80, e hoje soma 219.788 notificações (MS, 2012a; VILLARINHO *et al.*, 2013). Sua capital apresenta o maior número absoluto de casos de aids em decorrência da densidade populacional e características de grande centro urbano (SANTOS *et al.*, 2002).

1.3 TERAPIA ANTIRRETROVIRAL

Desde o início da epidemia da aids muito tem sido feito para proporcionar melhor qualidade de vida aos portadores do vírus (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE - OMS, 2010; VILLARINHO *et al.*, 2013). Nesse sentido, a terapia antirretroviral (TARV) foi um avanço no tratamento contra a aids, sendo capaz de reduzir as taxas de morbimortalidade (MS, 2000; STEHBENS, 2004; MELCHIOR *et al.*, 2007).

Estima-se que aproximadamente 2.5 milhões de mortes já foram evitadas a partir da implantação do tratamento. Segundo dados da UNAIDS, enquanto em 2005 foram registradas 2.2 milhões de mortes decorrentes do HIV, em 2010 foram 1.8 milhões. Devido a esses resultados, a prevalência mundial de pessoas que convivem com o HIV hoje é a maior desde o início das notificações (UNAIDS, 2010).

No Brasil, a TARV faz parte do Programa Nacional de DST/aids desde 1987. O programa foi criado em 1983, quando ainda não se conhecia o agente etiológico da aids, e evoluiu com os conhecimentos da imunopatogênese e do tratamento. O Programa tem sido referência mundial para o tratamento da aids, devido à garantia de acesso gratuito à TARV para todos os pacientes que tenham indicação de uso (DOURADO *et al.*, 2006; MELCHIOR *et al.*, 2007; MS, 2011b).

O início da TARV (Quadro 1) é recomendado a adolescentes e adultos - incluindo gestantes - assintomáticos com contagem de linfócitos T-CD4 ≤ 500 células/mm³, ou aqueles sintomáticos, independentemente da contagem de linfócitos T-CD4 apresentada (MS, 2013; OMS, 2010). A recomendação é que no início seja realizada a associação de dois inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (ITRN), a inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucleosídeo (ITRNN), ou a inibidor de protease (IP). O inibidor da protease pode ser utilizado

com ou sem a associação de ritonavir. Os determinantes da escolha dos medicamentos são a maior potência, a menor incidência de efeitos adversos e a posologia de mais fácil adesão. (MS, 2008; MS, 2013).

Quadro 1. Recomendações para o início de terapia antirretroviral (TARV).

Estado clínico / imunológico	Conduta
Sintomáticos Independentemente da contagem de linfócitos T-CD4	Iniciar TARV*
Assintomáticos Contagem de linfócitos T-CD4 ≤ 500 células/mm ³ Contagem de linfócitos T-CD4 > 500 células/mm ³ e: - coinfeção com hepatite B com indicação de tratamento - risco cardiovascular elevado - neoplasias com necessidade de tratamento imunossupressor Sem contagem de linfócitos T-CD4 ≤ 500 células/mm ³	Iniciar TARV* Iniciar TARV* Iniciar TARV* Considerar TARV* Considerar TARV* Não iniciar TARV*
Gestantes Independentemente da contagem de linfócitos T-CD4	Iniciar TARV*
Indivíduos com parceiro sorodiscordante Independentemente da contagem de linfócitos T-CD4	Iniciar TARV*

Fonte: Ministério da Saúde, 2013.

Os mecanismos de ação dos antirretrovirais envolvem bloqueio de ação enzimática em vários estágios do ciclo do HIV, objetivando a redução da carga viral e, portanto, da habilidade de transmissão do vírus, além do aumento da contagem de células T-CD4 no organismo (MS, 2011b; CDC, 2012). Atualmente, existem seis classes de medicamentos antirretrovirais disponíveis, os quais são apontados no Quadro 2.

Quadro 2. Antirretrovirais disponíveis segundo classes de medicamentos.

Classe de antirretroviral	Nome genérico	Sigla
Inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (ITRN)	Zidovudina Didanosina Didanosina – EC Estavudina Lamivudina Abacavir Tenofovir Emtricitabina*	ZDV ou AZT ddI ddI-EC d4T 3TC ABC TDF FTC
Inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos (ITRNN)	Nevirapina Efavirenz Etravirina	NVP EFV ETV
Inibidores de protease (IP)	Indinavir Ritonavir Nelfinavir Fosamprenavir Saquinavir Lopinavir Atazanavir Tripranavir* Darunavir	IDV RTV ou r NFV f-APV SQV LPV ATV TPV DRV
Inibidores de fusão (IF)	Enfurvitina	T-20
Inibidores de entrada (IE)	Maraviroc	MVC
Inibidores da integrase (II)	Raltegravir	RAL

Fonte: SABINO *et al.*, 2009; Ministério da Saúde, 2011b

A primeira classe a surgir foram os inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (ITRN), que atuam na enzima transcriptase reversa fazendo com que a enzima forme cadeia de DNA imperfeita, tornando o vírus defectivo (SABINO *et al.*, 2009; MS, 2011b).

Depois dos ITRN, houve a necessidade da criação de novos medicamentos a partir da observação do desenvolvimento da resistência viral, decorrente da alta taxa de variabilidade genética e replicação do HIV na vigência da monoterapia ou terapia dupla com ITRN. Assim, o grande progresso ocorreu no surgimento dos IP que bloqueiam a maturação do vírus e infecção de novas células (MS, 2008; SABINO *et al.*, 2009). Seu uso foi somado aos ITRN, resultando enfim no retardo da progressão da aids e na redução significativa da mortalidade (SABINO *et al.*, 2009).

Em seguida surgiram outras classes de medicamentos, como os inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos (ITRNN), inibidores da integrase (II), os inibidores de fusão (IF) e os inibidores de entrada (IE), que vieram a aumentar as possibilidades de tratamento (SABINO *et al.*, 2009).

Os ITRNN bloqueiam a enzima transcriptase reversa fora do sítio catalítico, impedindo assim a transcrição do DNA pelo RNA viral e, portanto, a multiplicação do HIV. Os II impedem que a enzima integrase insira o DNA viral no genoma hospedeiro, inibindo a replicação e a capacidade de infecção de novas células (SABINO *et al.*, 2009; MS, 2011b). E por fim, os IF e os IE representam as classes de medicamentos mais modernas, que impedem a entrada do vírus na célula: o primeiro impede a fusão das membranas celulares, enquanto o segundo bloqueia os receptores CCR5 (quimiocina) na membrana celular (SABINO *et al.*, 2009; MS, 2011b).

O surgimento desses novos medicamentos é de extrema importância para o tratamento da aids, uma vez que o paciente pode apresentar falha terapêutica, caracterizada pela presença de infecções ou queda na contagem de linfócitos T-CD4, e/ou aumento repetido ou constante de carga viral. As causas deste panorama incluem resistência viral, baixa adesão à terapia, absorção inadequada dos medicamentos e pouca potência ou interação com outras drogas. Nesses casos, se torna necessária nova indicação terapêutica, com uso de outros medicamentos ou outras classes de medicamentos (SABINO *et al.*, 2009).

Essa atenção ao tratamento é imprescindível, uma vez que a erradicação do HIV não é possível até o momento, existindo, assim, a necessidade do uso crônico dos medicamentos. Logo no início do ciclo do vírus, há a formação de um *pool* de células CD4 infectadas que permanece latente durante todo o curso da infecção. Desta forma, a necessidade de elevada adesão à TARV e a toxicidade das drogas permanecem como importantes barreiras ao sucesso prolongado da terapia (REISLER *et al.*, 2003; MS, 2008).

1.4 RISCO CARDIOVASCULAR E HIV/aids

Embora já tenha sido descrito como simples conjunto de condutos de sangue, atualmente o sistema arterial é tido como complexo e heterogêneo, apresentando

diferenças importantes nos seus componentes. De forma geral, as artérias são compostas por três camadas (Figura 1): túnica externa ou adventícia, túnica média (formada pela união de duas camadas), e túnica íntima (SERRANO JR *et al.*, 2009; KRIEGER *et al.*, 2008).

Figura 1. Representação gráfica das camadas arteriais.

A adventícia, formada principalmente por tecido conectivo, é a camada mais externa das artérias, que fica em contato com ossos e músculos. Em seguida a ela, existe a túnica média, composta por células musculares lisas (presentes em maior proporção em artérias musculares, as quais compõem a maior parte do sistema arterial), e tecido elástico (elastina, presente em maior proporção nas artérias elásticas). Por fim, o endotélio vascular ou túnica íntima, é a camada mais interna dos vasos sanguíneos (SERRANO JR *et al.*, 2009; TOMIYAMA e YAMASHINA, 2010).

Embora o endotélio vascular apresente-se somente como uma delicada camada de células, é um órgão altamente ativo com múltiplas funções, como regulação do tônus vascular e homeostase biológica, sendo extremamente sensível às mudanças hemodinâmicas (DEANFIELD *et al.*, 2007; WEBER *et al.*, 2007). Portanto, a função endotelial pode influenciar na susceptibilidade biológica para desenvolvimento da doença aterosclerótica, assim como predisposição a complicações cardiovasculares (COHN *et al.*, 2003; JOANNIDES *et al.*, 2006; SOLAGES *et al.*, 2006; FLAMMER *et*

al., 2012).

O risco cardiovascular está associado ao quadro de inflamação crônica, que é um potente fator de risco por mediar danos ao DNA celular e alterar expressão protéica, gerando alterações hemodinâmicas no organismo (HULGAN *et al.*, 2003; DEANFIELD *et al.*, 2007; THORIN e THORIN-TRESCASES, 2009; FLAMMER *et al.*, 2012). Em resposta a essas alterações, as células endoteliais são capazes de secretar substâncias vasodilatadoras (óxido nítrico, prostaglandinas 2, fator hiperpolarizante) e vasoconstritoras (prostaglandinas H2, angiotensina 2 e endotelina), que determinam o tônus vascular. Essas células modulam o crescimento de células musculares lisas e fibroblastos, regulam a trombose e fibrinólise nos processos de coagulação, e modulam o processo inflamatório por meio das moléculas de adesão plaquetária (VCAM, ICAM e seletina) (JOANNIDES *et al.*, 2006).

Dentre as substâncias vasoativas liberadas pelo endotélio, o óxido nítrico (NO) é uma das mais potentes, pois provoca o relaxamento da musculatura lisa dos vasos com a consequente queda da resistência periférica. A substância também tem participação na inibição da agregação plaquetária e leucocitária, na proliferação das células musculares lisas e na transcrição de moléculas de adesão (VERMA e ANDERSON, 2002; COHN *et al.*, 2005; VISIOLI *et al.*, 2009; FLAMMER *et al.*, 2012).

Diversos fatores podem atuar na biodisponibilidade de NO, reduzindo sua produção ou aumentando sua inativação. Estresse oxidativo, alterações metabólicas e alterações no sistema imune parecem estar relacionados com este processo, caracterizado pela disfunção endotelial (HALCOX e QUYYUMI, 2001; COHN *et al.*, 2003; VISIOLI *et al.*, 2009; PATEL *et al.*, 2011).

Nessa direção, observa-se que a infecção pelo HIV causa um quadro de ativação imunológica crônica, relacionado também ao aumento das concentrações séricas de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas (COACCIOLI *et al.*, 2010). Estudos apontam que indivíduos HIV/aids possuem níveis reduzidos de micronutrientes antioxidantes, das enzimas antioxidantes catalase, glutationala peroxidase e glutationala redutase, e suas células T-CD4 apresentam baixa capacidade antioxidante (AUKRUST *et al.*, 2003; STEHBENS, 2004; PRICE *et al.*, 2005; BILBIS *et al.*, 2010). Esse desequilíbrio entre produção e inativação de oxidantes propicia a exacerbação do quadro de inflamação e estresse oxidativo desses indivíduos.

Este panorama parece interessante, uma vez que as espécies reativas de oxigênio produzidas durante a ativação do sistema imune parecem induzir a expressão e replicação do HIV. Entretanto, o quadro de inflamação é mantido mesmo após a redução da carga viral e do controle da replicação do vírus, e está relacionado ao risco elevado de complicações cardiovasculares, dermatológicas e reumatológicas neste público (ALLARD *et al.*, 1998; BRENCHLEY *et al.*, 2006; DLOVA e MOSAM, 2006; SOLAGES *et al.*, 2006; BAKER *et al.*, 2009; CURRIER, 2009).

Corroborando os achados, estudos têm mostrado a frequência crescente de complicações cardiovasculares precoces, como infarto agudo do miocárdio (IAM) ou acidente vascular cerebral (AVC), associadas com maior risco de morte em indivíduos infectados pelo HIV, sendo o quarto evento mais comum nesta população (REISLER *et al.*, 2003; SCHILLACI *et al.*, 2008; CURRIER, 2009; VAN VONDEREN *et al.*, 2009; SEN *et al.*, 2012). Contudo, não só a infecção parece estar relacionada com a inflamação. Existe influência também da TARV (principalmente no uso de IP), características individuais e estilo de vida (BOCCARA, 2008; SCHILLACI *et al.*, 2008; BAKER *et al.*, 2009; HSUE *et al.*, 2009; LO *et al.*, 2010; SOUZA *et al.*, 2013).

Estudos relacionam a terapia TARV a alterações metabólicas - dislipidemias, ao desenvolvimento de resistência insulínica, a alterações ósseas, a acidose láctica e a alterações renais-, e corporais - redistribuição da gordura corporal e à obesidade central - que elevam o risco cardiovascular de indivíduos HIV/aids em razão dose-resposta. Assim, a prega cutânea subescapular, que pode ser considerada indicador de redistribuição de gordura corporal em indivíduos com HIV/aids em TARV, foi associada negativamente à elasticidade arterial na pesquisa desenvolvida por PONTILHO (2012). A classe dos IP parece ser maior responsável pelas alterações citadas (CHARAKIDA *et al.*, 2005; FEDELE *et al.*, 2011; TROLL, 2011; SOUZA *et al.*, 2013). Contudo, já existem evidências que os ITRN e ITRNN também levam ao aumento de fatores de risco cardiovascular. Ainda faltam estudos que relacionem as novas classes de medicamentos – IE, IF e II – com a saúde vascular (SABINO *et al.*, 2009; SEN *et al.*, 2012).

Dados apontam ainda maior frequência de alguns fatores de risco cardiovascular, tais como o tabagismo e consumo de bebidas alcoólicas nesta população. No entanto, mesmo controlando estatisticamente os fatores de risco tradicionais (sexo, idade, tabagismo, perfil lipídico, entre outros), carga viral e estado

do sistema imunológico, a infecção pelo HIV permanece associada à aterosclerose precoce (HSUE *et al.*, 2009; LO *et al.*, 2010; MILLER e COPPOLA, 2011).

A associação entre estresse oxidativo, disfunção endotelial e elasticidade arterial já foi estabelecida (VISIOLI *et al.*, 2009). VALAPPIL *et al.* (2008) encontraram associação inversa entre marcadores de disfunção endotelial (albuminúria e P-seletina) e elasticidade arterial de adultos. No quadro de disfunção endotelial, paralelamente à redução de NO, as células endoteliais geram quantidades crescentes de potentes moléculas vasoconstritoras (como os ânions superóxido, que inativam ainda mais NO), desenvolvendo um fenótipo pró-inflamatório, proliferativo e pró-coagulante. Essas mudanças criam condições que dão início ao desenvolvimento de lesões ateroscleróticas, contribuem para a instabilidade da placa de ateroma, da patogênese da trombose, e por fim, influenciam na redução da dilatação arterial pela diminuição do tônus vascular (HALCOX e DEANFIELD, 2004; COHN *et al.*, 2005; KRIEGER *et al.*, 2008).

Todavia, a elasticidade arterial não depende somente do conteúdo de NO derivado do endotélio. A elasticidade arterial é o resultado da idade, do conteúdo de proteínas estruturais da parede do vaso (elastina e colágeno), da pressão de distensão vascular, além do tônus do músculo liso vascular, os quais juntos podem alterar a distribuição de forças na parede vascular, originando o remodelamento e o aumento da rigidez arterial (OLIVER e WEBB, 2003; YASMIN *et al.*, 2005; THORIN e THORIN-TRESCASES, 2009).

Em estudo transversal, a idade de indivíduos com HIV/aids em TARV foi associada negativamente à elasticidade arterial (PONTILHO, 2012). Tal constatação é justificada pela degeneração natural e progressiva das fibras de elastina presentes nas artérias, e substituição por colágeno (fibras mais rígidas) durante o envelhecimento, resultando no enrijecimento natural das artérias (OLIVER e WEBB, 2003; YASMIN *et al.*, 2005). Contudo, em especial nessa população, pode ocorrer acentuado *turnover* da matriz extracelular devido à ação das metaloproteinases, que são endopeptidases ativadas por citocinas inflamatórias. Essas enzimas utilizam principalmente a elastina como substrato e suscitam a proliferação celular de células musculares, contribuindo para a remodelação vascular precoce e instabilidade da placa de ateroma (YASMIN *et al.*, 2005; KRIEGER *et al.*, 2008).

Assim, a perda da elasticidade da parede arterial é um marcador do início ou progressão da aterosclerose e da hipertensão arterial, e ainda é apontada como

indicador de risco para a ocorrência de eventos cardiovasculares (DUPREZ *et al.*, 2007; PERALTA *et al.*, 2009). Segundo WONG *et al.* (2003), a redução de duas unidades na elasticidade arterial resulta em risco cardiovascular 33% maior, independentemente de outros fatores de risco. Em estudo prospectivo realizado com cerca de 6000 pessoas, a elasticidade arterial dos pequenos vasos esteve significativamente associada à ocorrência de futuros eventos coronarianos (DUPREZ *et al.*, 2011).

Ainda não se sabe exatamente se a infecção pelo HIV e/ou a TARV atuam na elasticidade das grandes ou pequenas artérias (BAKER *et al.*, 2009). Todavia, alguns ensaios clínicos foram realizados entre portadores de HIV/aids para avaliar o risco cardiovascular a partir da elasticidade arterial (BAKER *et al.*, 2009; LAZAR *et al.*, 2009; LEKAKIS *et al.*, 2009; VAN VONDEREN *et al.*, 2009; PONTILHO, 2012).

BAKER *et al.* (2009) e VAN VONDEREN *et al.* (2009) identificaram menor elasticidade arterial entre os indivíduos portadores de HIV/aids quando comparados a indivíduos não infectados. Nessa direção, em estudo desenvolvido por PONTILHO (2012), apenas 33% dos indivíduos com HIV/aids em TARV prolongada tiveram valores normais de elasticidade dos pequenos vasos, segundo parâmetros de classificação para a população saudável. VAN VONDEREN *et al.* (2009), embora não tenham encontrado associação entre carga viral e marcadores da elasticidade, encontraram associação independente de TARV e redução da elasticidade na artéria femoral em indivíduos em uso de TARV por aproximadamente 6 anos. Por outro lado, LAZAR *et al.* (2009) não encontraram diferenças na elasticidade arterial medida por formato de onda de pulso entre mulheres com HIV/aids com (10 meses) ou sem uso de TARV. É possível que seja necessária exposição estendida à TARV para que sejam verificadas alterações.

Corroborando esses achados, LEKAKIS *et al.* (2009) descreveram que o tempo de TARV contribuiu para a redução da elasticidade arterial observadas nos resultados de sua pesquisa. Os autores encontraram aumento da velocidade de onda de pulso entre todos os portadores de HIV de sua amostra, sendo maior entre aqueles que se encontravam em TARV, o que indica a maior redução da elasticidade arterial para o segundo grupo. Surpreendentemente, as propriedades elásticas dos vasos dos indivíduos em TARV foram similares as dos indivíduos não infectados com hipertensão não tratada, sugerindo o maior risco cardiovascular de ambos os grupos.

1.5 AVALIAÇÃO DA ELASTICIDADE ARTERIAL

A elasticidade arterial reflete o comportamento dinâmico do sistema arterial, sendo, portanto, utilizado como parâmetro efetivo para avaliação do tratamento terapêutico. Assim, a partir do exposto quanto à relação da disfunção endotelial com elasticidade arterial, vários métodos foram propostos e empregados para analisar as propriedades mecânicas das paredes arteriais, apresentando associação com eventos coronarianos (MACKENZIE *et al.*, 2002; OLIVER e WEBB, 2003; TOMIYAMA e YAMASHINA, 2010).

Basicamente, podem ser utilizados métodos para avaliação da velocidade de onda de pulso, da distensibilidade das artérias ou do formato da onda de pressão. A comparação dos diferentes métodos de avaliação da elasticidade arterial de forma não invasiva está descrita no Quadro 3.

Quadro 3. Comparação dos métodos mais utilizados para avaliação não invasiva da elasticidade arterial na prática clínica.

Características	Métodos			
	Velocidade de onda de pulso	Ultrassom	Ressonância magnética	Formato da onda
Facilidade	++	+	+	+++
Custo	+++	++	+	+++
Validação	++	++	+++	++
Reprodutibilidade	++	+	+++	++
Valor prognóstico	+++	++	+	+
Relação com teste de função endotelial	+	+++	+	+++

Fonte: OLIVER e WEBB, 2003.

A velocidade de onda de pulso é um método validado e reprodutível para aferição da elasticidade local. É determinada pelo cálculo da velocidade (metros por segundos) com que uma onda de pulso leva para circular entre dois pontos arteriais conhecidos, usualmente entre a artéria carótida e a artéria femoral. Pode ser determinada de modo invasivo, mas a forma não invasiva é mais comum, a partir da

utilização de ecocardiograma e tonômetros, ou por ressonância magnética. Como resultado, velocidades mais baixas (onda de pressão de pulso é transmitida lentamente) caracterizam artérias mais elásticas, uma vez que são capazes de acomodar (distensão) o volume de sangue e absorver o impacto de pressão sobre sua parede. Por outro lado, quando as artérias sofrem remodelamento, há aumento do tônus da musculatura lisa e elas se tornam menos elásticas. No exame, há uma menor capacidade de absorver o impacto da pressão antes da transmissão da onda de pulso, resultando na propagação rápida do pulso de pressão (OLIVER e WEBB, 2003; MACEDO *et al.*, 2009; TOMIYAMA e TAMASHINA, 2010).

Ainda que seja simples, a velocidade de onda de pulso fornece somente dados da elasticidade arterial de grandes vasos, uma vez que o método tem limitações na medida de dados muito próximos. Assim, a injúria vascular é detectada quando está em estágio avançado. Além disso, a qualidade das informações é parcialmente comprometida pela dificuldade em estimar a distância entre os pontos determinados e pela medida ser coletada a partir de artérias superficiais, uma vez que as artérias centrais são inacessíveis. Por fim, o exame tende a ser demorado e custoso, além de depender de um avaliador capacitado quando se opta pela utilização da ressonância magnética ou do ultrassom (MACKENZIE *et al.*, 2002).

A avaliação da distensibilidade da artéria é realizada com ultrassom ou ressonância magnética, concomitante à aferição da pressão arterial. Durante o ciclo cardíaco, são coletadas medidas de área mínima e máxima dos vasos, os quais são utilizados nos resultados. Apesar de o método ter relação direta com a medida de rigidez arterial, há interferência do efeito de amplificação da pressão de pulso no cálculo em decorrência da medida da pressão arterial ser geralmente realizada no braço. Além disso, o método envolve tempo, custo mais elevado e depende de um local próprio para realização, o que não o torna boa opção na prática clínica (OLIVER e WEBB, 2003).

Os métodos anteriores só permitem a avaliação da elasticidade arterial dos grandes vasos, mesmo que sejam válidos. A elasticidade das pequenas artérias parece estar mais relacionada aos fatores de risco cardiovasculares tradicionais, aos marcadores de disfunção endotelial e a futuros desfechos cardiovasculares; enquanto a elasticidade das grandes artérias está mais relacionada ao avançar da idade e a severidade da doença vascular (BAKER *et al.*, 2009). Desta forma, a

avaliação da elasticidade dos pequenos vasos parece ser um marcador precoce mais interessante para avaliação do risco cardiovascular.

A análise do formato da onda de pulso envolve a técnica de tonometria, a qual estuda a morfologia da onda de pulso levando-se em consideração o volume sanguíneo venoso por batimento cardíaco, de maneira simples, não invasiva e independente da experiência do avaliador (BAKER *et al.*, 2009; MACEDO *et al.*, 2009). O exame é realizado com equipamento específico, e envolve a análise da artéria radial, de modo que é possível observar a elasticidade arterial sistêmica e a pressão arterial central de maneira indireta por uma função de transferência do *software* (MACKENZIE *et al.*, 2002).

A técnica se baseia no modelo de circulação elaborado por Windkessel, no qual a vasculatura é representada por um elemento de complacência capacitativa (índice de elasticidade das grandes artérias, LAEI), um elemento oscilatório ou de reflexão de complacência (índice de elasticidade das pequenas artérias, SAEI), uma indutância e resistência (R ou resistência vascular sistêmica). Da mesma forma, o formato de onda da pressão arterial é composto por uma onda progressiva (exponencial) gerada pela contração ventricular que representa a LAEI, e uma onda de pressão retrógada (refletida, oscilatória sinoidal), gerada pela reflexão da onda de pressão ao encontrar obstáculos no seu trajeto, como a bifurcação dos vasos e os capilares, que é a SAEI (OLIVER e WEBB, 2003; MACEDO *et al.*, 2009).

Em condições normais (elasticidade arterial esperada), a onda de pressão do pulso percorre lentamente seu trajeto do coração à periferia após a contração ventricular, e a onda refletida retorna a raiz da aorta na diástole, aumentando a pressão do pulso e melhorando a perfusão coronariana. Quando há o enrijecimento das artérias, a onda refletida retorna ao coração ainda na sístole cardíaca, o que aumenta a resistência periférica intravascular a ser vencida neste período, aumentando a pressão de ejeção ventricular (trabalho cardíaco). Em decorrência disso, ocorre a má perfusão das artérias coronárias (isquemia miocárdica) e hipertrofia ventricular esquerda, um dos principais fatores de risco de morbimortalidade de causa vascular na população geral. Assim, mudanças na elasticidade introduzem mudanças no sistema arterial, que são refletidas no formato de onda de pressão sanguínea arterial observada no exame (MACKENZIE *et al.*, 2002; OLIVER e WEBB, 2003; MACEDO *et al.*, 2009).

1.6 ALIMENTOS E SISTEMA VASCULAR

1.6.1 Cacau

O cacau é derivado da semente da *Theobroma cacao*, árvore nativa da América do Sul. Numerosas aplicações desse vegetal estão bem documentadas historicamente na cultura dos povos Olmec, Maya e Azteca, incluindo tratamento ou prevenção de infecções, inflamações, palpitações cardíacas e angina (DILLINGER *et al.*, 2000).

O chocolate é o derivado mais popular do cacau devido à sua apreciada propriedade sensorial. A formulação envolve a mistura de liquor de cacau (componente não gorduroso da fruta) com açúcar, manteiga de cacau e outros ingredientes da indústria (COOPER *et al.*, 2008).

Não obstante ao interesse popular, o cacau e o chocolate têm despertado o interesse científico na última década devido seu conteúdo singular de polifenóis, substâncias antioxidantes com diversos efeitos nas funções orgânicas (VINSON *et al.*, 2006; COOPER *et al.*, 2008; VISIOLI *et al.*, 2009; ZOMER *et al.*, 2012). Em especial, esses alimentos são ricos em flavan-3-ols ou flavonóis, identificados como os de maior poder de ação quando comparados a outras substâncias da mesma família, como as derivadas do vinho tinto (DING *et al.*, 2006; VISIOLI *et al.*, 2009; OSAKABE, 2013). Os flavonóis são encontrados na forma monomérica (epicatequina e catequina) e oligomérica (procianidinas), com destaque para a epicatequina, que representa quase 60% do total de catequinas (DING *et al.*, 2006; MEHRINFAR *et al.*, 2008; VISIOLI *et al.*, 2009; OSAKABE, 2013).

Atualmente vários estudos sugerem efeitos desses alimentos na saúde humana, sendo a superioridade do chocolate amargo – que possui alto teor de liquor e, portanto, de polifenóis – comprovada por algumas vezes frente à utilização do chocolate branco, livre de flavonóis, como controle (TAUBERT *et al.*, 2003; GRASSI *et al.*, 2005; HERMANN *et al.*, 2006). Entre os efeitos, estão descritos benefícios cardiovasculares em decorrência da ação antioxidante, anti-inflamatória e vasodilatadora de seus bioativos (SCHRAMM *et al.*, 2001; DING *et al.*, 2006; MEHRINFAR *et al.*, 2008; BUITRAGO-LOPEZ *et al.*, 2011). Assim, existem relatos de redução da oxidação de lipoproteínas, da agregação plaquetária, do estresse oxidativo e do estado de inflamação, além de mudanças na expressão genética

(VISIOLI *et al.*, 2009; MAO *et al.*, 2000). Mais especificamente com relação ao fluxo sanguíneo, alguns autores referem melhora da função endotelial, vasodilatação e redução da pressão arterial (GRASSI *et al.*, 2005; GÓMEZ-JUARISTI *et al.*, 2011; D'EL REI *et al.*, 2013).

