Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública

**Efeito dos compostos fenólicos do cacau e chá mate no
perfil inflamatório de indivíduos com HIV/aids em terapia
antirretroviral.**

Aline de Almeida Petrilli

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

Área de concentração: Nutrição em Saúde Pública

Orientadora:

Profa. Titular Patrícia Helen de Carvalho Rondó

São Paulo

2015

**Efeito dos compostos fenólicos do cacau e chá mate no
perfil inflamatório de indivíduos com HIV/aids em terapia
antirretroviral.**

Aline de Almeida Petrilli

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

Área de concentração: Nutrição em Saúde Pública

Orientadora:

Profa. Titular Patrícia Helen de Carvalho Rondó

São Paulo

2015

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

Aos pacientes.

Pela disponibilidade, contribuição, convívio e aprendizado.

À Deus, por iluminar meu caminho.

*Aos meus pais, Renato e Lélia, por me darem força, apoio e incentivo
sempre, sem eles nada seria possível.*

*A toda minha família pelo carinho, inspiração acadêmica e profissional.
Especialmente à minha Vó Lélia por me fazer desenvolver o prazer da leitura
e dos estudos.*

Agradecimentos

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

À Dra. Liania Alves Luzia, pela ajuda indispensável para realização deste trabalho. Pela força, apoio, amizade e disposição, sempre sorrindo!

À prof^a. Dra. Nágila Raquel Teixeira Damasceno pela colaboração e apoio técnico ao disponibilizar o espaço e equipamentos do Laboratório de Nutrição Humana.

À prof^a. Dra. Sigrid de Souza dos Santos pela disponibilidade em esclarecer dúvidas e colaboração fundamental para o desenvolvimento da dissertação.

À prof^a Dra. Sandra Roberta Gouvea Ferreira Vivolo pela disponibilidade, colaboração essencial para o enriquecimento do trabalho e incentivo.

Ao prof. Titular José Maria Pacehco de Souza pela contribuição e apoio durante no desenvolvimento da metodologia estatística.

À Larissa Galastri Baraldi pela contribuição e paciência durante as análises estatísticas.

À profa. Dra. Priscilla Efraim da UNICAMP, Arali, Everaldo e Cláudio da IAF Inox®, pela contribuição e colaboração na formulação e confecção dos chocolates utilizados neste estudo.

À prof^a Dra. Deborah Helena Markowicz Bastos, à nutricionista Mariana Correa de Almeida e à farmacêutica Cristiane Dertinatti pela colaboração na formulação dos chá utilizados neste estudo.

Ao prof Titular Aluísio Augusto Citrim Segurado por ter possibilitado o desenvolvimento deste trabalho na Casa da aids e ao Instituto de Infectologia Emilio Ribas

A todos os funcionários da Casa da aids e do Emilio Ribas, em especial à Karen, Camila, Ana Paula, Hatsue, Richard, dona Nilma, Marcos e Luciana.

À Suelen Souza, parceira de Mestrado, pela amizade e disponibilidade em ajudar sempre!

À Andrea Mariana Teixeira, Patricia Pontilho, Natália Dias, Jennifer Tanaka e Andrea Junqueira, amigas e companheiras nesta jornada do Mestrado.

Ao Augusto Carioca que sempre esteve disposto à ajudar.

À Rosana e à Geni, pela colaboração no processo de randomização deste ensaio clínico, por todo apoio técnico e pela alegria à qual sempre me receberam.

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

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

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

À Fundação de Amparo à Pesquisa DO Estado de São Paulo (FAPESP), pelo auxílio financeiro ao projeto (nº processo: 2009/52250-5) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de Mestrado.

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

Muito obrigada!

RESUMO

Petrilli, AA. **Efeito dos compostos fenólicos do cacau e chá mate no perfil inflamatório de indivíduos com HIV/aids.** [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; 2015.

Introdução: Estudos apontam maior ocorrência de complicações cardiovasculares na população com HIV/aids. Sabe-se que as alterações iniciais que posteriormente evoluem para doenças cardíacas estão relacionadas às mudanças no perfil inflamatório e oxidativo. Diversas pesquisas, utilizando diferentes populações, demonstraram que os flavonoides presentes no cacau (*Theobroma cacao*) e na erva mate (*Ilex paraguensis*) podem melhorar a função anti-inflamatória e antioxidante do organismo. **Objetivo:** Avaliar o efeito da ingestão de chocolate e chá mate no perfil inflamatório e oxidativo de pessoas vivendo com HIV/aids (PVHIV/aids) em terapia antirretroviral (TARV). **Metodologia:** Ensaio clínico do tipo *crossover*, aleatorizado, cego e controlado por placebo envolvendo 92 voluntários, de 28-59 anos de idade, em tratamento regular com TARV por, no mínimo, 6 meses e com carga viral <50 cópias/mL. Os voluntários consumiram 65g de chocolate em barra (chocolate preto contendo 36g de cacau e placebo) e 3g de chá (erva mate solúvel e placebo) por 15 dias cada, seguido por 15 dias de *washout* entre cada período de suplementação. Além das variáveis inflamatórias e oxidativas (PCR-us, fibrinogênio, TBARS, HDL-c), foram avaliadas as seguintes características: perfil demográfico e socioeconômico, variáveis antropométricas, imunológicas e prática de atividade física. As análises estatísticas foram realizadas por análise de variância (ANOVA) utilizando o procedimento *pkcross* no software Stata versão 11.0. O teste t de *Student* pareado foi feito para comparação das médias dos parâmetros no *baseline* e pós suplementação. Considerou-se significativo $p \leq 0,05$. **Resultados:** Os participantes eram na maioria do sexo masculino (63,0%), com média de idade de 45,0 ($\pm 7,3$) anos. Observou-se média de 13,3 ($5 \pm$) anos de diagnóstico de HIV, com 10,7 ($\pm 5,1$) anos de uso de TARV. Quando feita análise por ANOVA houve melhora significativa apenas para o HDL-c ($p = 0,05$). Entretanto, na comparação entre as variáveis no *baseline* x chocolate preto, pelo teste t de *Student* pareado, observou-se aumento de HDL-c ($p = 0,01$) e diminuição de leucócitos ($p = 0,01$) e neutrófilos ($p = 0,02$), e quando comparados os valores das variáveis entre chocolate preto x placebo também houve diferença estatisticamente significativa para HDL-c ($p = 0,05$), leucócitos ($p = 0,01$) e neutrófilos ($p = 0,03$). **Conclusão:** Este é o primeiro estudo clínico que avaliou o efeito da ingestão de chocolate (cacau) e chá mate (erva mate) no perfil inflamatório

e oxidativo de PVHIV em TARV. No presente estudo, o consumo de ambos os suplementos por 15 dias cada, não foi suficiente para melhorar os marcadores do perfil inflamatório e oxidativo destes indivíduos, apesar da alteração significativa de alguns parâmetros relacionados à inflamação e oxidação, como aumento de HDL-c e diminuição de leucócitos e neutrófilos após o consumo do chocolate preto. Tal resultado pode ser devido ao metabolismo diferenciado de PVHIV/aids, o qual sofre alterações não apenas pela própria infecção, mas também pela TARV, a quantidade e biodisponibilidade dos flavonoides nos suplementos e ao tempo de intervenção.

Descritores: Perfil inflamatório, Oxidação, HIV/aids, Terapia Antirretroviral, Chocolate, Erva Mate

ABSTRACT

Petrilli, AA. **Effect of chocolate and yerba mate phenolic compounds on inflammatory and oxidative biomarkers in HIV/AIDS individuals: a randomized, double-blind, placebo controlled trial.** [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; 2015.

Introduction: There has been an increase on cardiovascular diseases occurrence in the HIV/AIDS population. It is known that initial alterations that later evolve to cardiovascular diseases are related with changes in inflammatory and oxidative disorders. Several studies in other populations demonstrated that flavonoids in cocoa (*Theobroma cacao*) and yerba mate (*Ilex paraguensis*) may improve cardiovascular function due to its antioxidant and anti-inflammatory properties. **Objective:** To evaluate the effect of chocolate and yerba mate intake on the inflammatory and oxidative profile of people living with HIV/AIDS in antiretroviral therapy (ART). **Methodology:** Randomized, placebo-controlled, blinded cross-over trial involving 92 volunteers ages 28-59 years, in ART for at least six months and with viral load <50 copies/mL. The volunteers consumed 65g chocolate bar (36g dark chocolate containing cocoa or placebo) and 3g of tea (yerba mate soluble and placebo) for 15 days each, followed by 15 days washout period before the subsequent treatment. In addition to the inflammatory and oxidative variables (us-CRP, fibrinogen, TBARS, HDL-c) the following characteristics were evaluated: demographic and socioeconomic profile, anthropometric variables, immunological and physical activity. Statistical analyses were performed by the cross-over analyses of variance (ANOVA) using the procedure `pkcross` in Stata version 11.0. The paired Student's t-test was also utilized. A p value $\leq 0,05$ was considered significant. **Results:** Patients were mostly male (63%), with a mean age of 45,0 years. The mean time of HIV/AIDS diagnosis was 13,3 (5 $\pm$), with 10,7 ($\pm$ 5,1) years of ART. There was statistically significant difference when analyzed by ANOVA only for HDL-c (p = 0,05). However, comparing the variables in the baseline x dark chocolate by the paired Student's t-test, there was increase in the HDL-c (p = 0,01) and decrease in the leukocyte (p = 0,01) and neutrophil (p = 0,02), and when compared the values of the variables between dark chocolate and placebo also there was statistically significant difference for HDL-c (p = 0,05), leukocyte (p = 0,01) and neutrophil (p = 0,03). **Conclusion:** This is the first clinical study that evaluated the effect of chocolate (cocoa) and mate tea (yerba mate) consumption on inflammatory and

oxidative profile of individuals with HIV/AIDS on ART. In the present study, daily consumption of neither cocoa nor yerba mate for 15 days was sufficient to improve inflammatory and oxidative profile in this group of individuals, despite the increase in HDL-c and decrease of leukocyte and neutrophil values after consumption of dark chocolate. Such an outcome in this group of individuals can be distinguished due to its metabolism, which is altered not only by the infection, but also by the ART, the amount and bioavailability of flavonoids in supplements and timing of intervention.

Keywords: Inflammatory profile, Oxidation, HIV/AIDS, Antiretroviral Therapy, chocolate, Yerba Mate.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	22
1.1 INFECÇÃO PELO VÍRUS HIV E AIDS	22
1.2 EPIDEMIOLOGIA E TERAPIA ANTIRRETROVIRAL – TARV	24
1.3 PERFIL INFLAMATÓRIO, OXIDATIVO E INFECÇÃO PELO HIV	27
1.4 TARV E INFLAMAÇÃO	31
1.5 MARCADORES E PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS E OXIDATIVOS	33
1.6 CACAU	36
1.7 CHÁ MATE	40
2. JUSTIFICATIVA	43
3. HIPÓTESE	44
4. OBJETIVOS	44
5. METODOLOGIA	44
5.1 LOCAL E AMOSTRA DA POPULAÇÃO DE ESTUDO	45
5.2 DESENHO DO ESTUDO	46
5.3 INTERVENÇÃO	47
5.4 SUPLEMENTOS	49
5.4.1 Chocolate	49
5.4.2 Chá Mate	50
5.5 COLETA DE DADOS	51
5.5.1 Pré-teste	51
5.5.2 Avaliação do Perfil Demográfico e Socioeconômico	52
5.5.3 Avaliação do Estado Nutricional	52
5.5.4 Avaliação da Prática de Atividade Física	54
5.5.5 Coleta Sanguínea e Avaliação Laboratorial	55
5.6 Análises Estatísticas	58
5.7 Considerações Éticas	59
6. RESULTADOS	60
6.1 CARACTERIZAÇÃO DOS INDIVÍDUOS DO ENSAIO CLÍNICO	65
6.1.1 Fatores Demográficos e Socioeconômicos	65
6.1.2 Uso de Drogas Lícitas e Ilícitas	67
6.1.3 Histórico Familiar de Doenças	68
6.1.4 História Clínica	69
6.1.5 Avaliação Nutricional	72
6.1.6 Avaliação da Atividade Física	75
6.1.7 Caracterização do Perfil Imunológico e Viroológico	76
6.1.8 Exames Bioquímicos	76
6.2 CARACTERIZAÇÃO DOS INDIVÍDUOS DO ENSAIO CLÍNICO DE ACORDO COM A ADESAO AOS SUPLEMENTOS	77
6.3 CARACTERIZAÇÃO DOS INDIVÍDUOS DO ENSAIO CLÍNICO DE ACORDO COM AS VARIÁVEIS DE DESFECHO (PERFIL INFLAMATÓRIO E OXIDATIVO)	79
7. DISCUSSÃO	84
7.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA AMOSTRA	84
7.2 PERFIL OXIDATIVO E INFLAMATÓRIOS DOS INDIVÍDUOS	87
7.2.1 PCR-us	88
7.2.2 Fibrinogênio	88
7.2.3 Células da Série Branca	89

7.2.4 Perfil Lipídico	91
7.2.5 TBARS	91
7.3 EFEITO DA INGESTÃO DE CHOCOLATE E CHÁ MATE NO PERFIL OXIDATIVO E INFLAMATÓRIO DOS INDIVÍDUOS	92
7.3.1 Chocolate	93
7.3.2 Chá Mate	95
7.3.3 Biodisponibilidade dos Polifenóis do Cacau e Erva Mate	97
8. LIMITAÇÕES DO ESTUDO	101
9. CONCLUSÃO	102
10. REFERÊNCIAS	103
APÊNDICES	120
APÊNDICE 1. Questionário de recusa	120
APÊNDICE 2. <i>Check list</i> dos critérios de exclusão	121
APÊNDICE 3. Controle de intervenção	122
ANEXOS	123
ANEXO 1. Carta de aprovação da pesquisa no Comitê de ética da FSP/USP	123
ANEXO 2. Carta de aprovação da pesquisa no Comitê de ética da FM/USP	124
ANEXO 3. Carta de aprovação da pesquisa no Comitê de ética do IIER	125
ANEXO 4. Termo de Consentimento livre esclarecido	126
CURRÍCULO LATTES	130

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

aids - síndrome da imunodeficiência adquirida

ARV – antirretroviral

ATP – adenosina trifosfato

AVC - acidente vascular cerebral

AZT - zidovudina

CV - carga viral

CT – colesterol total

DCVs – doenças cardiovasculares

DNA – ácido desoxirribonucleico

DST - doença sexualmente transmissível

EDTA – ácido etileno diamino-tetra-acético

EO – estresse oxidativo

ERO - espécie reativa do oxigênio

FGF-2 - fator de crescimento vascular endotelial

FRAM - Study of Fat Redistribution and Metabolic Changes in HIV Infection

GALT - tecido linfóide associado ao trato gastrointestinal

gps – glicoproteínas

GPx – glutathione peroxidase

GSR - glutathione reductase

H₂O₂ – peróxido de hidrogênio

HAART – Terapia antirretroviral de alta potência

HDL-c – colesterol associado à lipoproteína de alta densidade

HIV - vírus da imunodeficiência humana

HPLC – *High Performance Liquid Chromatography*

IAM – infarto agudo do miocárdio

IER - Instituto de Infectologia Emílio Ribas

IFN- α - interferon alfa

IL – interleucina

IMC – índice de massa corporal

IP - inibidores de protease

ITRN - inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeo

ITRNN - inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeo

LDL-c – colesterol associado à lipoproteína de baixa densidade

LPO – lipoperoxidação

LPS - lipopolissacarídeos

MDA - malonaldeído

NF-kB – fator de transcrição nuclear kappa-B

NO – óxido nítrico

OMS – Organização Mundial da Saúde

PCR-us – proteína C reativa ultra sensível

PVHIV – pessoas vivendo com HIV

QRA – questionário de frequência alimentar

RCQ – relação cintura quadril

RNA – ácido ribonucleico

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

SMART - Strategies for Management of Anti-Retroviral Therapy

SPSS - *Statistical Package for Social Sciences*

SuPAR - *soluble urokinase Plasminogen Activator Receptor*

TARV - terapia antiretroviral

TAT – proteína transregulatória

TBARS – ácido tiobarbitúrico

TG - triglicérides

TNF- α - fator de necrose tumoral alfa

TSH – hormônio estimulante da tireoide

VLDL –c – lipoproteína de muito baixa densidade

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição nutricional do chocolate preto e placebo.	50
Tabela 2. Distribuição de PVHIV/aids em TARV segundo motivos de exclusão (n = 92). São Paulo, 2015.	62
Tabela 3. Comparação [média e desvio padrão (DP)] entre as características de PVHIV/aids em TARV que finalizaram (n=92) e não finalizaram a pesquisa (n = 62), respectivamente. São Paulo, 2015.	64
Tabela 4. Características demográficas e socioeconômicas de PVHIV/aids em TARV incluídos na pesquisa (n = 92). São Paulo, 2015.	66
Tabela 5. Distribuição de PVHIV/aids em TARV, segundo uso de drogas lícitas e ilícitas (n = 92), São Paulo, 2015.	67
Tabela 6. Distribuição, média e desvio padrão (DP) de PVHIV/aids em TARV, segundo histórico familiar de doenças (n = 92). São Paulo, 2015.	68
Tabela 7. Características clínicas de PVHIV/aids em TARV incluídos na pesquisa (n = 92). São Paulo, 2015.	70
Tabela 8. Medicamentos antirretrovirais utilizadas pelos PVHIV/aids incluídos na pesquisa (n = 92). São Paulo, 2015.	71
Tabela 9. Variáveis antropométricas no <i>baseline</i> de PVHIV/aids em TARV, (n = 92). São Paulo, 2015.	74
Tabela 10. Média e desvio padrão (DP) das variáveis antropométricas no <i>baseline</i> e nas diferentes suplementações em PVHIV/aids em TARV (n = 92). São Paulo, 2015.	75
Tabela 11. Distribuição de PVHIV/aids em TARV segundo classificação da prática de atividade física (n = 92). São Paulo 2015.	75
Tabela 12. Distribuição, média e desvio padrão (DP) de PVHIV/aids em TARV, segundo as variáveis do perfil imunológico no <i>baseline</i> (n = 92). São Paulo, 2015.	76
Tabela 13. Distribuição, média e desvio padrão (DP) de PVHIV/aids em TARV segundo as variáveis bioquímicas no <i>baseline</i> (n = 92). São Paulo, 2015.	77
Tabela 14. Distribuição, média e desvio padrão (DP) da adesão aos suplementos de PVHIV/aids em TARV (n = 92). São Paulo, 2015.	78
Tabela 15. Distribuição, médias e desvios-padrão (DP) de PVHIV/aids em TARV, segundo as variáveis do perfil inflamatório e oxidativo no <i>baseline</i> (n = 92). São Paulo, 2015.	79
Tabela 16. Variáveis do perfil inflamatório e oxidativo (media $\pm$ DP) no <i>baseline</i> e nas diferentes suplementações em PVHIV/aids em TARV (n = 92). São Paulo, 2015.	82

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Compostos bioativos da erva mate e seus respectivos benefícios (HECK e MEJIA, 2007 e PONTILHO <i>et al</i> , 2015).	43
Quadro 2. Valores de referência para índice de massa corporal (IMC).	53
Quadro 3. Valores de referência de circunferência da cintura (CC) para classificação de obesidade abdominal.	54
Quadro 4. Classificação da prática de atividade física.	55

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1.** Distribuição de PVHIV/aids em TARV, segundo motivos de recusa em participar da pesquisa (n=267). São Paulo, 2015. 61
- Gráfico 2.** Distribuição de PVHI/aids, segundo esquema de tratamento antirretroviral atual (n = 92). São Paulo, 2015. 72
- Gráfico 3.** Distribuição de PVHIV/aids em TARV, segundo classificação do IMC (Kg/m²) (n = 92). São Paulo, 2015. 73
- Gráfico 4.** Distribuição de PVHIV/aids em TARV, segundo classificação da circunferência da cintura (CC) em cm (n = 92). São Paulo, 2015. 73
- Gráfico 5.** Intervalo de confiança das médias dos valores que obtiveram diferença estatisticamente significativa. 83

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma de intervenção	48
Figura 2. Fluxograma de recrutamento.	63

1. INTRODUÇÃO

1.1 INFECÇÃO PELO VÍRUS HIV E AIDS

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

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

O HIV pode infectar diversas células, as quais se tornam veículo de transmissão do vírus. Estas células infectadas podem transferir o HIV para células do sistema imune, principalmente células dendríticas foliculares, macrófagos e linfócitos TCD4, bem como células do revestimento vaginal ou mucosa anorretal (FANALES-BELASIO *et al.*, 2010)

A transmissão viral ocorre pela exposição do indivíduo ao sangue ou secreções contaminadas através de relação sexual, infecção materno-infantil (transmissão vertical), transfusão de sangue, uso de drogas injetáveis, transplantes e outros procedimentos hospitalares ou por acidente. Todas as pessoas vivendo com HIV (PVHIV) podem transmitir a infecção, mas indivíduos sintomáticos com elevada carga viral (CV) apresentam maior transmissibilidade (RIBEIRO *et al*, 2009).