Em 2003, FISHER *et al.* observaram vasodilatação periférica após indivíduos saudáveis terem consumido chocolate (821mg flavonóis) durante cinco dias. Em ensaio clínico aleatorizado cruzado VLACHOPOULOS *et al.* (2005) também obtiveram relaxamento do vaso dependente do endotélio e redução das reflexões de onda em indivíduos saudáveis após 3h do consumo de 100g de chocolate (74% cacau). Em 2008, com menor quantidade de cacau (22g), FARIDI *et al.* observaram melhora da função endotelial em indivíduos saudáveis em ensaio clínico aleatorizado cruzado. Assim como esses achados, os resultados entre tabagistas foram positivos, com redução do estresse oxidativo e melhora da função endotelial após um dia de consumo de 40g de chocolate amargo (74% cacau) (HERMANN *et al.*, 2006).

A redução da pressão arterial foi verificada por meio de monitorização ambulatorial com pacientes hipertensos não tratados e com pacientes hipertensos com glicemia de jejum alterada após quinze dias de consumo de 100g de chocolate amargo (1008mg fenóis totais) (GRASSI *et al.*, 2005; GRASSI *et al.*, 2009). ALMOOSAWI *et al.* (2010) também observaram menor pressão arterial entre indivíduos com excesso de peso a partir do consumo de 20g de chocolate amargo (500mg a 1000mg de polifenóis) durante duas semanas. O resultado se repetiu ainda em indivíduos dislipidêmicos normotensos com consumo de duas barras diárias de chocolate (360mg de flavonóides) durante um mês, e em jogadores de futebol com consumo de 105g de chocolate (168mg de flavonóides) durante 14 dias (FRAGA *et al.*, 2005; ALLEN *et al.*, 2008).

Até o momento, discute-se a ação do chocolate na modulação de eicosanóides e no metabolismo do NO como mecanismos de ação para os benefícios encontrados (SCHRAMM *et al.*, 2001; VLACHOPOULOS *et al.*, 2007; MONAHAN, 2012; OSAKABE, 2013). SCHRAMM *et al.* (2001) observaram vasodilatação duas e seis horas após o consumo de 37g de chocolate, decorrente da maior produção de prostaglandinas vasodilatadoras e redução de leucotrienos pela inibição do ciclo da lipooxigenase-5. Por outro lado, autores sugerem a maior biodisponibilidade do NO

derivado do endotélio como resultado da maior produção e/ou menor inativação do mesmo (VLACHOPOULOS *et al.*, 2007; SCHORR *et al.*, 2008; SELMI *et al.*, 2008).

Ainda que grande parte da literatura realmente aponte para os benefícios do consumo do cacau, existem controvérsias nos resultados das pesquisas. FAROUQUE *et al.* (2006) não detectaram mudança na pressão arterial, concentração plasmática de moléculas de adesão ou na função endotelial de indivíduos com doença coronariana após 6 semanas de consumo de 440mg de flavonóis/dia. D'EL REI *et al.* (2013) obtiveram 43% de não respondentes entre hipertensos medicados após intervenção com 3202mg/dia de polifenóis. E ainda, MARTHUR *et al.* (2002) não observaram alteração na capacidade antioxidante de indivíduos saudáveis após o consumo por 6 semanas de chocolate contendo 615mg de procianidinas.

Desta forma, embora haja grande número de resultados que apontam o chocolate amargo como alimento potencialmente cardioprotetor, são necessários mais estudos com diferentes populações e/ou concentrações de flavonóides para que seja possível a indicação terapêutica desse alimento.

1.6.2 Erva Mate

A erva mate (*Ilex paraguariensis*), assim como o cacau, é uma árvore nativa da América do Sul. Na América Latina e no Brasil, seu consumo é bastante popular na preparação do chimarrão (erva verde seca e cancheada em água quente), do tererê (erva verde seca e cancheada em água fria), e do chá mate (erva torrada em infusão) (BASTOS *et al.*, 2007a).

A erva mate e as bebidas preparadas com suas folhas e ramos contêm diversos compostos bioativos naturais, que incluem principalmente polifenóis (ácido clorogênico), xantinas (cafeína e teobromina) e saponinas (CHANDRA e MEJIA, 2004; HODGSON, 2006; BASTOS *et al.*, 2007a; HECK e MEJIA, 2007; COELHO *et al.*, 2010). Dentre os principais ácidos fenólicos, estão os flavonóides (canferol, quercetina e rutina) e os ácidos caféico, 5-cafeoilquínico, 3,4-dicafeoilquínico, 3,5-dicafeoilquínico e o 4,5-dicafeoilquínico (FILIP *et al.*, 2001; BASTOS *et al.*, 2007b; HECK e MEJIA, 2007). Essa rica composição bioativa justificou a inclusão da erva mate em importantes farmacopéias internacionais como a *Martingdale* e a *British Herbal Pharmacopoeia* (ANESINI *et al.*, 2006).

Os benefícios desses compostos vêm sendo testados, principalmente, a partir do consumo de infusão preparada com outras folhas de composição semelhante ao mate, como a *Camellia sinensis* (TIJBURG *et al.*, 1997; HOLLMAN *et al.*, 1999; YANG e LANDAU, 2000; PETERS *et al.*, 2001; TAUBERT *et al.*, 2007). Segundo os resultados, há um aumento no potencial antioxidante do plasma e redução da rigidez arterial com o consumo de chá preto (LANGLEY-EVANS, 2000; TOMASIAN *et al.*, 2000; GRASSI *et al.*, 2009).

No entanto, pesquisas envolvendo a erva mate ainda são recentes, datando da década de 90. Estudos em animais (MOSIMANN *et al.*, 2006; HECK e MEJIA, 2007; LANZETTI *et al.*, 2008; MARTINS *et al.*, 2009; MARTINS *et al.*, 2010; ARÇARI *et al.*, 2011; BALZAN *et al.*, 2013; BORGES *et al.*, 2013; GAO *et al.*, 2013; LIMA *et al.*, 2013) apontam para a potencial ação hipo-lipemiante, vasodilatadora e antioxidante dos componentes da planta (Quadro 4).

Quadro 4. Bioativos da erva mate e efeitos cardioprotetores apontados.

Compostos	Benefícios
Xantinas	Vasodilatador
Ácidos fenólicos	Antioxidante
Saponinas	Hipolipemiante e antioxidante
Flavonóides	Antioxidante e vasodilator

Fonte: Adaptado de HECK E MEJIA, 2007

Há relatos, ainda, de maior redução no ganho de peso, alteração na composição corporal e interferência no metabolismo glicídico de ratos (OLIVEIRA *et al.*, 2008; ARÇARI *et al.*, 2009; GAO *et al.*, 2013). Entretanto, é importante ressaltar que ainda é cedo para fazer afirmações sobre benefícios observados, visto que os resultados por vezes são contraditórios, e que os animais, a dose e os tipos de extratos utilizados foram os mais diversos.

Esta premissa é reforçada pela escassez de ensaios clínicos, ainda que os resultados obtidos sejam animadores. MENINI *et al.* (2007) foram os primeiros estudiosos a observarem aumento da ação antioxidante em indivíduos saudáveis após uma hora da ingestão de infusão de erva mate (50g:500ml), e foram seguidos

por SILVA *et al.* (2008), com a utilização de um extrato mais concentrado (50mg/ml, com $2,93 \pm 0,12$ mg de polifenóis). Mais recentemente, MATSUMOTO *et al.* (2009) encontraram resultados similares após administração aguda (uma hora) e crônica (sete dias) de infusão de erva mate (5g:500ml, com 350mg/g de ácido 5-cafeoilquínico): relataram além da redução da peroxidação lipídica, redução da ingestão energética diária das mulheres participantes.

A resposta vascular a erva mate foi investigada por BAISCH *et al.* (1998) e STEIN *et al.* (2005) em ratos. A primeira pesquisa resultou em relaxamento vascular após inibição do aumento do tônus causado por derivados de L-arginina. STEIN *et al.* (2005) também acreditam no envolvimento do metabolismo do NO como explicação para a vasodilatação observada após quinze dias de intervenção com extrato aquoso da erva mate. Em estudo realizado por GAO *et al.* (2013), houve um aumento no teor de NO e redução de endotelina no soro de ratos machos. O aumento no teor de NO, porém, não foi observado por BORGES *et al.* (2013), embora tenham obtido melhora na resistência insulínica, e redução de interleucina-6 em ratos tratados com 1g/kg/dia de infusão de erva mate.

Em humanos, até onde se revisou, essas hipóteses foram testadas apenas por MORAIS *et al.* (2009). Os autores verificaram, além de efeitos hipolipemiantes, redução da pressão arterial sistólica após quarenta dias de consumo de erva mate por três vezes ao dia (330ml, 1,74 e 5,51 equivalentes de ácido 5-cafeoilquínico).

Embora promissoras essas evidências relacionando erva mate e relaxamento vascular, melhora da função endotelial e da saúde cardiovascular de humanos ainda são escassas, sendo portanto, necessária a condução de mais ensaios clínicos.

2. JUSTIFICATIVA

Observa-se mudança no perfil epidemiológico dos pacientes com HIV/aids, com redução do número de óbitos decorrentes da infecção e aumento da incidência de eventos coronarianos. O risco cardiovascular está associado ao quadro de inflamação do organismo causada pelo HIV, TARV, fatores genéticos e estilo de vida dessa população. A elasticidade arterial, principalmente dos pequenos vasos, tem sido investigada como alteração precoce do sistema cardiovascular. Neste sentido busca-se estudar melhor os possíveis fatores que apresentem impacto na elasticidade arterial, de maneira a reduzir o risco cardiovascular de indivíduos com HIV/aids em TARV.

Alimentos como o chocolate e erva mate aparentemente apresentam efeitos benéficos ao sistema cardiovascular, com propriedades vasodilatadoras, antitrombóticas, antioxidantes e hipo-lipipemiantes. Todavia, ainda são limitados os estudos avaliando em humanos o papel desses alimentos na elasticidade arterial.

Assim, julgou-se pertinente a condução de um ensaio clínico para avaliar a ação do chocolate e erva mate na elasticidade e pressão arterial de indivíduos com HIV/aids em TARV. Os resultados poderão contribuir para a formulação de estratégias de intervenção eficientes, visando à prevenção e controle de desfechos coronarianos nos portadores de HIV.

3. OBJETIVO

Avaliar o efeito da ingestão de chocolate e da erva mate na elasticidade arterial de grandes e pequenos vasos de indivíduos com HIV/aids em terapia antirretroviral.

4. MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido por uma equipe de pesquisadores da Faculdade de Saúde Pública (FSP/USP) com colaboração da Faculdade de Medicina (FM) da Universidade de São Paulo (USP), a partir do projeto principal “Efeito da ingestão de chocolate e erva mate no endotélio de indivíduos com HIV/aids: ensaio clínico randomizado, duplo-cego, controlado por placebo”. O projeto foi realizado com financiamento da Fundação de Amparo à Pesquisa de São Paulo – FAPESP sob o processo 2009/52250-5.

Trata-se de um ensaio clínico do tipo cruzado, aleatorizado e duplo cego. Nesse tipo de delineamento, é avaliada a resposta de um mesmo indivíduo a diferentes intervenções, o que reduz as variações inerentes a cada organismo. Por conta disso, é comumente utilizado em experimentos clínicos envolvendo indivíduos com doenças crônicas (SIBBALD e ROBERTS, 1998; SENN, 2002).

4.1 LOCAL DO ESTUDO

O estudo foi desenvolvido no Serviço de Atendimento ao Paciente HIV/aids “Casa da Aids” (SEAP), Divisão de Moléstias Infecciosas e Parasitárias do Hospital das Clínicas da FM/USP, e no Instituto de Infectologia Emílio Ribas. Os ambulatórios contaram com salas específicas para os diferentes procedimentos da pesquisa, com espaço para a disposição dos equipamentos necessários e da equipe para a coleta de dados, bem como sala de espera para acomodação dos pacientes em caso de eventual atraso.

4.2 PREPARAÇÃO PARA COLETA DE DADOS

4.2.1 Pré Teste

No período de outubro/2010 a março/2011 foi realizado pré-teste do projeto principal em um grupo de 19 indivíduos, em que foram testados e acertados os instrumentos utilizados para coleta de dados (questionário socioeconômico, análises

antropométricas e laboratoriais, entre outros) e a aceitabilidade dos suplementos alimentares e placebos que foram utilizados em todos os sub-projetos.

4.2.2 Treinamento dos Pesquisadores

No ano de 2011 os pesquisadores passaram por uma série de treinamentos como forma de preparação para a coleta de dados. Um primeiro treinamento foi realizado com o objetivo de testar e padronizar a aplicação dos questionários a serem utilizados (socioeconômico, recordatório alimentar de 24 horas e Questionário Internacional de Atividade Física).

Em segundo momento, foi realizado treinamento para aferição de medidas antropométricas no Laboratório de Avaliação Nutricional de Populações (LANPOP) do Departamento de Nutrição da FSP/USP, com o objetivo de aumentar a acurácia dos dados de estado nutricional.

Por fim, os pesquisadores foram treinados por técnicos especializados para o manejo adequado dos aparelhos de bioimpedância elétrica e elasticidade arterial.

4.3 SELEÇÃO DA AMOSTRA

O estudo contou com 89 pacientes cadastrados e que frequentavam os ambulatórios para retirada de medicamentos, vacinação e atendimento em saúde com médicos, psicólogos e demais profissionais.

O convite à participação na pesquisa foi realizado entre abril de 2011 e março de 2013. Os indivíduos foram abordados na sala de espera que antecipa as consultas de rotina ou na retirada de medicamentos, pelos médicos infectologistas durante a consulta médica, e também tiveram acesso a divulgação por cartazes (APÊNDICE 1) e folhetos entregues na entrada dos ambulatórios (APÊNDICE 2).

Em caso de recusa do convite de participação, os pacientes foram solicitados a preencherem um questionário de recusa, no qual puderam incluir os motivos da decisão (APÊNDICE 3). Aqueles que demonstraram interesse foram questionados com relação aos critérios de inclusão e exclusão por meio de *checklist* (APÊNDICE 4).

Para inclusão na pesquisa os indivíduos deveriam ter diagnóstico confirmado de HIV/aids, níveis de carga viral <500 cópias/ml, estar em tratamento regular com

antirretrovirais por no mínimo 06 meses, e ter idade entre 19 e 59 anos, independentemente do sexo.

Como critérios de exclusão foram utilizados: histórico de IAM ou AVC; insuficiência cardíaca; arritmia cardíaca; diabetes mellitus; uso de anti-hipertensivos; uso de hipo-lipemiantes; doença renal crônica (creatinina $>2,0\text{mg/dL}$); doença intestinal grave que impossibilitasse o uso da dieta; hipotireoidismo ($\text{TSH} \geq 6,0\text{U/ml}$); insuficiência hepática; hepatite B ou C ativas; neoplasia maligna; infecção oportunista ativa; gravidez; alcoolismo crônico; participação ativa em outros estudos de intervenção nutricional, e intolerância aos suplementos ou qualquer um dos seus componentes.

4.4 INTERVENÇÃO

Durante todas as fases da pesquisa os participantes mantiveram o tratamento de rotina determinado pelo médico infectologista, que permaneceu informado sobre as condutas estabelecidas pelos pesquisadores.

A primeira tomada de dados (*baseline*) foi marcada em uma data de acordo com a disponibilidade do participante, após confirmação de sua elegibilidade em prontuário médico. A partir desse momento, todos os participantes passaram por um sistema de rodízio que incluiu o uso dos quatro suplementos. Cada suplemento foi consumido separado, por um período de 15 dias, e sucedido por um *washout* de tempo igual antes do início da próxima intervenção, totalizando aproximadamente 105 dias de duração da pesquisa (Figura 2).

O *washout* é um período na qual os indivíduos não recebem tipo algum de tratamento e espera-se que a substância ativa consumida anteriormente seja eliminada do organismo. O intuito é que se evite o efeito cumulativo entre tratamentos, o que é denominado *carryover* (SIBBALD e ROBERTS, 1998; SENN, 2002).

Figura 2. Fluxograma de intervenção do estudo.

Como suplementos foram utilizados aproximadamente 65g de chocolate amargo em barra (OSAKABE *et al.*, 2001; GRASSI *et al.*, 2005; FARIDI *et al.*, 2008), 3g de erva mate solúvel (BASTOS *et al.*, 2007b; MATSUMOTO *et al.*, 2009), 65g de chocolate branco e 3g de pó solúvel similar a erva mate, sendo os dois últimos utilizados como placebos.

Os indivíduos foram orientados a consumir as barras de chocolate como substituto de uma sobremesa ou como lanche da tarde para evitar o ganho de peso, e a diluir a erva mate e seu placebo em 200 ml de água quente ou fria e adoçar à gosto. Também foram informados a evitar o consumo dos suplementos no mesmo horário de seus medicamentos, e a manterem a dieta habitual, devendo abster-se durante todo o período da pesquisa de qualquer outro tipo de chocolates e/ou chás alheios aos suplementos da intervenção. Todas as instruções foram impressas em

um folheto, que foi entregue ao participante a cada fase da pesquisa, junto com um calendário que deveria ser assinalado diariamente após o consumo do suplemento (APÊNDICE 5).

A ordem de recebimento dos suplementos foi determinada de forma aleatória, através do programa *Microsoft Excel®*, e ficou sob responsabilidade de um pesquisador que não fez parte de nenhuma outra etapa da pesquisa e nem teve conhecimento de quaisquer dos integrantes da mesma. Dessa forma, em nenhum momento os participantes e pesquisadores envolvidos na coleta e análise de dados tomaram conhecimento se o suplemento utilizado em cada etapa tratava-se de intervenção ou placebo.

Com a finalidade de reduzir a possível perda de dados, por tratar-se de pesquisa de seguimento, optou-se por aleatorizar a intervenção apenas no *baseline* e na terceira fase da intervenção. Assim, no momento do *baseline*, os indivíduos elegíveis foram aleatorizados assegurando o recebimento de uma das quatro possibilidades de suplementação. A próxima fase foi obrigatoriamente sucedida pelo mesmo tipo de alimento (erva mate ou chocolate), porém intervenção oposta à utilizada (placebo ou intervenção). Na terceira fase, este indivíduo recebeu o outro tipo de alimento, mas a aleatorização foi realizada a fim de determinar se seria utilizado intervenção ou placebo. A última fase foi concluída com o consumo do suplemento faltante (Figura 2).

A ingestão do suplemento foi acompanhada por contato telefônico, correio eletrônico e questionários a cada período parcial, e ao final da pesquisa. Os participantes tiveram disponível um número de telefone fixo, um número de telefone celular e endereço de correio eletrônico adquiridos exclusivamente para possibilitar comunicação direta com os pesquisadores, dirimindo eventuais dúvidas.

Na ocorrência de intolerância aos suplementos, problemas de saúde ou introdução de hipo-lipemiantes ou anti-hipertensivos durante qualquer fase da intervenção, os pesquisadores analisaram individualmente os casos e, quando necessário, os indivíduos foram informados sobre a interrupção da pesquisa.

4.4.1 Chocolate

A formulação dos chocolates foi desenvolvida no Centro de Tecnologia de Cereais e Chocolates (Chocotec), do Instituto de Tecnologia de Alimentos – ITAL (Campinas, SP) a fim de garantir a produção de suplementos em tamanho, peso e quantidade de bioativos necessários para a intervenção.

Como ingredientes para a massa base dos dois chocolates foram utilizados açúcar, manteiga de cacau, aroma de baunilha, lecitina de soja e emulsificante poliglicerol poliricinolato. No chocolate amargo foi adicionado liquor de cacau, resultando em barras contendo aproximadamente 36g de cacau e 2148 a 2864mg de fenóis totais, segundo análise pela metodologia de EFRAIM *et al.* (2004). O placebo permaneceu isento de cacau e/ou fenóis, sendo adicionado à base apenas leite de vaca e polidextrose – esta para que o conteúdo de fibras fosse similar em ambos os chocolates. Optou-se por aceitar a coloração branca natural do placebo uma vez que não foi possível a homogeneização adequada do corante caramelo. Apesar da diferença nos ingredientes, a composição nutricional de ambos os chocolates foi similar, conforme descrição da Tabela 1.

Tabela 1. Composição nutricional das barras de chocolate (65g) utilizadas na intervenção. São Paulo, 2013.

Composição nutricional (g)	Suplementos	
	Chocolate	Placebo de chocolate
Valor calórico (kcal)	345	330
Carboidratos*	28	30
Proteínas*	4	4
Lipídios*	22	22
Ácidos graxos saturados*	14	14
Fibras*	6	7

*Nota: Cálculo baseado no valor nutricional dos ingredientes (UNICAMP, 2004).

As barras de chocolate foram confeccionadas pelos próprios pesquisadores em uma unidade experimental da empresa JAF Inox®, Sistemas Integrados do Cacau

ao Chocolate, localizada em São Roque – SP. O processo seguiu as Boas Práticas de Fabricação e Manipulação de Alimentos, com método convencional de refino em equipamento composto por cinco cilindros de aço inoxidável, conchagem em misturador encamisado a 60°C, temperagem, moldagem em formas de polipropileno, resfriamento em câmara fria com circulação de ar a 6°C, e desmoldagem. Para evitar a diferenciação dos suplementos, tanto o chocolate amargo quanto o placebo foram acondicionados em embalagens idênticas de polipropileno biorientado (BOPP) metalizado (APÊNDICE 6).

4.4.2 Erva Mate

As formulações da erva mate e seu placebo foram desenvolvidas no Laboratório de Bromatologia da FSP/USP, sendo a quantidade de erva mate utilizada na intervenção determinada com base no trabalho de MATSUMOTO *et al.* (2009), que seguiram a recomendação de uso do próprio fabricante (1g de erva mate para 100 ml de água).

A intervenção foi formulada utilizando-se erva mate solúvel comercial (Leão Jr® - Fazenda Rio Grande, Paraná), adicionada de maltodextrina (New Millen®, São Paulo - SP) e aroma artificial de pêssego (Duas Rosas® - Jaraguá do Sul, SC). Segundo análise por *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) conforme metodologia descrita por NATSUME *et al.* (2000), BASTOS *et al.* (2005) e MAZZAFERA (1997), a erva mate utilizada continha 107,76mg/g de fenólicos totais, 28,08mg/g de ácido clorogênico e 15,19mg/g de cafeína.

Para o placebo utilizou-se uma mistura de maltodextrina, corante comestível caramelo (*Corn products*® - Conchal, SP) e aroma artificial de pêssego (Duas Rosas® - Jaraguá do Sul, SC). Optou-se pelo aroma frutado uma vez que não foi encontrado no mercado o aroma artificial de mate, e a utilização de aroma natural poderia interferir nos resultados da pesquisa devido ao seu conteúdo de fenóis. Ambas as formulações receberam adição de sorbato de potássio para conservação (0,03g/sachê; *Sigma Aldrich* - Diadema, SP).

As suplementações foram confeccionadas pelos próprios pesquisadores, no Laboratório de Técnica Dietética da FSP/USP, seguindo as Boas Práticas de Fabricação e Manipulação de Alimentos. Os ingredientes foram pesados em balança analítica (Shimadzu - Dusseldórfia, Alemanha) e pulverizados em almofariz com

pistilo. Em seguida, o pó foi fracionado utilizando-se medidas caseiras padronizadas que aproximavam 3g, e embalado em sachê de politereftalato de etileno (PET) metalizado. Para facilitar a entrega do suplemento, os sachês foram divididos em montões de 15 unidades, e colocados em caixinhas de papelão. Todas as embalagens utilizadas foram idênticas para as duas formulações, a fim de evitar a diferenciação (APÊNDICE 6)

4.5 COLETA DE DADOS

Os indivíduos da pesquisa responderam a questionários e se submeteram a exames ao longo da pesquisa para caracterização e comparação de resultados entre *baseline* e o final de cada intervenção, conforme descrição abaixo.

4.5.1 Coleta de Sangue

Foram coletadas a cada fase da pesquisa, no início da manhã após período de jejum de 12 horas, totalizando cinco amostras de aproximadamente 20ml de sangue por paciente. O procedimento ocorreu por punção venosa periférica, com material descartável e em sistema de coleta a vácuo; para obtenção do plasma usou-se tubos contendo ácido etileno diamino-tetra-acético dipotássico (EDTA K₂ 7,2mg/4ml) e tubos contendo citrato de sódio (Na₃C₆H₅O₇; 3%); o soro foi obtido em tubos secos com gel separador, todos devidamente identificados. A coleta se deu por profissional de enfermagem habilitado, seguindo padrões pré-estabelecidos de segurança.

A partir das amostras de sangue periférico, foram realizadas análises imunológicas, bioquímicas e nutricionais dos participantes, conforme segue:

- Hemograma completo;
- Glicemia;
- Colesterol total e frações (HDL-c e LDL-c) séricos;
- Triglicérides séricos;
- Contagem de linfócitos T (CD4 e CD8) em sangue periférico
- Carga plasmática de RNA do HIV-1 (carga viral);

- Proteína C-reativa (PCR) sérica;
- Substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS) no plasma.

4.5.2 Avaliação Clínica

Após a coleta sanguínea, os indivíduos receberam um lanche e foram submetidos no *baseline* a questionário socioeconômico, à anamnese – que incluía informações sobre a fase clínica da doença, tempo e esquema de TARV -, questionário de atividade física e exame físico detalhados, de acordo com formulário próprio (APÊNDICE 7). Também foram investigadas informações com relação à exposição ao álcool, tabaco e drogas ilícitas. O consumo dos antirretrovirais durante os três dias anteriores à entrevista foi utilizado como parâmetro de avaliação para adesão a TARV, segundo metodologia de NEMES *et al.* (2004).

Nas outras fases da pesquisa, o indivíduo relatou nesse momento as suas impressões com a ingestão do suplemento, tais como efeitos adversos, dificuldades ou forma de consumo.

O nível de atividade física foi avaliado para caracterização da amostra no *baseline* de acordo com o Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ) – versão curta (ANEXO 1), desenvolvido pela OMS e adaptado e validado para a população brasileira (MATSUDO *et al.*, 2001; HALLAL *et al.*, 2003; IPAQ, 2013; OMS, 2013). A classificação dos níveis de atividade física está descrita no quadro 5.

Quadro 5. Classificação dos níveis de atividade física.

Classificação	Atividades
Sedentário	<ul style="list-style-type: none"> • Indivíduo não realizou nenhuma atividade física por pelo menos 10 minutos durante a semana
Irregularmente ativo	<ul style="list-style-type: none"> • Indivíduo realiza atividade física, mas não cumpre as recomendações de frequência ou duração.
Ativo	<ul style="list-style-type: none"> • Indivíduo que realiza atividades vigorosas por ≥ 3 dias/semana durante ≥ 20 minutos/sessão; ou • Indivíduo que realiza atividades moderadas ou caminhada por ≥ 5 dias/semana durante ≥ 30 minutos/sessão; ou • Indivíduo que soma ≥ 150 minutos/semana em 5 dias/semana entre as várias atividades
Muito ativo	<ul style="list-style-type: none"> • Indivíduo que realiza atividades vigorosas por ≥ 5 dias/semana durante 30 minutos/sessão; ou • Indivíduo que realiza atividades vigorosas por ≥ 3 dias/semana durante 20 minutos/sessão, e realiza atividades moderadas ou caminhada por ≥ 5 dias/semana por ≥ 30 minutos/semana

Fonte: *International Physical Activity Questionnaire*, 2013.

4.5.3 Avaliação da Elasticidade Arterial

Para a avaliação da elasticidade arterial foi utilizado o aparelho não invasivo, aprovado e validado *HDI/PulseWaveTM CR-2000 CardioVascular Profiling System®*, ilustrado na Figura 3. O aparelho foi idealizado na década de 80 pelo cardiologista Dr Jay Cohn e pelo engenheiro elétrico Dr Stanley Finkelstein, ambos pesquisadores da Universidade de Minnesota (Minneapolis, EUA). O exame envolve a avaliação do fenômeno fisiológico de formato de onda da pressão sanguínea que é gerada a cada batimento cardíaco, através de um módulo oscilométrico (RONDÓ *et al.*, 2008).

Figura 3. Foto do equipamento *HDI/PulseWave™ CR-2000®*

Extraído de *Hypertension Diagnostics, Inc®*.

Para a realização do exame, os indivíduos devem permanecer deitados em maca por um breve tempo de repouso. No braço esquerdo, é colocado um manguito de pressão sanguínea, enquanto o antebraço direito é imobilizado com anteparo para fixação. Sobre o ponto mais forte de pulsação arterial, na artéria radial adjacente ao processo estiloide do rádio, é posicionado um sensor acústico piezoelétrico (Figura 4), que é ajustado conforme maior sinal de força (*signal strength-SS*) em porcentagem.

Figura 4. Realização do exame de elasticidade arterial.

Extraído de *Hypertension Diagnostics, Inc®*.

Após o posicionamento correto do aparelho no indivíduo, o módulo realiza uma primeira medida de pressão arterial baseada no método de deflação dinâmica linear. O manguito é inflado a 180mmHg ou 50mmHg acima da pressão arterial sistólica prévia medida, e desinflado até que esteja bem abaixo da pressão arterial diastólica, em cujo ponto o manguito é totalmente relaxado.