A primeira fase da doença é chamada de infecção aguda, que ocorre após o período de incubação do vírus, de 3 a 6 semanas. Nessa fase ocorre alta viremia, queda acentuada da contagem de linfócitos TCD4 no sangue periférico, formação de um reservatório latente de linfócitos TCD4 infectados e o desenvolvimento de uma resposta imune específica contra o HIV. Esta fase é caracterizada pelo surgimento dos primeiros sinais da doença que são muito semelhantes aos de uma mononucleose, com febre, poliadenomegalia, faringite e mialgia. Com as metodologias sorológicas de quarta geração, pode-se diagnosticar a infecção por HIV após 15 dias do contato com o vírus (DOUEK *et al.*, 2003; MS, 2013a).

Em decorrência da resposta imune contra o vírus, no final da infecção aguda há uma redução importante na CV, que atinge nível estável e ocorre recuperação discreta dos linfócitos TCD4. Segue-se então, a fase de latência clínica, em que o indivíduo permanece assintomático ou com manifestações subclínicas, com duração de aproximadamente dez anos. Entretanto, o crônico estado de ativação imune leva a lenta e progressiva destruição das células imunes, particularmente os linfócitos (DOUEK *et al.*, 2003; MS, 2013a).

Com a deterioração imune, o organismo passa a ser mais susceptível a infecções e neoplasias oportunistas, seguindo-se o estágio mais avançado da doença, a síndrome da imunodeficiência adquirida (aids). Nesse momento a contagem de linfócitos TCD4 atinge nível crítico, abaixo de 200 células/mm³ (MS, 2013e).

A aids é a expressão clínica da imunodeficiência causada pela infecção pelo HIV. Trata-se do estágio mais avançado da doença que acomete o sistema imunológico, deixando o organismo mais vulnerável a diversas infecções e neoplasias (MS, 2013a).

A infecção pelo HIV é caracterizada por diversos graus de imunossupressão ao longo do curso da doença. Com a depleção de linfócitos TCD4 há progressivo aumento da suscetibilidade a agentes infecciosos, parasitários e neoplasias. Dentre as complicações da aids temos pneumonias bacterianas de repetição, pneumocistose, toxoplasmose, criptococose, citomegalovirose, linfomas, etc. Além de doenças causadas pela imunossupressão, podem ocorrer alterações decorrentes de danos diretos a certos órgãos, como o surgimento de demência, cardiomiopatia, pneumonite intersticial não específica, nefropatia e trombocitopenia. (MS, 2013e; CUELLAR E ESPINOZA, 2000).

1.2 EPIDEMIOLOGIA E TERAPIA ANTIRRETROVIRAL – TARV

Segundo dados do relatório do Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/aids existe no mundo aproximadamente 34,2 milhões de PVHIV, sendo que 2,5 milhões de pessoas foram infectadas em 2011, com 80% dos novos casos tendo ocorrido em indivíduos adultos (15 a 49 anos). Em relação à distribuição dos casos, o continente Africano é a região mais atingida pela epidemia, onde estão presentes 68,9% das PVHIV/aids (UNAIDS, 2012).

No Brasil, de 1980 a junho de 2012 foram notificados 656.701 casos de aids. Segundo critérios da Organização Mundial de Saúde, o Brasil tem uma epidemia estável. A taxa de incidência oscila em torno de 20 casos de aids por 100 mil habitantes. A faixa etária em que a aids é mais incidente, em ambos os sexos, é de 20 a 59 anos. Atualmente, ainda há mais casos da doença entre o sexo masculino do que entre o sexo feminino, mas essa diferença diminuiu

ao longo dos anos, chegando em 2009 a 1,6 casos em homens para 1 caso em mulheres (MS, 2013b).

A taxa de incidência na região Sudeste é de 20,4 casos por 100 mil habitantes; na região Sul de 32,4 casos; na região Centro-Oeste de 18,0; na região Nordeste de 13,9; e na região Norte de 20,1. No entanto, o maior número de casos acumulados está concentrado na região Sudeste (58%) (MS, 2013b).

O estado de São Paulo compreende 35,7% do total de notificações do país desde 1980, sendo que em 2012 este Estado notificou 22% dos casos no Brasil. O município de São Paulo é o que apresenta maior número absoluto de casos de aids, devido a sua densidade populacional e suas demais características de grande centro urbano, associado ao diagnóstico precoce dos indivíduos portadores do HIV e melhor acesso ao sistema de saúde (MS, 2013c).

Desde o início da epidemia da aids, nos anos 1980 até hoje, muito tem sido feito para proporcionar melhor qualidade de vida aos portadores do HIV. Em 1985, o Ministério da Saúde criou o Programa Nacional de DST/aids e em 1987 passou a disponibilizar a Zidovudina (AZT), em monoterapia. Entre 1994 e 1996 consolidou-se a terapia dupla como padrão terapêutico (MS, 2006).

A disponibilidade de terapia antirretroviral de alta potência ou *Highly Active Antiretroviral Therapy* (HAART), no Brasil, coincidiu com a criação de lei no Sistema Único de Saúde (SUS) que garante a todas as PVHIV/aids, acesso universal e gratuito aos serviços de saúde e aos medicamentos antiretrovirais. A HAART consiste na associação de pelo menos três drogas antirretrovirais (ARVs), assim, a partir de 1996, a terapia tríplice (HAART), passou a ser terapia padrão para o tratamento do HIV no país (MS, 2006; MELCHIOR *et al.*, 2007).

O objetivo principal da terapia antirretroviral é retardar a progressão da imunodeficiência e restaurar, dentro do possível, a imunidade através da inibição da

replicação viral aumentando o tempo de evolução da doença e proporcionando melhor qualidade de vida ao portador do vírus (MS, 2006).

No Brasil, por muito tempo, adolescentes e adultos com infecção pelo HIV recebiam proscrição de TARV apenas quando a contagem de linfócitos TCD4 caía abaixo de ≤ 350 células/mm³ e/ou em caso de sintomas clínicos.

Atualmente procura-se estimular início imediato da TARV, independentemente da sintomatologia ou do estado imune, com perspectiva de redução da transmissibilidade do HIV, de diminuição do risco cardiovascular, das manifestações renais, neurológicas, da progressão das hepatites crônicas virais e doenças associadas ou não à disfunção imunológica. Sendo assim, todos os adultos com sorologia positiva para HIV, mesmo que não apresentem comprometimento do sistema imunológico, têm direito a receber medicamentos antirretrovirais pelo Sistema Único de Saúde (SUS) (MS, 2013e).

No Programa Nacional de DST e aids, as principais combinações de drogas recomendadas, consiste em: dois inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (ITRN) associados a um inibidor de transcriptase reversa não-análogo de nucleosídeos (ITRNN) ou a um inibidor de protease (IP) (MS, 2013d).

Existem seis classes de medicamentos antirretrovirais utilizadas na HAART.

1. ITRN – atua como falso substrato da enzima transcriptase reversa, incorporando-se à cadeia de DNA viral nascente. Tornam essa cadeia defeituosa, inibindo a replicação viral: zidovudina, abacavir, didanosina, estavudina, lamivudina e tenofovir (MS, 2013d).
2. ITRNN – bloqueia de forma não competitiva a enzima transcriptase reversa, fora do sítio catalítico: efavirenz, nevirapina e etravirina (MS, 2013d).
3. IP – atua na enzima protease, bloqueando a clivagem das poliproteínas evitando a ativação e maturação viral. São eles amprenavir, atazanavir, darunavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir, ritonavir e saquinavir (MS, 2013d).

4. Inibidores de fusão – inibem a entrada do vírus na célula impedindo que se reproduza. O representante dessa classe é o enfuvirtida (MS, 2013d).
5. Inibidores da Integrase – bloqueia a atividade da enzima integrase, responsável pela inserção do DNA do HIV no DNA humano. Assim, inibe a replicação do vírus e sua capacidade de infectar novas células. O representante desta classe é o raltegravir (MS, 2013d).
6. Inibidores de entrada - atuam fora da célula, bloqueando o receptor de quimiocina CCR5 da membrana celular, impedindo a entrada do HIV. O representante desta classe é o maraviroque (MS, 2013d).

O Brasil segue a tendência observada nos países industrializados do hemisfério Norte, de mudanças qualitativas na abordagem clínica do indivíduo com HIV. Entretanto, essa abordagem clínica e suas implicações são bastante complexas. Com o advento da HAART, as manifestações clínicas decorrentes da infecção pelo HIV tornaram-se menos frequentes e houve melhora substancial do prognóstico e da qualidade de vida dos indivíduos infectados. Os novos regimes terapêuticos vêm demonstrando a capacidade de decrescer, ou mesmo de tornar indetectável a CV e de reduzir a morbidade e mortalidade relacionada à aids (STEBBENS, 2004). Todavia, a necessidade de adesão prolongada ao tratamento, os efeitos adversos das medicações e a resistência do HIV aos ARVs são importantes barreiras ao sucesso prolongado da terapia.

1.3 PERFIL INFLAMATÓRIO, OXIDATIVO E INFECÇÃO PELO HIV

As doenças cardiovasculares estão entre as quatro comorbidades mais comuns em PVHIV e são associadas ao maior risco de mortalidade. Não só diferentes compostos da HAART, mas também diferentes componentes proteicos do HIV, levam ao aumento do

estresse oxidativo (EO) e à liberação de marcadores inflamatórios (REISLER *et al.*, 2003; GRINSPOON *et al.*, 2008; CURRIER *et al.*, 2009).

EO é o termo usado para descrever os danos causados pelas espécies reativas do oxigênio (EROs) nas moléculas ou mesmo no organismo como um todo. O nível de EO é determinado pelo balanço entre a atividade pró-oxidante e a atividade antioxidante (STEBBENS, 2004).

Um dos principais mecanismos de lesão celular relativos ao EO é a lipoperoxidação (LPO), que se relaciona com a oxidação da camada lipídica da membrana celular (URSO e CLARKSON, 2003). A diminuição do colesterol associado à lipoproteína de alta densidade (HDL-c) e o aumento das partículas de colesterol associado à lipoproteína de baixa densidade (LDL-c), são características de PVHIV/aids. O aumento das EROs induz à oxidação das partículas LDL-c, levando a formação de subfrações eletronegativas [LDL(-)], que possuem propriedades citotóxicas e pró-inflamatórias. Esses fatores levam a uma exacerbação do EO, que está relacionado ao aumento da resposta inflamatória e à progressão da doença (SANCHEZ-QUESADA *et al.*, 2004; DAMASCENO *et al.*, 2006; OLIVEIRA *et al.*, 2006; BAKER *et al.*, 2009; MELLO *et al.*, 2011).

O EO induzido pela produção das EROs durante a ativação dos leucócitos e macrófagos pelo HIV, tem atuação dominante no início e perpetuação da infecção, levando ao aparecimento de danos celulares de gravidade variada. A reversão deste quadro é dependente do balanço redox entre oxidantes e antioxidantes, porém alterações causadas nos linfócitos TCD4 de PVHIV fazem com que apresentem baixa capacidade antioxidante (AUKRUST *et al.*, 2003; STEBBENS, 2004; PRICE *et al.*, 2005).

PRICE *et al.* (2005) analisando culturas de células endoteliais de capilares do cérebro de ratos, concluíram que a glicoproteína gp120 e a proteína transativadora da transcrição (Tat), influenciam negativamente as concentrações das enzimas antioxidantes glutational

redutase (GSR), glutational peroxidase (GPx) e catalase. As concentrações do marcador de EO malonaldeído (MDA) se encontravam maiores nas células expostas, indicando que a presença do vírus leva a um estado pró-oxidativo.

A imunossupressão, associada à translocação bacteriana, presença de partículas virais e as alterações metabólicas, propiciam ativação imunológica constante. Essa característica pode ser observada pela ativação de células B policlonais, aumento do volume de células T, maior frequência das células T ativadas e pelo aumento das concentrações séricas de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas (BRENCHLEY *et al.*, 2006).

A ativação imunológica característica de PVHIV/aids está envolvida no início e perpetuação da resposta inflamatória. DAMAS *et al.* (2009) descreveram que as quimiocinas CCL19 e CCL21, que se ligam ao receptor CCR7 para desencadear a resposta imunológica, têm seus valores aumentados na infecção pelo HIV e estão relacionadas à liberação de marcadores inflamatórios e à progressão da doença.

A infecção pelo HIV desencadeia alterações inflamatórias durante todo o curso da doença. O processo de ativação e perpetuação da cascata inflamatória é amplo e multifatorial relacionando-se entre outros fatores com a presença do vírus, ativação imunológica crônica, diminuição dos mecanismos antioxidantes, tratamento, doenças associadas e translocação bacteriana (PRICE *et al.*, 2005; BRENCHLEY *et al.*, 2006; DAMAS *et al.*, 2009; KEATING *et al.*, 2011).

Durante a fase aguda da doença, ocorre resposta inflamatória significativa sinalizada pelo aumento de diversos marcadores plasmáticos de fase aguda como PCR-us, fibrinogênio, alfa-1 antitripsina, amiloide A, e a liberação de um grande número de citocinas inflamatórias como interferon alfa (IFN- α) e interleucinas (IL), o que coincide com o aumento expressivo da CV plasmática (STACEY *et al.*, 2009; NEUHAUS, 2010). Embora as células dendríticas da submucosa intestinal sejam as primeiras a produzirem grande quantidade de citocinas, com

a evolução da infecção, inúmeras outras células também passam a produzi-las (monócitos, macrófagos, células *Natural Killer* e células T), desencadeando uma resposta anti-HIV cuja eficácia costuma ser baixa em razão da ativação imune excessiva e da perda importante de linfócitos TCD4 (MS, 2013e).

A inflamação crônica ocasionada pelo HIV é multifatorial e está relacionada à progressão para aids, podendo contribuir para a disfunção de órgãos e predispondo a morte prematura. (LAU *et al.*, 2006; KULLER *et al.*, 2008; LANGKILDE *et al.*, 2012).

Um dos mecanismos de perpetuação da resposta inflamatória é a diminuição na biodisponibilidade de óxido nítrico (NO), que inibe o NF-kB, o qual se liga às regiões promotoras de genes codificando as proteínas pró-inflamatórias, tais como citocinas e moléculas de adesão. Com a diminuição nas concentrações de NO, essa inibição é perdida, levando ao aumento na codificação de proteínas pró-inflamatórias. A gp120 do envelope do HIV, assim como a Tat também interagem com o NF-kB propiciando o estado pró-inflamatório e a replicação viral (HISCOTT *et al.*, 2001).

A destruição do tecido linfoide associado ao trato gastrointestinal (GALT), que leva a um processo de translocação bacteriana, parece ser um fator agravante e mantenedor do quadro inflamatório. Indivíduos HIV+ apresentam altas concentrações de lipopolissacarídeos (LPS) no plasma, um dos maiores componentes das bactérias gram negativas. Segundo Brencheley (2006), os LPS apresentam uma relação positiva com o marcador inflamatório fator de necrose tumoral alfa (TNF- α). O tratamento com ARVs diminui as concentrações de LPS plasmáticos, porém estes se mantêm elevados quando comparados com as concentrações de indivíduos saudáveis (BRENCHELEY, 2006).

Outra alteração metabólica importante é a que ocorre no perfil lipídico, caracterizada pela diminuição da HDL-c e aumento da LDL-c sendo a primeira uma partícula com

propriedades anti-inflamatórias e a segunda possui alta capacidade de oxidação (PALELLA *et al.*, 2006; BUCHACZ *et al.*, 2008; BAKER *et al.* 2009; PICONI *et al.*, 2013).

Evidências sugerem relação entre os marcadores inflamatórios e o desenvolvimento de câncer em PVHIV/aids. BORGES *et al.* (2013), demonstraram que altas concentrações de PCR no plasma estão relacionadas com o desenvolvimento de linfoma de Hodgkin. No *Strategies for Management of Antiretroviral Therapy* (SMART) a interrupção da TARV foi associada ao aumento significativo nos marcadores inflamatórios e a incidência de tumores. Essa relação entre marcadores inflamatórios e câncer foi observada em estudos com grupos HIV-, e parece se confirmar em PVHIV (EL-SADR *et al.*, 2006; SIEMES *et al.*, 2006; SILVERBERG *et al.*, 2007; KULLER *et al.*, 2008; EMERY *et al.*, 2008; PINE *et al.*, 2011).

Levando em consideração a importância dos marcadores inflamatórios para o prognóstico do HIV e desenvolvimento de doenças associadas, o quadro inflamatório deve ser alvo de estudo e controle nesta população.

1.4 TARV E INFLAMAÇÃO

Apesar dos benefícios alcançados com o advento das TARVs, outros desafios surgiram, como o controle dos efeitos adversos relacionados à terapia.

O uso de ARV é essencial para o controle da replicação viral, porém, alguns medicamentos tem demonstrado relação com o aumento dos marcadores inflamatórios. HUNT (2012) observou que o controle da replicação viral pela TARV, não é capaz de normalizar a resposta inflamatória, sugerindo a existência de outros fatores influenciando este mecanismo.