A partir de então, o aparelho passa por um período de calibração por cerca de 2 minutos, até conseguir obter formatos de onda estáveis. Em seguida, o pesquisador transmite os dados para o computador acoplado ao equipamento numa gravação de 30 segundos, totalizando aproximadamente 200 traçados de onda da pressão radial. A média de valores da pressão arterial obtidas durante essa gravação é utilizada para calibração dos dados de elasticidade arterial, que é calculada a partir do declínio da pressão diastólica, por meio de algoritmo contido em programa interno ao módulo com base no modelo de Windkessel modificado (COHN *et al.*, 1995).

Os valores de elasticidade são expressos em unidades tradicionais - milímetros divididos por milímetros de mercúrio (unidade de volume dividido por unidade de pressão arterial). Contudo, para facilitar a manipulação dos dados, os valores são expressos em valores decimais a partir da multiplicação por 10 para a LAEI, e por 100 para a SAEI. Os resultados são então disponibilizados em relatórios emitidos pelo aparelho (ANEXO 2).

Os dados obtidos podem então ser comparados com a Diretriz de Elasticidade Arterial (ANEXO 3), elaborada a partir de dados da população europeia e estudos envolvendo a utilização da mesma metodologia de avaliação da elasticidade arterial (*Hypertension Diagnostics*, 2009). A diretriz compreende parâmetros para classificação da elasticidade dos grandes e pequenos vasos em normal, limítrofe ou reduzida, segundo sexo e idade, permitindo assim o diagnóstico da amostra pesquisada. Optou-se pela utilização dessa diretriz uma vez que, até o momento, não existem parâmetros para classificação da elasticidade arterial para a população brasileira com ou sem HIV/aids.

4.5.4 Avaliação do Estado Nutricional

Após a realização do exame de elasticidade arterial, foram realizadas medidas antropométricas e o exame de bioimpedanciometria elétrica nos participantes para

acompanhamento do estado nutricional durante todas as fases da pesquisa. Os indivíduos permaneceram descalços, trajando roupas leves e desprovidos de acessórios para medida de peso (kg), altura (cm) e circunferência de cintura (cm). Todas as medidas antropométricas foram realizadas em duplicata, sendo utilizado o valor médio entre as medidas.

A partir da divisão do peso pela altura ao quadrado, os indivíduos foram classificados (Tabela 2) pelo Índice de Massa Corporal (IMC) obedecendo aos critérios preconizados pela OMS (1997).

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

IMC (Kg/m ²)	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: OMS, 1997.

Associada ao IMC foi utilizada a circunferência de cintura para identificação de indivíduos em risco para doenças cardiometabólicas por obesidade central (Tabela 3), e a bioimpedanciometria elétrica permitiu a avaliação do percentual de gordura (Tabela 4) e quantidade de massa muscular.

Tabela 3. Valores de referência para circunferência de cintura.

Classificação	Circunferência de cintura (cm)	
	Homens	Mulheres
Moderado risco cardiometabólico	≥ 94	≥ 80
Alto risco cardiometabólico	≥ 102	≥ 88

Fonte: OMS, 1997.

Tabela 4. Valores de referência para percentual de gordura.

Classificação	Percentual de Gordura	
	Homens	Mulheres
Desnutrição	< 6	< 9
Abaixo da média	6 – 15	9 – 23
Média	15 – 16	23 – 24
Acima da média	16 – 25	24 – 31
Obesidade	≥ 25	≥ 31

Fonte: LOHMAN *et al.*, 1991.

- Estatura

Foi determinada com auxílio do estadiômetro da marca SECA® (Hamburgo, Alemanha) com faixa de medição de 80 a 220cm e precisão de 0,1mm. O indivíduo foi posicionado ereto com os pés e pernas paralelos, com o peso distribuído em ambos os pés, braços relaxados e as palmas das mãos voltadas para o corpo. A face posterior do indivíduo foi mantida voltada para a superfície vertical do estadiômetro e ao menos três, de cinco pontos permaneceram apoiados ao equipamento ou à parede, sendo eles: os calcanhares, as panturrilhas, os glúteos, as escápulas e a região occipital do indivíduo. A cabeça do indivíduo foi posicionada no plano de Frankfurt, com a margem inferior da abertura do orbital e a margem superior do meato auditivo externo formando uma mesma linha horizontal (LOHMAN *et al.*, 1991).

- Peso e bioimpedanciometria elétrica

Foi utilizado o aparelho *Segmental Composition Analyser*, modelo MC 180MA da marca Tanita® (Tóquio, Japão). O indivíduo permaneceu com um pé em cada lado da placa metálica da base do equipamento (Figura 5), com o peso igualmente distribuído e imóvel. A partir da leitura do peso foi feito um desconto de 500g considerando os trajes utilizados pelo indivíduo (LOHMAN *et al.*, 1991).

Figura 5. Foto do *Segmental Composition Analyser, MC 180MA®*

Extraído de Tanita India®.

Após o peso, os indivíduos foram solicitados a pegar com as mãos as duas alavancas localizadas na parte superior do aparelho, e a estender os braços ao longo do corpo para a avaliação da composição corporal. O exame foi realizado a partir da passagem de uma pequena corrente elétrica pelo corpo do indivíduo, durante aproximadamente 1 minuto.

- **Circunferência de cintura**

A medida foi realizada no ponto médio da distância entre a última costela (flutuante) e a margem superior da crista ilíaca, com a região desprovida de roupas. O pesquisador localizou-se lateralmente ao indivíduo a ser medido, e realizou a medida a partir do posicionamento da fita métrica, não extensível, ao redor da cintura e paralela ao plano horizontal, na altura do ponto médio previamente verificado. Os pesquisadores se asseguraram que a fita métrica estava totalmente aderida ao corpo no local referido e com pressão adequada a fim de evitar frouxidão ou compressão da pele (ALBERTI *et al.*, 2006)

4.5.5 Avaliações Laboratoriais

As determinações sanguíneas foram efetuadas no Laboratório Central do Hospital das Clínicas da FM/USP e no Laboratório de Micronutrientes da FSP/USP, segundo protocolo:

- Contagem de linfócitos T (CD4, CD8) e carga viral

A contagem de subpopulações de linfócitos T (CD4 e CD8) foi realizada através de análises qualitativas e quantitativas com o auxílio de citômetro de fluxo BD FACSCalibur® (Wembley, Inglaterra) após marcação dessas células com anticorpos monoclonais fluorescentes específicos. Para a carga plasmática do HIV-1 (carga viral), foi utilizado o método *Branched DNA 3.0* da Versant® I (Freemont - CA, Estados Unidos), procedimento para a quantificação direta do RNA do vírus HIV-1, que amplifica o sinal emitido por sondas de ácido nucléico que hibridizam a região do gene da polimerase viral, usando o equipamento System 340 dDna Analyzer, da Bayer® (Leverkusen, Alemanha).

- Lipídios plasmáticos e glicemia de jejum

As análises de colesterol total e frações (HDL-c e LDL-c), triglicérides (TG) e glicose foram realizadas de forma automatizada obedecendo ao método enzimático-colorimétrico CHOD/PAP e GPO-PAP, utilizando “kits” bioquímicos da marca Roche® (Basiléia, Suíça). 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-c se encontram. Para encontrar os valores de LDL-c, foi utilizado cálculo baseado na equação de FRIEDEWALD *et al.* (1972), onde $LDL-c = \text{Colesterol total} - (VLDL + HDL-c)$, sendo $VLDL = \text{triglicérides} / 5$.

- Hemograma completo

As determinações foram realizadas por método automatizado. Se necessário, um estudo morfológico de esfregaços sanguíneos corados com corante panópticos foi realizado.

- Proteína C-reativa (PCR)

Foi determinada pelo método imunonefelometria de partículas utilizando o reagente *CardioPhase hsCRP* da Siemens (Malvern - PA, Estados Unidos), que é constituído por partículas de poliestireno revestidas com um anticorpo monoclonal contra a PCR. Desta forma, quando misturadas às amostras, que contém a proteína, formam-se aglutinados que dispersam a luz irradiada. A concentração da luz dispersa depende da concentração de PCR.

- Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A concentração de TBARS foi mensurada para indicar a ocorrência de peroxidação lipídica no plasma. O plasma (50µl) foi acondicionado a 1 ml de solução de ácido tiobarbitúrico (0,046M), ácido tricloroacético (0,92M) e ácido clorídrico (0,25M), e 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 8000x g, a 4°C por 15 minutos). A absorbância de 200µl do sobrenadante foi lida em espectrofotômetro Shimadzu (Dusseldórfia, Alemanha) 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 intervalo de concentração de 0,2 a 0,4 µmol/L (ANTOLOVICH *et al.* 2002; CIRICO & Omaye 2006 e MURSU *et al.* 2005). Os valores foram expressos em µmol TBARS/l de plasma. Todas as análises foram realizadas em duplicata.

4.6 QUESTÕES ÉTICAS

O presente estudo foi registrado sobre o número 3176 no *Netherlands Trial Register* a fim de proporcionar transparência e acessibilidade a todos os envolvidos na pesquisa, aumentando sua validade e valor no meio científico.

Todos os procedimentos para o desenvolvimento deste estudo respeitaram o preconizado na resolução 196, de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde - CNS. O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FSP/USP, sob o protocolo 328/09 (ANEXO 4), e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FM/USP, sob o protocolo 0753/10 (ANEXO 5).

A participação foi gratuita e voluntária, e a recusa em participar ou desistência, em qualquer momento, não afetou a rotina de atendimento ambulatorial no serviço.

Os indivíduos elegíveis e que aceitaram participar da pesquisa assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE 8) e estavam cientes que o suplemento alimentar seria doado. Foi assegurada confidencialidade dos dados e garantia de receberem retorno sobre os resultados das análises bioquímicas, em reuniões realizadas durante o período da intervenção. No último retorno (105 dias) todos os pacientes receberam uma carta personalizada com os dados parciais da pesquisa e as dúvidas que persistiram puderam ser esclarecidas durante todo o tempo.

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 do Departamento de Nutrição/FSP/USP, sendo que este material foi entregue ao Centro de Saúde Escola Geraldo Paula Souza (Av.Dr. Arnaldo nº 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. Os resíduos biológicos foram acondicionados e descartados seguindo Normas de Segurança Laboratorial (OMS, 2004).

4.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram processados e armazenados com a utilização do Epidata®, e posteriormente transferidos para planilhas no *Microsoft Excel*® versão 2007. Para análise estatística dos dados foi utilizado o programa Stata® (StataCorp LP, Texas) versão 11 para Windows®.

A caracterização da população foi realizada por meio da apresentação das variáveis em frequências absolutas e relativas, medidas de tendência central e dispersão (valores máximos e mínimos, médias e desvios padrão).

A fim de observar diferenças da média das variáveis resposta (LAEI e SAEI) no *baseline* em relação à administração dos suplementos, foi utilizado o teste t de *Student* pareado. Considerou-se significativo $p < 0,05$.

Para investigar as diferenças de resultados das variáveis resposta (LAEI e SAEI) em relação às variáveis explanatórias (intervenções: chocolate, placebo de chocolate, erva mate e placebo de erva mate), utilizou-se análise de variância (ANOVA) considerando a sequência de tratamentos recebida e o período da pesquisa, por meio do comando *pkcross* do pacote estatístico. Para tanto, foi necessário remodelar o banco de dados para a forma *long*, adaptada para esse tipo de análise (Figura 6).

Figura 6. Modelo de banco de dados utilizado para análise de variância.

	ID	Sequence	Period	Treat	OutcomeLAEI	OutcomeSAEI
1.	150	1	1	1	14.1	10.1
2.	151	2	1	2	13.2	9.5
3.	152	3	1	3	15.6	11.2
4.	153	4	1	4	10.5	6.8
5.	150	1	2	4	13.8	9.5
6.	151	2	2	3	13.6	9.7
7.	152	3	2	2	16.0	12.0
8.	153	4	2	1	10.0	6.3
9.	150	1	3	3	14.5	9.7
10.	151	2	3	4	13.5	10.0
11.	152	3	3	1	15.0	11.3
12.	153	4	3	2	10.1	6.9
13.	150	1	4	2	14.2	9.8
14.	151	2	4	1	13.0	9.3
15.	152	3	4	4	15.7	10.9
16.	153	4	4	3	10.3	7.1
17.	154	1	1	1	9.8	8.1
18.	155	2	1	2	13.5	5.6
19.	156	3	1	3	16.1	7.9
20.	157	4	1	4	10.1	4.5
21.	154	1	2	4	9.7	8.6
22.	155	2	2	3	13.0	5.9
23.	156	3	2	2	16.8	7.0
24.	157	4	2	1	10.0	4.3

Fonte: Stata, 2013.

Onde:

Id = Número de identificação de cada participante

Sequence = Código da sequência na qual os tratamentos foram recebidos (Sequência 1 = 1, 4, 3, 2 / Sequência 2 = 2, 3, 4, 1 / Sequência 3 = 3, 2, 1, 4 / Sequência 4 = 4, 1, 2, 3).

Period = Fase da pesquisa na qual as variáveis foram coletadas (Período 1 = 15 dias / Período 2 = 45 dias / Período 3 = 75 dias / Período 4 = 105 dias).

Treat = Código do tratamento recebido (Tratamento 1 = chocolate / Tratamento 2 = placebo de erva mate / Tratamento 3 = erva mate / Tratamento 4 = placebo de chocolate)

OutcomeLAEI = Resultados obtidos para LAEI de cada indivíduo, em dado período e tratamento

OutcomeSAEI = Resultados obtidos para SAEI de cada indivíduo, em dado período e tratamento

Nota-se que, neste modelo de banco de dados, foram formados blocos com as variáveis para cada quatro indivíduos em um mesmo período de coleta de dados. Cada indivíduo é representado em uma linha, que contém o código da sequência dos tratamentos recebidos, a fase da pesquisa da coleta dos dados, o código do tratamento recebido, seguido das variáveis resposta (*outcomes*) correspondentes. O próximo bloco de dados é formado pelos mesmos quatro indivíduos, porém, com os resultados referentes à fase da pesquisa posterior à primeira. Somente depois que os resultados para todos os períodos da pesquisa – nesta pesquisa, são quatro – foram colocados para esse grupo de participantes, é que se inicia um novo bloco para mais quatro indivíduos (Figura 6).

O *pkcross* faz parte de uma série de comandos do tipo *pk* -referência à farmacocinética- os quais foram desenhados para análises mais comumente utilizadas na indústria farmacêutica. Mais especificamente, o comando em questão é utilizado para análise de estudos cruzados, incluindo os valores de significância para os efeitos da sequência de tratamento e do período da pesquisa, além do tipo de tratamento utilizado (STATA, 2013).

A sintaxe para a análise deve seguir o modelo *pkcross outcome sequence period id treat*. Deve-se também, quando for o caso, incluir a informação sobre a ocorrência

de efeito cumulativo entre os tratamentos (*carryover*). Nesta pesquisa, admitiu-se que não houve acúmulo, e considerou-se significativo $p < 0,05$.

5. RESULTADOS

5.1 ABRANGÊNCIA DO ESTUDO

A Figura 7 sumariza o fluxograma de recrutamento dos pacientes nos dois centros de atendimento a pacientes com HIV/aids. Durante o período de coleta de dados, 1032 indivíduos foram convidados a participar da pesquisa. Destes, 592 foram excluídos por não preencherem os critérios de inclusão, e 267 recusaram a participação. Durante a pesquisa ainda houve 85 desistências e 9 exclusões.

Desta forma, o presente estudo incluiu 89 indivíduos, sendo que 79 completaram todas as fases da pesquisa, e 10 foram incluídos na análise parcial dos dados porque concluíram somente o consumo de um suplemento e seu respectivo placebo (correspondente às três primeiras fases da pesquisa). Entre esses, 6 indivíduos consumiram os dois tipos de chocolate, e 4 consumiram a erva mate e seu placebo.

Figura 7. Fluxograma de recrutamento dos indivíduos.

O principal motivo de recusa foi falta de tempo para participação. A justificativa é compreensível, visto que os pacientes precisavam ter disponibilidade para retornar uma vez por mês aos ambulatorios, sempre pela manhã, no período aproximado de quatro meses (Gráfico 1).

Gráfico 1. Distribuição dos participantes da pesquisa segundo sexo e motivos de recusa da participação na pesquisa. São Paulo, 2013.

Quanto aos motivos de exclusão, o principal foi o uso de hipolipemiantes (21,28%), além do grande número de indivíduos (20,95%) excluídos por mais um de fator (Tabela 5).

Tabela 5. Distribuição de adultos com HIV/aids em terapia antirretroviral e motivos de exclusão da pesquisa, segundo sexo. São Paulo, 2013.

Motivo de exclusão	Mulheres		Homens		Total	
	n	%	n	%	n	%
Não HIV	12	5,8	14	3,6	26	4,4
Idade (< 19 ou > 59 anos)	11	5,4	24	6,2	35	5,9
Tempo de TARV < 6 meses	18	8,8	24	6,2	42	7,1
Moradia distante	9	4,4	24	6,2	33	5,6
Intolerância aos suplementos	11	5,4	15	3,9	26	4,4
Diabetes	17	8,3	38	9,8	55	9,3
Doenças cardiovasculares*	4	1,9	6	1,5	10	1,7
Uso de antihipertensivos	11	5,4	22	5,7	33	5,6
Uso de hipolipemiantes	34	16,6	92	23,8	126	21,3
Doenças hepáticas**	8	3,9	14	3,6	22	3,7
Outros***	29	14,1	31	8,0	60	10,1
Mais de um motivo	41	20,0	83	21,4	124	20,9
TOTAL	205	100	387	100	592	100

Notas:

*Doenças cardiovasculares: arritmia cardíaca, infarto agudo do miocárdio e acidente vascular cerebral

** Doenças hepáticas: Hepatite B ou C ativas, cirrose e insuficiência hepática.

***Outros motivos: Chagas, Cânceres, doenças oportunistas, gestação, vegetarianismo, pancreatite.

5.2 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA AMOSTRA

5.2.1 Características Demográficas e Socioeconômicas

A população do estudo foi composta em sua maioria por paulistanos, brancos e do sexo masculino, com idade média 44,6 ($\pm 7,1$), variando entre 28 e 59 anos. Em relação à escolaridade, 37,1% completaram o ensino médio e 14,6% completaram o ensino superior. Cerca de 70% da população exercia alguma atividade remunerada no momento da entrevista. A renda média per capita, obtida pela renda familiar total dividida pelo número de integrantes da família, foi de R\$1574,4 ($\pm 1534,0$), sendo a menor de R\$120,0 e a máxima de R\$8000,0. As características socioeconômicas e demográficas da população estão apresentadas na tabela 6.

Tabela 6. Distribuição, médias e desvio-padrão dos participantes da pesquisa, segundo características demográficas e socioeconômicas. São Paulo, 2013.

Variáveis	n	%
Sexo		
Masculino	56	62,9
Feminino	33	37,1
Idade (anos)		
19 - 30	1	1,1
30 - 40	21	23,6
40 - 50	43	48,3
50 - 59	24	27,0
Raça/etnia		
Branco	41	46,1
Preto	15	16,9
Pardo/Mulato	31	34,8
Oriental	2	2,3
Naturalidade		
São Paulo (capital)	34	38,2
São Paulo (interior)	9	10,1
Norte	1	1,1
Nordeste	21	23,6
Centro-Oeste	1	1,1
Sudeste (outros estados)	10	11,2
Sul	13	14,6
Estado civil		
Solteiro / sem companheiro	43	48,3
Casado / com companheiro(a)	30	33,7
Separado / divorciado	11	12,4
Viúvo	5	5,6
Escolaridade		
Analfabeto	1	1,1
Fundamental incompleto	8	9,0
Fundamental completo	7	7,9
Médio incompleto	10	11,2
Médio completo	33	37,1
Superior incompleto	15	16,9
Superior completo	13	14,6
Pós graduação	2	2,2
Ocupação		
Não	20	22,5
Sim	66	74,2
Aposentado	3	3,4

(continua)

(continuação)

Renda per capita*		
< 1 salário mínimo	27	30,3
1 – 2 salários mínimos	26	29,2
2 – 3 salários mínimos	18	20,2
3 – 4 salários mínimos	4	4,5
4 – 5 salários mínimos	5	5,6
> 5 salários mínimos	8	9,0
Não referido	1	1,1

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

5.2.2 Estilo de Vida

Os indivíduos foram questionados quanto ao hábito de fumar, consumo de bebida alcoólica e uso de drogas ilícitas (Tabela 7). Verificou-se que grande parte da amostra era constituída por indivíduos não fumantes e não usuários de drogas ilícitas. Porém, cerca de metade dos indivíduos refeririam consumo habitual de bebida alcoólica.

Tabela 7. Distribuição dos participantes da pesquisa, segundo hábitos de vida. São Paulo, 2013.

Variáveis	n	%
Hábito de fumar		
Não	56	62,9
Sim	19	21,4
Ex-fumante	14	15,7
Consumo de bebida alcoólica		
Não	41	46,1
Sim	46	51,7
Ex-etilista	2	2,3
Uso de drogas ilícitas		
Não	78	87,6
Sim	11	12,4

*Nota: Drogas ilícitas foram consideradas maconha, cocaína e *ecstasy*.

A população também foi avaliada de acordo com a prática de atividade física pelo IPAQ – versão curta no momento do *baseline*. Os indivíduos praticavam, em média, 645,9 ($\pm$ 666,1) minutos de atividade física semanalmente, distribuída principalmente entre caminhada e atividades moderadas, sendo que a maioria dos indivíduos foi classificada como ativa fisicamente (Gráfico 2).

Gráfico 2. Distribuição dos participantes da pesquisa, segundo classificação da prática de atividade física. São Paulo, 2013.

Fonte: *International Physical Activity Questionnaire*, 2013.

5.2.3 Infecção Por HIV, Uso de Medicamentos e História Familiar

O tempo médio de infecção pelo HIV, segundo diagnóstico no prontuário médico, foi de 13,2 ($\pm$ 4,8) anos, com tempo médio de TARV de 10,6 ($\pm$ 5,1) anos. A maior parte da população (88,8%) apresentou adesão adequada a TARV, medida pelo consumo do número de comprimidos conforme prescrição médica nos três dias anteriores à primeira entrevista.

Todos os indivíduos da amostra faziam uso de antirretrovirais da classe dos ITRN, combinados principalmente com medicamentos da classe dos ITRNN (51,7%) e IP (Gráfico 3). Também foram encontrados indivíduos utilizando novas classes de medicamentos, como II e IF.

Gráfico 3. Distribuição dos participantes, segundo esquema de terapia antirretroviral utilizada no tratamento. São Paulo, 2013.

*Nota: ITRN= inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos; ITRNN = inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos; IP = inibidores de protease; Outros esquemas incluem as classes mais novas de medicamentos antirretrovirais.

Também foi observado que 47,19% da população fazia uso de outras medicações além dos antirretrovirais, principalmente antiulcerosos, antidepressivos, antibióticos e antifúngicos.

Com relação ao histórico familiar, foram mais frequentes os relatos de mãe diabética (27%), pai (34,8%) ou mãe (44,9%) hipertensos, e dislipidemia materna (29,2%) ou paterna (18%). A ocorrência de infarto agudo do miocárdio ou acidente vascular encefálico em pai ou mãe foi referida por 37,1% da amostra, sendo que desses, 48,5% ocorreram antes dos 65 nos pais ou 55 anos nas mães.

5.2.4 Estado Nutricional

A média de peso das mulheres foi de 61,7kg ($\pm 11,0$) e de altura de 161,6cm ($\pm 6,4$), com IMC médio de $23,6\text{kg/m}^2$ ($\pm 4,2$). Para homens, a média de peso foi de 71,8kg ($\pm 10,8$) e de altura 173,6cm ($\pm 5,8$), com média de IMC de $23,8\text{kg/m}^2$ ($\pm 3,4$). A maior parte dos indivíduos pôde ser classificada entre as faixas de eutrofia e sobrepeso segundo o IMC (Tabela 8).

Tabela 8. Distribuição, médias e desvio-padrão (DP) dos participantes segundo peso, altura e IMC. São Paulo, 2013.

Variáveis	n	%	Média (DP)	Mínimo	Máximo
Peso (kg)					
Masculino			71,8 (10,8)	43,4	97,3
Feminino			61,7 (11,0)	38,4	87,2
Altura (cm)					
Masculino			173,6(5,8)	163,9	184,9
Feminino			161,6 (6,4)	144,5	176,1
IMC (kg/m²)*					
<u>Homens</u>			23,8 (3,4)	13,8	31,1
Baixo Peso (<18,5)	3	5,4			
Eutrofia (18,5- 24,99)	34	60,7			
Sobrepeso (25 – 29,99)	17	30,4			
Obesidade (≥ 30,0)	2	3,6			
<u>Mulheres</u>			23,6 (4,2)	16,6	34,5
Baixo Peso (<18,5)	4	12,1			
Eutrofia (18,5- 24,99)	18	54,6			
Sobrepeso (25 – 29,99)	9	27,3			
Obesidade (≥ 30,0)	2	6,1			

*Nota: IMC – Índice de Massa Corporal

Fonte: OMS, 1997.

Com relação à circunferência de cintura, 60,2% dos indivíduos foram classificados com baixo risco cardiometabólico. Entretanto, é interessante notar a distribuição de grande parte das mulheres na faixa de alto risco (Gráfico 4). A análise da composição corporal mostra, como esperado, a maior média de percentual de gordura nas mulheres, e a maior quantidade de massa muscular nos homens (Tabela 9 e Gráfico 5).

Gráfico 4. Distribuição (%) dos participantes da pesquisa, segundo sexo e risco cardiometabólico, de acordo com medida de circunferência de cintura. São Paulo, 2013.

Fonte: OMS, 1997.

Tabela 9. Distribuição, médias e desvio-padrão (DP) dos participantes da pesquisa, de acordo com características antropométricas. São Paulo, 2013.

Variáveis	Média (DP)	Mínimo	Máximo
Circunferência cintura (cm)			
Homens	87,4 (9,3)	67,2	109,4
Mulheres	85,6 (10,3)	64,2	107,0
Gordura corporal (%)			
Masculino	16,0 (6,3)	3,0	28,1
Feminino	26,5 (7,9)	13,7	41,8
Massa muscular (kg)			
Masculino	56,6 (6,1)	39,9	69,4
Feminino	42,3 (4,5)	31,1	53,6

Gráfico 5. Distribuição (%) dos participantes da pesquisa segundo sexo e estado nutricional, de acordo com percentual de gordura. São Paulo, 2013.

Fonte: LOHMAN *et al.*, 1991.

5.2.5 Exames Bioquímicos

Na tabela 10 estão descritos os resultados dos exames bioquímicos da população estudada. Nota-se que, em geral, os indivíduos possuem valores de glicemia e perfil lipídico dentro dos parâmetros de normalidade, com exceção do HDL-c, que apresenta valor limítrofe, o que configura risco cardiovascular dos pacientes.

Para avaliação da gravidade da infecção e do perfil inflamatório os pacientes também foram avaliados segundo linfócitos T-CD4 e T-CD8, linfócitos totais, leucócitos, carga viral, PCR e TBARS. Como esperado, a maioria da população (95,5%) não apresentou carga viral detectável. Apenas dois pacientes apresentaram carga viral até 500 cópias/ml, o chamado de “*blip*” - aumento na viremia não relacionado à falência do tratamento.

Tabela 10. Distribuição, médias e desvio-padrão (DP) dos participantes da pesquisa, de acordo com exames bioquímicos. São Paulo, 2013.

Variáveis bioquímicas	n	%	Média (DP)	Mínimo	Máximo
Glicemia (mg/dl)			82,5 (9,8)	55	122
<99	87	97,8			
100-125	2	2,3			
≥ 126	0	0			
Colesterol total (mg/dl)			195,8 (36,4)	125	313
Sem risco (<200)	49	55,1			
Risco moderado (200-239)	30	33,7			
Risco elevado (≥ 239)	10	11,2			
LDL-c (mg/dl)			117,7 (33,7)	24	285
Sem risco (<130)	59	66,3			
Risco moderado (130-159)	24	27,0			
Risco elevado (≥ 160)	6	6,7			
HDL-c (mg/dl)			49,7 (15,3)	6	96
Desejável (>55)	25	28,1			
Limítrofe (35-55)	52	58,4			
Risco (<35)	12	13,5			
Triglicérides (mg/dl)			145,6 (76,8)	40,0	559,0
Desejável (<150)	51	57,3			
Limítrofe (150-200)	23	25,8			
Risco elevado (200-499)	14	15,7			
Alto risco (>500)	1	1,1			
Linfócitos (10³ células/mm)					
T-CD4			605,4 (279,9)	144,0	1314,0
T-CD8			826,0 (349,2)	234,0	1950,0
Totais			2,0 (0,6)	0,7	4,0
Leucócitos (células/mm³)			6,2 (2,0)	3,3	13,9
Proteína C-reativa (mg/ml)			2,3 (2,2)	0,1	12,2
TBARS (μmol/l)*			12,3 (4,9)	3,4	25,7

*Notas: LDL-c lipoproteína de baixa densidade, HDL-C lipoproteína de alta densidade, TBARS (n=82)

Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.

Fonte: Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC), 2007.

5.3 DESCRIÇÃO DA INTERVENÇÃO E VARIÁVEIS RESPOSTA

5.3.1 Alocação dos Indivíduos nos Diferentes Tratamentos

Os participantes foram distribuídos de forma aleatória nos diferentes grupos de intervenção. A Tabela 11 mostra que a ordem de recebimento dos suplementos foi equilibrada entre os pacientes.

Tabela 11. Distribuição dos participantes da pesquisa segundo tratamento e fase da pesquisa. São Paulo, 2013.

Tratamento	Fases da pesquisa				TOTAL
	Fase 1 (15 dias)	Fase 2 (45 dias)	Fase 3 (75 dias)	Fase 4 (105 dias)	
Chocolate	20	24	21	20	85
Placebo de chocolate	24	20	20	21	85
Erva mate	24	21	17	21	83
Placebo de erva mate	21	24	21	17	83
TOTAL	89	89	79	79	336

5.3.2 Adesão aos Suplementos

Ao longo de cada fase da pesquisa a ingestão dos suplementos foi acompanhada para verificar se estava de acordo com a orientação dos pesquisadores. Também foram observadas a aceitação dos suplementos e a ocorrência de possíveis efeitos adversos.

De modo geral, os participantes apresentaram boa aceitação e consequentemente adesão adequada à intervenção (Gráfico 6). A orientação era o consumo diário de uma porção de suplemento - barra de chocolate ou sachê de erva mate e respectivos placebos, de acordo com a fase da pesquisa - totalizando em cada fase o consumo de 15 porções. Os indivíduos ingeriram em média 14,7 ($\pm$ 0,9) porções (Tabela 12) de suplementos a cada fase.

Gráfico 6. Distribuição dos participantes da pesquisa de acordo com o consumo dos suplementos. São Paulo, 2013.

Nota-se, porém, que alguns indivíduos apresentaram menos do que 80% de adesão ao consumo dos suplementos (04 indivíduos para chocolate, 01 indivíduo para erva mate e 01 indivíduo para placebo de chocolate), conforme mostra Tabela 12. No entanto, optou-se pela inclusão desses pacientes uma vez que não foram observadas alterações nos testes estatísticos (APÊNDICE 9).

Tabela 12. Mínimo, máximo, médias e desvios padrão (DP) da ingestão dos suplementos pelos participantes da pesquisa. São Paulo, 2013.

Suplementos	Mínimo	Máximo	Média (DP)
Chocolate (barras)	9	15	14,6 (1,1)
Placebo de chocolate (barras)	6	15	14,6 (1,1)
Erva mate (sachês)	9	15	14,7 (0,8)
Placebo de erva mate (sachês)	12	15	14,8 (0,5)

Os pacientes apresentaram maior dificuldade no consumo de placebo de chocolate, no entanto, maior aceitação no consumo de placebo de erva mate (Tabela 12). A informação justifica-se pelo relato dos pacientes de sabor muito adocicado para o primeiro suplemento. Por outro lado, outros participantes referiram sabor muito amargo para o chocolate e erva mate.

Parte da amostra (24%) referiu efeitos adversos, os quais foram mais comuns no consumo dos chocolates. Foram relatadas mudanças no funcionamento intestinal – no que diz respeito tanto a frequência, quanto a consistência -, aumento de saciedade e oleosidade da pele. Nas fases da erva mate os participantes referiram aumento de apetite e mudança no hábito intestinal.

Não foi necessária a exclusão de participante algum em decorrência destas observações, uma vez que foram episódios isolados, leves, e que não puderam ser diretamente associados ao consumo dos suplementos. Ainda assim, aqueles que apresentaram esses sintomas foram orientados a manter o consumo dos suplementos.

5.3.3 Acompanhamento das Variáveis Biológicas

Em estudos cruzados a variável resposta é medida em um mesmo paciente durante diferentes tratamentos, o que elimina a variação pessoal nas análises de dados, pois se supõe que as demais variáveis não modifiquem ao longo do tempo (SIBBALD e ROBERTS, 1998). No entanto, considerando que algumas estão relacionadas à elasticidade arterial, a tabela 13 mostra as médias e desvios-padrão das variáveis avaliadas ao longo dos tratamentos.

Nota-se que, conforme esperado, as médias das variáveis independentes são praticamente constantes ao longo das intervenções. Ressalta-se, assim, que os indivíduos aparentemente não apresentaram ganho de peso, aumento de glicemia ou piora do perfil lipídico durante a intervenção. Por outro lado, o consumo dos suplementos parece não ter impactado na melhora no perfil inflamatório e oxidativo medido pela PCR e TBARS.

Os resultados incluindo apenas indivíduos que concluíram todas as fases da pesquisa não diferem dos resultados apresentados abaixo, conforme apêndice 10.

Tabela 13. Médias e desvios padrão (DP) das variáveis antropométricas e bioquímicas dos pacientes de acordo com os tipos de intervenção. São Paulo, 2013.

Variáveis	Médias (DP) nas fases da pesquisa				
	Baseline*	Chocolate*	Placebo de chocolate *	Erva mate*	Placebo de erva mate *
Peso (kg)	68,0 (11,9)	68,2 (11,5)	68,2 (11,7)	67,7 (11,9)	67,5 (11,7)
Circunferência de cintura (cm)	86,7 (9,7)	86,8 (9,4)	86,3 (9,2)	86,2 (9,5)	86,1 (9,5)
Percentual de gordura	19,9 (8,6)	19,9 (8,6)	19,2 (8,5)	19,8 (8,7)	20,3 (11,0)
Massa muscular (kg)	51,3 (8,9)	51,8 (8,4)	51,8 (8,7)	50,8 (10,2)	50,7 (9,0)
Glicemia (mg/dl)	82,5 (9,8)	83,8 (8,3)	82,4 (10,9)	82,8 (10,9)	81,4 (6,6)
Colesterol total (mg/dl)	195,8 (36,3)	200,5 (41,9)	199,3 (37,8)	197,9 (37,0)	193,2 (38,1)
LDL-c** (mg/dl)	117,7 (33,7)	122,8 (43,1)	117,7 (33,7)	119,1 (32,5)	116,0 (32,5)
HDL-c** (mg/dl)	49,7 (15,3)	51,6 (15,0)	49,7 (15,3)	50,1 (14,1)	49,7 (13,8)
Triglicérides** (mg/dl)	145,6 (76,8)	135,3 (60,4)	141,5 (78,5)	143,6 (60,2)	141,3 (72,9)
Linfócitos (mil células/mm³)					
T-CD4	605,4 (279,9)	628,1 (287,6)	643,2 (304,4)	644,6 (330,4)	635,4 (292,1)
T-CD8	826,0 (349,2)	826,0 (387,6)	853,7 (399,1)	826,7 (376,7)	831,3 (348,5)
Totais	2,0 (0,6)	1,9 (0,6)	2,0 (0,6)	2,0 (0,7)	2,0 (0,6)
Leucócitos(células/mm³)	6,2 (2,0)	5,8 (1,3)	6,1 (1,4)	6,0 (1,5)	6,1 (1,8)
Proteína C-reativa (mg/ml)	2,3 (2,2)	2,66 (3,4)	2,9 (6,1)	3,3 (5,5)	1,9 (2,1)
TBARS** (μmol/l)	12,3 (4,9)	12,6 (5,5)	12,6 (5,0)	12,2 (4,6)	11,9 (5,1)

*Nota: Baseline n=89; Chocolate e placebo de chocolate n=85; Erva mate e placebo de erva mate n=83

**Nota: LDL-c lipoproteína de baixa densidade, HDL-C lipoproteína de alta densidade; TBARS (n=82) substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.

5.3.4 Elasticidade Arterial

A média de elasticidade arterial dos grandes vasos (LAEI) no *baseline* foi de 15,0ml/mmHg x 10 ($\pm$ 4,7) e dos pequenos vasos (SAEI) foi de 5,7ml/mmHg x 100 ($\pm$ 2,6) para os participantes que completaram a pesquisa. Os valores médios de LAEI e SAEI no *baseline* e ao longo dos tratamentos estão dispostos na tabela 14.

Tabela 14. Médias e desvio padrão (DP) da elasticidade arterial no *baseline* e após suplementação com chocolate e placebo de chocolate dos participantes que completaram a pesquisa (n=79). São Paulo, 2013.

Variável	Médias (DP) após o consumo dos suplementos				
	<i>Baseline</i> (DP)	Chocolate (DP)	Placebo de chocolate (DP)	Erva Mate (DP)	Placebo de erva mate (DP)
LAEI*	15,0 (4,7)	14,4 (3,7)	14,1 (4,5)	14,4 (5,5)	14,7 (4,1)
SAEI*	5,7 (2,6)	6,0 (2,5)	5,9 (2,8)	6,1 (3,9)	6,1 (2,9)

*Nota: LAEI - Índice de elasticidade das grandes artérias (ml/mmHg x 10); SAEI: Índice de elasticidade das pequenas artérias (ml/mmHg x 100)

De acordo com a Diretriz para Elasticidade Arterial, os indivíduos foram classificados no *baseline*, em sua maior parte, com LAEI dentro dos valores normais. No entanto, grande número de indivíduos tiveram a SAEI classificada como reduzida ou limítrofe (Gráficos 7 e 8), indicando alterações precoces no sistema cardiovascular.

Gráfico 7. Distribuição dos participantes de acordo com a classificação da elasticidade arterial dos grandes vasos. São Paulo, 2013.

Fonte: *Hypertension Diagnosis*, 2009.

Gráfico 8. Distribuição dos participantes de acordo com a classificação da elasticidade arterial dos pequenos vasos. São Paulo, 2013.

Fonte: *Hypertension Diagnosis*, 2009.

Procedendo com a análise estatística para verificar o efeito dos suplementos, comparou-se as médias das diferenças das variáveis resposta (LAEI e SAEI) após a ingestão de chocolate e placebo de chocolate (Tabela 15), e erva mate e placebo de erva mate (Tabela 16) em relação ao *baseline* (Δ = variável resposta no *baseline* – variável resposta após cada suplemento). Não foram observadas diferenças estatísticas.

Tabela 15. Diferenças (Δ) médias e desvio padrão (DP) da elasticidade arterial dos participantes após suplementação com chocolate e placebo de chocolate em relação ao *baseline* (n=85). São Paulo, 2013.

Variável	Diferenças médias (DP) de LAEI e SAEI após o consumo de chocolate e placebo de chocolate		
	Chocolate (DP)	Placebo de chocolate (DP)	p ^{**}
Δ LAEI*	0,7 (5,3)	0,9 (5,0)	0,66
Δ SAEI*	-0,3 (3,1)	-0,2 (3,3)	0,77

*Nota: LAEI - Índice de elasticidade das grandes artérias (ml/mmHg x 10); SAEI: Índice de elasticidade das pequenas artérias (ml/mmHg x 100); Δ = resultado no *baseline* – resultado após suplementação.

** Nota: comparação da diferença das médias (Teste t *Student* pareado)

Tabela 16. Diferenças (Δ) médias e desvio padrão (DP) da elasticidade arterial dos participantes após suplementação com erva mate e placebo de erva mate em relação ao *baseline* (n=83). São Paulo, 2013.

Variável	Diferenças médias (DP) de LAEI e SAEI após o consumo de erva mate e placebo de erva mate		
	Erva mate (DP)	Placebo de erva mate (DP)	p ^{**}
Δ LAEI*	0,6 (5,7)	0,2 (4,8)	0,71
Δ SAEI*	-0,3 (4,0)	-0,3 (3,6)	0,51

*Nota: LAEI - Índice de elasticidade das grandes artérias (ml/mmHg x 10); SAEI: Índice de elasticidade das pequenas artérias (ml/mmHg x 100); Δ = resultado no *baseline* – resultado após suplementação.

**Nota: comparação da diferença das médias (Teste t *Student* pareado)

Em seguida foi realizada a análise de variância para observar o efeito da sequência de tratamento, do período de tratamento, e dos suplementos utilizados na LAEI (Tabela 17) e SAEI (Tabela 18) dos participantes. Conforme esperado, a sequência e o período não exerceram efeito nas variáveis resposta. Por outro lado, não foram observadas diferenças significativas na elasticidade arterial após o consumo de nenhum suplemento.

Tabela 17. Análise de variância da elasticidade arterial dos grandes vasos (LAEI) dos participantes que completaram a pesquisa (n=79) após as suplementações com chocolate, placebo de chocolate, erva mate e placebo de erva mate. São Paulo, 2013.

Origem da variação	Análises estatísticas				
	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado das médias	F	p*
Entre os sujeitos					
Efeito da sequência	55,43	3	18,48	0,35	0,79
Intraindividual					
Efeito do tratamento	16,08	3	5,36	0,53	0,66
Efeito do período	11,36	3	3,79	0,37	0,77

* Nota: Comparação das médias (ANOVA)

Tabela 18. Análise de variância de elasticidade arterial dos pequenos vasos (SAEI) dos participantes que completaram a pesquisa (n=79) após as suplementações com chocolate, placebo de chocolate, erva mate e placebo de erva mate. São Paulo, 2013.

Origem da variação	Análises estatísticas				
	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado das médias	F	p*
Entre os sujeitos					
Efeito da sequência	52,13	3	17,38	0,64	0,59
Intraindividual					
Efeito do tratamento	2,03	3	0,68	0,16	0,92
Efeito do período	1,97	3	0,66	0,15	0,92

* Nota: comparação das médias (ANOVA)

Ainda que não tenha sido detectada diferença entre o consumo de todos os tratamentos, a análise foi dividida para observar a diferença entre cada suplemento e seu respectivo placebo. As tabelas 19 e 20 mostram os resultados de LAEI e SAEI, respectivamente, após o consumo do chocolate e placebo de chocolate para os indivíduos que completaram essas fases. Não houve significância estatística.

Tabela 19. Médias, desvio padrão (DP) e análise de variância de elasticidade arterial dos grandes vasos (LAEI) dos participantes que consumiram o chocolate e placebo de chocolate (n=85). São Paulo, 2013.

Origem da variação	Análises estatísticas				
	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado das médias	F	p*
Entre os sujeitos					
Efeito da sequência	53,12	3	17,71	0,71	0,55
Intraindividual					
Efeito do tratamento	1,87	1	1,87	0,23	0,63
Efeito do período	4,29	2	2,15	0,26	0,76

* Nota: comparação das médias (ANOVA)

Tabela 20. Médias, desvio padrão (DP) e análise de variância de elasticidade arterial dos pequenos vasos (SAEI) dos participantes que consumiram (n=85) o chocolate e placebo de chocolate. São Paulo, 2013.

Origem da variação	Análises estatísticas				
	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado das médias	F	p*
Entre os sujeitos					
Efeito da sequência	16,86	3	5,62	0,50	0,68
Intraindividual					
Efeito do tratamento	0,41	1	0,41	0,12	0,72
Efeito do período	0,57	2	0,29	0,08	0,91

*Nota: comparação das médias (ANOVA)

A comparação da diferença no consumo da erva mate e placebo de erva mate também não foi estatisticamente significativa para a LAEI (Tabela 21) e SAEI (Tabela 22) daqueles que consumiram esses dois suplementos.

Tabela 21. Médias, desvio padrão (DP) e análise de variância de elasticidade arterial dos grandes vasos (LAEI) dos participantes que consumiram (n=83) a erva mate e placebo de erva mate. São Paulo, 2013.

Origem da variação	Análises estatísticas				
	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado das médias	F	p*
Entre os sujeitos					
Efeito da sequência	21,53	3	7,18	0,20	0,89
Intraindividual					
Efeito do tratamento	5,95	1	5,95	0,51	0,47
Efeito do período	7,96	2	3,98	0,34	0,71

*Nota: comparação das médias (ANOVA)

Tabela 22. Médias, desvio padrão (DP) e análise de variância de elasticidade arterial dos pequenos vasos (SAEI) dos participantes que consumiram (n=83) a erva mate e placebo de erva mate. São Paulo, 2013.

Origem da variação	Análises estatísticas				
	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado das médias	F	p*
Entre os sujeitos					
Efeito da sequência	50,85	3	16,95	0,88	0,45
Intraindividual					
Efeito do tratamento	0,08	1	0,08	0,02	0,89
Efeito do período	4,21	2	2,10	0,46	0,63

*Nota: comparação das médias (ANOVA)

Por fim, buscou-se investigar a diferença na LAEI (Tabela 23) e SAEI (Tabela 24) dos indivíduos que completaram todas as fases da pesquisa, após o consumo

das duas intervenções (chocolate e erva mate). Entretanto, os resultados não foram estatisticamente significantes.

Tabela 23. Médias, desvio padrão (DP) e análise de variância de elasticidade arterial dos grandes vasos (LAEI) dos participantes que completaram a pesquisa (n=79) após suplementação com chocolate e erva mate. São Paulo, 2013.

Origem da variação	Análises estatísticas				
	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado das médias	F	p*
Entre os sujeitos					
Efeito da sequência	37,42	3	12,47	0,39	0,76
Intraindividual					
Efeito do tratamento	0,07	1	0,07	0,00	0,94
Efeito do período	5,62	3	1,87	0,13	0,93

*Nota: comparação das médias (ANOVA)

Tabela 24. Médias, desvio padrão (DP) e análise de variância de elasticidade arterial dos pequenos vasos (SAEI) dos participantes que completaram a pesquisa (n=79) após suplementação com chocolate e erva mate (n=79). São Paulo, 2013.

Origem da variação	Análises estatísticas				
	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado das médias	F	p*
Entre os sujeitos					
Efeito da sequência	51,40	3	17,13	0,98	0,40
Intraindividual					
Efeito do tratamento	0,47	1	0,47	0,11	0,74
Efeito do período	21,22	3	7,07	1,66	0,18

*Nota: comparação das médias (ANOVA)

A análise das médias das diferenças das variáveis resposta após as suplementações (Tabelas 15 e 16), e da análise de variância entre cada

suplemento e seu respectivo placebo (Tabelas 19, 20, 21 e 22) foram repetidas incluindo apenas os indivíduos que completaram todas as fases da pesquisa. No entanto, assim como os presentes resultados, não foram encontradas diferenças estatísticas, conforme disposto no apêndice 10.

6. DISCUSSÃO

6.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA AMOSTRA

Nessa pesquisa, observou-se predomínio de participantes do sexo masculino, caucasianos, com idade entre 40 e 49 anos. Com base no tempo médio de infecção de aproximadamente 13 anos, os dados estão de acordo com o Boletim Epidemiológico de HIV/aids do MS (2011a), que mostra no ano 2000 maior número de notificações da doença entre homens, da raça branca, principalmente na faixa etária dos 30 a 35 anos. De acordo com a Fundação Sistema Estadual de Análise de Dados (SEADE, 2013), cerca de 50% da população do Estado de São Paulo encontra-se entre 25 e 59 anos, e mais de 60% é branca, o que também corrobora com os dados coletados.

No que tange a escolaridade e a condição financeira dos indivíduos, os resultados obtidos são superiores a média nacional. Cerca de 50% dos indivíduos referiu renda *per capita* de 1 a 3 salários mínimos, e 70% concluíram pelo menos o ensino médio. De acordo com o Censo (IBGE, 2010), a maior parte da população brasileira não completou o ensino fundamental, e a média de renda *per capita* é de até 1 salário mínimo. No entanto, os resultados são mais similares às características do estado de São Paulo, onde 66,15% estão na mesma faixa de renda, e grande parte já concluiu o ensino médio (SEADE, 2013). Essa diferença se justifica pelo estado compreender uma das grandes metrópoles brasileiras, com alta taxa de urbanização e, portanto, melhores condições socioeconômicas.

Com relação ao estilo de vida, observa-se uma prevalência de tabagismo (21,4% *versus* 19,3%) ligeiramente superior à taxa levantada pela pesquisa de vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico (MS, 2012b) para o município de São Paulo. A maior taxa de tabagismo entre a população HIV/aids também foi observada em análise dos resultados populacionais dos Estados Unidos desenvolvida por GUTIERREZ *et al.* (2011). Em uma população saudável, o tabagismo, mesmo que moderado (< 20 cigarros ao dia) esteve associado à menor SAEI, a qual está associada ao risco cardiovascular aumentado (WONG *et al.*, 2003; ZIMLICHMAN *et al.*, 2003).

O consumo habitual de bebidas alcoólicas foi referido por cerca de 50% da amostra. Taxas similares foram encontradas por outros pesquisadores (KAIO, 2013; OLIVEIRA, 2011). Segundo estudo de ZIMLICHMAN (2003) com indivíduos saudáveis, enquanto o consumo eventual de vinho, cerveja e pequenas doses de licor pareceram melhorar a elasticidade arterial, o consumo de mais de uma dose de álcool por dia exerceu o efeito oposto, o que contribuiria para o aumento do risco cardiovascular. Entretanto, na presente pesquisa não foi avaliada a quantidade de álcool absoluto consumido, e, portanto, não é possível supor abuso por parte dos participantes. Ainda assim, o consumo de álcool também está associado ao maior risco de transmissão do HIV por relações sexuais desprotegidas (SANCHEZ *et al.*, 2013; TRIANT, 2013).

A prática de atividade física foi maior do que a encontrada por outros autores. Na presente pesquisa apenas 4,5% da amostra foi classificada como sedentária, enquanto nas pesquisas de KAIO (2010) e FLORINDO *et al.* (2007) foram encontradas prevalências de 67% e 50%, respectivamente. A diferença é justificável visto que esta é a primeira vez em que se utilizou um questionário validado para avaliação da prática de atividade física.

O IPAQ inclui atividades diárias (limpeza da casa, pequenos trajetos de caminhada, subida de escadas, etc.) como exercício físico (MATSUDO *et al.*, 2001). Por outro lado, a tendência é que as pessoas, quando questionadas sobre a prática de atividade física, apenas relatem as atividades de lazer (futebol, natação, musculação, etc.). Ainda assim, é notável a grande quantidade de indivíduos ativos na amostra, o que é extremamente positivo pelo seu papel cardioprotetor (Sociedade Brasileira de Cardiologia - SBC, 2007). Em estudos realizados com adolescentes, a realização de atividade física aeróbica, independentemente de outros fatores, contribuiu para o aumento da LAEI e SAEI (REED *et col.*, 2005; MASTROENI, 2009).

O histórico familiar de doenças cardiometabólicas pode somar os fatores de risco para doenças cardiovasculares (DCV) (SBC, 2007). Ainda que não sejam dados fidedignos, uma vez que foram obtidos por auto-relato, aproximadamente 80% dos indivíduos referiu histórico materno ou paterno dessas patologias.

Com relação ao esquema de TARV, a maior prevalência de participantes estava em uso da associação ITRN + ITRNN, e ITRN + IP. Os resultados estão de

acordo com a recomendação de início de terapia do MS (2013), correspondendo aos esquemas preferencial e alternativo, respectivamente.

Da amostra total, dois participantes apresentaram baixa viremia durante algum momento da pesquisa. No entanto, a adesão adequada a TARV pela maioria da população e os valores de linfócitos totais, linfócitos T-CD4 e T-CD8 dentro da normalidade indicam o seguimento adequado do tratamento (MANUAL DE EXAMES – FM/USP, 2013). Tal fato era esperado, uma vez que infecção controlada fazia parte dos critérios de inclusão para a pesquisa.

O aumento intermitente de viremia em até 500 cópias/ml sem mudança na TARV é considerado “*blip*”. Tal fenômeno é comum, e não representa falência de tratamento, não sendo assim indicada a troca dos medicamentos. De acordo com IBRAHIM *et al.* (2012), relação sexual desprotegida com parceiros com HIV e maior tempo de TARV estão relacionados com a sua ocorrência.

O estado nutricional dos indivíduos da amostra é semelhante a outros estudos (FLORINDO *et al.*, 2007; KAIO, 2013). A melhoria das condições de saúde da população com HIV, em decorrência do início da TARV, reflete também no maior número de indivíduos na faixa de eutrofia. Ao mesmo tempo, o uso de medicamentos da classe dos IP e ITRN está associado a maior incidência de obesidade central. Esse acúmulo de gordura na região abdominal, associado à perda de gordura subcutânea, além de alterações no perfil lipídico e no metabolismo da glicose é denominado como lipodistrofia, e representa mais um fator de risco coronariano desses indivíduos (SOUZA *et al.*, 2013). PONTILHO (2012) observou associação negativa entre a prega subcutânea subescapular e a elasticidade arterial de grandes e pequenos vasos em análise de regressão logística a partir dos dados do *baseline* de parte da amostra da presente pesquisa.

Assim, cerca de 40% dos nossos indivíduos apresentaram circunferência de cintura aumentada e aproximadamente 50% mostraram percentual de gordura acima da média da população saudável. Outros autores observaram prevalências similares de adiposidade central, diagnosticadas a partir da relação cintura / quadril (JAIME *et al.*, 2006; FLORINDO *et al.*, 2007).

Apesar dos participantes terem apresentado esse acúmulo de gordura visceral, a média dos exames bioquímicos está dentro da normalidade. Tais resultados podem ser explicados pelos critérios de seleção da pesquisa, nos quais indivíduos com diabetes mellitus ou em uso de hipo-lipemiantes foram excluídos. Além disso,

segundo revisão bibliográfica realizada por SOUZA *et al.* (2013), nem todos os medicamentos da classe dos IP e ITRN exercem efeito negativo na saúde cardiovascular. Enquanto indinavir (IP), lopinavir (IP), didanosina (ITRN), estavudina (ITRN) e zidovudina (ITRN) parecem exercer efeito negativo sobre o perfil lipídico, atazanavir (IP), tenofovir (ITRN) e nevirapina (ITRNN) estão associados à redução dos níveis de triglicerídeos, colesterol total, e aumento do HDL-c.

Ainda assim, avaliando a distribuição dos indivíduos segundo os parâmetros recomendados para os exames bioquímicos, nota-se que valores aumentados foram encontrados por cerca de metade da amostra para colesterol total, um terço para LDL-c, e 40% para triglicérides, além de aproximadamente 70% estarem com níveis reduzidos de HDL-c. Esse quadro de dislipidemia tem sido comum entre pacientes com HIV/aids não somente pela lipodistrofia, mas também devido aos fatores de risco tradicionais, como genética, consumo de álcool, dieta e inatividade física (OH e HEGELE, 2007; ALMEIDA *et al.*, 2009). O monitoramento desses resultados deve ser feito de modo regular, uma vez que o papel das alterações do perfil lipídico no processo de aterosclerose já é bastante estabelecido na literatura (SBC, 2007).

Além disso, os valores de PCR, leucócitos totais e TBARS indicam a presença de um perfil inflamatório e oxidativo dos participantes. Alguns autores já demonstraram que a infecção controlada não é suficiente para suprimir esse quadro de inflamação crônica dos indivíduos com HIV/aids, possivelmente decorrente da própria presença do vírus, além da TARV e dos fatores de risco tradicionais (HSUE *et al.*, 2009; TIEN *et al.*, 2010).

A média dos valores de PCR na presente pesquisa indica que os participantes possuem risco cardiovascular moderado, a partir dos pontos de corte para a população saudável (PEARSON *et al.*, 2003). Porém, valores acima de 3mg/ml conferem alto risco, como podem se enquadrar alguns dos participantes, segundo o valor máximo encontrado (12,2mg/ml). Nas últimas décadas têm crescido as evidências do papel da inflamação no início, desenvolvimento e complicação da aterosclerose, estando envolvida na disfunção endotelial, na oxidação de lipoproteínas e ativação de metaloproteínas relacionadas à ruptura das fibras elásticas do vaso arterial (PEARSON *et al.*, 2003).

A contagem média de leucócitos dos participantes do estudo permaneceu dentro dos valores de normalidade. No entanto, pesquisas associam a elevação da contagem de leucócitos ao risco cardiovascular e de mortalidade geral, mesmo dentro dos parâmetros de normalidade. Isso porque essa elevação reflete um estado crônico de inflamação e pode contribuir diretamente para o processo de aterosclerose (HAJJ-ALI *et al.*, 2001). Segundo o estudo de LI *et al.* (2013), indivíduos saudáveis com disfunção endotelial apresentaram contagem de leucócitos significativamente maiores daqueles sem o mesmo diagnóstico.

O estado de inflamação está relacionado a lesões celulares e a peroxidação lipídica, que faz parte do processo aterosclerótico. A análise de TBARS plasmáticos, mesmo considerando-se suas limitações, pode indicar a ocorrência de peroxidação lipídica (WALTER *et al.*, 2004; TANAKA *et al.*, 2011). Em estudo prospectivo realizado por TANAKA *et al.* (2011), indivíduos nos maiores tercís da distribuição de TBARS ($>5,3 \mu\text{mol/l}$) tiveram risco relativo 3,2 vezes maior de ocorrência de IAM ou AVC quando comparado aos indivíduos nos tercís menores ($<4,2 \mu\text{mol/l}$).

Os participantes desta intervenção apresentaram altos valores de TBARS plasmáticos ($12,29 \pm 4,94 \mu\text{mol/l}$). Em pesquisa realizada em São Paulo, indivíduos saudáveis na faixa etária dos 40 a 49 anos apresentaram em média $2,3 \mu\text{mol/l}$ de TBARS (JUNQUEIRA *et al.*, 2004). Os resultados obtidos parecem maiores mesmo quando comparados a outros indivíduos com HIV/aids em TARV: NGONDI *et al.* (2006) obtiveram valores de TBARS de $6,28 \pm 1,3 \mu\text{mol/l}$. Porém, os indivíduos de sua amostra estavam em uso de TARV no período de até 6 meses, enquanto os participantes desta intervenção faziam uso de TARV por no mínimo 6 meses, sendo a média de exposição cerca de 10 anos.