Algumas alterações metabólicas, envolvidas na resposta inflamatória associada à TARV, foram propostas. Sabe-se que um dos efeitos colaterais do uso crônico de ARV é a

redistribuição e maior acúmulo da gordura corporal. O aumento da adiposidade está relacionado ao aumento de marcadores inflamatórios como PCR-us e fibrinogênio (BO *et al.*, 2004; BACCHETTI, 2005; PICHE *et al.*, 2005; FRAM, 2006).

Em estudo que comparou a resposta inflamatória entre PVHIV em uso de TARV e indivíduos não infectados, foi observado que o TNF- α e o fator de crescimento vascular endotelial (FGF-2), ambos envolvidos na resposta inflamatória, apresentaram aumento nas suas concentrações no grupo infectado, indicando que estas vias necessitam de níveis muito baixos de replicação viral para serem ativadas e podem explicar em parte a perpetuação da cascata inflamatória em PVHIV/aids em TARV (KEATING *et al.*, 2011).

As classes de medicamentos apresentam respostas diferentes em relação aos marcadores inflamatórios. IPs foram relacionados ao aumento da PCR-us e fibrinogênio (MADDEN *et al.*, 2008; KRISTOFFERSEN *et al.*, 2009). Pacientes em uso de IP apresentam risco 16% maior de infarto agudo do miocárdio (IAM) quando comparados aos pacientes em uso de ITRNN (FRIIS-MØLLER *et al.*, 2007). Segundo o *Study of Fat Redistribution and Metabolic Changes in HIV Infection* (FRAM) o uso de IP está associado ao aumento de 11% nas concentrações de fibrinogênio. Já o estudo SMART apontou aumento da PCR-us em pacientes fazendo uso dos ITRNs quando comparados a controles saudáveis, demonstrando que esta classe de medicamentos também leva à ativação da cascata inflamatória, mesmo que em menor grau (BACCHETTI, 2005; FRAM, 2006; EMERY, 2008; MADDEN, 2008).

Apesar das associações descritas acima entre classes de ARVs e marcadores inflamatórios, os marcadores são geralmente mais elevados em pacientes que não fazem uso de ARV (JONG *et al.*, 2010; LEDERMAN *et al.*, 2011). Observou-se 1% de diminuição do marcador inflamatório receptor de ativador de plasminogênio tipo uroquinase (suPAR) por ano de tratamento ARV, sendo que a interrupção de seu uso ocasionou aumento do marcador

inflamatório IL-6, responsável pela secreção hepática da PCR (OSTROWSKI *et al.*, 2004; SESSO *et al.*, 2007; LANGKILDE *et al.*, 2012).

A morbimortalidade em indivíduos HIV+ é significativamente menor quando iniciam a TARV precocemente (TCD4 >350 células/mm³), isso se deve ao fato da TARV atenuar a replicação viral e melhorar a resposta inflamatória. (EMERY *et al.* 2008; MS, 2013e)

1.5 MARCADORES E PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS E OXIDATIVOS

A resposta inflamatória em humanos foi amplamente estudada e muitos marcadores foram descritos, dentre eles, PCR-us e o fibrinogênio, que são marcadores inflamatórios bem estabelecidos, de alto grau de reprodutibilidade em laboratório, baixo custo para determinação, boa estabilidade, sensibilidade, além de não precisar de preparo complexo por parte do paciente (KULLER *et al.*, 2008; BAKER *et al.*, 2009). Em diretriz publicada no ano de 2003 a *American Heart Association* concluiu que a PCR-us como técnica quantitativa, é um exame de alto valor preditivo para doença cardiovascular, e está intimamente relacionada ao grau da resposta inflamatória (PEARSON *et al.*, 2003).

A síntese da PCR ocorre nos hepatócitos sob estímulo primário da citocina IL-6. Em condições normais a PCR mantém-se em concentrações inferiores a 1mg/dL, mas em infecções virais costuma situar-se entre 1 mg/dL e 4 mg/dL. (MORTENSEN, 2001).

Em condição inflamatória aguda, há elevação de suas concentrações entre 6 e 8 horas iniciais, podendo atingir valores de até 300mg/dL em 48 horas. A PCR possui uma meia vida curta, de 5 a 7 horas, sendo um marcador sensível aos estímulos (KUSHNER, 2008). A PCR no soro ou plasma é estável sob refrigeração de 2 à 8°C durante pelo menos 14 dias e 8 semanas quando mantida a -20°C (ROBERTS *et al.*, 2001).

Os valores da PCR-us encontram-se aumentados em PVHIV, principalmente no início da aids, apresentando uma relação inversa com a contagem de TCD4 e direta com a CV. Estudos demonstram que os valores da PCR-us estão associados à progressão da doença e a evolução para óbito (FELDMAN *et al.*, 2003; TIEN, 2010; BOULWARE *et al.*, 2011). LAU *et al.* (2006) demonstraram que valores de PCR-us acima ou iguais a 2,3mg/L diminuem em 49% o tempo entre a infecção pelo vírus e a progressão para aids, mostrando um potencial deste marcador em monitorar o curso clínico da doença.

O fibrinogênio é uma glicoproteína de fase aguda, sintetizada no fígado sob a influência da IL-6 e do TNF- α , conhecida como fator de coagulação I. Sua concentração no sangue aumenta rapidamente em resposta a processos inflamatórios (TRACY *et al.*, 1999). Os valores considerados normais variam entre 150 à 400 mg/dL, e durante a fase aguda da inflamação suas concentrações podem aumentar de 100% a 200% (LUC *et al.*, 2003; LEVI *et al.*, 2004). O fibrinogênio também é um biomarcador associado às DCVs e à progressão para aids.

Em meta-análise que relacionou as concentrações de fibrinogênio e morbidade por doenças vasculares, os autores reportaram que aumento de 100mg/dL na concentração de fibrinogênio está relacionado à elevação de 2.42 na razão de risco para desenvolvimento de DCVs (DANESH *et al.*, 2005).

PVHIV/aids possuem concentrações aumentadas de fibrinogênio quando comparados a população saudável. Dados obtidos do estudo FRAM apontam que os indivíduos que se encontravam com concentrações de fibrinogênio no tercil mais alto (>406mg/dL) possuíam 2,6 vezes risco relativo de vir a óbito quando comparados àqueles situados nos tercís mais baixos (<319mg/dL) (HISCOTT *et al.*, 2001; BACCHETTI, 2005; TIEN *et al.*, 2010).

Existe relação positiva entre PCR-us e fibrinogênio. Segundo COUTINHO *et al.* (2007), indivíduos com concentrações aumentadas de PCR-us apresentaram valores elevados

de fibrinogênio, e aqueles com concentrações baixas de PCR-us, apresentaram valores baixos de fibrinogênio. Esta relação se mantém em PVHIV (ERIN *et al.*, 2008).

KALAYJIAN *et al.* (2010), observaram que valores elevados de PCR e fibrinogênio são preditores de mortalidade em PVHIV, mesmo após o ajuste para CV e contagem de células TCD4. É importante ressaltar que estes marcadores inflamatórios continuam a ser preditores de mortalidade mesmo quando são avaliadas PVHIV/aids com contagem de células TCD4 > 500 cópias/mm³ (BACCHETTI, 2005; TIEN *et al.*, 2010; HUNT *et al.*, 2012).

Segundo o exposto, o fibrinogênio e a PCR-us são indicadores fortes e independentes de inflamação e mortalidade em PVHIV. Mesmo quando a contagem de células TCD4 é >500/mm³, a inflamação é fator de risco para mortalidade e esses marcadores são importantes indicadores do prognóstico da doença (TIEN *et al.*, 2010).

Neste cenário visando minimizar os efeitos adversos dos antirretrovirais e evitando uso de outros medicamentos, surgem estudos epidemiológicos que tentam verificar meios de diminuir os fatores de risco relacionados à inflamação associada ao HIV. Compostos bioativos de alimentos demonstraram contribuir para a diminuição da resposta inflamatória, entre eles estão os flavonóides encontrados no cacau, chá mate, chocolate, vinho tinto e frutas vermelhas (ALLEN *et al.*, 2008).

Alguns parâmetros que estão envolvidos no processo inflamatório também foram avaliados. A HDL-c é uma partícula com propriedades anti-inflamatórias e marcador de risco para DCVs (BAKER *et al.*, 2009; MELLO *et al.*, 2011). Já as células brancas são a primeira forma de defesa do organismo contra processos infecciosos e atuam diretamente no local da inflamação (ZAGO *et al.*, 2004).

Para caracterizar as alterações oxidativas no presente estudo foi dosada a concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) dos participantes. Nesta análise, o malonaldeído (MDA), um dos principais produtos formados no processo oxidativo, reage com

o ácido tiobarbitúrico (TBA), para formar um pigmento cor de rosa (ANTOLOVICH *et al*, 2002).

1.6 CACAU

O cacau é um alimento consumido há milênios, amplamente conhecido em todo o mundo, derivado da semente da *Theobroma cacao*, árvore nativa da América do Sul. Cerca de 1000 anos a.C., na era pré-clássica, os povos Olmeca, Maya e Azteca consideravam o cacau alimento dos deuses e já era relatado que possuía importantes propriedades medicinais, sendo descrito tanto como alimento quanto como medicamento, associação essa que deu origem ao nome científico da planta, *theo* sinônimo de Deus e *broma* bebida em grego. Numerosas aplicações desse vegetal nas culturas ancestrais estão documentadas, dentre estas, tratamento ou prevenção de inflamações e infecções (DILLINGER *et al.*, 2000; HURST *et al.*, 2002; HENDERSON *et al.*, 2007).

O termo cacau também é usado para referir-se ao componente não gorduroso do líquido extraído do fruto cacau, já o chocolate representa a combinação de cacau, manteiga de cacau, açúcar e outros ingredientes (COOPER *et al.*, 2008).

O cacau é um alimento rico em compostos bioativos, como os fenólicos, que possuem atividade antioxidante (AOX) e anti-inflamatória. O conteúdo fenólico da semente de cacau torrada pode chegar a contabilizar aproximadamente 18% de seu peso total, sendo as antocianidinas e flavonóis os grupos mais abundantes (RUSCONI e CONTI, 2010).

Os flavonóis do cacau se subdividem entre as formas monoméricas catequinas, epicatequinas e as oligoméricas, procianidinas. Apesar das epicatequinas representarem quase 60% do total de flavonóis as procianidinas são responsáveis pela maior parte da atividade AOX. (MURSU *et al.*, 2004; RAMIRO-PUIG e CASTELL, 2009).

As procianidinas tem sua atividade antioxidante bem estabelecida, com alta efetividade em prevenir a formação de dienos conjugados nas fases da peroxidação lipídica, atuando na quebra da cadeia oxidativa. (BOMBARDELLI *et al.*, 1997; RAMIRO-PUIG e CASTELL, 2009).

Estudo de intervenção com humanos publicado em 2012 por ACTIS-GORETTA *et al.*, elucidou quais metabólitos das (-)-epicatequinas são mais presentes no sangue após sua metabolização pelos enterócitos e hepatócitos e consequentemente, mais ativos. Três grupos foram encontrados, o dos glucuronídeos, sulfatos e O-metil sulfatos. Dentro destes três grupos 85% dos metabólitos plasmáticos eram compostos por (-)- epicatequina-3', β -D-glucuroníida (-)-epicatequina3'-sulfato, 3'-O-methyl(-)-epicatequina 5-sulfato, 3'-O-methyl(-)-epicatequina 4'-sulfato e 3'-O-methyl(-)-epicatequina 7-sulfato. O metabólito (-)-epicatequina-7- β -D-glucuronida ainda podia ser detectado no sangue após 18h do consumo do chocolate (Tmax 12,8 $\pm$ 4,8h), sugerindo uma ação prolongada deste metabólito, quando comparado com os outros que possuíram em média um tempo máximo de 3,67 $\pm$ 1,0h.

Estudos têm sugerido que os flavonóides do cacau podem reduzir o risco de desenvolvimento de DCV, agindo na diminuição dos marcadores inflamatórios relacionados a estas doenças (OSAKABE, 2000; DING *et al.*, 2006; JIA *et al.*, 2010). FRANCO *et al.* (2004) estimaram que o consumo de 50g de chocolate amargo por dia possa reduzir o risco de DCV em 10,5%.

Estudos *in vitro* e *in vivo* demonstraram que os flavonóides existentes no cacau e no chocolate aumentam a capacidade antioxidante do organismo e inibem a oxidação da LDL-c. (SANBONGI *et al.*, 1998; LOTITO *et al.*, 2000; ENGLER e ENGLER, 2004; MURSU *et al.*, 2004; FRAGA *et al.*, 2005; GRASSI *et al.*, 2005; HAMED *et al.*, 2008; JIA, 2010). A estrutura química dos flavonóides faz com que ao se ligarem à LDL-c estabilizem esta

partícula, evitando a peroxidação lipídica e diminuindo a lesão celular causada pelo EO. (RICE-EVANS *et al.*, 1996).

A redução na concentração de LDL-c oxidada foi em parte explicada por Baba *et al.* (2007), em estudo de intervenção com humanos normo e hipercolesterolêmicos (12 semanas com 26g/dia de pó de cacau), no qual foi observado aumento de 9% no tempo que a LDL-c resiste à oxidação, além de aumento significativo de 24% de HDL-c no plasma e redução de 12% de LDL-c. Sendo a HDL-c uma molécula que ajuda a inibir a oxidação da LDL-c e com efeito anti-inflamatório, o aumento de sua concentração no plasma pode ser um dos mecanismos dos polifenóis do cacau na redução da suscetibilidade da LDL-c à oxidação e na melhora do perfil inflamatório. Nesse estudo foi observada uma relação inversa entre as concentrações urinárias de catequinas e as concentrações de LDL-c oxidada no plasma.

Outro mecanismo antioxidante dos flavonóides está relacionado à conservação das concentrações de α -tocoferol nas membranas biológicas. Foi demonstrado que os flavonóides, especialmente as catequinas, reciclam o α -tocoferol por doar um átomo de hidrogênio, o que poderia manter suas concentrações na membrana da LDL-c por mais tempo, retardando o início da sua oxidação. (SALAH *et al.*, 1995; MIDDLETON *et al.*, 2000; REIN *et al.*, 2000).

A ação antioxidante dos polifenóis parece não ocorrer só pela doação de elétrons para moléculas instáveis ou pelo aumento da HDL-c, mas também por induzir a ação de enzimas antioxidantes em diversos órgãos ou culturas de células. Células hepáticas tratadas com extratos fenólicos do cacau e posteriormente por um composto químico usado para induzir o EO foram capazes de diminuir a apoptose por meio da maior ativação das enzimas antioxidantes glutathione peroxidase (GPx) e glutathione reductase (GR) via quinase regulada por sinal extracelular (ERK), diminuindo a produção de EROs. (MARTÍN *et al.*, 2010).

Aliado ao efeito antioxidante, os flavonóides do cacau também promovem diminuição dos marcadores inflamatórios por vários mecanismos. A epicatequina presente no cacau é o componente que possui melhor ação anti-inflamatória (SCHROETER *et al.*, 2006).

Os mecanismos anti-inflamatórios dos polifenóis são em parte explicados pela sua interação com a via do NF- κ B (SANBONGI, 1997). A via do NF- κ B desempenha papel fundamental na regulação da cascata inflamatória e está envolvida na resposta celular a estímulos como o estresse, citocinas, radicais livres, oxidação de LDL-c, antígenos virais e bacterianos. A regulação incorreta do NF- κ B tem sido relacionada ao início e perpetuação de doenças inflamatórias. (SANKAR, 2006).

Em estudo de intervenção com humanos saudáveis, que forneceu 40g de cacau na forma de pó de cacau diluído em água para 18 participantes, foi demonstrado que a ativação do NF- κ B diminuiu significativamente, ocorrendo também diminuição na concentração das moléculas de adesão ICAM-1 e E-selectina, relacionadas à adesão de leucócitos no endotélio vascular na cascata precoce de eventos que levam aos processos de inflamação (VÁZQUEZ-AGELL, 2011). MONAGAS *et al.*, (2009) já haviam relatado anteriormente diminuição dos marcadores ICAM-1 e P-selectina em pacientes com alto risco para DCVs que consumiram 40g de pó de cacau com leite por 4 semanas. Nesse estudo houve também aumento significativo na HDL-c sem alterações na LDL-c e triglicérides, demonstrando que o consumo do cacau não interferiu negativamente no perfil lipídico (MONAGAS *et al.*, 2009).

KENNY *et al.*, (2009) examinaram os efeitos das procianidinas e flavonóides do cacau em células polimorfonucleares e concluíram que esses compostos podem reduzir o impacto da estimulação dessas células, que representam 50 a 60% do total de glóbulos brancos periféricos, sendo esses, os primeiros a serem recrutados para os locais de inflamação.

MAO *et al.* (2000) reportaram que as procianidinas do cacau podem reduzir a inflamação gerada pelas citocinas pró-inflamatórias, enquanto aumentam a produção de

citocinas anti-inflamatórias. Com o mesmo objetivo, alguns estudos demonstraram que os flavonóides do cacau podem efetivamente modificar o processo inflamatório por meio da diminuição das EROs, evitando a ativação do NF-kB e transcrição de citocinas subsequentemente. (MACKENZIE *et al.*, 2004; MEHRINFAR e FRISHMAN 2008; SELMI *et al.*, 2008).

GIUSEPPE *et al.* (2008) utilizando uma sub-amostra do estudo “Investigação Prospectiva Européia sobre Câncer e Nutrição” selecionaram um grupo de indivíduos que haviam consumido algum tipo de chocolate no último ano e outro grupo de indivíduos que consumiram apenas o chocolate amargo. Como resultado, os autores verificaram que o consumo de chocolate amargo foi inversamente associado às concentrações séricas da PCR, sendo que os indivíduos que consumiram 20g de chocolate amargo pelo menos a cada três dias apresentaram concentrações de PCR significativamente inferiores aos que não consumiam.

TZOUNISET *et al.* (2011) realizaram ensaio clínico randomizado, duplo-cedo, controlado por placebo do tipo *crossover* para avaliar o potencial prebiótico dos flavonóides do cacau e identificaram que, os flavonóides, propiciam o crescimento de *Bifidobacterium spp* e *Lactobacillus spp*, sendo que a última foi relacionada com a redução nas concentrações séricas da PCR, podendo ser esse um dos mecanismos da ação do cacau na resposta inflamatória.

1.7 CHÁ MATE

A erva mate (*Ilex paraguariensis*) é uma árvore nativa da América do Sul, sendo que Argentina, Brasil e Uruguai, são seus maiores produtores mundiais. Na região Sul do Brasil utiliza-se a erva verde seca e cancheada para o preparo de chimarrão (com água quente) e na

região Centro Oeste é consumida com maior frequência na forma de tererê (com água fria). A erva torrada para o preparo de chá mate é bastante consumida na região Sudeste do Brasil (BASTOS *et al.*, 2007a). As bebidas à base de erva mate são ricas em antioxidantes, preparadas a partir das folhas e ramos de *Ilex paraguariensis* (CHANDRA e MEJIA, 2004).