6.2 ELASTICIDADE ARTERIAL

A redução da elasticidade arterial está associada à ocorrência de DCV (WONG *et al.*, 2003; DUPREZ *et al.*, 2011). De acordo com a classificação da elasticidade arterial pela diretriz disponível, os valores de LAEI da maioria dos indivíduos dessa pesquisa estavam dentro da normalidade. No entanto, a amostra se dividiu pela metade entre indivíduos com valores normais de SAEI e valores limítrofes ou reduzidos. Este resultado indica a presença de disfunção endotelial e alterações

precoces no sistema cardiovascular dos indivíduos, identificados antes da manifestação clínica da doença.

No entanto, é importante ressaltar que a diretriz não se trata de uma referência para a população brasileira, ou para indivíduos com HIV/aids. Desta forma, a média dos resultados também pode ser comparada a de BAKER *et al.* (2009), que foi o único estudo encontrado a utilizar o método de formato de onda da pressão arterial na diástole para avaliar a elasticidade arterial de indivíduos com HIV/aids, mas sem uso de TARV.

As médias dos valores obtidos no presente estudo e no estudo de BAKER *et al.* (2009) foram respectivamente: LAEI $14,81 \pm 4,7$ ml/mmHg *versus* $16,4 \pm 4,6$ ml/mmHg $\times 10$; SAEI $5,72 \pm 2,53$ ml/mmHg $\times 100$ *versus* $6,7 \pm 2,5$ ml/mmHg $\times 100$. Segundo os autores, a elasticidade arterial dos indivíduos com HIV/aids estava significativamente reduzida quando comparada aos indivíduos controle. Tal conclusão nos permite confirmar a classificação realizada a partir da diretriz, e permite supor ainda que os participantes da presente pesquisa apresentaram uma redução em maior magnitude aos de BAKER *et al.* (2009), possivelmente devido ao uso de TARV.

Alguns pesquisadores já referiram o potencial efeito da infecção e da TARV, principalmente dos medicamentos da classe dos IP na elasticidade arterial desses indivíduos (SCHILLACI *et al.*, 2008; LEKAKIS *et al.*, 2009; VAN VONDEREN *et al.*, 2009). No entanto, é importante considerar que a população incluída no estudo de BAKER *et al.* (2009) se encontrava em período de soroconversão de no máximo 6 meses, e clinicamente e/ou laboratorialmente em estado menos grave da doença que a da presente pesquisa, o que pode ter contribuído para os maiores valores de LAEI e SAEI.

Após o consumo de aproximadamente 65g de chocolate (36g cacau; 2148 – 2846mg de fenóis totais) e 3g de erva mate solúvel (107,7mg/g de fenólicos totais e 28,08mg/g de ácido clorogênico) durante 15 dias, a elasticidade arterial dos adultos com HIV/aids em TARV dessa pesquisa não sofreu alteração. Os resultados desse estudo contrariam o esperado de acordo com pesquisas com outras metodologias envolvendo animais e humanos com outras doenças.

Um dos fatores que poderia ser questionado para os resultados obtidos é o consumo dos suplementos. No entanto, a adesão dos indivíduos foi considerada satisfatória, sendo a média de consumo próxima à recomendação. Em parte, tal

situação era esperada, tendo em vista o esforço da equipe de pesquisadores em promover o suporte adequado ao participante da pesquisa, por meio dos diversos contatos realizados pelos mais diferentes meios de comunicação. No entanto, sabe-se também que os indivíduos estão familiarizados com a participação em pesquisas, constantemente promovidas nos ambulatorios utilizados. Além disso, a própria preocupação dos pacientes para com a sua doença e possíveis comorbidades, bem como o acompanhamento frequente desses com o médico infectologista e demais profissionais de saúde nos locais da pesquisa podem ter cooperado para a motivação ao consumo dos suplementos.

Desta forma, foram formuladas três outras possíveis explicações para a ausência de efeitos: 1) o tempo e/ou dose insuficientes para produzir o efeito desejado (BAISCH *et al.*, 1998; STEIN *et al.*, 2005; MORAIS *et al.*, 2009; VLACHOPOULOS *et al.*, 2005); 2) biodisponibilidade reduzida das substâncias bioativas presentes no chocolate e erva mate (OLIVEIRA e BASTOS, 2011; ARRANZ *et al.*, 2012); 3) condições clínicas dos indivíduos com HIV/aids (CDC, 2013).

6.2.1 Tempo e Dose de Tratamento

Até o momento não existem outros estudos avaliando o efeito do consumo de chocolate e/ou erva mate em indivíduos com HIV/aids. Além disso, o efeito do chocolate na elasticidade arterial avaliada pelo método de formato de onda de pulso durante a diástole foi testado pela primeira vez nesta pesquisa. Portanto, optou-se por comparar os resultados da presente pesquisa com os obtidos em indivíduos de outras populações, a partir de outras metodologias de avaliação da elasticidade arterial.

Dois estudos transversais foram desenvolvidos tentando correlacionar a ingestão habitual de chocolate com a maior elasticidade arterial de indivíduos. VLACHOPOULOS *et al.* (2007) observaram associação inversa entre o maior consumo de chocolate amargo ou ao leite com a velocidade de onda de pulso da aorta entre adultos saudáveis. Resultados similares foram encontrados por RECIO-RODRIGUEZ *et al.* (2012). No entanto, a associação perdeu significância após os ajustes realizados pelos autores, uma vez que a amostra era heterogênea. Além

disso, a presença de indivíduos com fatores de risco cardiovascular e consumindo medicamentos pode ter interferido na análise. Ainda assim, é importante salientar que a metodologia empregada nesses dois estudos apenas permite a avaliação da LAEI, e portanto, é possível que associações com a SAEI – que é um marcador mais sensível a mudanças- não foram detectadas.

Independente dos resultados deve-se considerar que estudos transversais são insuficientes para estabelecer conclusões do tipo causa-efeito. As limitações incluem a imprecisão nos dados auto-referidos de consumo do chocolate, pois dependem de instrumentos validados para coleta de dados, da percepção do indivíduo com relação à quantidade e frequência de consumo do alimento em questão, e das tabelas de composição centesimal de alimentos. E ainda, a dieta modifica-se ao longo do tempo, assim como a composição nutricional do alimento conforme sazonalidade, condições climáticas e processamento. Além disso, é dúbio afirmar que apenas um alimento seja responsável pelo desfecho investigado, tendo em vista a dificuldade em isolar da análise o efeito do estilo de vida e outros componentes da dieta dos participantes (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2007).

Portanto, a melhor maneira para observar a relação causa-efeito de um alimento em um desfecho é por meio de ensaios clínicos, que inclusive investigam o efeito placebo, trazendo maior segurança nas conclusões. Nesse sentido, foram encontrados dois estudos que avaliaram o impacto da ingestão de chocolate na elasticidade arterial: o primeiro com uma menor dose e maior tempo de intervenção, e o segundo com uma maior dose, porém menor tempo de intervenção.

Os indivíduos da pesquisa de FAROUQUE *et al.* (2006) consumiram diariamente durante 40 dias cerca de 500mg de polifenóis divididos em barras de 48g de chocolate e bebidas com 18g de cacau. A elasticidade arterial foi avaliada pelo volume de fluxo na aorta durante a sístole por ultrassonografia após 90 minutos, com três semanas e ao final da intervenção. No entanto, não foram observadas diferenças estatísticas nos momentos observados.

Dessa forma, similar aos nossos resultados, doses de chocolate iguais ou menores, mesmo que consumidas por maior tempo, aparentemente são insuficientes para alterar a elasticidade arterial. Porém, é importante salientar que os participantes da pesquisa de FAROUQUE *et al.* (2006) eram mais idosos que os indivíduos com HIV/aids da presente pesquisa (idade média 60 anos *versus* 44

anos, respectivamente), além de já apresentarem o diagnóstico de doença DCV e comorbidades, o que pode ter influenciado nos resultados obtidos. Deve-se considerar ainda que a elasticidade arterial foi avaliada apenas na artéria aorta, não excluindo a possibilidade de haver alterações não detectadas nos pequenos vasos.

VLACHOPOULOS *et al.* (2005) optaram por um estudo de menor duração, porém com maior quantidade de compostos bioativos. Assim, os adultos que participaram do estudo consumiram ou apenas mastigaram (placebo) uma barra de 100g de chocolate (74% cacau). A elasticidade arterial foi avaliada pela velocidade de onda de pulso das artérias carótida e femoral, que foi reduzida após três horas da ingestão do chocolate. Os autores observaram ainda melhora na função endotelial medida por meio da dilatação mediada por fluxo sanguíneo (FMD).

A FMD é um dos métodos mais utilizados para avaliação da função endotelial, outro marcador para DCV. A técnica, na maior parte das vezes é não invasiva, e baseia-se na medida do diâmetro da artéria braquial em resposta a vasodilatação do endotélio, avaliada por ultrassom. Para estimular a vasodilatação, um esfigmomanômetro é inflado no braço do indivíduo de modo a ocluir brevemente a artéria braquial. A hiperemia reativa secundária à liberação súbita dessa oclusão causa aumento do fluxo sanguíneo. Como resposta ao aumento de fluxo, as células endoteliais secretam NO por um mecanismo ainda não totalmente esclarecido, gerando a vasodilatação (CORRETTI *et al.*, 2002). Tais resultados parecem promissores, apontando para a possibilidade de que caso os indivíduos com HIV/aids do presente estudo tivessem consumido a dose de chocolate proposta por VLACHOPOULOS *et al.* (2005) pelo tempo de quinze dias, talvez fossem observadas diferenças na LAEI e SAEI.

No entanto, a elasticidade arterial não é uma resposta única da função endotelial, sendo influenciada também por mudanças na matriz extracelular das artérias, função das células musculares lisas, idade, entre outros fatores. Desta forma, os participantes do estudo de VLACHOPOULOS *et al.* (2005) eram saudáveis e mais jovens do que os indivíduos com HIV/aids (idade média 30 anos *versus* 44 anos) do presente estudo, o que pode ter de certa forma facilitado a resposta celular ao chocolate.

O efeito da ingestão da erva mate na elasticidade arterial ainda não foi avaliada por metodologia alguma em humanos ou animais. Desta forma, só é possível

comparar os resultados obtidos na presente pesquisa de forma indireta, a partir dos dados de outros autores que avaliaram função endotelial em animais e pressão arterial em humanos.

Apenas dois autores referiram efeito da erva mate no endotélio de animais. BAISCH *et al.* (1998) e STEIN *et al.* (2005) observaram vasodilatação da artéria mesentérica de ratos em razão dose-resposta à administração de infusão de erva mate. No entanto, ambos os autores utilizaram doses proporcionalmente maiores às utilizadas na presente pesquisa (0,11g/ml e 0,23g/ml, respectivamente, *versus* 0,02g/ml). Além disso, se considerarmos que se trata de estudos *in vitro*, a partir de células animais, a dose que poderia ser necessária para obter os mesmos resultados em ensaios clínicos parece ser ainda maior. Tal fato deve ser considerado com cautela, uma vez que já existem relatos na literatura sobre a possibilidade de toxicidade a partir do consumo de polifenóis (GLEI *et al.*, 2003; GALATI e O'BRIEN, 2004; MAZZANTI *et al.*, 2009)

Em humanos, foi encontrado apenas um estudo que avaliou a pressão arterial após o consumo de erva mate. MORAIS *et al.* (2009) observaram redução da pressão arterial diastólica após o consumo de infusão de erva mate entre indivíduos saudáveis e entre portadores de dislipidemias. Uma vez que a redução na elasticidade arterial está diretamente relacionada com o desenvolvimento da hipertensão arterial, é possível supor que a infusão da erva mate teve efeito na função endotelial e elasticidade arterial desses indivíduos (PERALTA *et al.*, 2009; COHN, 2013). No entanto, os indivíduos consumiram 1 litro de infusão de erva mate (20mg/dl; $8,5 \pm 0,22$ mg/g ácido clorogênico) durante 40 dias, o que representa dose e tempo praticamente três vezes maiores do que os utilizados com os participantes desta pesquisa.

É importante ressaltar, porém, que os autores das pesquisas acima relacionadas utilizaram como intervenção a infusão de erva mate, enquanto os indivíduos com HIV/aids consumiram a erva diluída em água. De acordo com BASTOS *et al.* (2007a), o conteúdo de compostos bioativos na infusão da erva mate é menor do que o contido na diluição direta da erva em água, como ocorre no preparo do chimarrão, no tererê, e na erva mate solúvel. No entanto, a diferença de dose administrada é mais que suficiente para suprir a possibilidade de menor quantidade de polifenóis na presente pesquisa. Enquanto os indivíduos com

HIV/aids consumiram cerca de 85mg de ácido clorogênico, os participantes da pesquisa de MORAIS *et al.* (2009) consumiram aproximadamente 1700mg.

Os outros autores que desenvolveram intervenção com erva mate em humanos também utilizaram concentrações maiores de erva mate do que a do presente estudo, observando efeito positivo no perfil lipídico e capacidade antioxidante (SILVA *et al.*, 2008; MATSUMOTO *et al.*, 2009; BOAVENTURA *et al.*, 2012). Em especial, a redução nas reações de oxidação poderia beneficiar a elasticidade arterial em um menor período de tempo.

A redução na elasticidade arterial está relacionada à menor biodisponibilidade de NO do endotélio, que por sua vez é decorrente da rápida reação desse gás com o excesso de radicais superóxidos, provenientes do estresse oxidativo (CAI *et al.*, 2000). Dessa forma, teoricamente, o aumento da capacidade antioxidante do plasma a partir da ingestão de erva mate permitiria o bloqueio de vias metabólicas de geração de espécies reativas de oxigênio (como o superóxido), ou multiplicaria os mecanismos antioxidantes de defesa fisiológicos, de forma a aumentar a biodisponibilidade de NO, causando assim, aumento da elasticidade arterial (LAURINDO *et al.*, 2003; COHN, 2013). Partindo dessa premissa, porém, a redução da oxidação foi observada *ex vivo* por SILVA *et al.* (2008), MATSUMOTO *et al.* (2009) e BOAVENTURA *et al.* (2012) somente após dose e/ou tempo de intervenção maiores aos realizados nesse estudo.

Apesar de ser um estudo com avaliação rápida da intervenção (após uma hora de ingestão), SILVA *et al.* (2008) utilizaram 500ml de infusão da erva mate para obter os efeitos desejados. No estudo de MATSUMOTO *et al.* (2009) as mulheres ingeriram erva mate solúvel diluída na mesma proporção que a presente pesquisa (1g:100ml), porém, novamente totalizando 500ml de ingestão durante sete dias. Indivíduos saudáveis e com dislipidemias que participaram da pesquisa de BOAVENTURA *et al.* (2012) consumiram um litro de infusão de erva mate, dividido em três vezes ao dia, por um período de vinte a noventa dias para observar-se efeito antioxidante.

Além da literatura exposta, é possível supor ainda, a interferência da própria população investigada no tempo e dose de suplementos utilizados na intervenção. Dado que a participação na pesquisa foi voluntária, parte dos participantes podia estar acostumada a consumir os suplementos utilizados. Embora os indivíduos tenham absteído o consumo desses alimentos durante a pesquisa, pode-se supor

que o hábito de consumo tenha contribuído para os resultados negativos, e que caso a população não tivesse esse hábito, relações positivas poderiam ser encontradas.

A partir do exposto, é possível que a inexistência de efeito do chocolate e da erva mate na elasticidade arterial dos indivíduos com HIV/aids tenha sido decorrente de dose e/ou tempo insuficiente de suplementação, sendo assim necessários mais estudos que testem tais hipóteses.

6.2.2 Biodisponibilidade dos Compostos Bioativos

A segunda hipótese para a ausência de resposta na elasticidade arterial dos indivíduos com HIV/aids tem relação com a biodisponibilidade das substâncias bioativas presentes no chocolate e na erva mate.

O conceito de biodisponibilidade foi proposto inicialmente pela área da farmacologia, em busca da razão e proporção às quais os medicamentos alcançavam a corrente sanguínea (COZZOLINO, 1997). No campo da nutrição, o conceito começou a ser adotado a partir da década de 80, e hoje se refere à fração de um nutriente consumido que tem o potencial para suprir demandas fisiológicas em tecidos alvo. Ou seja, parte do princípio que a ingestão diária do nutriente não obrigatoriamente reflete a quantidade que atingirá o alvo fisiológico, uma vez que durante os processos de digestão e metabolização, certa parte do nutriente será perdida. Entretanto, para que esse possa exercer seu efeito, deve estar acessível nas células em doses adequadas (SOUTHGATE *et al.*, 1989; ARRANZ *et al.*, 2012).

A presente pesquisa não explorou marcadores da biodisponibilidade dos polifenóis presentes nos suplementos utilizados na intervenção, o que restringe conclusões sobre essa hipótese. Na literatura, essa área também foi pouco estudada em detrimento da quantidade de pesquisas focando os diversos benefícios dos polifenóis à saúde. No entanto, os resultados disponíveis apontam para uma biodisponibilidade relativamente baixa em humanos (ARRANZ *et al.*, 2012).

Embora a biodisponibilidade dos polifenóis não esteja completamente esclarecida, sabe-se que, assim como para outros nutrientes, ela é uma resposta da interação entre o nutriente em questão, a dieta, e o indivíduo. Assim, a

concentração de consumo do nutriente, a forma química em que está presente no alimento, e em qual alimento está inserido influenciam sua biodisponibilidade (COZZOLINO, 1997).

A quantidade de polifenóis consumida foi discutida no tópico anterior, sendo provavelmente insuficiente. No que diz respeito à forma química desses compostos, esta é bastante variada na estrutura e tamanho, o que não foi investigado na presente pesquisa. No entanto, estudos mostram que os polifenóis menores, e na forma monomérica possuem chances maiores de atingirem a corrente sanguínea e os tecidos alvo no organismo (COOPER *et al.*, 2008; OLIVEIRA e BASTOS, 2011; OSAKABE, 2013). Tal fato é justificado pela ausência de enzimas e transportadores específicos dessas substâncias no intestino, sendo, portanto, dependentes de sua solubilidade para difusão passiva nas membranas (OLIVEIRA e BASTOS, 2011).

Os alimentos utilizados nas intervenções (barras de chocolate, bebidas achocolatadas, pó de cacau, infusão de erva mate ou erva mate instantânea dissolvida em água) também podem facilitar ou dificultar a liberação dos polifenóis no organismo (COZZOLINO, 1997; COOPER *et al.*, 2008). Ainda não há consenso sobre qual seria a melhor escolha para veicular essas substâncias, visto que resultados positivos foram encontrados em diferentes desfechos utilizando diversos alimentos. Assim, tanto o pó de cacau quanto barras de chocolate melhoraram a FMD de adultos com excesso de peso (FARIDI *et al.*, 2008). Da mesma forma, tanto a infusão da erva mate quanto a erva mate instantânea diluída em água aumentaram o poder antioxidante do plasma em humanos (MENINI *et al.*, 2007; MORAIS *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2008; MATSUMOTO *et al.*, 2009).

Os outros nutrientes consumidos também impactam na biodisponibilidade, podendo interagir com o nutriente de interesse, modificando processos digestivos e de metabolização da refeição, tais como tempo de esvaziamento gástrico e de trânsito intestinal (COZZOLINO, 1997; FERRUZZI *et al.*, 2012).

Nesse sentido, FARIDI *et al.* (2008) discutem a possível interferência do açúcar na biodisponibilidade dos polifenóis presentes no cacau. Ainda que não tenham avaliado marcadores de biodisponibilidade, observaram melhora significativa na FMD ($5,7 \pm 2,6\%$ versus $2,0 \pm 1,8\%$) de adultos com excesso de peso após o consumo de pó de cacau isento de açúcar (com edulcorante acessulfame-K e aspartame) diluído em água quente, quando comparado ao adoçado. NJIKE *et al.*

(2011) também observaram melhora acentuada na FMD, ainda que sem diferença estatística ($p=0,15$) após consumo de pó de cacau sem açúcar diluído em água por indivíduos com características semelhantes aos de FARIDI *et al.* (2008). É possível que a maior magnitude dos resultados seja decorrente da maior biodisponibilidade dos polifenóis na ausência de sacarose.

Por outro lado, RODRIGUES-MATEO *et al.* (2012) encontraram resultados contrários ao avaliarem a absorção dos polifenóis do chocolate. Os indivíduos eutróficos da amostra apresentaram menor absorção com o consumo de chocolate isento de açúcar. No entanto, os autores ressaltam que o manitol, edulcorante utilizado na intervenção, costuma reproduzir intolerância gastrointestinal, ainda que não tenha sido relatado pelos participantes da amostra. É possível também que os indivíduos com sobrepeso dos estudos anteriores apresentavam alterações no metabolismo da glicose, o que justificaria a diferença nos resultados.

O chocolate consumido pelos indivíduos com HIV/aids continha sacarose, e os indivíduos também puderam adoçar a erva mate conforme sua preferência. Assim, embora não esteja claro, é possível que tanto o açúcar como os edulcorantes utilizados pelos indivíduos possam ter influenciado na absorção dos compostos bioativos.

Outro aspecto que pode ter influenciado na biodisponibilidade é a capacidade dos polifenóis de se ligarem a proteínas (FERRUZZI *et al.*, 2012). Até o momento há evidências da formação de complexos com enzimas, principalmente na boca e no intestino, porém ainda não foi estabelecida sua importância fisiológica. Enquanto autores defendem que a proteína do leite pode atenuar os benefícios dos polifenóis (LOFFREDO *et al.*, 2011), outros não observaram diferença na adição desse alimento à intervenção (VAN DER BURG-KOOREVAAR *et al.*, 2011). Os indivíduos da presente pesquisa consumiram os suplementos em diferentes horários do dia, ora em jejum, ora como complemento de refeições. Desse modo, é possível supor que a composição nutricional da refeição, mais especificamente o conteúdo proteico, tenha exercido influência sobre a biodisponibilidade dos polifenóis do chocolate e da erva mate.

Além dos fatores já elucidados, a condição nutricional e de saúde, além da genética de cada indivíduo podem interferir na biodisponibilidade dos polifenóis, observando-se indivíduos que absorvem maiores ou menores quantidades (COZZOLINO, 1997; MANACH *et al.*, 2005). Considerando todos os interferentes,

apenas cerca de 5 a 10% dos polifenóis são absorvidos no duodeno, sendo que o restante segue para o cólon, onde será amplamente metabolizado pela microbiota, para depois ser absorvido (MONAGAS *et al.*, 2010; BARNES *et al.*, 2011; QUINONES *et al.*, 2012). Assim, a manutenção da microbiota intestinal adequada é determinante na biodisponibilidade dos polifenóis, dada a quantidade que resta a ser absorvida.

Alguns autores se dedicaram ao estudo da microbiota de indivíduos com HIV/aids, apontando para um desequilíbrio entre as concentrações das diferentes cepas. De acordo com GORI *et al.* (2008) e ELLIS *et al.* (2013) as amostras de fezes dos indivíduos com HIV/aids possuíam quantidades significativamente elevadas de *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*, e redução na população de bifidobactérias e lactobacilos quando comparadas às amostras de indivíduos saudáveis. Ou seja, observa-se predomínio de populações com potencial patogênico em relação às populações endógenas menos agressivas (MERLINI *et al.*, 2011).

Os mecanismos e as bactérias responsáveis pelo catabolismo dos polifenóis ainda não foram definidos. Contudo, tendo em vista o desequilíbrio microbiano demonstrado nos indivíduos com HIV/aids, pode-se supor que parte dos polifenóis tenha sido perdida nas fezes pela falta de catabolismo adequado. Essa hipótese é reforçada pela alta prevalência de alterações no trânsito intestinal desses indivíduos, em decorrência da composição da microbiota intestinal, além de infecções, doenças oportunistas, e também pelo uso da TARV, especificamente com o uso do ritonavir (TINMOUTH *et al.*, 2007; GUPTA *et al.*, 2012).

De acordo com os critérios de exclusão da presente pesquisa, os indivíduos não apresentavam infecções ou doenças oportunistas. No entanto, alguns referiram alterações no trânsito intestinal, uso de IP como o ritonavir e uso de antibióticos. Juntos, esses fatores podem ter contribuído para a redução da biodisponibilidade das catequinas do chocolate e do ácido clorogênico da erva mate.

Após sofrer catabolismo pelas bactérias intestinais, os polifenóis reduzidos são então absorvidos. Ainda no intestino e/ou no fígado as substâncias passam por uma segunda metabolização, na qual as hidroxilas são metiladas, sulfatadas e/ou glucoronizadas. O organismo entende os polifenóis como xenobióticos (substâncias estranhas) e, portanto, essa etapa é realizada a fim de reduzir o efeito citotóxico e aumentar a hidrofiliabilidade, facilitando assim a excreção biliar e urinária

das substâncias. Nesse momento, mais uma vez as características individuais podem exercer efeito na biodisponibilidade desses compostos, determinando a taxa de metabolização (OLIVEIRA e BASTOS, 2011).

Em decorrência dessa rápida metabolização, a concentração fisiológica dos polifenóis originalmente consumidos é relativamente restrita, raramente ultrapassando 1µm no plasma, mesmo em indivíduos que apresentam maior consumo (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2007). A maior concentração, que também não ultrapassa em 10µm, se dá na forma de metabólitos que, portanto, estão mais relacionados aos benefícios à saúde divulgados na literatura. No entanto, deve-se considerar que essa metabolização pode interferir na atividade biológica dos polifenóis, o que dificilmente consegue ser avaliado em decorrência da grande diversidade de substâncias geradas (QUINONES *et al.*, 2012).

Parte dessas substâncias fica concentrada nos tecidos, principalmente onde foram metabolizados, como trato gastrointestinal e fígado (BARNES *et al.*, 2011). No entanto, maior parte é distribuída, grande parte ligada às proteínas plasmáticas, em especial a albumina. Dependendo do metabólito gerado, a afinidade com essa proteína varia, determinando sua presença nas células e tecidos. Da mesma forma, a concentração plasmática das proteínas, a depender do estado nutricional do indivíduo, também pode interferir nessa ligação (QUINONES *et al.*, 2012).

Embora a presente pesquisa não tenha investigado a biodisponibilidade dos compostos bioativos veiculados nos suplementos utilizados na intervenção, observa-se que são inúmeros os fatores que podem interferir nesse marcador. Especialmente, a forma química dos polifenóis administrados, a composição nutricional do chocolate, os outros nutrientes presentes na dieta e a população microbiana do intestino dos indivíduos com HIV/aids podem ter influenciado negativamente, contribuindo para a ausência de alterações na elasticidade arterial.

6.2.3 Metabolismo de Indivíduos com HIV/Aids

A terceira e última hipótese levantada para a ausência de resposta na elasticidade arterial tem relação com as características da população utilizada no estudo.

Conforme discutido nos tópicos anteriores, tanto a infecção pelo vírus HIV quanto a TARV podem ter influenciado na dose e/ou tempo de intervenção

necessários para o efeito desejado, e também na biodisponibilidade dos compostos bioativos dos suplementos. Tais observações são decorrentes de uma série de alterações metabólicas presentes nos indivíduos com HIV/aids em TARV, muitas das quais podem ter influenciado nos resultados por mecanismos ainda desconhecidos, além das hipóteses previamente estabelecidas.

As pesquisas utilizadas para comparação dos resultados envolveram indivíduos saudáveis ou com outras doenças que não o HIV/aids, o que dificulta as conclusões. No entanto, é interessante observar que grande parte dos resultados positivos envolveram indivíduos saudáveis, em oposição aos estudos que incluíram populações não saudáveis.

Assim, ainda que tenha sido um estudo epidemiológico, RECIO-RODRIGUEZ *et al.* (2012) não conseguiram estabelecer a relação entre a velocidade de onda de pulso e o maior consumo de chocolate em indivíduos com diabetes, hipertensão arterial e dislipidemia. Da mesma forma, FAROUQUE *et al.* (2006) não obtiveram resultados positivos na sua intervenção em indivíduos com doença coronariana avançada.

É possível que as alterações no endotélio dos participantes da pesquisa de FAROUQUE *et al.* (2006) e de RECIO-RODRIGUEZ *et al.* (2012) estivessem muito avançadas para serem atenuadas pelo consumo do chocolate. Da mesma forma, os indivíduos com HIV/aids dessa pesquisa, apesar de não apresentarem DCV diagnosticadas, podem ter fatores de risco para essas enfermidades (BAKER *et al.*, 2009; SUPARNA *et al.*, 2013). Tal informação é suportada pela redução acentuada na SAEI da amostra, de acordo com a classificação pela diretriz de elasticidade arterial, e pela comparação com o estudo de BAKER *et al.* (2009) com indivíduos com características semelhantes à presente pesquisa.

Os fatores relacionados às alterações endoteliais nessas populações incluem entre outros, maiores concentrações séricas de citocinas pró-inflamatórias, obesidade central e possibilidade de resistência insulínica, além de hábitos como tabagismo e consumo de bebidas alcoólicas.

No entanto, é interessante ressaltar o papel da idade na disfunção endotelial e remodelamento arterial, causando o aumento de fibras de colágeno. Deste modo, enquanto os indivíduos com aterosclerose do estudo de FAROUQUE *et al.* (2006) apresentavam idade média de 60 anos, e os de RECIO-RODRIGUEZ *et al.* (2012) idade média de 55 anos, a média de idade dos participantes da presente pesquisa

foi de 44 anos. No entanto, pacientes portadores de HIV/aids podem sofrer processo de envelhecimento mais precocemente que indivíduos saudáveis (65 anos), tamanho impacto do HIV e da TARV na saúde desses indivíduos. Desta forma, seria possível considerar, que a despeito da diferença de idade entre os indivíduos das pesquisas anteriormente citadas (indivíduos saudáveis mais idosos *versus* indivíduos mais jovens com HIV/aids na presente pesquisa), a elasticidade arterial e demais condições cardiovasculares dos indivíduos sejam semelhantes (CDC, 2013).

Ainda assim, ressalta-se novamente que as alterações metabólicas e corporais dos indivíduos com HIV/aids não envolvem apenas o risco cardiovascular. A própria infecção, a doença, as possíveis comorbidades e doenças oportunistas, além da própria TARV, proporcionam uma condição única a esses indivíduos que pode ter influenciado nos resultados obtidos, seja pelos fatores anteriormente mencionados, seja por interações medicamentosas ou caminhos metabólicos que ainda necessitam esclarecimento.

7. CONCLUSÕES

Até o momento, este foi o primeiro estudo a avaliar o efeito da ingestão de chocolate e erva mate solúvel na elasticidade arterial de indivíduos com HIV/aids em terapia antirretroviral.

A condução deste ensaio clínico permite concluir que o consumo de aproximadamente 65g de chocolate amargo (2148 – 2846mg de fenóis totais) e 3g de erva mate solúvel (323,28mg de fenólicos totais e 84,24mg de ácido clorogênico) por quinze dias não alterou a elasticidade arterial de pacientes ambulatoriais com HIV/aids.

Possivelmente, o tempo de intervenção e/ou a dose consumida pelos indivíduos não foram suficientes para produzir o efeito desejado. Além disso, questiona-se a baixa biodisponibilidade das substâncias bioativas consumidas, principalmente relacionada ao consumo de outros nutrientes na dieta, e a microbiota intestinal alterada dos indivíduos com HIV/aids. Por fim, ainda deve-se considerar a interferência das particularidades do metabolismo desses indivíduos, que podem, entre outros efeitos, elevar a necessidade de dose e/ou tempo de utilização de substâncias bioativas e/ou alterar a biodisponibilidade das mesmas.

Assim, a ausência dos efeitos desejados evidencia a necessidade de cautela na alegação de benefícios cardiovasculares vinculados ao chocolate e a erva mate, sendo, portanto, necessária à condução de estudos posteriores para esclarecimento.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. [CDC] Centers for Disease Control and Prevention - HIV/AIDS. [homepage na internet]. Atlanta, GA: Centers of Disease Control. [Atualizado em 05 mar 2012; acesso em 06 mar 2012]. Disponível em <http://www.cdc.gov/hiv/default.htm>.
2. [CDC] Centers for Disease Control and Prevention – HIV/AIDS. [homepage na internet] Atlanta, GA: Centers of Disease Control [Atualizado em fev 2008; acesso em 17 jun 2013]. Disponível em <http://www.cdc.gov/hiv/topics/over50/index.htm>.
3. [CDC] From the Centers for Disease Control and Prevention. 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. JAMA 1993; 269 (6): 729-30.
4. [CNS] Conselho Nacional de Saúde Brasil. Resolução nº196, de 16 de outubro de 1996. Diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Diário Oficial da União. 16 out 1996.
5. [IBGE] Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo demográfico 2010 [homepage na internet]. Brasil, 2013. [acesso em 06 de maio de 2013] Disponível em <http://censo2010.ibge.gov.br/>.
6. [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>
7. [MS] Ministério da Saúde AIDS. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais [homepage na internet] Brasília (DF); 2011b. [acesso em 06 jun 2011] Disponível em: <http://www.aids.gov.br>
8. [MS] Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde – Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para adultos vivendo com HIV/aids. Versão preliminar. Brasília, 2013.
9. [MS] Ministério da Saúde, Secretaria de vigilância em saúde – Programa nacional de DST e Aids. Manual de adesão ao tratamento para pessoas vivendo com HIV e AIDS. Brasília (DF), 2000.
10. [MS] Ministério da Saúde, Secretaria de vigilância em saúde – Programa nacional de DST e Aids. Recomendações para terapia anti-retroviral em adultos infectados pelo HIV: manual de bolso. Brasília (DF), 2008.
11. [MS] Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento

- de DST, Aids e Hepatites Virais Boletim Epidemiológico Aids e DST 2011. Ano VIII n.1 Brasília; 2011a. Disponível em http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2011/50652/boletim_aids_2011_final_m_pdf_26659.pdf
12. [MS] Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Boletim Epidemiológico Aids e DST 2012. Ano IX n.1 Brasília; 2012a. Disponível em http://www.aids.gov.br/sites/default/files/anexos/publicacao/2012/52654/boletim_jornalistas_pdf_22172.pdf
13. [MS] Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Portaria 151, de 14 de outubro de 2009. Aprova fluxograma mínimo para o diagnóstico laboratorial da infecção pelo HIV em indivíduos com idade acima de 18(dezoito) meses, de uso obrigatório pelas instituições de saúde públicas e privadas. Diário Oficial da União. 16 out 2009; seção 1:4.
14. [MS] Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Vigitel Brasil 2011 - Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. Brasília, 2012b
15. [OMS] Organização Mundial da Saúde. Antiretroviral therapy for HIV infection in adults and adolescents: recommendations for a public health approach – 2010 revision. Austria, 2010.
16. [OMS] Organização Mundial da Saúde. Consultation of obesity. Obesity-preventing and managing the global epidemic. Genebra; 1997.
17. [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/>
18. [OMS] Organização Mundial da Saúde. Manual de segurança biológica em laboratório. Genebra; 2004.
19. [SBC] Sociedade Brasileira de Cardiologia. IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. Arq Bras Cardiol. 2007; 89 (4): e92-e131.
20. [SEADE] Fundação Sistema Estadual de Análise de Dados. Fundação SEADE [homepage na internet]. São Paulo, 2013. [acesso em 06 de maio de 2013] Disponível em <http://www.seade.gov.br/>.
21. [UNAIDS] Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. Global HIV/AIDS

response: Epidemic update and health sector progress towards universal access - Progress report 2011. Geneva, 2011a.

22. [UNAIDS] Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. Global report: UNAIDS report on the global AIDS epidemic 2010. Geneva, 2010.

23. [UNAIDS] Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. Global report: UNAIDS report on the global AIDS epidemic 2012. Geneva, 2012.

24. [UNAIDS] Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. UNAIDS Data tables 2011. Geneva, 2011b.

25. [UNICAMP] Universidade Estadual de Campinas, Núcleo de estudos e pesquisas em alimentação. Tabela brasileira de composição de alimentos 2 (TACO2). Campinas; 2004.

26. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome – a new world-wide definition. A Consensus statement from the International Diabetes Federation. Diabet Med. 2006; 23(5):469-80.

27. Allard JP, Aghdassi E, Chau J, Tam C, Kovacs CM, Salit IE, *et al.* Effects of vitamin E and C supplementation on oxidative stress and viral load in HIV-infected subjects. J AIDS 1998; 12 (13): 1653-9.

28. Allen RR, Carson L, Kwik-Urbe C, Evans EM, Erdman Jr JW. Daily consumption of a dark chocolate containing flavanols and added sterol esters affects cardiovascular risk factors in a normotensive population with elevated cholesterol. J Nutr. 2008; 138(4):725-31.

29. Almeida LB, Giudici KV, Jaime PC. Consumo alimentar e dislipidemia decorrente da terapia antiretroviral combinada para infecção pelo HIV: uma revisão sistemática. Arq Bras Endocrinol Metab. 2009; 53(5): 519-27.

30. Almoosawi S, Fyfe L, Clement Ho, Al-Dujaili E. The effect of polyphenol-rich dark chocolate on fasting capillary whole blood glucose, total cholesterol, blood pressure and glucocorticoids in healthy overweight and obese subjects. Brit J Nutr. 2010; 103 (6):842-50.

31. Anesini C, Ferraro G, Filip R. Peroxidase-like activity of *Ilex paraguariensis*. Food Chem. 2006; 97 (3): 459-64.

32. Antholovich M, Prenzler PD, Patsalides E, McDonalds S e Robards K. Methods for testing antioxidant activity. Analyst. 2002; 127: 183-198.

33. Arçari DP, Bartchewsky Jr W, Santos TW, Oliveira KA, Oliveira CC, Gotardo EM, *et al.* Anti-inflammatory effects of yerba mate extract (*Ilex paraguariensis*)

ameliorate insulin resistance in mice with high fat diet-induced obesity. *Mol Cell Endocrinol.* 2011; 335(2): 110-115.

34. Arçari DP, Bartchewsky W, Santos TW, Oliveira KA, Funck A, Pedrazzoli J, *et al.* Antiobesity effects of yerba mate extract (*Ilex paraguariensis*) in high-fat diet-induced obese mice. *Obesity (Silver Spring).* 2009; 17 (12): 2127-33.

35. Arranz S, Valderas-Martinez P, Chiva-Blanch G, Casas R, Urpi-Sarda M, Lamuela-Raventos RM, Estruch R. Cardioprotective effects of cocoa: clinical evidence from randomized clinical intervention trials in humans. *Mol Nutr Food Res.* 2013; 57:936-47.

36. 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(2): 232-8.

37. Baisch ALM, Johnston FL, Stein P. Endothelium-dependent vasorelaxing activity of aqueous extracts of *Ilex paraguariensis* on mesenteric arterial bed of rats. *J Ethnopharmacol.* 1998; 60(2): 133-9.

38. Baker JV, Duprez D, Rapkin J, Hullsiek KH, Grimm R, Neaton JD, *et al.* Untreated HIV and large and small artery elasticity. *J Acquir Immune Defic Syndrom.* 2009; 52 (1): 25-31.

39. Balzan S, Hernandez A, Reichert CL, Donaduzzi C, Pires VA, Gasparotto A Jr, *et al.* Lipid-lowering effects of standardized extracts of *Ilex paraguariensis* in high-fat-diet rats. *Fitoterapia.* 2013; 86:115-22.

40. Barnes S, Prasain J, D'Alessandro T, Arabshahi A, Botting N, Lila MA, Jackson G, Janle EM, Weaver CM. The metabolism and analysis of isoflavones and other dietary polyphenols in foods and biological systems. *Food Funct.* 2011; 2(5): 235-44.

41. Barreto LM, Teixeira MG, Bastos FI, Ximenes RAA, Barata RB e Rodrigues LC. Sucessos e fracassos no controle de doenças infecciosas no Brasil: o contexto social e ambiental, políticas, intervenções e necessidades de pesquisa. *The Lancet.* 2011; 77(9780): 1877 – 1889.

42. Bastos DHM, Fornari AC, Queiroz YS, Soares RAM, Torres EAFS. The Chlorogenic Acid and Caffeine Content of Yerba Maté. *Acta Farm Bonaerense.* 2005; 24 (1): 91-5.

43. 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(1): 37-46.
44. Bastos DHM, Saldanha LA, Catharino RR, Sawaya ACHF, Cunha IBS, Carvalho PO, *et al*. Phenolic antioxidants identified by ESI-MS from yerba mate (*Ilex paraguariensis*) and green tea (*Camellia sinensis*) extracts. *Molecules*. 2007b; 12(3): 423-32.
45. Bilbis LS, Idowu DB, Ssaïdu Y, Lawal M e Njoku CH. Serum levels of antioxidant vitamins and mineral elements of human immunodeficiency virus positive subjects in Sokoto, Nigeria. *Ann Afr Med*. 2010; 9(4): 235-9.
46. Boaventura BCB, Di Pietro PF, Stefanuto A, Klein GA, Morais EC, Andrade F, Wazlawik E, Silva EL. Association of mate tea (*Ilex paraguariensis*) intake and dietary intervention and effects on oxidative stress biomarkers of dyslipidemic subjects. *Nutrition*. 2012; 28(6): 657-64.
47. Boccarda F. Cardiovascular complications and atherosclerotic manifestations in the HIV-infected population: type, incidence and associated risk factors. *AIDS*. 2008; 22(3): S19–S26.
48. Borges MC, Vinolo MAR, Nakajima K, Castro IA, Bastos DHM, Borelli, *et al*. The effect of mate tea (*Ilex paraguariensis*) on metabolic and inflammatory parameters in high-fat diet-fed Wistar rats. *Int J Food Sci Nutr*. 2013; 64(5): 561-9.
49. Brenchley JM, Price DA, Schacker TW, Asher TE, Silvestri G, Rao S. Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection. *Nat Med*. 2006; 12(12): 1365-71.
50. Buitrago-Lopez A, Sanderson J, Johnson L, Warnakula S, Wood A, Angelantonio E. Chocolate consumption and cardiometabolic disorders: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2011; 343: d4488.
51. Cai J, Nelson KC, Sternberg P jr, Jones DP. Oxidative damage and protection of the RPE. *Prog retin Eye Res*. 2000; 19(2):205-21
52. 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(11): 3583-9.
53. Charakida M, Donald AE, Green H, Storry C, Clapson M, Caslake M, *et al*. Early structural and functional change of the vasculature in HIV-infected children:

impact of disease and antiretroviral therapy. *Circulation*, 2005; 112(1):103-9.

54. Cirico T e Omaye ST. Additive or synergetic effects of phenolic compounds on human low density lipoprotein oxidation. *Food Chem Toxicol*. 2006; 44(4): 510-16.

55. 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(1):55-8.

56. 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(2): 439-43.

57. Cohn J, Duprez DA, Grandits. Arterial elasticity as part of a comprehensive assessment of cardiovascular risk and drug therapy. *Hypertension*. 2005; 46(1): 217-20.

58. Cohn JN, Finkelstein S, Mcveigh G, Morgan D, LeMay L, Robinson J, *et al*. Noninvasive pulse wave analysis for the early detection of vascular disease. *Hyperthension*. 1995; 26 (3): 503-8.

59. Cohn JN, Hoke L, Whitwam W, Sommers PA, Taylor AL, Duprez D, *et al*. Screening for early detection of cardiovascular disease in asymptomatic individuals. *Am Heart J*. 2003; 146: 679-85.

60. Cohn JN. Identifying the risk and preventing the consequences of cardiovascular disease. *Heart Lung Circ*. 2013; 22(7):1-5.

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

62. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, *et al*. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery. *J Am Col Cardiol*. 2002; 39(2): 257-65.

63. Cozzolino SMF. Biodisponibilidade de minerais. *Rev Nutr Campinas*. 1997; 10(2): 87-98.

64. Currier JS. Update on cardiovascular complications in HIV infections. *Top HIV Med*. 2009; 17(3): 98-103.

65. D´el-Rei J, Cunha AR, Burlá A, Burlá M, Oigman W, Neves MF, Virdis A, Medeiros F. Characterisation of hypertensive patients with improved endothelial function after dark chocolate consumption. *Int J Hypertens*. 2013: 985087.

66. Daskalakis D. HIV diagnostic testing: evolving technology and testing

strategies. *Top Antivir Med.* 2011; 19(1): 18-22.

67. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation.* 2007; 115 (10): 1285-1295.

68. Dillinger TL, Barriga P, Escárcega 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(8S suppl): 2057S-72S.

69. Ding EL, Hutfless SM, Ding X, Girotra S. Chocolate and prevention of cardiovascular disease: a systematic review. *Nutr Metab (Lond.).* 2006; 3:2.

70. Dlova NC, Mosam A. Inflammatory noninfectious dermatoses of HIV. *Dermatol Clin.* 2006; 24(4): 439-48, vi.

71. Douek DC, Picker LJ, Koup RA. T cell dynamics in HIV-1 infection. *Annu Rev Immunol.* 2003; 21: 265-304.

72. Dourado I, Veras MAS, Barreira D, Brito AM. Tendências da epidemia de Aids no Brasil após a terapia anti-retroviral. *Rev Saúde Pública.* 2006; 40 (Suppl): 9-17.

73. Duprez DA, Jacobs DR, Lutsey PL, Bluemke DA, Brumback LC, Polak JF. Association of small artery elasticity with incident cardiovascular disease in older adults. *Am J Epidemiol.* 2011; 174 (5): 528-36.

74. Duprez DA, John JN. Arterial stiffness as a risk factor for coronary atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep.* 2007; 9(2): 139-44.

75. Efraim P. Estudo para minimizar as perdas de flavonóides durante a fermentação de cacau para produção de chocolate [mestrado em tecnologia de alimentos]. Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2004.

76. Ellis CL, Ma ZM, Mann SK, Wu J, Knight TH, Yotter T, *et al.* Molecular characterization of stool microbiota in HIV-infected subjects by panbacterial and order-level 16S ribosomal DNA (rDNA) quantification and correlations with immune activation. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2011; 57(5):363-70.

77. Fanales-Belasio E, Raimondo M, Suligoj B, Buttò S. HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. *Ann Ist Super Sanita.* 2010;46(1): 5-14

78. Faridi Z, Njike VY, Dutta S, Ali A, Katz DL. Acute dark chocolate and cocoa ingestion and endothelial function: a randomized controlled crossover trial. *Am J Clin Nutr.* 2008; 88(1):58–63.

79. Farouque HMO, Leung M, Hope AS, Baldi M, Schechter C, Cameron JD,

Meredith IT. Acute and chronic effects of flavanol-rich cocoa on vascular function in subjects with coronary artery disease: a randomized double-blind placebo-controlled study. *Clin Sci*. 2006; 111: 71-80.

80. Fedele F, Bruno N, Mancone M. Cardiovascular risk factors and HIV disease. *AIDS Rev*. 2011; 13(2):119-29.

81. Ferruzzi MG, Bordenave N, Hamaker BR. Does flavor impact function? Potential consequences of polyphenol-protein interactions in delivery and bioactivity of flavan-3-ols from foods. *Physiol Behav*. 2012; 107(4):591-7.

82. Filip R, López P, Gilbert G, Coussio J, Ferraro G. Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. *Fitoterapia*. 2001; 72 (7): 774-8.

83. Fisher, NDL, Hughes M, Gerhard-Herman, M, Hollenberg NK. Flavanol-rich cocoa induced nitric-oxide-dependent vasodilatation in healthy humans. *J Hypertension*. 2003; 21(12): 2281-6.

84. Flammer AJ, Anderson T, Celermajer DS, Creager MA, Deanfield J, Ganz P. *et al*. The assessment of endothelial function: from research into clinical practice. *Circulation*. 2012; 126(6): 753-767.

85. Florindo AA, Oliveira Latorre MR, Jaime PC, Segurado AA. Leisure time physical activity prevents accumulation of central fat in HIV/AIDS subjects on highly active antiretroviral therapy. *Int J STD Aids*. 2007; 18(10): 692-6.

86. Fraga CG, Actis-Goretta L, Ottaviani JL, Carrasquedo F, Llorca SB, Lazarus S, *et al*. Regular consumption of a flavanol-rich chocolate can improve oxidant stress in young soccer players. *Clin Dev Immunol*. 2005; 12 (1); 11-7.

87. Friedewald WT, Levy RJ, Friedrickson DS. Estimation of the concentration of low-density-lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972; 18(6): 499-502.

88. Galati G, O'Brien PJ. Potential toxicity of flavonoids and other dietary phenolics: significance for their chemopreventive and anticancer properties. *Free Rad Biol Med*. 2004; 37(3): 287-303.

89. Gao H, Long Y, Jiang X, Liu Z, Wang D, Zhao Y, Li D, Sun BL. Beneficial effects of yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*) on hyperlipidemia in high-fat-fed hamsters. *Exp Gerontol*. 2013; 48(6):572-8.

90. Gleis M, Matuschek M, Steiner C, Böhm V, Persin C, Pool-Zobel BL. Initial in vitro toxicity testing of functional foods rich in catechins and anthocyanins in human cells. *Toxicol in vitro*. 2003; 17(5-6):723-9.

91. Gómez-Juaristi M, González-Torres L, Bravo L, Vaquero MP, Bastida S, Sánchez-Muniz FJ. Beneficial effects of chocolate on cardiovascular health. *Nutr Hosp.* 2011; 26 (2): 289-92.
92. Gori A, Tincati C, Rizzardini G, Torti C, Quirino T, Haarman M, *et al.* Early impairment of gut function and gut flora supporting a role for alteration of gastrointestinal mucosa in human immunodeficiency virus pathogenesis. *J Clin Microbiol.* 2008; 46(2): 757-8.
93. Grangeiro A, Escuder MML, Castilho, EA. Magnitude and trend of the AIDS epidemic in Brazilian cities, from 2002 to 2006. *Rev Saúde Pública.* 2010; 44(3).
94. Grassi D, Lippi C, Necozione S, Desideri G, Ferri C. Short-term administration of dark chocolate is followed by a significant increase in insulin sensitivity and a decrease in blood pressure in healthy persons. *Am J Clin Nutr.* 2005; 81(3): 611-4.
95. Grassi D, Mulder TPJ, Draijer R, Desideri G, Molhuizen HOF, Ferri C. Black tea consumption dose-dependently improves flow-mediated dilation in healthy males. *J Hypertens.* 2009; 27(4): 774-81.
96. Gupta R, Ordonez RM, Koenig S. Global impact of antiretroviral therapy-associated diarrhea. *AIDS Patient Care STDS.* 2012; 26(12): 711-3.
97. Gutierrez EB, Santos SS, Almeida MCS, Yasuda MAS, Boulos M. Retrovírus e síndrome da imunodeficiência adquirida. In: Coura JR. *Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005. 187-90.
98. Gutierrez J, Elkind MSV, Marshall RS. Cardiovascular profile and events of US adults 20-49 years with HIV: results from the NHANES 1999-2008. *AIDS Care.* 2013;1-7.
99. Hajj-Ali R, Zareba W, Ezzeddine R, Moss AJ. Relation of the leukocyte count to recurrent cardiac events in stable patients after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol.* 2001; 88(11): 1221-4.
100. Halcox JPJ, Deanfield JE. Endothelial cell function testing: how does the method help us in evaluating vascular status? *Acta Paediatr.* 2004; 93 (446): 48S-54S.
101. Halcox JPJ, Quyyumi AA. Coronary vascular endothelial function and myocardial ischemia: why should we worry about endothelial dysfunction? *Coron Artery Dis.* 2001; 12(6): 475-84.
102. Hallal PC, Vistora CG, Wells JCK, Lima RC. Physical inactivity: prevalence

and associated variables in brazilian adults. Med Sci Sports Exerc. 2003; 35 (11): 1894-900.

103. Halliwell B, Gutteridge J. Free radicals in biology and medicine. Oxford: Oxford University Press; 2007.

104. Heck CI, Mejia EG. Yerba Mate Tea (*Ilex paraguariensis*): A Comprehensive Review on Chemistry, Health Implications, and Technological Considerations. J Food Sci. 2007; 72(9): R138-151.

105. Hermann F, Spieker LE, Ruschitzka F, Sudano I, Hermann M, Binggeli C, *et al*. Dark chocolate improves endothelial and platelet function. Heart. 2006; 92 (1): 119-20.

106. Hodgson Jm. Effects of tea and tea flavonoids on endothelium function and blood pressure: a brief review. Clin Exp Pharm and Physiol. 2006; 33(9): 838-41.

107. Hollman PCH, Ferkens EJM, Katan MB. Tea flavonols in cardiovascular disease and cancer epidemiology. Proc Soc Exp Biol Med. 1999; 220 (4): 198-202.

108. Hsue PY, Hunt PW, Schnell A, Kalapus SC, Hoh R, Ganz P, *et al*. Role of viral replication, antirretroviral therapy, and immunodeficiency in HIV-associated atherosclerosis. AIDS. 2009; 23 (9): 1059-67

109. Hulgán T, Morrow J, D'Aquila R, Raffanti S, Morgan M, Rebeiro P, *et al*. Oxidant stress is increased during treatment of human immunodeficiency virus infection. Clin Infect Dis 2003; 37 (12): 1711-7.

110. Hypertension Diagnostics, Inc [homepage na internet]. Minnesota: Hypertension Diagnostics, Inc [atualizado em 2012; acesso em 01 de março de 2012]. Disponível em: <http://www.hdi-pulsewave.com/>.

111. Hypertension Diagnostics, Inc. Arterial Elasticity Guideles. Minnesota: Hypertension Diagnostics, Inc; 2009.

112. Ibrahim KY, Recordon-Pinson P, Malvy D, Fleury H, Segurado AC. Intermittent HIV-1 viremia (blips) and virological failure in a cohort of people with HIV from São Paulo, Brazil. AIDS Patient Care STDS. 2012; 26(9).

113. Jaime PC, Florindo AA, Latorre MRDO, Segurado AAC. Central obesity and dietary intake in HIV/AIDS patients. Rev Saúde Pública. 2006; 40(4):634-40.

114. Joannides R, Bellien J, Thuillez C. Clinical methods for the evaluation fo endothelium function – a focus on resistance arteries. Fundam Clin Pharmacol. 2006; 20(3): 311-20.

115. Junqueira VBC, Barros SBM, Chan SS, Rodrigues L, Giavarotti L, Abud RL,

Deucher GP. Aging and oxidative stress. *Molec Apec Med*. 2004. 25:5-16.

116. Kaio DJ, Rondo PHC, Souza JMP, Firmino AV, Luzia LA, Segurado AA. Vitamin A and beta-carotene concentrations in adults with HIV/AIDS on highly active antiretroviral therapy. *J Nutr Sci Vitamol*, 2003. In press.

117. Kaio DJI. Concentrações séricas de vitamina A e E e beta-caroteno em adultos HIV/Aids em terapia antirretroviral de alta potência. [Tese de mestrado]. São Paulo: FSP/USP, 2010.

118. Krieger JE, editor. Bases moleculares das doenças cardiovasculares: a interação entre a pesquisa e a prática clínica. São Paulo: Atheneu; 2008.

119. Langley-Evans SC. Consumption of black tea elicits an increase in plasma antioxidant potential in humans. *Int J Food Sci Nutr*. 2000; 51: 309-15.

120. Lanzetti M, Bezerra FS, Romana-Souza B, Brando-Lima AC, Koatz VLG, Porto LC, *et al*. Mate tea reduced acute lung inflammation in mice exposed to cigarette smoke. *Nutrition*. 2008; 24: 375–81.

121. Laurindo FRM. Desequilíbrio redox, resposta vascular à lesão e aterosclerose. In: Luz PL, Laurindo FRM, Chagas ACP. Endotélio e doenças cardiovasculares. São Paulo: Atheneu; 2003.p 115-132.

122. Lazar JM, Wu X, Shi Q, Kagame A, Cohen M, Binagwaho A, *et al*. Arterial wave reflection in HIV-infected and HIV-uninfected Rwandan women. *AIDS Research and Human Retroviruses*. 2009; 25(9).

123. Lekakis J, Ikonomidis I, Palios J, Tsiodras S, Karatzis E, Poulakou G, *et al*. Association of highly active antiretroviral therapy with increased arterial stiffness in patients infected with human immunodeficiency virus. *Am J Hypertens*. 2009; 22 (8): 828-34.

124. Li J, Flammer AJ, Reriani MK, Matsuo Y, Gulati R, Friedman PA, *et al*. High leukocyte count is associated with peripheral vascular dysfunction in individuals with low cardiovascular risk. *Circ J*. 2013; 77(3):780-5.

125. Lima NS, Franco JG, Peixoto-Silva N, Maia LA, Kaezer A, Felzenszwalb I, *et al*. *Ilex paraguariensis* (yerba mate) improves endocrine and metabolic disorders in obese rats primed by early weaning. *Eu J Nutr*. 2013.

126. Lo J, Abbara S, Shturman L, Soni A, Wei J, Rocha-Filho JA, *et al*. Increased prevalence of subclinical coronary atherosclerosis detected by coronary computed tomography angiography in HIV-infected men. *AIDS*. 2010; 24 (2):243-53.

127. Loffredo L, Carnevale R, Perri L, Catasca E, Augelletti T, Cangemi R, *et al*.

NOX2-mediated arterial dysfunction in smokers: acute effect of dark chocolate. *Heart*. 2011; 97:1776-81.

128. Lohman TG, Roche AF, Martorell R, editores. *Anthropometric Standardization Reference Manual*. Champaign, IL: Human Kinetics Books; 1991.

129. Macedo, MLS, Luminoso D, Magalhães CG, Peraçoli JC, Calderon IMP, Rudge MVC. Tonometria de aplanção – método não invasivo para avaliação da função endotelial na gravidez. *FEMINA*. 2009; 37(2).

130. Mackenzie IS, Wilkinson IB, Cockcroft JR. Assessment of arterial stiffness in clinical practice. *Q J Med*. 2002; 95(2):67-74.

131. Manacj C, Williamson G, Morand C, Scalbert A, Rémésy C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *Am J Clin Nutr*. 2005; 81(suppl):230S-42S.

132. Manual de exames [homepage na internet]. Hospital das Clínicas - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo. [Atualizado em 3 jul 2013; acesso em 3 jul 2013]. Disponível em <http://dlc.edm.org.br/portal/index.php/manual-de-exames>

133. Mao TK, Powell J, Water JV, Keen CL, Schimitz HH, Hammerstone JF, *et al*. Effect of cocoa procyanidins on the transcription and secretion of interleukin 1 β in peripheral blood mononuclear cells. *Life Sci*. 2000; 66(15):1377-86.