A erva mate contém diversos compostos bioativos naturais (Quadro 1), incluindo polifenóis (ácido clorogênico), xantinas e saponinas, cada um dos quais pode exercer efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios (HECK e MEJIA, 2007; COELHO *et al.*, 2010). Entre os fitoquímicos ativos no extrato da erva mate, os dois em maior quantidade são os polifenóis (ácidos fenólicos) e as xantinas (caféina e teobromina). O ácido 5-cafeoilquínico, ácido cafeico, ácido 3,4-dicafeoilquínico, ácido 3,5-dicafeoilquínico, ácido 4,5-dicafeoilquínico são os principais ácidos fenólicos; contendo ainda os flavonóides (canferol, quercetina e rutina) (FILIP *et al.*, 2001; BASTOS *et al.*, 2007b; HECK e MEJIA, 2007;).

Nos últimos anos, alguns autores descreveram potenciais propriedades terapêuticas da erva mate, como a modulação da resposta inflamatória em diversos tecidos (fígado, tecido hipotalâmico, adiposos e musculo) (ARCARI *et al.*, 2009; PIMENTEL *et al.*, 2013). Isso levou à inclusão dessa erva em importantes farmacopéias como a Martingdale e a British Herbal Pharmacopoeia (ANESINI *et al.*, 2006).

Em sua maioria, as pesquisas com consumo de chá fazem referência ao chá verde ou preto proveniente da *Camellia sinensis*. Estudos com erva mate são recentes, datam dos meados da década de 90 (GUGLIUCCI *et al.*, 1996) e descrevem efeitos benéficos do chá mate na atividade antioxidante, anti-inflamatória e no controle dos valores séricos de colesterol (MOSIMANN *et al.*, 2006; LANZETTI *et al.*, 2008).

As alterações no perfil lipídico, características de PVHIV/aids, contribuem para perpetuação da resposta inflamatória. MORAIS *et al.* (2009), em estudo de intervenção envolvendo humanos com dislipidemia encontraram significativa redução da LDL-c com

paralelo aumento da HDL-c, quando compararam indivíduos que consumiram e não consumiram chá mate. Esses efeitos no perfil lipídico são devidos às saponinas, que aparentemente podem interferir no controle do colesterol e redução da absorção intestinal de gordura, através da inibição da atividade da enzima lípase pancreática (HOSTETTMANN e MARSTON, 1995; HAN *et al.*, 2002; HAN *et al.*, 2005).

A saponina e a quercitina parecem, também, desenvolver papel anti-inflamatório, através da redução da resposta inflamatória em macrófagos (PUANGPRAPHANT e MEJIA, 2009). A ativação dos macrófagos é influenciada pela via de sinalização do NF- κ B. Quando estas moléculas encontram estímulos inflamatórios, o complexo enzimático I κ B kinase (IKK) é ativado e induz a fosforilação e degradação do inibidor do κ B (I κ B). Essa atividade libera o NF- κ B que se transloca para o núcleo e promove a transcrição de moléculas pró-inflamatórias, como TNF- α , IL-1 β e a sintase induzida pelo óxido nítrico (INOS) (FOCK *et al.*, 2010; ROGERO *et al.*, 2010; ROSA *et al.*, 2012).

HISCOTT *et al.* (2001) demonstraram que o vírus HIV pode ativar a via do NF- κ B, levando a liberação de citocinas pró-inflamatórias. Estudos *in vitro* e *in vivo* demonstraram que as saponinas da erva mate podem reduzir a expressão nuclear de subunidades envolvidas na sinalização do NF- κ B, como p50 e p65 (PUANGPRAPHANT *et al.*, 2011; PUANGPRAPHANT *et al.*, 2013). Esses resultados sugerem que o mecanismo envolvido no efeito anti-inflamatório da erva mate é em parte explicado pela inibição da via do NF- κ B.

Outra alteração comum em PVHIV/aids, é a redistribuição e acúmulo de gordura corporal, tecido este que possui atividade pró-inflamatória. Em estudo *in vivo* conduzido por BORGES *et al.* (2013), o uso de erva mate resultou na diminuição da deposição de tecido adiposo e levou à perda de peso. Interessantemente esse resultado só foi observado no grupo suplementado com dieta rica em gordura e não no grupo exposto a dieta normolipídica. A redução de peso, foi acompanhada da diminuição dos marcadores inflamatórios IL-6 e TNF-

α. Isso pode ser explicado em parte pela ativação da proteína quinase AMP-ativada (AMPK) ocasionada pelo consumo de erva mate (PANG *et al.*, 2008). Essa proteína age nos tecidos periféricos regulando uma variedade de vias metabólicas que resultam na supressão do consumo de adenosina trifosfato (ATP) (via anabólica) e na indução da produção de ATP (via catabólica) (PIMENTEL, 2009).

QUADRO 1 - Compostos bioativos da erva mate e seus respectivos benefícios

Compostos	Benefícios
Cafeína e teobromina	Vasodilatador e estimulante do sistema nervoso central
Ácido clorogênico e ácido cafeico	Antioxidante e anti-inflamatório
Saponinas	Redução do colesterol, antioxidante e anti-inflamatório
Quercetina e rutina	Antioxidante, anti-inflamatório e vasodilator

Fonte: adaptado de HECK e MEJIA, 2007 e PONTILHO *et al.* (2015).

2. JUSTIFICATIVA

Tendo em vista a alta prevalência de alterações metabólicas em PVHIV/aids e os potenciais benefícios do cacau e do chá mate na melhora do perfil inflamatório e oxidativo, se faz pertinente a condução de um ensaio clínico que avalie o impacto desses suplementos no grupo populacional proposto. Os resultados poderão contribuir para a formulação de estratégias de intervenção não medicamentosas, o que é importante, pois esta é uma

população que já faz uso de diversos medicamentos, bem como fornecerão subsídios para políticas e programas públicos de saúde.

3. HIPÓTESE

A intervenção com cacau ou chá mate em PVHIV em TARV pode prevenir a elevação ou reduzir a concentração sanguínea dos marcadores inflamatórios e de EO PCR-us, fibrinogênio, TBARS e outros parâmetros envolvidos no processo inflamatório.

4. OBJETIVOS

Avaliar o impacto da ingestão de chocolate e chá mate em marcadores e parâmetros envolvidos com inflamação e EO de PVHIV em TARV.

5. METODOLOGIA

Este estudo é parte de um projeto maior intitulado “Efeito da ingestão de chocolate e chá mate no endotélio de indivíduos com HIV/aids: ensaio clínico, randomizado, cego, controlado por placebo”, o qual envolveu uma equipe de pesquisadores e foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa de Estado de São Paulo (FAPESP Auxílio Regular à pesquisa: 2009/52250-5). Este estudo clínico possui registro no Trial Register (NTR) com n°3176.

5.1 LOCAL E AMOSTRA DA POPULAÇÃO DE ESTUDO

O grupo de indivíduos estudado foi originário do Serviço de Atendimento ao Paciente HIV/aids “Casa da AIDS” (SEAP), Divisão de Moléstias Infecciosas e Parasitárias do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP e do Instituto de Infectologia Emílio Ribas (IIER) no período de Março de 2011 à Abril de 2013.

Foram selecionados indivíduos de 19 a 59 anos de idade de ambos os sexos com HIV/aids que estavam em uso de TARV por no mínimo seis meses, e com CV indetectável (<50 cópias/mL) (MS, 2006.). Os pacientes selecionados mantiveram tratamento de rotina determinado pelo médico infectologista que permaneceu informado sobre todas as condutas estabelecidas no estudo.

Foram excluídos os pacientes que apresentavam pelo menos um dos critérios: histórico de infarto agudo do miocárdio (IAM); histórico de acidente vascular cerebral (AVC); doença renal (creatinina $> 2,0\text{mg/dL}$); doenças cardíacas graves; doença de chagas; doença intestinal grave que impossibilitasse o uso da dieta; hipotireoidismo (TSH $>6,0\text{U/mL}$); insuficiência hepática; hepatite B; hepatite C; neoplasia maligna; infecção oportunista ativa no momento; gravidez; uso crônico de drogas; diagnóstico de diabetes ou hipertensão, vegetarianismo, participação ativa em outros estudos de intervenção nutricional; intolerância aos suplementos ou qualquer um dos seus componentes; uso de medicamentos anti-inflamatórios.

Foi investigado o uso individual de drogas ARVs associadas a risco cardiovascular e de outras drogas com ação cardiovascular. Todas essas variáveis foram comparadas entre os grupos e controladas.

5.2 DESENHO DO ESTUDO

O estudo foi um ensaio clínico do tipo *crossover*, randomizado, cego para as coletas de dados e análises. O delineamento do tipo *crossover* é utilizado em experimentos clínicos envolvendo indivíduos com doenças crônicas, com o objetivo de avaliar o efeito entre diferentes tratamentos. Os indivíduos formaram grupos que receberam tratamentos distintos, com a administração de alguma substância ativa ou placebo. Após receberem o primeiro tratamento, os grupos passaram por período de *washout* de quinze dias, nos quais não foi administrado qualquer tratamento com a intenção de eliminar o efeito *carry out*. Em seguida os grupos alternaram o tratamento, ou seja, quem recebeu a substância ativa passou a receber o placebo e *vice-versa* (SENN, 2002).

Neste presente ensaio clínico, os participantes foram randomizados para que todos fossem incluídos nos quatro tipos de tratamentos: dois com intervenção e dois com placebo.

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

Os indivíduos foram convidados a participar do estudo na sala de espera que antecipava as consultas, ou na retirada de medicamentos e manifestaram voluntariamente o interesse em sua participação. Em caso de recusa, o indivíduo foi convidado a responder o questionário de recusa (Apêndice 1), onde foi indicado o motivo de sua não disponibilidade em participar.

Os indivíduos que demonstraram interesse foram questionados em relação aos critérios de exclusão através de *check list* (Apêndice 2), sendo as informações posteriormente confirmadas em prontuário médico. Após a confirmação da elegibilidade, foi agendada uma data, de acordo com a disponibilidade do voluntário, para a primeira tomada de dados (*baseline*).

5.3 INTERVENÇÃO

Para intervenção, foram fornecidas barras de chocolate de 65g com 36g de cacau (OKASABE *et al.*, 2007; MATSUMOTO *et al.*, 2009) para serem consumidos durante 15 dias cada. Como placebos foram utilizadas barras com 65g de chocolate branco (elaboradas com a manteiga de cacau, ou seja, livre de polifenóis, acrescido de açúcar e leite) e 3g de pó solúvel similar à bebida à base de mate (à base de maltodextrina, corante comestível de caramelo e aroma artificial de pêssego).

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

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

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

O Apêndice 2 apresenta o impresso entregue aos participantes para auxiliá-los no controle da intervenção. No impresso continha a data e o horário de retorno, a explicação de

como deveriam consumir o suplemento e um pequeno calendário que deveria ser assinalado pelo participante a cada dia de ingestão do suplemento.

A adesão ao suplemento foi monitorada por contato telefônico, e-mail e questionários a cada retorno, e ao final da pesquisa. Os pacientes tiveram à disposição um número de telefone fixo, um número de telefone celular e um endereço de e-mail criado exclusivamente para a pesquisa visando diminuir eventuais dúvidas. A Figura 1 apresenta o fluxograma de intervenção, indicando todas as fases de suplementação e coleta de dados.

Figura 1. Fluxograma de intervenção

5.4 SUPLEMENTOS

5.4.1 Chocolate

Foram fornecidas barras de chocolate com 65g de cacau, contendo de 2148 a 2864mg de polifenóis por porção (OSAKABE *et al.*, 2001, GRASSI *et al.*, 2008). Como placebo de chocolate foram formulados tabletes de chocolate branco com 65g cada e 0g de cacau.

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

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

A composição nutricional do chocolate preto e seu placebo foram similares, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Composição nutricional do chocolate preto e placebo.

Suplemento	Energia (Kcal)	Carboidratos (g)	Proteínas (g)	Lipídeos (g)	Ác.Graxos Saturados (g)	Fibras (g)
Chocolate Preto	330	28	4	22	14	6
Placebo	345	30	4	22	14	7

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

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

5.4.2 Chá Mate

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

O placebo do chá mate foi constituído de 3g de preparado sólido à base de maltodextrina, corante comestível de caramelo e aroma artificial de pêssego, uma vez que o aroma artificial de mate não foi encontrado no mercado e a utilização do aroma natural não é possível devido ao conteúdo de fenóis que poderiam interferir nos resultados da pesquisa. Em ambas as formulações de chá foram adicionadas 0,003g de sorbato de potássio para conservação.

Ambos os chás foram formulados no Laboratório de Bromatologia da Faculdade de Saúde Pública da USP (FSP/USP) e foram confeccionados pelos próprios pesquisadores, a

partir da pesagem dos ingredientes em balança analítica e a homogeneização em graal com pistilo. Em seguida, os chás foram porcionados utilizando-se medidas caseiras padronizadas e embalados em sachês de BOPP metalizados. Todas as embalagens utilizadas foram idênticas para chá intervenção e placebo.

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

5.5 COLETA DE DADOS

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

5.5.1 Pré-teste

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

5.5.2 Avaliação do Perfil Demográfico e Socioeconômico

No *baseline* foi aplicado questionário demográfico e socioeconômico e por meio dos prontuários foram acessados os dados relacionados à saúde (tempo de infecção pelo HIV, presença de comorbidades e medicamentos utilizados). A adesão à TARV foi avaliada no *baseline*, 15, 45, 75 e 105 dias de intervenção. Nesses momentos, os pacientes foram questionados sobre o consumo dos ARV durante os três dias anteriores à entrevista segundo metodologia de NEMES *et al.* (2004).

5.5.3 Avaliação do Estado Nutricional

Foram aferidas as medidas de peso (kg), altura (cm) para determinação do Índice de Massa Corporal (IMC), circunferência da cintura (CC) em cm e dados de composição corporal (porcentagem de gordura e massa muscular em kg).

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

A altura foi determinada por meio de estadiômetro da marca *Microtoise* com capacidade de 80 a 220cm; precisão ± 2 mm em 20cm e resolução em milímetros. Para esta medida o indivíduo deve estar ereto com os pés descalços e pernas paralelas, peso distribuído em ambos os pés, braços relaxados ao longo do corpo e palmas da mão voltadas para o corpo. A face posterior do indivíduo voltada para a superfície vertical do estadiômetro. Os calcanhares, as panturrilhas, os glúteos, as escápulas e a região do occipital do indivíduo posicionados na superfície do estadiômetro ou parede. A cabeça do indivíduo foi posicionada

no plano de Frankfurt (margem inferior da abertura do orbital e a margem superior do meatus auditivo externo estão em uma mesma linha horizontal). Quando não era possível encostar os cinco pontos (calcanhares, panturrilhas, nádegas, escápulas e parte posterior do occipital) na superfície posterior da parede foram posicionados ao menos três deles e a cabeça no plano de Frankfurt (LOHMAN *et al.*, 1988).

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

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

IMC (Kg/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: Organização Mundial da Saúde – OMS (2000)

A medida da CC foi realizada com fita métrica inextensível no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca, com o indivíduo ereto, com os braços relaxados ao lado do corpo, pés juntos e abdômen relaxado. A medição foi realizada ao final da expiração normal (LOHMAN *et al.*, 1988). Os valores de referência para CC foram classificados segundo a definição de obesidade abdominal estabelecida pela *Interbational Diabetes federation* (IDF, 2006), onde se apresenta cortes para cada grupo étnico e gênero. Os valores de referência estão descritos no Quadro 3.

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

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

Fonte: *Interbational Diabetes federation* (IDF, 2006).

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

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

5.5.4 Avaliação da Prática de Atividade Física

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

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

Quadro 4. Classificação da prática de atividade física.

Classificação	Descrição
Sedentário	<ul style="list-style-type: none"> • Indivíduo que não realiza atividade física alguma 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 minuto/sessão; ou • Indivíduos que realizam atividade física moderada ou caminhada por ≥ 5 dias/semana durante ≥ 30 min/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 atividade vigorosa por ≥ 3 dias/semana durante 20 minutos/sessão, e realiza atividades moderadas ou caminhada por ≥ 5 dias/semana por 30 minutos/sessão.

Fonte: *Internattional Physical Activiy Questionnaire (IPAQ)*, 2013.

5.5.5 Coleta Sanguínea e Avaliação Laboratorial

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

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

Após a coleta, a extração de soro e de plasma foi realizada pela centrifugação do sangue a 300rpm, por 15 minutos, a temperatura ambiente.

As análises sanguíneas foram efetuadas no Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP (FM/USP) e no Laboratório de Micronutrientes da FSP/USP segundo protocolo:

- Análise Imunológica e Viroológica

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

- Proteína C-reativa ultra sensível (PCR-us)

Foi determinada pelo método imunonefelometria de partículas utilizando o reagente *Cardio Phasehs hsCRP* da Siemens (Malvern – PA, Estados Unidos), que é constituído por partículas de poliestireno revestidas com um anticorpo monoclonal contra a PCR, que quando

misturadas às amostras, que contém a proteína, formam-se aglutinados que dispersam a luz irradiada. A concentração da luz dispersa depende da concentração da PCR. Os valores de referência utilizados para PCR-us foram os preconizados pelo Centro de Controle de Doenças e pela Associação Americana de Doenças Cardíacas (CDC/AHA) (PEARSON *et al.*, 2003) para avaliação do risco de DCVs:

Risco relativo baixo	-	< 1,0 mg/L
Risco relativo médio	-	1,0 - 3,0 mg/L
Risco relativo alto	-	> 3,0 mg/L

- Fibrinogênio

O fibrinogênio foi determinado pelo método de Clauss modificado (coagulométrico) com “kit” Multifibren U da Dade Behring® (Deerfield, Illinois, Estados Unidos). A coagulação do plasma citrado diluído é obtida pela adição de trombina. O tempo de coagulação é proporcional à concentração de fibrinogênio.

- Determinação de lipídios plasmáticos

As análises de colesterol total (CT) e frações (HDL-c e LDL-c), e triglicérides (TG) foram realizadas de forma automatizada obedecendo ao método enzimático-colorimétrico CHO/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): $LDL-c = \text{colesterol total} - (VLDL-c + HDL-c)$, sendo $VLDL-c = TG/5$.

- Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

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

- Hemograma completo

As determinações foram realizadas por método de citometria de fluxo por dispersão e fluorescência; automatizado no equipamento XT-2000i (Sysmex Corporation, Kobe, Japan). Quando necessário, foi realizado estudo morfológico de esfregaços sanguíneos corados com corantes panópticos.

5.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram digitados em planilhas do Microsoft Excel® para o adequado armazenamento das informações. Inicialmente foi realizada estatística descritiva do padrão de

distribuição de cada variável, com distribuição de frequências para variáveis qualitativas e por média, desvio padrão, valores mínimos e máximos para variáveis quantitativas.

A análise de *crossover* foi realizada pela análise de variância (ANOVA) para avaliar as diferenças de respostas intra-individuais entre os tratamentos em relação às variáveis de desfecho do perfil inflamatório e oxidativo. Tais análises foram realizadas através do procedimento *pkcross* no software Stata versão 11.0, admitindo-se que não houve efeito cumulativo entre os tratamentos (*carryover*). Valores de $p \leq 0,05$ foram considerados significativos. Em relação às comparações incluindo o *baseline*, optou-se por realizar o teste t de *Student* pareado.

5.7 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O presente estudo foi registrado sobre o número 3176 no *Netherlands Trial Register* – NTR.

Todos os procedimentos para o desenvolvimento deste estudo respeitam 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 protocolo 328/09 (Anexo 1), pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HC-FM/USP, sob protocolo 0753/10 (Anexo 2) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa do IIER, sob protocolo 44/2012 (Anexo 3).

A participação foi voluntária, e a recusa em participar ou desistência, em qualquer momento, não afetou a rotina de atendimento ambulatorial no serviço. Os indivíduos elegíveis que aceitaram participar da pesquisa assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo 4) e estavam cientes que o suplemento 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 todos os pacientes receberam uma carta personalizada com os dados parciais da pesquisa e as dúvidas que persistiram puderam ser esclarecidas.

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 este material entregue ao Centro de Saúde Escola Geraldo Paula Souza (Av. Dr. Arnaldo nº 925 – Cerqueira César – SP. CEP: 01255-000), localizado junto as 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).

6. RESULTADOS

Foram convidados a participar da pesquisa 1104 indivíduos cadastrados nos ambulatórios (Casa da AIDS e Instituto de Infectologia Emílio Ribas). Destes, 267 (172 homens e 95 mulheres) se recusaram a participar, respondendo questionário de recusa. Os motivos de recusa estão descritos no gráfico 1, no qual observa-se que "falta de tempo" foi o motivo mais relatado pelos indivíduos.

Gráfico 1. Distribuição de PVHIV/aids em TARV, segundo motivos de recusa em participar da pesquisa (n=267). São Paulo, 2015.

PVHIV/aids, pessoas vivendo com HIV/aids. TARV, terapia antirretroviral

Dos 837 indivíduos restantes, 636 (364 homens e 272 mulheres) foram excluídos devido aos motivos descritos na Tabela 2.

Tabela 2. Distribuição de PVHIV/aids em TARV segundo motivos de exclusão (n=636). São Paulo, 2015.

Motivo de exclusão	N	%
Uso de hipolipemiante	128	20,1
DM	70	11,0
Tempo de TARV <6 meses	49	7,7
Uso de anti-hipertensivo	49	7,7
Moradia distante	41	6,4
Doenças cardiovasculares*	35	5,5
Intolerância aos suplementos	26	4,1
Doenças hepáticas**	25	3,9
Idade (<19 ou >59)	18	2,8
Não HIV	11	1,7
≥ 2 motivos citados acima	113	17,8
Outros motivos***	71	11,2
Total	636	100,0

Notas: DM, Diabetes *mellitus*; PVHIV, pessoas vivendo com HIV/aids; TARV, terapia antirretroviral.

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

**Doenças hepáticas: Hepatite B, Hepatite C, Cirrose e Insuficiência hepática.

***Outros motivos: doença de Chagas, Cânceres, doenças oportunistas, gestação, vegetarianismo, pancreatite, diagnóstico de HIV/aids não confirmado.

Observou-se que o motivo de exclusão mais encontrado foi o uso de hipolipemiante (20,1%), seguido de indivíduos com 2 ou mais motivos citados na tabela (17,8%).

Após a confirmação das informações obtidas no *check list* por meio de consultas aos prontuários, 201 indivíduos foram considerados elegíveis para iniciarem a pesquisa e assinaram o TCLE, sendo que destes 92 concluíram integralmente as quatro fases de suplementação.

A figura 2 apresenta o fluxograma de recrutamento dos pacientes.

Figura 2. Fluxograma de recrutamento.

O presente estudo apresentou perda de 62 indivíduos ao longo do seguimento. Apesar do monitoramento constante e da prioridade em marcar nossos retornos em dias que os participantes já iriam comparecer às unidades por outros motivos, muitos indivíduos se

ausentaram da pesquisa. Dentre os indivíduos que conseguimos contato após a desistência, a maioria alegava dificuldade em consumir os suplementos e dificuldade em ir ao local na parte da manhã, outros motivos foram mudança de cidade, mudança de emprego e perda de parente próximo.

Podemos observar que as características dos indivíduos que não concluíram a pesquisa, na sua maioria, não diferem da média de valores encontrados no *baseline* por aqueles que concluíram todas as fases. A faixa etária foi a única característica que apresentou diferença significativa entre os dois grupos. A idade é fator que influencia a resposta inflamatória do organismo (CHUNG *et al*, 2009). Porém, ao comparar os valores médios de PCR-us, fibrinogênio e HDL-c entre os que finalizaram e não finalizaram a pesquisa, podemos concluir que o perfil inflamatório era semelhante entre os grupos. Ou seja, a diferença de idade não foi suficiente para gerar discrepância nos valores dos marcadores e parâmetros inflamatórios.

As características gerais coletadas dos indivíduos excluídos/desistências estão descritas na Tabela 3.

Tabela 3. Comparação [média e desvio padrão (DP)] entre as características de PVHIV/aids em TARV que finalizaram (n=92) e não finalizaram (n=62) a pesquisa. São Paulo, 2015.

Variáveis	Inclusos		Exclusos		Valor de P
	N (%)	Média (DP)	N (%)	Média (DP)	
Sexo					0,628
Masculino	58 (63,0)		36 (58,1)		
Feminino	34 (37,0)		26 (41,9)		
Faixa Etária		45,0 (7,1)		41 (8,1)	0,002
Raça/Etnia					
Branca	43 (46,7)		39 (62,9)		0,124
Preta	16 (17,4)		6 (9,7)		
Parda	31 (33,7)		17 (27,4)		
Escolaridade					
<8	9 (9,8)		6 (9,7)		0,915
8 - 11	53 (57,6)		35 (56,5)		
≥12	30 (32,6)		21 (33,9)		
Renda per capita em reais		1505,2 (1543,5)		1222,3 (1037,7)	0,494

continua

Tabela 3. Comparação [média e desvio padrão (DP)] entre as características de PVHIV/aids em TARV que finalizaram (n=92) e não finalizaram (n=62) a pesquisa, respectivamente. São Paulo, 2015.

continuação

Tabagismo				0,141
Sim	16 (17,4)	19 (30,7)		
Não	61 (66,3)	36 (58,1)		
Ex	15 (16,3)	7 (11,3)		
Consumo habitual de bebida alcoólica				0,556
Sim	46 (50,0)	28 (45,2)		
Não	46 (50,0)	34 (54,8)		
IMC (Kg/m²)		23,4 (3,9)	23,44 (3,4)	0,959
Gordura corporal (%)		19,8 (9,1)	21,2 (9,5)	0,332
Linfócitos TCD4+ (cél/mm³)		596,1 (263,4)	547,1 (281,5)	
Tempo de diagnóstico HIV (anos)		13,32 (5,1)	11,9 (5,2)	0,070
Tempo de início da TARV (anos)		10,7 (5,2)	9,4 (4,9)	0,082
Adesão a TARV				0,164
Sim	88 (95,7)	56 (90,3)		
Não	4 (4,4)	6 (9,7)		
PCR-us		3,0 (8,3)	3,1 (8,5)	0,737
Fibrinogênio		350,6 (121,6)	346,6 (116,6)	0,182
HDL-c		49,8 (14,8)	44,8 (14,5)	0,06

Notas: TARV, terapia antirretroviral; PVHIV/aids: pessoas vivendo com HIV/aids; IMC, índice de massa corporal; HIV, vírus da imunodeficiência humana; HDL, lipoproteína de alta densidade; IP, inibidores de protease; ITRN, inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos; ITRNN, inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos. Referência do salário mínimo Brasil R\$788,00 (Ministério do Trabalho e Renda, 2015).

6.1 CARACTERIZAÇÃO DOS INDIVÍDUOS DO ENSAIO CLÍNICO.

6.1.1 Fatores Demográficos e Socioeconômicos

Dos indivíduos incluídos na pesquisa, a maioria era do sexo masculino (63%) com idade média de 45 anos, variando de 28 a 59 anos. Praticamente metade da população estudada se auto referiu branca (46,7%) e solteira ou morando sozinha (43,5%) e mais da metade era natural do estado de São Paulo (51,1%). Quanto à escolaridade 57,6% concluíram o ensino médio e 32,6% completaram o ensino superior. Mais da metade dos indivíduos relataram não

ter filhos (53,3%) e 67,4% referiram ter alguma ocupação, sendo que a renda per capita média foi de R\$1505,2 variando de R\$120,00 a R\$8.000,00 (Tabela 4).

Tabela 4. Características demográficas e socioeconômicas de PVHIV/aids em TARV incluídos na pesquisa (n = 92). São Paulo, 2015.

Variáveis	N	%	Média (DP)	Valor mínimo	Valor Máximo
Sexo					
Masculino	58	63,0			
Feminino	34	37,0			
Faixa Etária			45,0 (7,1)	28	59
19 - 29	1	1,1			
30 - 39	21	22,8			
40 - 49	42	45,6			
50 - 59	28	30,4			
Raça/Cor					
Branco	43	46,7			
Preto	16	17,4			
Pardo	31	33,7			
Oriental	2	2,2			
Estado Civil					
Solteiro/mora sozinho	40	43,5			
Casado/mora com companheiro	31	33,7			
Separado/Divorciado	13	14,1			
Viúvo	8	8,7			
Naturalidade					
São Paulo	47	51,1			
Sudeste (outros estados)	11	11,9			
Sul	9	9,8			
Nordeste	21	22,8			
Centro-oeste	1	1,1			
Distrito Federal	3	3,3			
Escolaridade (anos)					
<8	9	9,8			
8 - 11	53	57,6			
≥12	30	32,6			
Filhos					
Sim	43	46,7			
Não	49	53,3			

continua

Tabela 4. Características demográficas e socioeconômicas de PVHIV/aids em TARV incluídos na pesquisa (n = 92). São Paulo, 2015. *continuação*

Ocupação					
Sim	62	67,4			
Não	25	27,2			
Aposentados	5	5,4			
Renda per capita em reais			1505,2(1543,5)	120	8000
Renda per capita em salários mínimos					
<1	39	42,9			
1 -2	22	24,2			
2 -3	17	18,7			
3 -4	5	5,5			
≥4	8	8,8			

Nota: Referência do salário mínimo Brasil R\$788,00 (Ministério do Trabalho e Renda, 2015). PVHIV/aids, pessoas vivendo com HIV/aids. TARV, terapia antirretroviral

6.1.2 Uso de drogas lícitas e ilícitas.

Em relação ao hábito de fumar, verificou-se que a maioria não fazia uso de tabaco (66,3%) e 16,3% eram ex-fumantes. Quanto ao consumo habitual de bebida alcoólica 50% referiu possuir este hábito e a maioria (90,2%) relatou não fazer uso de drogas ilícitas (Tabela 5).

Tabela 5. Distribuição de PVHIV/aids em TARV, segundo uso de drogas lícitas e ilícitas (n = 92), São Paulo, 2015.

Variável	n	%
Tabagismo		
Sim	16	17,4
Não	61	66,3
Ex	15	16,3
Consumo habitual bebida alcoólica*		
Sim	46	50,0
Não	46	50,0
Consumo de drogas ilícitas**		
Sim	9	9,8
Não	83	90,2

Nota: *Consumo habitual de bebida alcoólica: ingestão de bebida alcoólica nos últimos 30 dias, independente da dose. **Drogas ilícitas: maconha, cocaína e *ecstasy*. PVHIV/aids: pessoas vivendo com HIV/aids. TARV: terapia antirretroviral.

6.1.3 Histórico familiar de doenças.

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

Tabela 6. Distribuição, média e desvio padrão (DP) de PVHIV/aids em TARV, segundo histórico familiar de doenças (n = 92). São Paulo, 2015.

Histórico familiar	Mãe	Pai		
Obesidade	n (%)	n (%)		
Não	72 (78,3)	75 (81,5)		
Sim	17 (18,5)	6 (6,5)		
Não sabe	3 (3,3)	11 (12,0)		
DM				
Não	59 (64,1)	56 (60,9)		
Sim	24 (26,1)	18 (19,6)		
Não sabe	9 (9,8)	18 (19,6)		
Dislipidemia				
Não	42 (45,6)	48 (52,2)		
Sim	26 (28,3)	12 (13,0)		
Não sabe	24 (26,1)	32 (34,8)		
Hipertensão Arterial				
Não	35 (38,0)	34 (37,0)		
Sim	42 (45,6)	29 (31,5)		
Não sabe	15 (16,3)	29 (31,5)		
Trombose				
Não	78 (84,8)	65 (70,6)		
Sim	6 (6,5)	2 (2,2)		
Não sabe	8 (8,7)	25 (27,2)		
AVC/IAM			Idade do evento	Idade do evento
Não	66 (71,7)	53 (57,6)	<65 anos (n=14)	<55 anos (n=7)
Sim	21 (22,8)	19 (20,6)		
Não sabe	5 (5,4)	20 (21,7)		
Outras doenças*				
Não	44 (47,8)	66 (71,7)		
Sim	48 (52,2)	26 (28,3)		
Não sabe	-	-		

Nota: AVC, acidente vascular cerebral; DM, Diabetes *mellitus*; IAM, infarto agudo do miocárdio; *Hipotireoidismo, Doenças Respiratórias, Câncer. PVHIV/aids: pessoas vivendo com HIV/aids. TARV: terapia antirretroviral.

6.1.4 História Clínica

Em relação à história clínica dos participantes da pesquisa, 27,2% apresentavam outras comorbidades além da infecção pelo HIV. Quase metade (48,9%) desses indivíduos fazia uso de outros medicamentos além da TARV, como antiácidos e anti-ulcerosos, antidepressivos, antibióticos e antifúngicos. O tempo de infecção pelo HIV foi, em média, de 13,3 ($\pm 5,1$) anos, com início da terapia, em média, de 10,7 ($\pm 5,2$) anos e tempo médio de terapia atual de 3,6 ($\pm 3,3$) anos. Em relação à adesão a terapia, 95,7% dos indivíduos relataram ter ingerido todos os medicamentos ARV nos 3 dias anteriores a data da entrevista de acordo com a prescrição médica (Tabela 7).

Em relação ao uso de IP, ITRN e ITRNN, classes de TARV mais associadas às alterações no perfil inflamatório, observou-se que 49,0%, 100% e 56,5%, faziam uso das drogas presentes nestas classes, respectivamente.

Tabela 7. Características clínicas de PVHIV/aids em TARV incluídos na pesquisa (n = 92). São Paulo, 2015.

Variáveis	n	%	Média (DP)	Valor mínimo	Valor máximo
Comorbidades clínicas					
Sim	67	72,8			
Não	25	27,2			
Uso de medicamentos não ARV					
Sim	45	48,9			
Não	47	51,1			
Tempo de diagnóstico do HIV (anos)			13,3 (5,1)	1,0	24,0
Tempo de início da TARV (anos)			10,7 (5,2)	1,0	18,0
Tempo de uso da TARV atual (anos)			3,6 (3,3)	0,8	15,0
Adesão à TARV					
Sim	88	95,7			
Não	4	4,4			
Uso de IP					
Sim	45	49,0			
Não	47	51,0			
Uso de ITRN					
Sim	92	100,0			
Não	0	0,0			
Uso de ITRNN					
Sim	52	56,5			
Não	40	43,5			

Notas: PVHIV/aids: pessoas vivendo com HIV/aids. TARV, terapia antirretroviral; TARV, terapia antirretroviral; IP, inibidores de protease; ITRN, inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos; ITRNN, inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos.

Em relação às drogas antirretrovirais utilizadas pelos indivíduos incluídos neste estudo, observa-se na Tabela 8 que, 46,7% utilizavam a combinação de IP Lopinavir/Ritonavir. Quanto aos ITRN, verificou-se que praticamente todos os indivíduos faziam uso de Lamivudina (98,9%) e, 65,2% faziam uso de Tenofovir. Em relação às drogas ITRNN, 46,7% utilizavam Efavirenz. Outras classes de drogas foram menos utilizadas havendo poucos indivíduos em uso de Enfuvitida (2,2%) e Raltegravir (7,6%).

Tabela 8. Medicações antirretrovirais utilizadas pelos PVHIV/aids incluídos na pesquisa (n = 92). São Paulo, 2015.

Medicamentos da TARV	n	%
Uso de IP		
Atazanavir	12	13,0
Lopinavir/Ritonavir	43	46,7
Darunavir	9	9,8
Uso de ITRN		
Abacavir	1	1,1
Didanosina	2	2,2
Lamivudina	91	98,9
Tenofovir	60	65,2
Zidovudina	33	35,9
Uso de ITRNN		
Efavirenz	43	46,7
Nevirapina	3	3,26
Inibidor de Fusão		
Enfuvirtida	2	2,2
Inibidor da Integrase		
Raltegravir	7	7,6

TARV, terapia antirretroviral; PVHIV/aids, pessoas vivendo com HIV/aids; IP, inibidores de protease; ITRN, inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos; ITRNN, inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos.

Em relação aos esquemas de TARV, ou seja, a combinação de classes terapêuticas, a maioria dos indivíduos (45,7%) faziam uso da combinação ITRN+ITRNN, seguido pela combinação ITRN+IP (23,9%).

Gráfico 2. Distribuição de PVHI/aids, segundo esquema de tratamento antirretroviral atual (n = 92). São Paulo, 2015.

Nota: IP, Inibidores de protease; ITRN, inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeo; ITRNN, inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeo. Outras Classes: combinações entre IP, ITRN, ITRNN e outras classes (inibidor de fusão e inibidor da integrase); PVHIV, pessoas vivendo com HIV/aids; TARV, terapia antirretroviral.

6.1.5 Avaliação Nutricional.

Observa-se no Gráfico 3 a classificação do estado nutricional dos indivíduos de acordo com o IMC. Em relação a este parâmetro, 48,9% dos indivíduos foram considerados eutróficos e 34,8% com excesso de peso.

Gráfico 3. Distribuição de PVHIV/aids em TARV, segundo classificação do IMC (Kg/m²) (n = 92). São Paulo, 2015.

Fonte: OMS (2000). PVHIV: pessoas vivendo com HIV/aids. TARV: terapia antirretroviral.

Em relação à classificação da CC, observa-se no Gráfico 4 que cerca de 40% dos indivíduos apresentavam obesidade abdominal.

Gráfico 4. Distribuição de PVHIV/aids em TARV, segundo classificação da circunferência da cintura (CC) em cm (n = 92). São Paulo, 2015.

Fonte: *International Diabetes Federation* (IDF, 2006). PVHIV: pessoas vivendo com HIV/aids. TARV: terapia antiretroviral.