134. Marthur S, Devaraj S, Grundy SM, Jialal I. Cocoa products decrease low density lipoprotein oxidative susceptibility but do not affect biomarkers on inflammation in humans. *J Nutr*. 2002. 132(12):3663-7.

135. Martins F, Noso TM, Porto VB, Curiel A, Gambero A, Bastos DHM, *et al*. Maté tea inhibits in vitro pancreatic lipase activity and has hypolipidemic effect on high-fat diet-induced obese mice. *Obesity*. 2010; 18(1):42-7.

136. Martins F, Suzan AJ, Cerutti SM, Arçari DP, Ribeiro ML, Bastos DHM, *et al*. Consumption of maté tea (*Ilex paraguariensis*) decreases the oxidation of unsaturated fatty acids in mouse liver. *Brit J Nutr*. 2009; 101(4):527-32.

137. Mastroeni SSBS. Importância da atividade física sobre fatores de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares em adolescentes. [Tese de Doutorado]. São Paulo: FSP/USP, 2009.

138. Matsudo S, Araújo T, Matsudo 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 (2): 5-18.

139. Matsumoto RL, Bastos DH, Mendonça S, Nunes VS, Bartchewsky W, Ribeiro ML, *et al.* Effects of maté 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(5): 1775–80.
140. Mazzafera P. Mate drinking: caffeine and phenolic acid intake. *Food Chem.* 1997; 60(1): 67-71.
141. Mazzantti G, Menniti-Ippolito F, Moro PA, Cassetti F, Raschetti R, Santuccio C, Mastrangelo S. Hepatotoxicity from Green tea: a review of the literature and two unpublished cases. *Eur J Clin Pharmacol.* 2003; 65(4): 331-41.
142. Mehrinfar R e Frishman WH. Flavanol-rich cocoa: a cardioprotective nutraceutical. *Cardiol rev.* 2008; 16(3): 109-15.
143. Melchior R, Nemes MIB, Alencar TMD, Buchalla CM. Desafios da adesão ao tratamento de pessoas vivendo com HIV/Aids no Brasil. *Rev Saúde Pública.* 2007; 41(2):87-93.
144. Menini T, Heck C, Schulze J, Mejia E, Gugliucci A. Protective action of *Ilex paraguariensis* extract against free radical inactivation of paraoxonase-1 in high-density lipoprotein. *Planta Med.* 2007; 73(11): 1141-7.
145. Merlini E, Bai F, Bellistri GM, Tincati C, Monforte AA, Giulia M. Evidence for polymicrobial flora translocating in peripheral blood of HIV-infected patients with poor immune response to antiretroviral therapy. *PLos One.* 2011; 6(4):e18580.
146. Miller L, Coppola JT. Noninvasive assessment of HIV-related coronary artery disease. *Curr HIV/AIDS Rep.* 2011; 8:114-21.
147. Monagas M, Urpi-Sarda M, Sánchez-Patán F, Llorach R, Garrido I, Gómez-Cordovés C, *et al.* Insights into the metabolism and microbial biotransformation of dietary flavan-3-ols and the bioactivity of their metabolites. *Food Funct.* 2010; 1:233-53.
148. Monahan K. Effect of cocoa/chocolate ingestion on brachial artery flow-mediated dilation and its relevance to cardiovascular health and disease in humans. *Arch Biochem Biophys.* 2012; 527(2):90-4.
149. Morais EC, Stefanuto A, Klein GA, Boaventura BC, 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; 57(18):8316-24.

150. Mosimann ALP, Wilhelm-Filho D, Silva EL. Aqueous extract of *Ilex paraguariensis* attenuates the progression of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Biofactors*. 2006; 26(1): 59-70.
151. Moura LR, Lamounier JR, Guimarães PR, Duarte JM, Beling MTC, Pinto JÁ, Goulart EMA, Grillo CFC. The gap between knowledge on HIV/AIDS and sexual behavior: a study of teenagers in Vespasiano, Minas Gerais State, Brazil. *Cad Saúde Pública*. 2013; 29(5):1008-18.
152. Mursu J, Voutilainen S, Nurmi T, Helleranta M, Rissanen TH, Nurmi A, *et al.* Polyphenol-rich phloem enhances the resistance of total serum lipid to oxidation in men. *J Agric Food Chem*. 2005; 53:3017-22.
153. 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. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2000; 64: 2581-7.
154. Nemes MIB, Carvalho HB, Souza MFM. Antirretroviral therapy adherence in Brazil. *AIDS*. 2004; 18 (3): S15-S20.
155. 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 Research and Therapy*. 2006; 3:19.
156. Njike VY, Faridi Z, Shuval K, Dutta S, Kay C, West SG, *et al.* Effects of sugar-sweetened and sugar-free cocoa on endothelial function in overweight adults. *Int J Cardiol*. 2011; 149:83-8.
157. Oh J, Hegele RA. HIV-Associated dyslipidaemia: pathogenesis and treatment. *Lancet Infect Dis*. 2007; 7(12): 787-96.
158. Oliveira DM, Bastos DHM. Biodisponibilidade de ácidos fenólicos. *Quim Nova*. 2011; 34(6):1051-6.
159. Oliveira DM, Freitas HS, Souza MF, Arçari DP, Ribeiro ML, Carvalho PO, *et al.* Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) Aqueous extract decreases intestinal SGLT1 gene expression but does not affect other biochemical parameters in alloxan-diabetic wistar rats. *J Agric Food Chem*. 2008; 56 (22): 10527–10532.
160. Oliveira JM. Efeito dos ácidos graxos ômega-3 de origem marinha em parâmetros bioquímicos, antropométricos e inflamatórios de adultos que vivem com HIV em terapia antirretroviral: revisão da literatura e ensaio clínico. [Tese de doutorado]. São Paulo: FSP/USP, 2011.
161. Oliveira MLC, Paz LC, Melo GF. Dez anos de epidemia do HIV-AIDS em

amiores de 60 anos no Distrito Federal-Brasil. Rev Bras Epidemiol. 2013;16(1):30-9.

162. Oliver JJ, Webb DJ. Noninvasive assessment of arterial stiffness and risk of atherosclerotic events. Atheroscler Thromb vasc Biol. 2003; 23(4):554-66.

163. 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 Rad Res. 2001; 34(1):93-9. Inglês. [Abstract PMID: 11235000 – PubMed – indexed for MEDLINE] Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11235000>.

164. Osakabe N. Flavan 3-ols improve metabolic syndrome risk factors: evidence and mechanisms. J Clin Biochem Nutr. 2013; 52(3):186-92.

165. Patel RS, Mheid IA, Morris AA, Ahmed Y, Kavtaradze N, Ali S, *et al.* Oxidative stress is associated with impaired arterial elasticity. Atherosclerosis. 2011; 218 (1): 90-5.

166. Pearson TA, Mensah GA, Alexander W, Anderson JL, Cannon III RO, Criqui M, *et al.* Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and prevention and the American Heart Association. Circulation. 2003; 107:499-511.

167. Peralta CA, Adeney KL, Shlipak MG, Jacobs D, Duprez D, Bluemke D, *et al.* Structural and functional vascular alterations and incident hypertension in normotensive adults: the multi-ethnic study of atherosclerosis. Am j Epidemiol. 2009; 171(1): 63-71.

168. Peters U, Poole C, Arab L. Does tea affect cardiovascular disease? A meta-analysis. Am J Epidemiol. 2001; 154(6): 495-503.

169. Pinto VM, Tancredi MV, Golub JE, Coelho AC, Tancredi Neto A, Miranda AE. Prior history of sexually transmitted diseases in women living with AIDS in São Paulo, Brazil. Brazil J Infect Dis. 2012; 16(3):226-31.

170. Pontilho PM. Relação entre elasticidade arterial e outros marcadores de risco cardiovascular em indivíduos com HIV/aids em terapia antirretroviral. [Tese de mestrado]. São Paulo: FSP/USP, 2012.

171. 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.

172. Quinones M, Miguel M, Aleixandre A. Los polifenoles, compuestos de origen

natural com efectos saludables sobre El sistema cardiovascular. *Nutr Hosp.* 2012; 27(1): 76-89

173. Reed KE, Warburton DER, Lewanczuk RZ, Haykowsky MJ, Scott JM, Whitney CL, *et al.* Arterial compliance in young children: the role of aerobic fitness. *Eur J Prev Rehabil.* 2005; 12:492-7.

174. Reisler RB, Han C, Burman WJ, Tedaldi EM, Neaton JD. Grade 4 events are as important as AIDS events in the era of HAART. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2003; 34(4):379–86.

175. Rodriguez-Mateos A, Oruna-Concha MJ, Kwik-Urbe C, Vidal A, Spencer JPE. Influence of sugar type on the bioavailability of cocoa flavanols. *Brit J Nutr.* 2012; 108:2243-50.

176. Rondo PHC, Lemos JO, Pereira JA, Oliveira JM, Innocente LR. Relationship between birthweight and arterial elasticity in childhood. *Clin Sci (Lond).* 2008; 115(10): 317-26.

177. Sabino EC, Barreto CC, Sanabani SS. Infecção por HIV e AIDS. In: Veronesi R, editor. *Tratado de infectologia.* 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2009.

178. Salário Mínimo [homepage na internet]. Brasília: Ministério do Trabalho e Emprego – TEM [atualizado em 03 de junho de 2013 acesso em 13 junho 2013]. Disponível em: http://portal.mte.gov.br/sal_min/.

179. Sanchez ZM, Nappo SA, Cruz JI, Carlini EA, Carlini CM, Martins SS. Sexual behavior among high school students in Brazil: alcohol consumption and legal and illegal drug use associated with unprotected sex. *Clinics.* 2013; 68(4): 489-94.

180. 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; 5(3): 286-310.

181. Schillaci G, Socio GVL, Pucci G, Mannarino MR, Helou J, Pirro M, *et al.* Aortic stiffness in untreated adult patients with human immunodeficiency virus infection. *Hypertension.* 2008; 52 (2): 308-13.

182. Schorr O, Brossette T, Momma TY, Kleinbongard P, Keen CL, Schroeter H *et al.* Cocoa flavanols lower vascular arginase activity in endothelial cells in vitro and in erythrocytes in vivo. *Arch Biochem Biophys.* 2008; 476 (2): 211-5.

183. Schramm DD, Wang JF, Holt RR, Ensunsa JL, Gonsalves JL, Lazarus SA, *et al.* Chocolate procyanidins decrease the leukotriene-prostacyclin ratio in humans and human aortic endothelial cells. *Am J Clin Nutr.* 2001; 73(1): 36–40.

184. Selmi C, Cocchi CA, Lanfredini M, Keen CL, Gershwin ME. Chocolate at heart: the anti-inflammatory impact of cocoa flavanols. *Mol Nutr Food Res*. 2008; 52 (11): 1340-8.
185. Sen S, Rabinstein AA, Elkind MSV, Powers W. Recent developments regarding human immunodeficiency virus infection and stroke. *Cerebrovasc Dis*. 2012; 33:209-18.
186. Senn S. Cross-over trials in clinical research (statistics in practice). Chichester:Wiley; 2002
187. Serrano Jr, Timerman A, Stefanini E, editores. Tratado de cardiologia SOCESP. São Paulo: Manole, 2009.
188. Sharp PM, Hahn BH. Origins of HIV and the AIDS Pandemic. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2011; 1(1); a006841.
189. Sibbald B, Roberts C. Understanding controlled trials Crossover trials. *BMJ*. 1998; 316:7146-9.
190. Silva EL, 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; 41:973–9.
191. Solages A, Vita JA, Thornton DJ, Murray J, Heeren T, Craven DE, *et al*. Endothelial function in HIV-infected persons. *Clin Infect Dis*. 2006; 42 (9): 1325-32.
192. Southgate DAT, Johnson I, Fenwick GR. Nutrient availability: chemical and biological aspects. Norwich: AFRC Institute of Food Research, Norwich; 1989.
193. Souza SJ, Luzia LA, Santos SS, Rondo PHC. Lipid profile of HIV-infected patients in relation to antiretroviral therapy: a review. *Rev Assoc Med Bras*. 2013; 59(2): 186-89.
194. Stata Features – Documentation [homepage na internet]. Estados Unidos, Teks: Stata Corp LP [acesso em 23 de julho de 2013]. Disponível em: <http://www.stata.com/manuals13/rpkcross.pdf>.
195. Stehbens WE. Oxidative stress in viral hepatitis and AIDS. *Exp Mol Pathol*. 2004; 77(2):121-32.
196. Stein FLP, Fellow BS, Furlong EB, Soares AAS, Soares MCF, Vaz MRC, *et al*. Vascular responses to extractable fractions of *Ilex paraguariensis* in rats fed standard and high-cholesterol diets. *Biol Res Nurs*. 2005; 7 (2):146-56.
197. Suparna PN, Achappa B, Unnikrishnan B, Madi D, Chowta MN, Ramapuram JT, Raio S, Mahalingam S. The evaluation of carotid atherosclerosis in patients with

the HIV-1 infection: the role of the antiretroviral therapy. *J Clin Diagn Res.* 2013; 7(2):261-4.

198. Tanaka SI, Sha S, Hirata KI, Ishikawa Y, Yokoyama M. Serum levels of thiobarbituric acid-reactive substances are associated with risk of coronary heart disease. *J Atheroscler Thromb.* 2011; 18(7): 584-91.

199. Tanita India [homepage na internet]. Mumbai: Tanita India [acesso em 01 de março de 2012]. Disponível em: http://www.tanita.co.in/index.php?id=102&tx_f03showxtcommerceproducts_pi1%5BshowUid%5D=605&cHash=8e5b64bc46.

200. Taubert D, Berkels R, Roesen R, Klaus W. Chocolate and blood pressure in elderly individuals with isolated systolic hypertension. *JAMA* 2003; 290 (8):1029-30.

201. Taubert D, Roesen R, Schömig E. Effect of cocoa and tea intake on blood pressure: a meta-analysis. *Arch Intern Med.* 2007; 167 (7): 626-34.

202. Thorin E, Thorin-Trescases N. Vascular endothelial ageing, heartbeat after heartbeat. *Cardiovascular Research.* 2009; 84(1): 24-32.

203. Tien PC, Choi AI, Zolopa AR, Benson C, Scherzer R, Bacchetti P, *et al.* Inflammation and mortality in HIV-infected adults: analysis of the FRAM Study cohort. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2010; 55(3): 316-22.

204. Tijburg LBM, Mattern T, Folts JD, Weisgerber UM, Katan MB. Tea flavonoids and cardiovascular diseases: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 1997; 37(8): 771-85.

205. Tinmouth J, Tomlinson G, Klandel G, Walmsley S, Steinhart AH, Glazier R. Evaluation of stool frequency and stool form as measures of HIV-related diarrhea. *HIV Clin Trials* 2007; 8(6): 421-8.

206. Tomasian D, Keaney Jr JF, Vita JA. Antioxidants and the bioactivity of endothelium-derived nitric oxid. *Cardiovasc Res.* 2000; 47: 426-35.

207. Tomiyama H, Yamashina A. Non-invasive vascular function testes: their pathophysiological background and clinical application. *Circ J.* 2010; 74(1): 24-33.

208. Torres RS, Cardoso SW, Velasque LS, Marins LMS, Oliveira MS, Veloso VG, Grinsztejn B. Aging with HIV: an overview of an urban cohort in Rio de Janeiro (Brazil) across decades of life. *Braz J Infect Dis.* 2013; 17(3): 324-331.

209. Triant V. Cardiovascular disease and HIV infection. *Curr HIV/AIDS Rep.* 2013.

210. Troll, JG. Approach to dyslipidemia, lipodystrophy, and cardiovascular risk in patients with HIV infection. *Curr Atheroscler Rep.* 2011; 13(1): 51-6.

211. Valappil NI, Jacobs DR, Duprez DA, Gross MD, Arnett DK, Glasser S.

Association between endothelial biomarkers and arterial elasticity in young adults - the CARDIA study. *J Am Soc Hypertens*. 2008; 2(2): 70-9.

212. Van der Burg-Koorevaar MCD, Miret S, Duchateau GSMJE. Effect of milk and brewing method on black tea catequin bioaccessibility. *J Agric Food Chem* 2011; 59: 7752-8.

213. Van Vonderen MG, Smulders YM, Stehouwer CD, Danner SA, Gundy CM, Vos F, *et al*. Carotid Intima-media thickness and arterial stiffness in HIV-infected patients: the role of HIV, antirretroviral therapy, and lipodystrophy. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2009; 50 (2): 153-161.

214. Verma S, Anderson TJ. Fundamentals of endothelium function for the clinical cardiologist. *Circulation*, 2002; 105(5): 546-9.

215. Villarinho MV, Padrilha MI, Berardinelli LMM, Borenstein MS, Meirelles BHS, Andrade SR. Políticas públicas de saúde face à epidemia da AIDS e a assistência às pessoas com a doença. *Rev Bras Enferm*. 2013; 66(2): 271-7.

216. Vinson JA, Proch J, Bose P, Muchler S, Taffera P, Shuta D, *et al*. Chocolate is a powerful ex vivo and in vivo antioxidant, an atherosclerotic agent in an animal model, and a significant contributor to antioxidants in the European and American diets. *J Agric Food Chem*. 2006; 54(21): 8071-6.

217. Visioli F, Bernaert H, Corti R, Ferri C, Heptinstall S, Molinari E, *e tal*. Chocolate, lifestyle, and health. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2009; 49(4): 299-312.

218. Vlachopoulos C, Alexopoulos NA, Aznaouridis KA, Ioakeimidis NC, Dima IA, Dagre A, *et al*. Relation of habitual cocoa consumption to aortic stiffness and wave reflections , and to central hemodynamics in healthy individuals. *Am J Cardiol*. 2007; 99 (10): 1473-5.

219. Vlachopoulos C, Aznaouridis K, Alexopoulos N, Economou E, Andreadou I, Stefanadis C. Effect of dark chocolate on arterial function in healthy individuals. *Am J Hypertens*. 2005; 18(6): 785-91.

220. Walter MF, Jacob RF, Jeffers B, Ghadanfar MM, Preston G, Buch J *et al*. Serum levels of thiobarbituric acid substances predict cardiovascular events in patients with stable coronary artery disease. *J Am Col Cardiol*. 2004; 44(10): 1996-2002.

221. Weber T, Maas R, Auer J, Lamm G, Lassnig E, Rammer M, *et al*. Arterial wave reflections and determinants of endothelial function. *Am J Hypertens*. 2007; 20 (3): 256-62.

222. Wong M, Toh L, Wilson A, Rowley K, Karschimkus C, Prior D, *et al.* Reduced arterial elasticity in rheumatoid arthritis and the relationship to vascular disease risk factors and inflammation. *Arthritis Rheum.* 2003; 48 (1): 81-9.
223. Yang CS, Landau JM. Effects of tea consumption on nutrition and health. *J Nutr.* 2000; 130(10): 2409-12.
224. Yasmin, McEniery CM, Dakham Z, Pusalkar P, Maki-Petaja K, Ashby MJ, *et al.* Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), MMP-2 and serum elastase activity are associated with systolic hypertension and arterial stiffness. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005; 25(2): 372-8.
225. Zimlichman R, Boaz M, Duprez D, Rahn KH, Rizzoni D, Payeras AC, *et al.* Effects of moderate smoking on arterial elasticity – in healthy european population – the seven European sites study on arterial elasticity. *Am J Hypertens.* 2003; 16(5): 149-150A. [Resumo 293 em: *Am J Hypertens.* 2004; 16(S1)].
226. Zimlichman R. Arterial stiffness in health and disease. *Am J Hypertens.* 2003; 17(5): 139A. [Resumo 313 em: *Am J Hypertens.* 2004; 17(S1)].
227. Zomer E, Owen A, Magliano DJ, Liew D, Reid CM. The effectiveness and cost effectiveness of dark chocolate consumption as prevention therapy in people at high risk of cardiovascular disease: Best case scenario analysis using a Markov model. *BMJ.* 2012; 334:3657-66.

9. APÊNDICES

APÊNDICE 1 – Cartaz de divulgação da pesquisa

O QUE A ALIMENTAÇÃO PODE FAZER PELO SEU CORAÇÃO?

Nossa alimentação está intimamente relacionada com a nossa saúde de forma geral, incluindo a saúde do coração e dos vasos sanguíneos.

Estamos realizando uma pesquisa inédita para saber como alguns alimentos podem ajudar na prevenção de problemas cardiovasculares!

Fique atento e se for convidado,
PARTICIPE!

A sua saúde e de outras pessoas conta
com os nossos resultados!

Informações:

Andrea Mariana Teixeira; Patrícia Pontilho; Suelen Souza
Mestrandas em Nutrição em Saúde Pública FSP/USP
nutricionistas.usp@gmail.com

11 7143-9816

APÊNDICE 2 – Folheto de divulgação da pesquisa

CHÁ E CHOCOLATE COMBINAM COM TODOS OS MOMENTOS!

Estamos realizando uma pesquisa inédita para saber como chocolate e chá podem ajudar na saúde do seu coração e vasos sanguíneos.

PARTICIPE!

A sua saúde e de outras pessoas contam com os nossos resultados!

- ✓ Coleta de sangue (rotina e pesquisa) aqui no Ambulatório;
- ✓ Lanche pós coleta;
- ✓ Vale transporte;
- ✓ Declaração de comparecimento.

O CHÁ E O CHOCOLATE SERÃO DOADOS.**Informações:**

Consultório 02 – 2º andar
Andrea Mariana Teixeira; Patrícia Pontilho;
Suelen Souza
Mestrandas em Nutrição FSP/USP

nutricionistas.usp@gmail.com
11 7143-9816 (VIVO)

APÊNDICE 3 – 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 4 - *Checklist* de participação na pesquisa

Nome: _____ Idade: _____

Tempo de tratamento: _____

1. Reside em São Paulo?	Sim ☐	Não ☐
2. Está gestante?	Sim ☐	Não ☐
3. É vegetariano?	Sim ☐	Não ☐
4. Está participando de alguma outra pesquisa?	Sim ☐	Não ☐
5. Possui algum tipo de intolerância a algum chocolate?	Sim ☐	Não ☐
6. Possui algum tipo de intolerância a algum chá?	Sim ☐	Não ☐
7. É diabético?	Sim ☐	Não ☐
8. Toma remédios para pressão alta?	Sim ☐	Não ☐
9. Toma remédios para colesterol ou triglicérides?	Sim ☐	Não ☐
10. Já sofreu infarto ou derrame?	Sim ☐	Não ☐
11. Sofre de arritmia cardíaca?	Sim ☐	Não ☐
12. Possui algum tipo de placa metálica no corpo?	Sim ☐	Não ☐
13. Possui problemas nos rins?	Sim ☐	Não ☐
14. Possui algum tipo de doença intestinal?	Sim ☐	Não ☐
15. Tem hipotireoidismo?	Sim ☐	Não ☐
16. Tem algum tipo de problema no fígado?	Sim ☐	Não ☐
17. Está com algum tipo de câncer?	Sim ☐	Não ☐
18. Está com alguma doença oportunista no momento?	Sim ☐	Não ☐
19. Consome bebidas alcoólicas diariamente?	Sim ☐	Não ☐

APÊNDICE 5 –Panfleto para controle de intervenção dos pacientes

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE SAÚDE PÚBLICA
Departamento de Nutrição

NOME: _____ Nº: _____

Peso: _____ kg

Altura: _____ m

PRÓXIMO RETORNO: _____ (____ª feira) as _____

COMPARECER COM 12 HORAS DE JEIUM

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: ____/____/____		9 ciclo de intervenção												
Domingo		2ª f	3ª f	4ª f	5ª f	6ª f	Sábado							
		1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª	7ª	8ª	9ª	10ª	11ª	12ª	13ª
☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
7ª	8ª	9ª	10ª	11ª	12ª	13ª								
☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐								
14ª	15ª	EXAME												

Nutricionista Responsável _____

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

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE SAÚDE PÚBLICA
Departamento de Nutrição

NOME: _____ Nº: _____

Peso: _____ kg

Altura: _____ m

PRÓXIMO RETORNO: _____ (____ª feira) as _____

COMPARECER COM 12 HORAS DE JEIUM

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: ____/____/____		9 ciclo de intervenção									
Domingo		2ª f	3ª f	4ª f	5ª f	6ª f	Sábado				
					1ª	2ª	3ª	4ª			
☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐
5ª	6ª	7ª	8ª	9ª	10ª	11ª					
☐	☐	☐	☐	☐	☐	☐					
12ª	13ª	14ª	15ª	EXAME							

Nutricionista Responsável _____

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

APÊNDICE 6 – Embalagens utilizadas para os suplementos

Figura 8 – Embalagem utilizada para chocolate e placebo de chocolate

Figura 9 – Embalagem utilizada para erva mate e placebo de erva mate

APÊNDICE 7 - Questionário socioeconômico

Entrevistador: _____ Data: ____/____/____
 Nº prontuário: _____ ID _____
 Nome: _____
 Endereço: _____
 Celular: _____ Telefone: _____ Recado: _____
 E-mail: _____
 Nome da mãe: _____
 CPF: _____

Sexo: M ☐ F ☐ Data de nascimento: ____/____/____
 Naturalidade: _____ Estado: _____
 Raça: Branco ☐ Mulato/Pardo ☐ Negro ☐ Oriental ☐ Indígena ☐
 União: Solteiro/ Não vive com companheiro ☐ Casado/Vive com companheiro ☐
 Divorciado/ Separado ☐ Viúvo ☐
 Filhos: Sim ☐ Não ☐ Quantos: _____ Nº total membros da família: _____
 Escolaridade: Analfabeto ☐ Médio Completo ☐
 Não analfabeto ☐ Superior incompleto ☐ ano
 Fundamental incompleto ☐ série Superior completo ☐
 Fundamental completo ☐ Pós graduação incompleta ☐
 Médio incompleto ☐ série Pós graduação completa ☐
 Ocupação: Sim ☐ Não ☐ Aposentado ☐ Qual: _____
 Renda familiar: _____ Renda per capita: _____

Fumo: Sim ☐ Não ☐ Ex ☐ Nº cigarros/dia: _____
 Por quanto tempo fuma/fumou: _____ Há quanto tempo parou: _____

Etilista: Sim ☐ Não ☐ Ex ☐
 Tipo de bebida: _____ Quantidade: _____
 Frequência: _____
 Tipo de bebida: _____ Quantidade: _____
 Frequência: _____

Uso de drogas ilícitas: Sim ☐ Não ☐ Ex ☐
 Maconha: Sim ☐ Não ☐ Ex ☐
 Cocaína: Sim ☐ Não ☐ Ex ☐

Ecstasy/Ácido: Sim ☐ Não ☐ Ex ☐
 Heroína: Sim ☐ Não ☐ Ex ☐
 Crack: Sim ☐ Não ☐ Ex ☐
 Outros: _____ Sim ☐ Não ☐ Ex ☐

Data do diagnóstico (HIV): ____/____/____

Data do início da terapia: ____/____/____

Data do início da terapia atual: ____/____/____

Tempo de terapia: _____

Data da última doença associada: ____/____/____

Medicamentos antirretrovirais utilizados:

Abacavir ☐	Didanosina ☐	Indinavir ☐	Raltegravir ☐
Amprenavir ☐	Efavirenz ☐	Lamivudina ☐	Ritonavir ☐
Atazanavir ☐	Enfuvirtida ☐	Maraviroc ☐	Saquinavir ☐
Darunavir ☐	Estavudina ☐	Nelfinavir ☐	Tenofovir ☐
Delaviridina ☐	Fosamprenavir ☐	Nevirapina ☐	Zidovudina ☐

Outros: _____

Nº comprimidos ingeridos nos últimos 3 dias: _____

Nº comprimidos que deveriam ter sido ingeridos nos últimos 3 dias: _____

Doenças associadas: _____

Medicamentos não antirretrovirais (incluir hormônios, anticoncepcionais e suplementos):

História familiar materna

Obesidade: Sim ☐	Não ☐	Diabetes: Sim ☐	Não ☐
Dislipidemia: Sim ☐	Não ☐	Hipertensão: Sim ☐	Não ☐
Angina/Arritmia: Sim ☐	Não ☐	Trombose: Sim ☐	Não ☐
Embolia: Sim ☐	Não ☐	AVC/IAM: Sim ☐	Não ☐
Outras: _____		Idade que ocorreu: _____	

História familiar paterna

Obesidade: Sim ☐	Não ☐	Diabetes: Sim ☐	Não ☐
Dislipidemia: Sim ☐	Não ☐	Hipertensão: Sim ☐	Não ☐
Angina/Arritmia: Sim ☐	Não ☐	Trombose: Sim ☐	Não ☐
Embolia: Sim ☐	Não ☐	AVC/IAM: Sim ☐	Não ☐
Outras: _____		Idade que ocorreu: _____	

APÊNDICE 8– Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

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

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:
 DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : M ☐ F ☐
 DATA NASCIMENTO:/...../.....
 ENDEREÇO Nº APTO:
 BAIRRO: CIDADE
 CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)
2. RESPONSÁVEL LEGAL
 NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
 DOCUMENTO DE IDENTIDADE : SEXO: M ☐ F ☐
 DATA NASCIMENTO:/...../.....
 ENDEREÇO Nº APTO:
 BAIRRO: CIDADE
 CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)

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.