A Tabela 9 apresenta as variáveis antropométricas avaliadas no *baseline*. A média de peso foi 66,8 ($\pm 12,5$) Kg, de altura 168,8 ($\pm 8,9$) cm e do IMC foi 23,4 ($\pm 3,9$) Kg/m². Na classificação da CC segundo sexo, é importante observar que apesar da maioria se encontrar dentro da faixa de normalidade (62%), 61,8% das mulheres e 24,1% dos homens apresentaram obesidade abdominal. A análise da composição corporal mostrou, como esperado, maior média de percentual de gordura nas mulheres com 26,5% ($\pm 7,9$) e maior quantidade de massa muscular nos homens (56,2 $\pm 5,9$ Kg).

Tabela 9. Variáveis antropométricas no *baseline* de PVHIV/aids em TARV, (n = 92). São Paulo, 2015.

Variáveis	n	%	Média(DP)	Valor mínimo	Valor máximo
Peso (Kg)	92		66,8 (12,5)	38,3	97,3
Altura (cm)	92		168,8 (8,9)	144,5	184,9
Índice de Massa Corporal (Kg/m²)*	92		23,4 (3,9)	13,8	34,5
Circunferência da Cintura (cm)**	92		86,6 (9,6)	64,2	107,0
Mulheres			85,5 (10,3)	64,2	107
<80 (Normal)	13	38,2			
≥80 (Obesidade abdominal)	21	61,8			
Homens			82,8 (8,2)	68,4	103
<94 (Normal)	44	75,9			
≥94 (Obesidade abdominal)	14	24,1			
Gordura Corporal (%)***			19,8 (9,1)	3,0	41,8
Mulheres			26,5 (7,9)	13,7	41,8
<20	8	23,5			
20 - 30 (Normal)	10	29,4			
>30	16	47,1			
Homens			16,0 (6,3)	3,0	28,1
<15	21	36,2			
15 - 25 (Normal)	33	56,9			
>25	4	6,9			
Massa Muscular (Kg)			50,5 (9,2)	31,3	69,4
Mulheres	34		40,9 (4,9)	31,1	53,5
Homens	58		56,2 (5,9)	39,8	69,4

Fonte: *OMS (2000); **IDF (2006); ***ARMATRUDA e LINEMEYER (2001); PVHIV, pessoas vivendo com HIV/aids; TARV, terapia antirretroviral.

A Tabela 10 apresenta a comparação das médias das variáveis antropométricas nos diferentes momentos da intervenção, nota-se que esses valores se mantiveram praticamente

constantes. Ressalta-se, assim, que os indivíduos aparentemente não apresentaram alteração na composição corporal ao longo da pesquisa, demonstrando que o consumo do chocolate não impactou negativamente nesses parâmetros.

Tabela 10. Média e desvio padrão (DP) das variáveis antropométricas no *baseline* e nas diferentes suplementações em PVHIV/aids em TARV (n = 92). São Paulo, 2015.

Variáveis	Baseline	Chocolate Preto	Chocolate Placebo	Erva Mate	Chá Placebo	P**
Peso (Kg)	66,8 (12,5)	68,2 (11,5)	68,2 (11,7)	67,7 (11,9)	67,4 (11,7)	0,68
IMC (Kg/m ²)	23,4 (3,9)	23,7 (3,7)	23,7 (3,7)	26,3 (3,7)	23,5 (3,7)	0,95
CC (cm)	86,6 (9,6)	86,8 (9,4)	86,3 (9,3)	86,2 (9,6)	86,1 (9,5)	0,51
Gordura Corporal (%)	19,8 (9,1)	19,3 (8,6)	19,2 (8,6)	19,7 (8,7)	20,3 (11,0)	0,69
Massa Muscular (Kg)	50,5 (9,2)	51,8 (8,5)	51,8 (8,7)	50,8 (10,3)	50,7 (9,0)	0,87

Notas: CC, circunferência da cintura; IMC, índice de massa corporal.

**Comparação das médias (ANOVA) entre todas as suplementações. PVHIV: pessoas vivendo com HIV/aids. TARV: terapia antirretroviral.

6.1.6 Avaliação da Atividade Física

Após avaliação da prática de atividade física pelo IPAQ – versão curta 8.0, observou-se que a maioria dos indivíduos (60,9%), foram classificados como fisicamente ativos ou muito ativos (Tabela 11).

Tabela 11. Distribuição de PVHIV/aids em TARV segundo classificação da prática de atividade física (n = 92). São Paulo 2015.

Variáveis	N	%
Sedentários	3	3,3
Irregularmente ativos	33	35,9
Ativos	44	47,8
Muito ativos	12	13,0

PVHIV, pessoas vivendo com HIV/aids; TARV, terapia antirretroviral.

6.1.7 Caracterização do Perfil Imunológico e Viroológico

Foram incluídos nesta pesquisa indivíduos que apresentavam CV indetectável nos exames prévios à admissão e ao longo do seguimento. A metodologia de bDNA consegue detectar viremias acima de 50 cópias de RNA do HIV-1 por mililitro. A maioria absoluta dos pacientes (97,4%) apresentava CV indetectável no *baseline* e apenas dois pacientes apresentaram detecção de baixa viremia (CV entre 50 e 500 cópias/mL) que é chamada de “*blip*” e não está associada à falência ao tratamento antiretroviral (IBRAHIM *et al.*, 2012). As médias de linfócitos TCD4 e TCD8 foram 596,1 ($\pm 263,4$) células/mm³ e 825,9 ($\pm 349,2$) células/mm³, respectivamente (Tabela 12).

Tabela 12. Distribuição, média e desvio padrão (DP) de PVHIV/aids em TARV segundo as variáveis do perfil imunológico no *baseline* (n=92). São Paulo, 2015.

Variáveis	Média (DP)	Valor mínimo	Valor máximo
Linfócitos TCD4 (cél/mm ³)	596,1 (263,4)	144,0	1314,0
Linfócito TCD8 (cél/mm ³)	825,9 (349,2)	234,0	1950,0

PVHIV: pessoas vivendo com HIV/aids. TARV: terapia antirretroviral.

6.1.8 Exames Bioquímicos

Na Tabela 13 estão descritos os resultados dos exames bioquímicos da população estudada. A maioria dos indivíduos possuíam valores adequados de glicemia (98,9%), colesterol total (56,5%), LDL-c (68,5%), HDL-c (61,9%) e triglicérides (60%).

Tabela 13. Distribuição, média e desvio padrão (DP) de PVHIV/aids em TARV segundo as variáveis bioquímicas no *baseline* (n = 92). São Paulo, 2015.

Variável Bioquímica	N	%	Média (DP)	Mínimo	Máximo
Glicemia (mg/dl)	92		85,7 (27,2)	62	287
Adequado (<99)	91	98,9			
Limítrofe (100 – 125)	1	1,1			
Elevado (≥126)	0	0			
Colesterol total (mg/dl)	92		193,2 (35,2)	125	282
Adequado (<200)	52	56,5			
Limítrofe (200 – 240)	33	35,9			
Elevado (>240)	7	7,6			
LDL-c (mg/dl)	92		114,4 (30,7)	24	285
Adequado (<130)	63	68,5			
Limítrofe (130 – 159)	23	25,0			
Elevado (≥160)	6	6,5			
HDL-c (mg/dl)	92		49,8 (14,8)	23	96
Homens					
Baixo < 40	22	37,9			
Adequado ≥ 40	36	62,1			
Mulheres					
Baixo < 50	13	38,2			
Adequado ≥ 50	21	61,8			
Triglicérides (mg/dl)	92		145,9 (87,0)	24	559
Adequado (<150)	54	58,7			
Limítrofe (150 – 200)	22	23,9			
Risco elevado (200 – 500)	14	15,2			
Alto risco (>500)	2	2,2			

PVHIV, pessoas vivendo com HIV/aids; TARV, terapia antirretroviral; LDL, lipoproteína de baixa densidade; HDL, lipoproteína de alta densidade. Fonte: Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC), 2007.

6.2 CARACTERIZAÇÃO DOS INDIVÍDUOS DO ENSAIO CLÍNICO DE ACORDO COM A ADESÃO AOS SUPLEMENTOS

A Tabela 14 demonstra o padrão de distribuição da adesão dos indivíduos a cada suplemento consumido. Para classificação de adesão à intervenção em estudos clínicos, a literatura internacional considera como boa e baixa adesão o consumo de $\geq 80\%$ e $< 80\%$ dos suplementos, respectivamente (GRANGER *et al.*, 2005; NUNES *et al.*, 2009; NACHEGA *et al.*, 2012).

Tabela 14. Distribuição, média e desvio padrão (DP) da adesão aos suplementos de PVHIV/aids em TARV (n =92). São Paulo, 2015.

Suplemento	N (%)	% consumida dos suplementos	Média (DP) de unidades consumidas em 15 dias*
Chocolate Preto (barras)	77 (83,7)	100	14,63 (1,1)
	12 (13,0)	80-97	
	3 (3,3)	<80	
Chocolate Placebo (barras)	75 (81,5)	100	14,62 (1,1)
	16 (17,4)	80-97	
	1 (1,1)	<80	
Erva Mate (sachês)	76 (82,6)	100	14,71 (0,9)
	15 (16,3)	80-97	
	1 (1,1)	<80	
Chá Placebo (sachês)	80 (87)	100	14,77 (0,6)
	12 (13,0)	80-93	

PVHIV, pessoas vivendo com HIV/aids; TARV, terapia antirretroviral. *Consumo esperado de 15 unidades no período.

Observou-se no presente estudo que, em geral, a média de adesão foi próxima a 15 barras/sachês, pois a maioria dos indivíduos consumiu de 80-100% dos suplementos oferecidos, sendo que apenas cinco indivíduos consumiram menos que 80% dos suplementos. Após a realização dos testes estatísticos (ANOVA e teste t de *Student* pareado) verificou-se que a inclusão destes cinco indivíduos na amostra não alterou os resultados observados.

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

Houve relato de efeito adverso no consumo dos suplementos em 21% dos indivíduos. Em relação ao chocolate foram: enjoos, aumento da frequência intestinal ou ressecamento, aumento da saciedade e aumento da oleosidade da pele. Em relação aos chás: aumento da frequência intestinal ou ressecamento e aumento de apetite. No entanto, os indivíduos tiveram

difficuldade em associar esses sintomas ao uso do suplemento, considerando-se que diversos outros fatores podiam interferir no aparecimento da sintomatologia. Além disso, não foi necessária a exclusão de qualquer participante em decorrência destas observações.

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

A Tabela 15 apresenta variáveis que compõem o perfil inflamatório e oxidativo no *baseline*.

Observou-se que, dos indivíduos incluídos neste estudo, 66,3% apresentavam valores acima do recomendado para PCR-us, sendo que destes 22,8% apresentavam risco relativo elevado de desenvolver DC (PEARSON *et al.*, 2003). Porém, os valores de fibrinogênio apresentaram concentrações dentro da normalidade em 71,7% dos indivíduos.

Leucócitos, neutrófilos, linfócitos e monócitos apresentaram valores dentro da normalidade para a maior parte dos indivíduos (87%; 92,4%; 97,8% e 95,7% respectivamente). Os valores de HDL-c também se encontravam dentro da normalidade para ambos os sexos (homens 62,1%; mulheres 61.8%). A média dos valores de TBARS foi de 14,5 ($\pm 7,8$) $\mu\text{mol/L}$.

Tabela 15. Distribuição, média e desvios-padrão (DP) de PVHIV/aids em TARV, segundo as variáveis do perfil inflamatório e oxidativo no *baseline* (n = 92). São Paulo, 2015.

Variáveis	n	%	Média (DP)	Valor mínimo	Valor máximo
PCR-us (mg/L)	92		3,0 (8,3)	0,1	12,2
<1,0 Risco relativo baixo	31	33,7			
1,0 - 3,0 Risco relativo médio	40	43,5			
> 3,0 Risco relativo alto	21	22,8			
Fibrinogênio (mg/dL)	92		350,6 (121,6)	187	789
150 - 400 Adequado	66	71,7			
>400 Alto	26	28,3			

continua

Tabela 15. Distribuição, média e desvios-padrão (DP) de PVHIV/aids em TARV, segundo as variáveis do perfil inflamatório e oxidativo no *baseline* (n = 92). São Paulo, 2015. *continuação*

HDL-c (mg/dL)	92		49,8 (14,8)	23	96
Homens					
Baixo <40	22	37,9			
Adequado ≥ 40	36	62,1			
Mulheres					
Baixo <50	13	38,2			
Adequado ≥ 50	21	61,8			
Leucócitos (mil/mm)	92		6,0 (2,0)	3,0	13,9
< 4,0 Depleção	10	10,9			
4,0 - 11,0 Adequado	80	87,0			
> 11,0 Elevado	2	2,2			
Neutrófilos (mil/mm)	92		3,5 (1,9)	1,0	11,4
< 1,6 Depleção	3	3,3			
1,6 - 7,0 Adequado	85	92,4			
> 7,0 Elevado	4	4,3			
Linfócito (mil/mm)	92		1,9 (0,6)	0,7	4,0
< 0,9 Depleção	1	1,1			
0,9 - 3,4 Adequado	90	97,8			
>3,4 Elevado	1	1,1			
Monócitos (mil/mm)	92		0,4 (0,1)	0,03	1,0
<0,2 Depleção	3	3,3			
0,2 - 0,9 Adequado	88	95,7			
>0,9 Elevado	1	1,1			
TBARS (μmol/L)	92	100	14,5 (7,8)	3,3	36

Notas: *PCR, proteína C reativa, leucócitos, LDL-c, lipoproteína de baixa densidade, e HDL-c, lipoproteína de alta densidade; **fibrinogênio, ***Leucócitos, ***Neutrófilos; PVHIV: pessoas vivendo com HIV/aids. TARV: terapia antirretroviral.

A Tabela 16 apresenta as médias das variáveis de desfecho dos indivíduos que completaram todas as fases do ensaio clínico.

Quando feita a análise por ANOVA com o comando *pkcross* para ensaios clínicos do tipo *crossover*, houve diferença estatisticamente significativa apenas para os valores de HDL-c (p=0,05). Esta análise leva em consideração, conjuntamente, todas as fases da pesquisa.

Porém, quando feito o teste T de *student*, que permite a comparação de duas fases (*baseline versus* intervenção, *placebo versus* intervenção) separadamente, pode-se observar diferenças estatisticamente significativas em outros parâmetros analisados. Comparando-se as

fases chocolate preto *versus* placebo houve aumento nas concentrações de HDL-c ($p=0,05$), e diminuição nas concentrações de leucócitos ($p=0,01$) e neutrófilos ($p=0,03$). Também se observou resultados estatisticamente significantes quando foram comparadas as fases *baseline versus* chocolate preto. Houve aumento nos valores de HDL-c ($p=0,01$) e diminuição nos valores de leucócitos ($p=0,01$) e neutrófilos ($p=0,02$).

Tabela 16. Variáveis do perfil inflamatório e oxidativo (media $\pm$ DP) no *baseline* e nas diferentes suplementações em PVHIV/aids em TARV (n = 92). São Paulo, 2015.

Variáveis	N	Baseline	N	Chocolate Preto	N	Chocolate Placebo	N	Erva Mate	N	Chá Placebo	P1	P2	P3	P4	P5
Fibrinogênio (mg/dL)	92	350,6 (121,6)	92	338,6 (120,6)	90	337,9 (96,7)	89	358,9 (124,5)	91	329,5 (111,4)	0,45	0,99	0,30	0,80	0,14
PCR (mg/L)	92	3,0 (8,3)	92	2,7 (3,4)	92	3,1 (6,2)	92	3,78 (7,26)	92	2,4 (4,2)	0,29	0,96	0,37	0,73	0,07
TBARS (μmol/L)	92	14,3 (7,7)	92	14,6 (8,1)	92	14,5 (7,3)	92	14,6 (7,6)	92	14,3 (7,9)	0,60	0,81	0,70	0,58	0,61
HDL-c (mg/dL)	92	49,8 (14,8)	92	52,1 (15,0)	92	50,7 (15,0)	92	50,3 (14,6)	92	49,5 (14,0)	0,05	0,18	0,01	0,18	0,05
Leucócitos (mil/mm)	92	6,0 (2,0)	92	5,6 (1,4)	92	5,9 (1,5)	92	5,8 (1,4)	92	5,8 (1,8)	0,01	0,58	0,01	0,11	0,20
Neutrófilos (mil/mm)	92	3,5 (1,8)	92	3,2 (1,2)	92	3,4 (1,3)	91	3,3 (1,3)	92	3,3 (1,5)	0,03	0,63	0,02	0,12	0,37
Linfócitos (mil/mm)	92	1,9 (0,6)	92	1,9 (0,6)	92	1,9 (0,8)	92	1,9 (0,7)	92	1,9 (0,7)	0,15	0,63	0,38	0,77	0,73
Monócito (mil/mm)	92	0,4 (0,1)	92	0,4 (0,3)	92	0,4 (0,2)	91	0,4 (0,2)	92	0,4 (0,3)	0,26	0,32	0,38	0,26	0,87

Teste t *Student* pareado: P1, chocolate preto *versus* placebo; P2, chá placebo *versus* Erva Mate; P3, *baseline versus* chocolate preto; P4 *baseline versus* Erva Mate; P5 Comparação das médias (ANOVA) entre todas as suplementações. PVHIV/aids: pessoas vivendo com HIV/aids; TARV: terapia antirretroviral.

O gráfico 5 apresenta as variações nas concentrações (média $\pm$ IC) dos neutrófilos, leucócitos e HDL-c após intervenção com chocolate preto. Houveram alterações significantes nas médias das concentrações de neutrófilos, leucócitos e HDL-c após o uso de chocolate preto quando comparado com o *baseline* e placebo segundo o teste T de *student*.

Gráfico 5. Média e intervalo de confiança das variáveis investigadas (neutrófilos, leucócitos e HDL-c) que apresentaram resultado estatisticamente significativo após suplementação com chocolate preto. N=92, São Paulo, 2015.

7. DISCUSSÃO

7.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS DA AMOSTRA

Nesta pesquisa, observou-se predomínio de participantes do sexo masculino, caucasianos, com média de idade de 45 anos. Sendo o tempo médio de infecção de 13 anos, os dados estão de acordo com o Boletim Epidemiológico de HIV/aids do MS (2011a), que mostra no ano de 2000 maior número de notificações da doença entre homens, da raça branca, principalmente na faixa etária dos 30 a 35 anos.

As condições socioeconômicas, renda per capita e escolaridade dos participantes da pesquisa foram superiores à média nacional. Cerca de 48% dos indivíduos referiu renda per capita de 1 a 4 salários mínimos, mais da metade completou o ensino médio e cerca de 32% finalizou o ensino superior. De acordo com o Censo de 2010 (IBGE, 2010), a maior parte da população brasileira não completou o ensino fundamental, e a média da renda per capita é de até 1 salário mínimo. No entanto, os resultados são mais similares às características da população do estado de São Paulo, onde 66% estão na mesma faixa de renda, e grande parte já concluiu o ensino médio (SEADE, 2013). Essa diferença se justifica pelo fato do estado apresentar alta taxa de urbanização, abrangendo uma das grandes metrópoles brasileiras e, portanto, melhores condições socioeconômicas.

Com relação ao estilo de vida, observa-se prevalência do tabagismo na população estudada de aproximadamente 18%, muito semelhante a apontada pela pesquisa de vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico (19,3%) (MS, 2012b) para o município de São Paulo. Em uma população saudável, o tabagismo, mesmo que moderado (<20 cigarros/dia) está relacionado ao aumento do perfil inflamatório e EO (PAPPAS, 2011). Como esperado, os indivíduos que referiam fazer uso de tabaco

apresentaram valores médios de fibrinogênio e TBARS aumentados em relação aos que não faziam uso 339,1mg/dL ($\pm 114,2$) e 13,7 μ mol/L ($\pm 7,8$) *versus* 391,7mg/dL ($\pm 156,6$) e 16,6 μ mol/L ($\pm 7,4$) respectivamente.

O consumo habitual de bebidas alcoólicas (ingestão de bebida alcoólica nos últimos 30 dias, independente da dose) foi referido por metade da amostra (50%); taxas similares foram encontradas por outros pesquisadores (KAIO *et al.*, 2013; OLIVEIRA *et al.*, 2014). Sabe-se que o consumo de bebidas alcoólicas está relacionado com alterações no perfil inflamatório e oxidativo na população em geral. De acordo com estudos anteriores em PVHIV, o consumo de álcool demonstrou piorar o perfil inflamatório e prejudicar a resposta imunológica (POTULAR *et al.*, 2006; LEHNERT *et al.*, 2014).

O número de indivíduos praticantes de atividade física no presente estudo foi maior do que o encontrado por outros pesquisadores. Na população deste estudo apenas 3,3% dos participantes foram classificados como sedentários, enquanto nas pesquisas de KAIO, *et al.* (2013) e FLORINDO *et al.* (2007) foram encontradas prevalências de 67% e 50% de inatividade respectivamente. É importante enfatizar que nos estudos citados anteriormente não foi utilizado o mesmo instrumento de avaliação da atividade física.

O IPAQ inclui atividades diárias (limpeza da casa, pequenos trajetos de caminhada, subida de escada, etc.) como exercício físico, o que pode ter influenciado na diminuição da prevalência de sedentarismo. 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.).

A atividade física é um fator que contribui para a melhora do perfil inflamatório em indivíduos portadores de doenças inflamatórias crônicas, como artrite reumatoide e doenças inflamatórias do músculo, agindo na diminuição de marcadores como PCR e IL6 (NADER *et al.*, 2009). Em PVHIV/aids submetidas a prática de atividade física controlada, foi observado

diminuição da porcentagem de gordura corporal e redução dos valores de linfócitos e monócitos (SIMÕES e GOMES, 2006). O fato dos participantes da presente pesquisa, na sua maioria, não serem classificados como sedentários, pode ter contribuído para os valores bioquímicos estarem dentro da normalidade.

O histórico familiar de doenças cardiometabólicas é fator de risco para DCVs (SBC, 2007). Ainda que não sejam dados fidedignos, uma vez que foram obtidos por autorrelato, 45,6% dos participantes referiu histórico materno de hipertensão, 28,3% de dislipidemia e 26,1% de diabetes. Já em relação ao pai, 31,5% relataram hipertensão, 13% dislipidemia e 19,6% diabetes. Sabe-se que a associação do histórico familiar para dislipidemia só é válida quando ocorrido antes dos 55 anos para homens e 65 anos para mulheres, porém, no presente estudo a maioria dos indivíduos não sabia informar a idade de ocorrência da doença familiar. A prevalência das doenças investigadas era aparentemente maior para as mães do que para os pais desses indivíduos. Sendo os marcadores inflamatórios potentes preditores de DCVs e levando em consideração o número de indivíduos referindo histórico familiar de AVC/IAM, obesidade e dislipidemia, se faz pertinente o acompanhamento contínuo desses marcadores para o controle adequado da infecção pelo HIV e suas comorbidades.

Com relação ao esquema de TARV, a maior parte dos participantes estava em uso da associação ITRN + ITRNN e ITRN + IP, compatível com recomendação de início de terapia do MS (2013), correspondendo aos esquemas preferencial e alternativo, respectivamente

Da amostra total, foi detectado em momentos distintos da pesquisa, baixa viremia ou “*blip*” em dois participantes. De acordo com IBRAHIM *et al.* (2012), relação sexual desprotegida com parceiros com HIV e maior tempo de TARV estão relacionados com essa ocorrência. No entanto, a adesão adequada à TARV e os valores de linfócitos TCD4 e TCD8 dentro da normalidade indicam que o tratamento foi adequado (MANUAL DE EXAMES – FM/USP, 2013).

O estado nutricional dos indivíduos da amostra é semelhante a outros estudos (FLORINDO *et al.*, 2007; KAIO, 2013). A melhoria das condições de saúde de PVHIV/aids, em decorrência da TARV, reflete também no maior número de indivíduos eutróficos. Ao mesmo tempo, o uso da TARV está associado a maior incidência de obesidade central (SOUZA *et al.*, 2013). O acúmulo de gordura na região abdominal, associado à perda de gordura subcutânea, alterações no perfil lipídico e no metabolismo da glicose é denominado lipodistrofia, e representa mais um fator associado às alterações oxidativas e inflamatórias no metabolismo de PVHIV/aids (SEVASTIANOVA *et al.*, 2008).

Cerca de 38% dos indivíduos incluídos na pesquisa apresentaram circunferência da cintura aumentada, principalmente as mulheres (61,8%). Outros autores observaram prevalências similares de adiposidade central, diagnosticada a partir da relação cintura/quadril (JAIME *et al.*, 2006; FLORINDO *et al.*, 2007).

Apesar dos participantes terem apresentado acúmulo de gordura visceral, a maioria se encontrava dentro dos parâmetros antropométricos recomendados, assim como as médias dos exames bioquímicos.

7.2. PERFIL INFLAMATÓRIO E OXIDATIVO DOS INDIVÍDUOS

Este ensaio clínico teve por objetivo avaliar o efeito antioxidante e anti-inflamatório dos compostos fenólicos do cacau e da erva mate em PVHIV/aids em TARV. Dosagens sanguíneas de PCR-us, fibrinogênio, células da série branca, HDL-c e TBARS foram realizadas para determinar alterações do perfil inflamatório e oxidativo destes indivíduos.

Alguns autores já demonstraram que a infecção controlada não é suficiente para suprimir o quadro de inflamação crônica de PVHIV/aids, possivelmente decorrente da própria

presença do vírus, da TARV e dos fatores de risco associados como a translocação bacteriana e presença de doenças oportunistas. (HSUE *et al.*, 2009; TIEN *et al.*, 2010).

7.2.1 PCR-us

A média dos valores de PCR-us na presente pesquisa indica que a maioria dos participantes possuía risco cardiovascular médio e alto, a partir dos parâmetros para população saudável (PEARSON *et al.*, 2003). Segundo LAU *et al.*, (2006), valores de PCR-us iguais ou acima de 2,3mg/L fazem com que o tempo entre a infecção pelo HIV e o desenvolvimento da aids diminua aproximadamente pela metade. As médias dos valores de PCR-us se mantiveram acima de 2,3 durante toda a pesquisa, demonstrando que, até PVHIV estáveis, com CV indetectável e boa adesão a TARV apresentam inflamação crônica e risco de desenvolvimentos da aids.

7.2.2 Fibrinogênio

Os valores de fibrinogênio, em média, permaneceram dentro dos parâmetros recomendados. Segundo BO *et al.* (2004) o tecido adiposo e as concentrações de LDL-c estão associadas com os valores de fibrinogênio no plasma mesmo em indivíduos eutróficos, o que justifica, em parte os resultados encontrados, considerando que a maior parte da amostra possuía valores de CC e LDL-c dentro da normalidade. O mecanismo envolvido na associação entre tecido adiposo e as concentrações dos reagentes de fase aguda, está relacionado a secreção de IL-6 pelo tecido adiposo, interleucina essa relacionada à regulação da síntese de fibrinogênio e PCR (BO *et al.*, 2004). O uso da TARV também parece influenciar os valores de fibrinogênio, a classe dos IPs possui relação com o aumento das concentrações deste

marcador. Os indivíduos que faziam uso de IP neste estudo o faziam em associação à um ITRN, esta classe já foi relacionada à menor concentração de fibrinogênio, mesmo quando em uso concomitante à um medicamento da classe dos IPs (MADDEN *et al.*, 2008). Além disso, mais da metade dos indivíduos fazia uso da combinação ITRN+ITRNN. Outro fator que pode ter influenciado os resultados é que a maioria dos integrantes da pesquisa eram caucasianos. Em estudo conduzido por OMOREGIE *et al.* (2008), com PVHIV da raça negra, foram observados valores médios de fibrinogênio acima dos encontrados neste estudo ($513 \text{ mg/dL} \pm 1,9$).

7.2.3 Células da Série Branca

A ativação e o recrutamento das células da série branca representam a primeira forma de defesa do organismo contra inflamações e processos infecciosos. As células polimorfonucleares (PMN) representam 50-60% dos glóbulos brancos e atuam diretamente no local da inflamação, sendo sua grande maioria composta por neutrófilos (ZAGO *et al.*, 2004).

A contagem média de leucócitos dos participantes permaneceu dentro dos valores da normalidade durante toda pesquisa. Porém pode-se observar redução estatisticamente significativa nos valores de leucócitos totais e neutrófilos com o consumo do chocolate preto quando comparado com o *baseline* e quando comparado com o chocolate placebo. Pesquisas associam a elevação da contagem de leucócitos ao risco cardiovascular e de mortalidade em geral, mesmo dentro dos parâmetros da normalidade. Isto porque esta elevação reflete um estado crônico de inflamação e sua diminuição está relacionada ao controle deste quadro (HAJJ-ALI *et al.*, 2001).

Já foi observado que PVHIV em TARV apresentam contínua hiperativação de células PMN, o que pode estar associado ao desequilíbrio do mecanismo de necrose/apoptose

observado nessa população. Esse desequilíbrio leva ao comprometimento da fagocitose pelas células PMNs e possui relação com o quadro de inflamação crônica de PVHIV/aids (CAMPILLI-GIMENEZ *et al*, 2014).

O aumento de neutrófilos ocorre em parte pelo estímulo da IL-8, que é liberada por macrófagos e atrai os neutrófilos para o local de inflamação. A ativação de neutrófilos está relacionada ao aumento da enzima mieloperoxidase (MPO), responsável pela oxidação de compostos endógenos, sendo que sua ação leva a liberação das EROs (HEILIGENBERG *et al*, 2013).

KENNY *et al.*, (2009), demonstraram em estudo *in vitro* que os flavonóides e procianidinas isolados do cacau podem modular a resposta oxidativa e inflamatória mediada pelas células polimorfonucleares. O mecanismo proposto está na inibição da produção das EROs pelos lipopolissacarídeos por meio da modulação de moléculas de adesão, que contribuem para ativação de células polimorfonucleares.

Também foi observado em estudo *in vivo*, conduzido por HEPTINSTALL *et al.*, (2006), que após utilização de bebida à base de chocolate rica em compostos fenólicos, houve diminuição na ativação de monócitos e neutrófilos. Porém neste estudo, foi proposto que outros componentes do cacau, além dos fenólicos, possam ter colaborado com o resultado observado.

DAVISON *et al.*, (2012), não encontraram alteração na magnitude da resposta leucocitária e de neutrófilos em indivíduos que consumiram 100g de chocolate preto 2 horas antes da prática de atividade física.

As alterações na concentração de leucócitos e neutrófilos são influenciadas por diversos fatores externos como estresse, uso de tabaco, álcool e prática de atividade física intensa e outros internos como produção de corticoides, adrenalina, infecções bacterianas e algumas virais. Sendo assim, e com a divergência na literatura sobre o efeito dos fenólicos nas

células PMN, deve-se ter cautela ao alegar que a diminuição nos leucócitos e neutrófilos observada neste estudo, se deve a ação dos fenólicos do cacau.

7.2.4 Perfil Lipídico

Avaliando a distribuição dos indivíduos segundo os parâmetros recomendados para o perfil lipídico, nota-se que valores aumentados foram observados em cerca de 40% da amostra para colesterol total, triglicérides e um terço para LDL-c, aproximadamente 40% dos indivíduos se encontravam com HDL-c reduzido. Sabe-se que o HDL-c é uma partícula com efeito anti-inflamatório no organismo e a LDL-c quando oxidada leva ao aumento do EO e liberação de marcadores inflamatórios (BAKER *et al.*, 2009; MELLO *et al.*, 2011). O quadro de dislipidemia é comum em PVHIV/aids e o monitoramento desses resultados deve ser feito de modo regular, uma vez que, as alterações do perfil lipídico no processo aterosclerótico já são bem estabelecidas na literatura (OH e HEGELE, 2007; ALMEIDA *et al.*, 2009; SBC, 2007).

7.2.5 TBARS

O estado inflamatório está relacionado a lesões celulares e ao EO. A análise do TBARS, indica a presença de peroxidação lipídica (WALTER *et al.*, 2004; TANAKA *et al.*, 2011). Em estudo prospectivo realizado por TANAKA *et al.* (2011) envolvendo indivíduos não HIV, foi demonstrado risco relativo 3,2 vezes maior de ocorrência de IAM ou AVC em indivíduos posicionados nos maiores tercís da distribuição de TBARS ($>5,3 \mu\text{mol/L}$) quando comparados aqueles nos tercís mais baixos ($<4,2 \mu\text{mol/L}$). Os participantes desta intervenção apresentaram altos valores de TBARS plasmáticos, com média de $14,5 \pm 4,9 \mu\text{mol/L}$ durante

toda pesquisa. Em estudo realizado em São Paulo, indivíduos saudáveis na faixa etária de 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 estudos com PVHIV/aids em TARV, que referem valores de TBARS de $6,28 \pm 1,3 \mu\text{mol/L}$ (NGONDI et al., 2006). Isso pode estar relacionado ao longo tempo de exposição dos indivíduos ao vírus e ao tratamento antirretroviral.

7.3 EFEITO DA INGESTÃO DE CHOCOLATE E CHÁ MATE NO PERFIL INFLAMATÓRIO E OXIDATIVO DOS INDIVÍDUOS.

Este é o primeiro ensaio clínico que buscou avaliar o efeito da ingestão de chocolate e erva mate no perfil inflamatório e oxidativo de PVHIV/aids em TARV.

Esses alimentos são ricos em polifenóis, os quais tem sido foco de diversos estudos por suas características anti-inflamatórias e antioxidantes (SCHROETER *et al*, 2006, LANZETTI *et al*, 2008, JIA *et al*, 2010, PUANGPRAPHANT *et al*, 2013), podendo levar a diminuição das comorbidades associadas ao risco cardiovascular, muito presentes em PVHIV/aids.

Observou-se que houve boa adesão ao suplemento por parte dos indivíduos deste estudo, com média de consumo próxima a 15 barras ou sachês. Este perfil pode ser justificado pelo nível de escolaridade dos participantes, visto que a maioria concluiu o ensino médio, facilitando a compreensão sobre a importância do consumo dos suplementos. Além disso, os indivíduos deste estudo, por serem portadores de uma doença crônica, necessitam de acompanhamento frequente no ambulatório (Casa da AIDS ou Instituto de Infectologia Emílio Ribas), para o acompanhamento com infectologistas e demais profissionais da saúde e retirada de medicamentos. Desta forma existe certa "dependência" por parte dos indivíduos participantes da pesquisa aos locais onde foi realizado o projeto de intervenção. Esta "dependência" promove vínculo entre os pacientes e os profissionais da saúde, bem como com

os membros da equipe de pesquisa, o que pode ter facilitado a relação de confiança e interesse dos indivíduos em consumir os suplementos, resultando em boa adesão.

Os indivíduos foram orientados a manter o mesmo estilo de vida em relação à atividade física e dieta durante todo o seguimento, além de não consumir outro tipo de chocolate ou chá. Estas recomendações foram preconizadas para não haver interferência nas variáveis de desfecho e manter o delineamento *crossover*. Recomendações semelhantes foram observadas em outros estudos de suplementação com chocolate ou erva mate (BABA *et al.*, 2007; de MORAES *et al.*, 2009).

7.3.1 Chocolate

Quando feita a análise das variáveis do perfil inflamatório e oxidativo por ANOVA, apenas o HDL-c apresentou melhora significativa nas suas concentrações ($p = 0,05$).

Entretanto, após a realização do teste t de *Student* pareado entre chocolate preto *versus* *baseline* pôde-se observar aumento significativo de HDL-c ($p=0,01$) e melhora nos parâmetros de leucócitos ($p=0,01$) e neutrófilos ($p=0,02$). E quando comparadas as fases chocolate preto *versus* placebo também foi possível observar melhora nos parâmetros de leucócitos ($p=0,01$), neutrófilos ($p = 0,03$) e HDL-c ($p = 0,05$).

Em relação ao aumento do HDL-c, sabe-se que esta partícula apresenta propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes, atuando na inibição da oxidação da LDL-c através das enzimas associadas às suas apoproteínas, como a paraxonase-1, a qual pode prevenir ou mesmo reverter o processo oxidativo. Essas enzimas agem na diminuição da expressão de moléculas de adesão na superfície das membranas celulares endoteliais, responsáveis pela adesão de leucócitos no endotélio vascular, na cascata precoce de eventos que levam aos processos de inflamação (VÁZQUEZ-AGELI, 2011).

Com quantidades dos suplementos alimentares e tempo de administração semelhantes ao do presente estudo, MURSU *et al.*, (2004) em ensaio clínico com indivíduos saudáveis ofereceram 75g de chocolate preto (274mg de polifenóis) ou chocolate preto enriquecido com polifenóis (418mg de polifenóis) por 3 semanas, verificando aumento das concentrações de HDL-c (11% e 14% para chocolate preto e chocolate preto enriquecido respectivamente). Baba *et al.*, (2007), em ensaio clínico envolvendo homens japoneses eutróficos, que consumiram 26g/dia de pó de cacau por 12 semanas, observaram aumento significativo de HDL-c (23,4%) no plasma. Estes achados são provavelmente relacionados com os componentes do chocolate, como os ácidos graxos e polifenóis (flavan-3-ols, flavonols).

Além do aumento da partícula de HDL-c, pode-se observar, no presente estudo, melhora nas concentrações de células da série branca. Em concordância, KENNY *et al.*, (2009) demonstraram que as procianidinas e os flavonoides do cacau atuam na redução ao estímulo as células polimorfonucleares, como os leucócitos e neutrófilos, que representam as primeiras células a serem recrutadas para os locais de inflamação.

ESSER *et al.*, (2014) em estudo do tipo *crossover*, com tempo de intervenção e quantidade de chocolate semelhantes ao presente estudo (70g de chocolate amargo por 4 semanas), observaram que o consumo do chocolate diminuiu a contagem total de leucócitos, assim como a concentração das moléculas de adesão sICAM1 e sICAM3 e marcadores de adesão leucocitária. O consumo de chocolate também reduziu a expressão das proteínas de superfície CD66b e CD11c nos neutrófilos, envolvidas no recrutamento e aderência de leucócitos no endotélio durante as primeiras etapas da formação da placa de ateroma, resultando em um quadro menos aterogênico e com menor estímulo inflamatório.