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 contendo 36g de cacau e com 300 mL de chá mate preparado

conforme indicação do fabricante ou com tabletes contendo aproximadamente 65 g de placebo com 0 g de cacau e 300 mL de líquido com aparência similar ao chá mate.

A suplementação terá duração de 60 dias em quatro fases de 15 dias. A suplementação será diária, 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 dieta prescrita pelos pesquisadores: consumo diário de 1 barra de chocolate contendo 36 g de cacau e 300 mL de chá mate ou placebo durante 45 dias, conforme explicado anteriormente. Concorde em permitir a coleta de 20 mL de sangue venoso, antes do início da suplementação e 15, 45, 75 e 105 dias após o início da dieta. Responderei a um questionário fornecendo dados referentes à minha doença e minhas condições sócio-econômicas; terei meu peso, altura e circunferência da cintura e quadril 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 esta pesquisa será importante para avaliar se a intervenção alimentar é benéfica para pacientes com HIV/AIDS em terapia com antirretrovirais e para a futura aplicação de seus resultados. Pode não haver benefício direto para mim, mas no final do estudo poderá ser concluído o benefício do uso do suplemento 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;

09 – Direito de confidencialidade – As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado 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 ____ / ____ / ____

Assinatura da testemunha _____ Data / /

Para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

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 ou (11) 3120-5290 ramal 214

nutricionistas.usp@gmail.com

Nutricionistas: Andrea Mariana Nunes da Costa Teixeira

Patrícia de Moraes Pontilho

Suelen Jorge de Souza

APÊNDICE 9 – Análises estatísticas considerando os pacientes com adesão aos suplementos acima de 80% e que completaram a pesquisa

Tabela 25. Diferenças (Δ) médias e desvio padrão (DP) da elasticidade arterial dos participantes com adesão > 80% após suplementação com chocolate e placebo de chocolate em relação ao *baseline* (n=74). São Paulo, 2013.

Variável	Diferenças médias (DP) de LAEI e SAEI após o consumo de chocolate e placebo de chocolate		
	Chocolate (DP)	Placebo de chocolate (DP)	p ^{**}
Δ LAEI*	0,77 (0,6)	0,95 (0,6)	0,77
Δ SAEI*	-0,21 (0,3)	-0,23 (0,4)	0,95

*Nota: LAEI -Índice de elasticidade das grandes artérias (ml/mmHg x 10); SAEI: Índice de elasticidade das pequenas artérias (ml/mmHg x 100); Δ = resultado no *baseline* – resultado após suplementação.

** Nota: comparação da diferença das médias (Teste t *Student* pareado)

Tabela 26. Diferenças (Δ) médias e desvio padrão (DP) da elasticidade arterial dos participantes com adesão >80% após suplementação com erva mate e placebo de erva mate em relação ao *baseline* (n=74). São Paulo, 2013.

Variável	Diferenças médias (DP) de LAEI e SAEI após o consumo de erva mate e placebo de erva mate		
	Erva mate (DP)	Placebo de erva mate (DP)	p ^{**}
Δ LAEI*	0,53 (0,6)	0,24 (0,6)	0,67
Δ SAEI*	-0,18 (0,5)	-0,30 (0,4)	0,81

*Nota: LAEI -Índice de elasticidade das grandes artérias (ml/mmHg x 10); SAEI: Índice de elasticidade das pequenas artérias (ml/mmHg x 100); Δ = resultado no *baseline* – resultado após suplementação.

**Nota: comparação da diferença das médias (Teste t *Student* pareado)

Tabela 27. Análise de variância da elasticidade arterial dos grandes vasos (LAEI) dos participantes com adesão >80% após as suplementações com chocolate, placebo de chocolate, erva mate e placebo de erva mate (n=74). São Paulo, 2013.

Origem da variação	Análises estatísticas				
	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado das médias	F	p*
Entre os sujeitos					
Efeito da sequência	71,98	3	23,99	0,44	0,72
Intraindividual					
Efeito do tratamento	17,66	3	5,89	0,57	0,63
Efeito do período	19,16	3	6,39	0,62	0,60

* Nota: Comparação das médias (ANOVA)

Tabela 28. Análise de variância de elasticidade arterial dos pequenos vasos (SAEI) dos participantes com adesão >80% após as suplementações com chocolate, placebo de chocolate, erva mate e placebo de erva mate (n=74). São Paulo, 2013.

Origem da variação	Análises estatísticas				
	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado das médias	F	p*
Entre os sujeitos					
Efeito da sequência	30,14	3	10,05	0,37	0,77
Intraindividual					
Efeito do tratamento	1,88	3	0,63	0,14	0,93
Efeito do período	2,34	3	0,78	0,18	0,91

* Nota: comparação das médias (ANOVA)

Tabela 29. Médias, desvio padrão (DP) e análise de variância de elasticidade arterial dos grandes vasos (LAEI) dos participantes após suplementação de chocolate e placebo de chocolate (n=74). São Paulo, 2013.

Origem da variação	Análises estatísticas				
	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado das médias	F	p*
Entre os sujeitos					
Efeito da sequência	29,24	3	9,75	0,36	0,78
Intraindividual					
Efeito do tratamento	2,86	1	2,86	0,33	0,56
Efeito do período	4,92	2	2,46	0,28	0,75

* Nota: comparação das médias (ANOVA)

Tabela 30. Médias, desvio padrão (DP) e análise de variância de elasticidade arterial dos pequenos vasos (SAEI) dos participantes com adesão >80% após suplementação de chocolate e placebo de chocolate (n=74). São Paulo, 2013.

Origem da variação	Análises estatísticas				
	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado das médias	F	p*
Entre os sujeitos					
Efeito da sequência	13,19	3	4,40	0,37	0,77
Intraindividual					
Efeito do tratamento	0,07	1	0,07	0,02	0,89
Efeito do período	0,13	2	0,06	0,02	0,98

*Nota: comparação das médias (ANOVA)

Tabela 31. Médias, desvio padrão (DP) e análise de variância de elasticidade arterial dos grandes vasos (LAEI) dos participantes com adesão >80% após suplementação de erva mate e placebo de erva mate (n=74). São Paulo, 2013.

Origem da variação	Análises estatísticas				
	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado das médias	F	p*
Entre os sujeitos					
Efeito da sequência	14,91	3	4,97	0,13	0,94
Intraindividual					
Efeito do tratamento	2,85	1	2,85	0,24	0,62
Efeito do período	12,32	2	6,16	0,53	0,59

*Nota: comparação das médias (ANOVA)

Tabela 32. Médias, desvio padrão (DP) e análise de variância de elasticidade arterial dos pequenos vasos (SAEI) dos participantes com adesão >80% após suplementação de erva mate e placebo de erva mate (n=74). São Paulo, 2013.

Origem da variação	Análises estatísticas				
	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado das médias	F	p*
Entre os sujeitos					
Efeito da sequência	42,08	3	14,03	0,71	0,55
Intraindividual					
Efeito do tratamento	0,34	1	0,34	0,07	0,79
Efeito do período	3,37	2	1,68	0,35	0,70

*Nota: comparação das médias (ANOVA)

Tabela 33. Médias, desvio padrão (DP) e análise de variância de elasticidade arterial dos grandes vasos (LAEI) dos participantes com adesão >80% após suplementação com chocolate e erva mate (n=74). São Paulo, 2013.

Origem da variação	Análises estatísticas				
	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado das médias	F	p*
Entre os sujeitos					
Efeito da sequência	34,36	3	11,45	0,34	0,79
Intraindividual					
Efeito do tratamento	0,26	1	0,26	0,02	0,89
Efeito do período	10,75	3	3,58	0,25	0,86

*Nota: comparação das médias (ANOVA)

Tabela 34. Médias, desvio padrão (DP) e análise de variância de elasticidade arterial dos pequenos vasos (SAEI) dos participantes com adesão >80% após suplementação com chocolate e erva mate (n=74). São Paulo, 2013.

Origem da variação	Análises estatísticas				
	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado das médias	F	p*
Entre os sujeitos					
Efeito da sequência	37,26	3	12,42	0,73	0,53
Intraindividual					
Efeito do tratamento	0,25	1	0,25	0,06	0,81
Efeito do período	21,76	3	7,25	1,63	0,18

*Nota: comparação das médias (ANOVA)

APÊNDICE 10 - Características somente dos indivíduos que completaram todas as fases de intervenção

Tabela 35. Médias e desvios padrão das variáveis antropométricas e bioquímicas dos pacientes com HIV/aids de acordo com os tipos de intervenção (n=79). São Paulo, 2013.

Variáveis	<i>Baseline</i>	Chocolate	Chocolate placebo	Erva mate	Erva mate placebo
Peso (kg)	68,0 (12,1)	68,0 (11,9)	68,0 (12,0)	68,0 (11,8)	67,7 (11,6)
Circunferência de cintura (cm)	86,5 (9,6)	86,5 (9,6)	86,2 (9,4)	86,1 (9,4)	86,0 (9,2)
Percentual de gordura	19,5 (8,6)	19,2 (8,6)	19,1 (8,5)	19,5 (8,6)	19,6 (10,1)
Massa muscular (kg)	51,5 (8,8)	51,7 (8,5)	51,6 (8,7)	51,1 (10,3)	51,1 (8,9)
Glicemia (mg/dl)	83,3 (9,6)	84,1 (8,5)	82,8 (11,1)	82,8 (10,9)	81,4 (9,8)
Colesterol total (mg/dl)	192,4 (34,2)	198,2 (37,9)	197,8 (35,2)	197,2 (37,4)	191,7 (38,2)
LDL-c** (mg/dl)	114,7 (28,6)	120,0 (35,6)	120,4 (31,9)	118,0 (32,7)	114,8 (32,7)
HDL-c** (mg/dl)	49,8 (14,3)	52,1 (14,5)	50,7 (14,2)	50,39 (14,3)	49,5 (13,9)
Triglicérides** (mg/dl)	143,3 (76,9)	135,1 (59,1)	139,2 (75,3)	144,1 (61,3)	141,4 (74,5)
Linfócitos (mil células/mm³)					
T-CD4	604,6 (282,1)	628,5 (294,6)	645,0 (308,7)	646,2 (333,2)	632,5 (289,5)
T-CD8	821,8 (351,0)	808,9 (364,8)	846,7 (400,6)	829,9 (377,9)	828,7 (346,0)
Totais	1,96 (0,6)	1,9 (0,6)	2,0 (0,7)	2,0 (0,7)	2,0 (0,6)
Leucócitos(células/mm³)	6,1 (1,9)	5,7 (1,3)	6,1 (1,4)	5,9 (1,3)	6,0 (1,7)
Proteína C-reativa (mg/ml)	2,3 (2,2)	2,6 (3,4)	3,0 (6,3)**	3,2 (5,6)**	1,8 (1,8)***
TBARS (μmol/l)*	11,6 (4,4)****	12,1 (5,3)	12,2 (4,9)	11,9 (4,5)**	11,5 (5,1)

*Nota: LDL-c lipoproteína de baixa densidade, HDL-C lipoproteína de alta densidade; TBARS substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.

** n= 78

*** n=76

****n=74

APÊNDICE 10 - Análise estatística das variáveis resposta somente para os indivíduos que completaram todas as fases de intervenção

Tabela 36. Diferenças (Δ) médias e desvio padrão (DP) da elasticidade arterial dos participantes após suplementação com chocolate e placebo de chocolate em relação ao *baseline* (n=79). São Paulo, 2013.

Variável	Diferenças médias (DP) de LAEI e SAEI após o consumo de chocolate e placebo de chocolate		
	Chocolate (DP)	Placebo de chocolate (DP)	p **
Δ LAEI*	0,77 (0,6)	0,95 (0,6)	0,77
Δ SAEI*	-0,21 (0,3)	-0,23 (0,4)	0,95

*Nota: LAEI -Índice de elasticidade das grandes artérias (ml/mmHg x 10); SAEI: Índice de elasticidade das pequenas artérias (ml/mmHg x 100); Δ = resultado no *baseline* – resultado após suplementação.

** Nota: comparação da diferença das médias (Teste t *Student* pareado)

Tabela 37. Diferenças (Δ) médias e desvio padrão (DP) da elasticidade arterial dos participantes que concluíram a pesquisa após suplementação com erva mate e placebo de erva mate em relação ao *baseline* (n=79). São Paulo, 2013.

Variável	Diferenças médias (DP) de LAEI e SAEI após o consumo de erva mate e placebo de erva mate		
	Erva mate (DP)	Placebo de erva mate (DP)	p **
Δ LAEI*	0,5 (5,9)	0,2 (5,0)	0,66
Δ SAEI*	-0,3 (4,1)	-0,4 (3,6)	0,98

*Nota: LAEI -Índice de elasticidade das grandes artérias (ml/mmHg x 10); SAEI: Índice de elasticidade das pequenas artérias (ml/mmHg x 100); Δ = resultado no *baseline* – resultado após suplementação.

**Nota: comparação da diferença das médias (Teste t *Student* pareado)

Tabela 38. Análise de variância da elasticidade arterial dos grandes vasos (LAEI) dos participantes que concluíram a pesquisa após as suplementações com chocolate, placebo de chocolate, erva mate e placebo de erva mate (n=79). São Paulo, 2013.

Origem da variação	Análises estatísticas				
	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado das médias	F	p*
Entre os sujeitos					
Efeito da sequência	55,43	3	18,48	0,35	0,79
Intraindividual					
Efeito do tratamento	16,08	3	5,36	0,53	0,66
Efeito do período	11,36	3	3,79	0,37	0,77

* Nota: Comparação das médias (ANOVA)

Tabela 39. Análise de variância de elasticidade arterial dos pequenos vasos (SAEI) dos participantes que concluíram a pesquisa após as suplementações com chocolate, placebo de chocolate, erva mate e placebo de erva mate (n=79). São Paulo, 2013.

Origem da variação	Análises estatísticas				
	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado das médias	F	p*
Entre os sujeitos					
Efeito da sequência	52,13	3	17,38	0,64	0,59
Intraindividual					
Efeito do tratamento	2,03	3	0,68	0,16	0,92
Efeito do período	1,97	3	0,66	0,15	0,92

* Nota: comparação das médias (ANOVA)

Tabela 40. Médias, desvio padrão (DP) e análise de variância de elasticidade arterial dos grandes vasos (LAEI) dos participantes que concluíram a pesquisa após o consumo de chocolate e placebo de chocolate (n=79). São Paulo, 2013.

Origem da variação	Análises estatísticas				
	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado das médias	F	p*
Entre os sujeitos					
Efeito da sequência	25,68	3	8,56	0,32	0,80
Intraindividual					
Efeito do tratamento	2,05	1	2,05	0,25	0,62
Efeito do período	7,46	2	3,73	0,45	0,64

* Nota: comparação das médias (ANOVA)

Tabela 41. Médias, desvio padrão (DP) e análise de variância de elasticidade arterial dos pequenos vasos (SAEI) dos que concluíram a pesquisa, após o consumo de o chocolate e placebo de chocolate (n=79). São Paulo, 2013.

Origem da variação	Análises estatísticas				
	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado das médias	F	p*
Entre os sujeitos					
Efeito da sequência	24,17	3	8,06	0,69	0,56
Intraindividual					
Efeito do tratamento	0,19	1	0,19	0,06	0,81
Efeito do período	0,52	2	0,26	0,08	0,92

*Nota: comparação das médias (ANOVA)

Tabela 42. Médias, desvio padrão (DP) e análise de variância de elasticidade arterial dos grandes vasos (LAEI) dos participantes que concluíram a pesquisa, após o consumo da erva mate e placebo de erva mate (n=79). São Paulo, 2013.

Origem da variação	Análises estatísticas				
	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado das médias	F	p*
Entre os sujeitos					
Efeito da sequência	14,90	3	4,97	0,13	0,93
Intraindividual					
Efeito do tratamento	3,76	1	3,76	0,31	0,57
Efeito do período	12,48	2	6,24	0,52	0,59

*Nota: comparação das médias (ANOVA)

Tabela 43. Médias, desvio padrão (DP) e análise de variância de elasticidade arterial dos pequenos vasos (SAEI) dos participantes que concluíram a pesquisa, após o consumo da erva mate e placebo de erva mate (n=79). São Paulo, 2013.

Origem da variação	Análises estatísticas				
	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado das médias	F	p*
Entre os sujeitos					
Efeito da sequência	51,73	3	17,24	0,87	0,46
Intraindividual					
Efeito do tratamento	0,04	1	0,04	0,01	0,92
Efeito do período	3,67	2	1,83	0,39	0,67

*Nota: comparação das médias (ANOVA)

Tabela 44. Médias, desvio padrão (DP) e análise de variância de elasticidade arterial dos grandes vasos (LAEI) dos participantes que concluíram a pesquisa após suplementação com chocolate e erva mate (n=79). São Paulo, 2013.

Origem da variação	Análises estatísticas				
	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado das médias	F	p*
Entre os sujeitos					
Efeito da sequência	37,42	3	12,47	0,39	0,76
Intraindividual					
Efeito do tratamento	0,07	1	0,07	0,00	0,94
Efeito do período	5,62	3	1,87	0,13	0,93

*Nota: comparação das médias (ANOVA)

Tabela 45. Médias, desvio padrão (DP) e análise de variância de elasticidade arterial dos pequenos vasos (SAEI) dos participantes que completaram a pesquisa após suplementação com chocolate e erva mate (n=79). São Paulo, 2013.

Origem da variação	Análises estatísticas				
	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado das médias	F	p*
Entre os sujeitos					
Efeito da sequência	51,40	3	17,13	0,98	0,40
Intraindividual					
Efeito do tratamento	0,47	1	0,47	0,11	0,74
Efeito do período	21,22	3	7,07	1,66	0,18

*Nota: comparação das médias (ANOVA)

10. ANEXOS

ANEXO 1 – Questionário Internacional de Atividade Física –versão curta

Entrevistador: _____ ID paciente no estudo: _____

Atividades físicas VIGOROSAS são aquelas que precisam de um grande esforço físico e que fazem respirar MUITO MAIS FORTE que o normal.

Atividades físicas MODERADAS são aquelas que precisam de algum esforço físico e que fazem respirar UM POUCO mais forte do que o normal.

1- Em quantos dias da última semana você CAMINHOU por pelo menos 10 minutos contínuos em casa ou no trabalho, como forma de transporte para ir de um lugar para outro, por lazer, por prazer, ou como forma de exercício?

() Nenhum () Dias por semana

a. Nos dias em que você caminhou por pelo menos 10 minutos contínuos, quanto tempo no total você gastou caminhando por dia?

() Horas () Minutos

2- Em quantos dias da última semana você realizou atividades MODERADAS por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo, pedalar leve na bicicleta, nadar, dançar, fazer ginástica aeróbica leve, jogar vôlei recreativo, carregar pesos leves, fazer serviços domésticos em casa, no quintal ou no jardim como varrer, aspirar, cuidar do jardim, ou qualquer atividade que fez você suar leve ou aumentar moderadamente sua respiração ou batimentos do coração (SEM caminhada).

() Nenhum () Dias por semana

a. Nos dias em que você fez essas atividades moderadas por pelo menos 10 minutos contínuos, quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades por dia?

() Horas () Minutos

3- Em quantos dias da última semana você realizou atividades VIGOROSAS por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo, correr, fazer ginástica aeróbica, jogar futebol, pedalar rápido na bicicleta, jogar basquete, fazer serviços domésticos pesados em casa, no quintal ou no jardim, carregar pesos elevados ou qualquer atividade que fez você suar MUITO ou aumentar MUITO sua respiração ou batimentos do coração.

() Nenhum () Dias por semana

a. Nos dias em que você fez essas atividades vigorosas por pelo menos 10 minutos contínuos, quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades por dia?

() Horas () Minutos

Estas últimas questões são sobre o tempo que você permanece sentado todo dia, no trabalho, na escola ou faculdade, em casa e durante seu tempo livre. Isto inclui o tempo sentado estudando, sentado enquanto descansa, fazendo lição de casa, visitando um amigo, lendo, sentado ou deitado assistindo TV. Não inclua o tempo gasto sentando durante o transporte em ônibus, trem, metrô ou carro.

4- Quanto tempo no total você gasta sentado durante um dia de semana?

() Horas () Minutos

5- Quanto tempo no total você gasta sentado durante um dia de final de semana?

() Horas () Minutos

ANEXO 2 – Exemplo de formulário de resultados de elasticidade arterial

HDI/PulseWave™ CR-2000

Research CardioVascular Profile Report

Research Subject ID:
Protocol 1743
Research Subject Name:
DOE, JOHN M

Date: 23 SEPT 1999
Time: 14:35
Age: 34 years
Gender: Male
Height: 71 in
Weight: 189 lbs.
BSArea: 2.08 sq. meters
Body Mass Index: 26.4

PARAMETER	RESEARCH SUBJECT VALUE
SYSTOLIC BLOOD PRESSURE (mmHg)	136
DIASTOLIC BLOOD PRESSURE (mmHg)	79
MEAN ARTERIAL BLOOD PRESSURE (mmHg)	102
PULSE PRESSURE (mmHg)	57
PULSE RATE (beats/min)	72
ESTIMATED CARDIAC EJECTION TIME (msec)	293
ESTIMATED STROKE VOLUME (ml/beat)	87
ESTIMATED STROKE VOLUME INDEX (ml/beat/m ²)	42
ESTIMATED CARDIAC OUTPUT (L/min)	6.3
ESTIMATED CARDIAC INDEX (L/min/m ²)	3.1
LARGE ARTERY ELASTICITY INDEX (ml/mmHg x 10) (Capacitive Arterial Compliance)	14.9
SMALL ARTERY ELASTICITY INDEX (ml/mmHg x 100) (Oscillatory or Reflective Arterial Compliance)	11.1
SYSTEMIC VASCULAR RESISTANCE (dyne•sec•cm ⁻⁵)	1226
TOTAL VASCULAR IMPEDANCE (dyne•sec•cm ⁻⁵)	111

©Copyright 1999, HYPERTENSION DIAGNOSTICS inc.™ – All Rights Reserved.
Eagan, MN 55121 +1-651-667-9999 Toll-Free: 1-888-PulseWave (785-7392)

Form: 00017-001 (Rev. A / 08.Oct.99)

For Research Purposes Only

ANEXO 3 – Diretriz de Elasticidade Arterial.

Arterial Elasticity Guidelines

- Instructions:**
- (1) Circle the gender and age range of the individual tested.
 - (2) Write the C1 and C2 arterial elasticity index values printed on the CVProfile™ Report in the brackets at the top of the guideline table which matches individual's gender.
 - (3) In the same row as the individual's age range, circle the C1 and C2 table values which match those written in the brackets in order to interpret the vascular health of the arteries.

MALE	C1 – Large Artery [] Elasticity Index Range			C2 – Small Artery [] Elasticity Index Range		
	Abnormal	Borderline	Normal	Abnormal	Borderline	Normal
Age Range						
15 - 19	< 10	10 – 16	> 16	< 6	6 – 8	> 8
20 - 29	< 9	9 – 15	> 15	< 5	5 – 7	> 7
30 - 39	< 9	9 – 14	> 14	< 5	5 – 7	> 7
40 - 49	< 8	8 – 13	> 13	< 4	4 – 6	> 6
50 - 59	< 7	7 – 12	> 12	< 4	4 – 6	> 6
60 - 69	< 6	6 – 10	> 10	< 4	4 – 5	> 5
> 70	< 5	5 – 9	> 9	< 3	3 – 4	> 4

FEMALE	C1 – Large Artery [] Elasticity Index Range			C2 – Small Artery [] Elasticity Index Range		
	Abnormal	Borderline	Normal	Abnormal	Borderline	Normal
Age Range						
15 - 19	< 8	8 – 14	> 14	< 5	5 – 7	> 7
20 - 29	< 7	7 – 13	> 13	< 5	5 – 6	> 6
30 - 39	< 7	7 – 12	> 12	< 4	4 – 5	> 5
40 - 49	< 6	6 – 10	> 10	< 3	3 – 4	> 4
50 - 59	< 5	5 – 9	> 9	< 3	3 – 4	> 4
60 - 69	< 4	4 – 8	> 8	< 2	2 – 3	> 3
> 70	< 4	4 – 7	> 7	< 2	2 – 3	> 3

Comments: From birth until old age, there occurs a gradual loss of arterial elasticity— thus, there are no specific values for normal or abnormal, but rather a continuum of decreasing C1 and C2 values. The lower the C1 and C2 values, the less arterial elasticity is present, and, in general, the higher the cardiovascular risk (based on an individual's age and gender). Premature loss of arterial elasticity (also called "hardening of the arteries") predicts risk of developing cardiovascular disease. Reduced C1 and/or C2 values indicate that individuals have a potential for underlying vascular disease (for example, atherosclerosis) that might require more specific diagnostic evaluation by a physician or other health care provider. If the C1 and C2 values present different results, then the one with the greatest risk should be considered. In general, the C2 value is the more significant of the two and often shows a loss of arterial elasticity before, and to a somewhat greater degree, than the C1 value. The CVProfile™ Report should be interpreted by a licensed physician or other health care provider in light of physical examination, lab tests and/or other clinical findings.

Note: These guideline tables were compiled from a multi-site clinical study of a European population as well as from clinical research presented in more than 200 published abstracts and articles using the pulse contour or blood pressure waveform analysis technology. Such articles include the following:

E. Grey *et al.* "Reduced Small Artery But Not Large Artery Elasticity Is an Independent Risk Marker for Cardiovascular Events" *American Journal of Hypertension* 16:265-269, 2003.

B. Syeda *et al.* "Arterial Compliance: A Diagnostic Marker for Atherosclerotic Plaque Burden?" *American Journal of Hypertension* 16:356-362, 2003.

J.N. Cohn *et al.* "Screening for Early Detection of Cardiovascular Disease in Asymptomatic Individuals" *American Heart Journal* 146:679-685, 2003.

L.M. Prisant *et al.* "Arterial Elasticity Among Normotensive Subjects and Treated and Untreated Hypertensive Subjects" *Blood Pressure Monitoring* 6:233-237, 2001.

D.L. Cohen *et al.* "Gender Differences in Pulse Contour Analysis" *American Journal of Hypertension* 16:137-138, 2003.

© Copyright by Hypertension Diagnostics, Inc. 2009. All rights reserved.

Fonte: *Hypertension Diagnosis*, 2009.

ANEXO 4 - 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

ANEXO 5 - 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

11. CURRÍCULO LATTES

Curriculum do Sistema de Currículos Lattes (Andrea Mariana Nunes da Costa Teixeira) Página 1 de 8

Andrea Mariana Nunes da Costa Teixeira

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/5669681137744221>

Última atualização do currículo em 12/07/2013

Nutricionista do Departamento de Alimentação Escolar da Prefeitura de São Paulo. Professora do Centro de Educação Tecnológica Paula Souza e do Centro Universitário Anhanguera - Uniban. Mestranda em Nutrição em Saúde Pública pela Faculdade de Saúde Pública - USP. Especialista em Nutrição em Saúde Pública pela Universidade Federal de São Paulo (2010) e em Nutrição Clínica pelo Centro Universitário São Camilo (2008). **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome	Andrea Mariana Nunes da Costa Teixeira
Nome em citações bibliográficas	TEIXEIRA, A.M.N.C.

Endereço

Formação acadêmica/titulação

2011	<p>Mestrado em andamento em Nutrição em Saúde Pública. Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Efeito da ingestão de chocolate e chá mate na elasticidade arterial de indivíduos com HIV/aids: ensaio cross over, cego e randomizado, Orientador: 🧐 Patrícia Helen de Carvalho Rondó. Palavras-chave: elasticidade arterial; HIV; doenças cardiovasculares; illex paraguariensis. Grande área: Ciências da Saúde / Área: Nutrição. Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Medicina / Subárea: Clínica Médica / Especialidade: Cardiologia. Setores de atividade: Saúde humana e serviços sociais.</p>
2009 - 2010	<p>Especialização em Nutricao em Saude Publica. (Carga Horária: 1760h). Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP, Brasil. Título: Avaliação do risco cardiovascular de pacientes em triagem ambulatorial de nutrição. Orientador: Clarissa Viana Demézio da Silva. Bolsista do(a): Fundação do Desenvolvimento Administrativo.</p>
2008 - 2009	<p>Especialização em Nutrição Clínica. (Carga Horária: 488h). Centro Universitário São Camilo. Título: Tratamento fitoterápico com faseolamina: uma revisão crítica. Orientador: Mariana Doce Passadore. Bolsista do(a): Centro Universitário São Camilo, CEUSC, Brasil.</p>
2003 - 2007	<p>Graduação em Nutrição. Centro Universitário São Camilo. Título: Prematuridade e os aspectos relacionados a sua alimentação. Orientador: Solange Miranda Junqueira Guertzstein.</p>

Patricia Helen de Carvalho Rondó

Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq - Nível IB

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 crônicas 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;RONDÓ PH;SCHILLING PR;RONDÓ PHC;RONDÓ PHD;RONDÓ, 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 - São 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.
1989 - 1993	Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Medicina / Subárea: Saúde Materno-Infantil. Doutorado em Public Health. University of London, UL, Inglaterra.