Desta forma, estudos com chocolate preto ou derivados do cacau, ricos em polifenóis, demonstraram resultados benéficos em seu consumo.

Mas, em geral, os resultados são controversos, os estudos clínicos geralmente encontram melhora em poucos parâmetros do perfil inflamatório e são conduzidos com populações clinicamente distintas.

Além disso, a maioria dos estudos que encontraram resultados benéficos envolveram indivíduos com sobrepeso/obesidade ou com prévia alteração cardiovascular e nenhum estudo foi conduzido com PVHIV/aids. Estas características são contrárias àquelas observadas na população do presente estudo, onde a maioria era eutrófica, ativa e sem DCVs. Além disso, por se tratar de uma população HIV+, a resposta metabólica do organismo infectado com o HIV pode ser diferente da encontrada em indivíduos não portadores do vírus. Isso pode justificar em parte, os parâmetros que não apresentaram alteração com o consumo do chocolate.

7.3.2 Chá Mate

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

Neste estudo não foram observadas alterações nos parâmetros inflamatórios e oxidativos com a administração de chá mate.

Comparando os resultados do presente estudo com os resultados do estudo *in vivo* de MOSIMAM *et al.*, (2006), o qual envolveu 32 ratos separados em 4 grupos (controle, mate controle, hipercolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos-mate) verificou-se que mesmo com quantidade e tempo maiores de administração de chá mate (2 meses de tratamento com 400mL

de extrato de mate/dia), não houve alteração de HDL-c, TBARS e na ação de enzimas antioxidantes. No entanto, houve diminuição da área aterosclerótica no grupo hipercolesterolêmico-mate.

Já em estudo conduzido por MATSUMOTO *et al.* (2009), com 15 mulheres saudáveis, orientadas a consumir 5g de chá mate instantâneo diluído em 500mL de água uma vez por dia durante 7 dias, foi observado melhora no perfil oxidativo, apontado pela diminuição nos valores de TBARS, após a administração aguda (1 hora de ingestão) e crônica de chá mate (7 dias de ingestão). Aparentemente o tempo e/ou a concentração podem interferir nos resultados, já que MATSUMOTO *et al.* (2009) utilizaram menor tempo de intervenção e maior concentração de chá mate quando comparado ao presente estudo. Outro fator importante é a população estudada apresentar diferentes características, sendo que o metabolismo de PVHIV/aids pode interagir de maneira diferente com os polifenóis.

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

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

Outro fator que já foi observado em estudo anterior é a diminuição da gordura corporal com a administração de erva mate (FUJII *et al.*, 2013). No presente estudo esse efeito não foi observado, porém, o fato da administração de chocolate preto e branco por 15 dias cada não ter alterado o peso e a porcentagem de gordura corporal dos participantes, pode estar relacionado ao controle exercido pelo chá mate nesses parâmetros.

Com base nos resultados da literatura conclui-se que o consumo de erva mate aparentemente é benéfico em alguns parâmetros inflamatórios e oxidativos de indivíduos saudáveis e com DCVs. Mas no presente estudo, não se observou impacto com a administração de chá mate, o que pode ser explicado pelas diferenças entre as populações, a quantidade e tempo de mate consumido.

7.3.3 Biodisponibilidade dos Polifenóis do Cacau e Erva Mate

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

Parte do princípio que a ingestão diária do nutriente não obrigatoriamente reflete a quantidade que atingirá o alvo fisiológico, uma vez que durante o processo de digestão e metabolização, uma parte dos nutrientes será perdida. Entretanto, para que esse possa exercer seu efeito, deve estar acessível nas células em concentrações adequadas (ARRANZ *et al.*, 2013). Os compostos bioativos, como os fenólicos, são reconhecidos como xenobióticos pelo organismo, estimulando os mecanismos de detoxificação e eliminação. A concentração fisiológica destes compostos é relativamente restrita e a biodisponibilidade desempenha um importante papel (HOLST *et al.*, 2008).

Muitos fatores podem alterar a biodisponibilidade dos polifenóis nos alimentos, como a forma química do composto estudado, estrutura e quantidade dos outros compostos ingeridos concomitantemente (fatores exógenos), o tempo de trânsito intestinal, esvaziamento gástrico, metabolismo do composto, composição da microbiota intestinal dentre outros fatores (SCHOLTZ e WILLIAMSON, 2007; CROZIER *et al.*, 2009; OLIVEIRA e BASTOS, 2011).

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

Entretanto, ainda não existe consenso sobre a estabilidade gástrica destes polifenóis. SPENCER *et al.* (2000) demonstraram que no ambiente ácido do estômago, as procianidinas são hidrolisadas a misturas de monômeros e dímeros de epicatequinas. No entanto, RIOS *et al.* (2002) observaram que durante o trânsito gástrico, as procianidinas atingiram o intestino delgado intactas, disponíveis para absorção.

A matriz alimentícia e o processo industrial também podem influenciar a biodisponibilidade dos compostos fenólicos no organismo (COZZOLINO, 1997; COOPER *et al.*, 2008), não havendo consenso sobre qual seria a melhor escolha para veicular essas substâncias. Sabe-se que muitos dos processos usados na fabricação de alimentos à base de cacau, como torra, fermentação e alcalinização, podem reduzir a quantidade de alguns compostos bioativos (ANDRES-LACUEVA, 2008; PAYNE *et al.*, 2010); o efeito matriz-dependente não foi totalmente elucidado. O consumo de cacau em combinação com leite já demonstrou reduzir a ação dos flavonoides, provavelmente pela capacidade dos polifenóis em se ligarem a proteínas (SERAFINE *et al.*, 2003; FERRUZZI *et al.*, 2012). Porém, tanto o pó de cacau quanto barras de chocolate já foram relacionados à melhora dos perfis inflamatório e oxidativo, sendo que a porcentagem de componentes não gordurosos do cacau no alimento, parece exercer maior impacto que a matriz alimentar (MILLER *et al.*, 2006; CORTI *et al.*, 2009; PAYNE *et al.*, 2010). Da mesma forma, tanto a infusão da erva mate quanto a erva mate instantânea diluída em água aumentaram o poder antioxidante do plasma humano (MENINI *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2008; MORAIS *et al.*, 2009; MATSUMOTO *et al.*, 2009).

Outros nutrientes consumidos também impactam na biodisponibilidade, podendo interagir com o nutriente de interesse, modificando o processo digestivo e de metabolização, tais como tempo de esvaziamento gástrico e de trânsito intestinal (COZZOLINO, 1997; FERRUZZI *et al.*, 2012).

RODRIGUES-MATEO *et al.* (2012) observaram que, os indivíduos eutróficos da amostra apresentaram menor absorção dos compostos fenólicos com o consumo de chocolate isento de açúcar, mas adicionado de edulcorantes. Os autores ressaltam que o manitol costuma produzir intolerância gastrointestinal, ainda que isso não tenha sido relatado pelos participantes da amostra. Já FARIDI *et al.* (2008) discutem a possível interferência do açúcar na biodisponibilidade dos polifenóis do cacau. Ainda que não tenham avaliado marcadores de biodisponibilidade, observaram melhora significativa na função endotelial de adultos com excesso de peso após o consumo de pó de cacau isento de açúcar, diluído em água quente, quando comparado ao adoçado.

O chocolate consumido pelos participantes do presente ensaio clínico continha sacarose, e os indivíduos também puderam adoçar o chá mate conforme sua preferência. Assim, embora não esteja claro, é possível que tanto o açúcar como os edulcorantes possam ter influenciado na absorção dos compostos bioativos.

Outro nutriente que pode ter influenciado a biodisponibilidade é a composição proteica da dieta. Até o momento há evidências da formação de complexos com enzimas, principalmente na boca e intestino, porém ainda não estabelecida sua relevância fisiológica. Enquanto autores defendem que a proteína pode atenuar os benefícios dos polifenóis (LOFFREDO *et al.*, 2011), outros não observaram diferenças relacionadas a adição de matriz proteica 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 da refeição. Desse modo, é possível concluir 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 todas as interferências, apenas cerca de 5 a 10% dos polifenóis são absorvidos no duodeno, sendo que o restante segue para o cólon, onde será metabolizado pela microbiota, para depois ser absorvido (MONAGAS *et al.*, 2010; BARNES *et al.*, 2011; QUINONES *et al.*, 2012).

Sabe-se que a microbiota das PVHIV/aids sofre alterações de cepas. De acordo com GORI *et al.* (2008) e ELLIS *et al.* (2013) as amostras de fezes de PVHIV/aids possuem quantidades significativamente elevadas de *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*, e redução na população de bifidobactérias e lactobacilos quando comparados a 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 das PVHIV/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, infecções, doenças oportunistas, e pelo uso da TARV.

De acordo com os critérios de exclusão, os indivíduos não apresentavam infecções ou doenças oportunistas, no entanto, alguns referiam alteração no trânsito intestinal e uso de antibióticos.

A presente pesquisa não explorou marcadores de biodisponibilidade dos polifenóis presentes nos suplementos utilizados na intervenção, o que restringe conclusões sobre essa hipótese. Na literatura esse tema também foi pouco explorado em relação aos vários estudos que focam na ação dos polifenóis na saúde. No entanto, os resultados disponíveis apontam para biodisponibilidade relativamente baixa em humanos (ARRANZ *et al.*, 2013).

8. LIMITAÇÕES DO ESTUDO

A perda de parte da amostra pode ser considerada um fator limitante deste estudo. Porém segundo FEWTRELL *et al.* (2013), avaliar o impacto da perda de seguimento, através da comparação das características das populações excluída e incluída no estudo, é uma forma de evitar que haja viés de sobrevivência seletiva.

Ao analisar a amostra perdida da população do estudo, podemos observar que, em geral, possuíam as mesmas características sócio demográficas, antropométricas e de consumo de álcool e tabaco, fatores estes que poderiam influenciar na resposta ao tratamento (Tabela 3). Apenas a idade foi diferente entre os grupos, apesar de este ser um fator que poderia influenciar na resposta inflamatória, ao observar a comparação das médias da PCR-us, fibrinogênio e HDL-c, podemos concluir que ambos os grupos possuíam características semelhantes do perfil inflamatório.

O fato dos indivíduos serem controles deles mesmos também minimiza qualquer tipo de viés relacionado à perda de segmento.

9. CONCLUSÃO

Este é o primeiro estudo clínico da literatura internacional que avaliou o efeito da ingestão de chocolate e erva mate no perfil inflamatório e EO em PVHIV/aids em TARV.

A condução deste ensaio clínico permite concluir que o consumo de 65g de chocolate amargo (2148mg de fenóis totais em média) foi suficiente para aumentar as concentrações de HDL-c e diminuir as médias dos valores de leucócitos e neutrófilos. A suplementação com 3g de erva mate solúvel (323,18mg de fenólicos e totais e 84,24mg de ácido clorogênico em média) por quinze dias não alterou os marcadores e parâmetros do perfil inflamatório e oxidativo destes indivíduos.

Os resultados observados podem ser devido ao metabolismo diferenciado dos indivíduos HIV/aids em TARV, os quais apresentam alterações metabólicas devido à própria infecção e pelo uso da terapia, também pelo tempo de intervenção e quantidade de suplementos oferecidos e pela concentração de polifenóis nos suplementos, que pode não ter sido suficiente para gerar alterações importantes nas variáveis de desfecho.

Além disso, ainda não existe um consenso na literatura sobre a biodisponibilidade dos polifenóis presentes nos suplementos administrados, e de outros fatores que podem influenciar esta ação metabólica, como a microbiota intestinal alterada de PVHIV/aids.

Assim, a ausência dos efeitos desejados evidencia a necessidade de cautela na alegação de benefícios no perfil inflamatório e oxidativo no consumo de chocolate e a erva mate na população estudada.

10. REFERÊNCIAS

- Actis-Goretta L, Lévêques A, Giuffrida F, Romanov-Michailidis F, Viton F, Duenas-Paton M, et al. Elucidation of (-)-epicatechin metabolites after ingestion of chocolate by healthy humans. *Free Radic Biol Med*. 2012;53:787-95.
- 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;138:725-31
- Almeida LB, Giudici kv, Jaime PC. Consumo alimentar e dyslipidemia decorrente da terapia antiretroviral combinada para infecção pelo HIV: uma revisão sistemática. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2009;53(5):519-27.
- Andres-Lacueva C, Monagas M, Khan N, Izquierdo-Pulido M, Urpi-Sarda M, Permanyer J, et al. Flavanol and flavonol contents of cocoa powder products: influence of the manufacturing process. *J Agric Food Chem*. 2008;56(9):3111-7.
- Anesini C, Ferraro G, Filip R. Peroxidase-like activity of *Ilex Paraguariensis*. *Food Chem*. 2006;97(3):459-64.
- Antolovich M, Prenzler PD, Patsalides E, McDonald S, Robards K. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*. 2002;127:183-98.
- Arçari DP, Bartchewsky W, dos Santos TW, Oliveira KA, Funck A, Pedrazzoli J, et al. Antiobesity effects of yerba maté extract (*Ilex paraguariensis*) in high-fat diet-induced obese mice. *Obesity (Silver Spring)*. 2009;17(12):2127-33.
- Armstruda JM, Linemeyer DL. Obesity. In: Felig P. Frohmann LA. *Endocrinology Metabolism*. 4 ed. USA: McGraw Hill; 2001.p945-79.
- 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.
- Aukrust P, Muller F, Svardal AM, Ueland T, Berge RK, Froland SS. Disturbed glutathione metabolism and decreased antioxidants levels in human immunodeficiency virus-infected patients during highly active antiretroviral therapy – Potential immunomodulatory effects of antioxidants. *J Infect Dis*. 2003;188:232-8.
- Baba S, Osakabe N, Kato Y, Natsume M, Yasuda A, Kido T et al. Continuous intake of polyphenolic compounds containing cocoa powder reduces LDL oxidative susceptibility and has beneficial effects on plasma HDL-cholesterol concentrations in humans. *Am J Clin Nutr*. 2007;85:709-17.
- Bacchetti P, Gripshover B, Grunfeld C, Heymsfield S, McCreath H, Osmond D, et al. Fat distribution in men with HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2005;40(2):121-31.
- Baker JV, Henry WK, Neaton JD. The consequences of HIV infection and antiretroviral therapy use for cardiovascular disease risk: shifting paradigms. *Curr Opin HIV AIDS*. 2009;4:176-82.

Baker JV, Neuhaus J, Duprez D, Kuller LH, Tracy R, Bellosso WH, et al. Changes in inflammatory and coagulation biomarkers: a randomized comparison of immediate versus deferred antiretroviral therapy in patients with HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2011;56(1):36-43.

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.

Bastos DH, Oliveira DM, Matsumoto RLT, Oliveira PC, Ribeiro ML. Yerba maté: Pharmacological Properties, Research and Biotechnology. *Med Arom Plant Sci Biotechnol*. 2007a;1(1):37-46.

Bastos DH, Saldanha LA, Catharino RR, Sawaya AC, Cunha IB, Carvalho PO, et al. Phenolic antioxidants identified by ESI-MS from yerba maté (*Ilex Paraguariensis*) and green tea (*Cameliasinensis*) extracts. *Molecules*. 2007b;12 (3):423-32.

Boaventura BC, Di Pietro PF, Stefanuto A, Klein GA, de Moraes EC, de Andrade F, et al. Association of mate tea (*Ilex paraguariensis*) intake and dietary intervention and effects on oxidative stress biomarkers of dyslipidemic subjects. *Nutrition*. 2012;28(6):657-64.

Bo M, Raspo S, Morra F, Cassader M, Isaia G, Poli L. Body fat is the main predictor of fibrinogen levels in healthy non-obese men. *Metabolism*. 2004;53:984-88.

Borges MC, Vinolo MA, Nakajima K, de Castro IA, Bastos DH, Borelli P, 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.

Borges ÁH, Silverberg MJ, Wentworth D, Grulich AE, Fätkenheuer G, Mitsuyasu R, et al. Predicting risk of cancer during HIV infection: the role of inflammatory and coagulation biomarkers. *AIDS*. 2013;27(9):1433-41.

Boulware DR, Hullsiek HH, Puroon CE, Rupert A, Baker JV, French MA, et al. Higher levels of CRP, D-dimer, IL-6, and hyaluronic acid before initiation of antiretroviral therapy (ART) are associated with Increased Risk of AIDS or death. *J Infect Dis*. 2011;203:1637-46.

Brenchley JM, Price DA, Schacker TW, Asher TE, Silvestri G, Rao S, et al. Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection. *Nat Med*. 2006;12:1365-71.

Buchacz K, Weidle PJ, Pharm D, Were W, Mermin J, Downing R, et al. Changes in lipid profile over 24 months among adults on first-line highly active antiretroviral therapy in the home-based AIDS care program in rural Uganda. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2008;47:304-11.

Campillo-Gimenez L, Casulli S, Dudoit Y, Seang S, Carcelain G, Lambert-Niclot S et al. Neutrophils in antiretroviral therapy-controlled HIV demonstrate hyperactivation associated with a specific IL-17/IL-22 environment. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;134(5):1142-52.

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;52:3583-9.

Chung HY, Cesari M, Anton S, Marzetti E, Giovannini S, Seo AY, et al. Molecular inflammation: underpinnings of aging and age-related diseases. *Ageing Res Rev*. 2009;(1):18-30.

Cirico TL, Omaye ST. Additive or synergic effects of phenolic compounds on human low density lipoprotein oxidation. *Food and Chem Tox*. 200;510-16.

CNS - Conselho Nacional de Saúde - Brasil. Resolução nº196/96. Diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. DOU, Brasília. 1996;21082-5.

Coelho GC, Gnoatto SB, Bassani VL, Schenkel EP. Quantification of saponins in extractive solution of mate leaves (*Ilex paraguariensis* St.-Hil.). *J Med Food*. 2010;13(2):439-43.

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

Corti R, Flammer AJ, Hollenberg NK, Lüscher TF. Cocoa and cardiovascular health. *Circulation*. 2009;119(10):1433-41.

Coutinho TA, Turner ST, Peyser PA, Bielak LF, Sheedy-II PF, Kullo JJ. Association of serum uric acid with markers of inflammation, metabolic syndrome, and subclinical coronary atherosclerosis. *Am J Hypert*. 2007;20:83-9.

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

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

Cuellar ML, Espinoza LR. Rheumatic manifestations of HIV-AIDS. *Baillieres Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2000;14(3):579-93.

Currier IS. Updated on cardiovascular complications in HIV infection, *Top HIV Med*. 2009;17:98-103.

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

Damas JK, Landro L, Fevang B, Heggelund L, Tjonnfjord GE, Floisand Y, et al. Homeostatic chemokines CCL19 and CCL21 promote inflammation in human immunodeficiency virus-infected patients with ongoing viral replication. *Clin Exp Immunol*. 2009;157(3):400-7.

D'Archivio M, Filesi C, Di Benedetto R, Gargiulo R, Giovannini C, Mamasella R. *Ann Ist Super Sanità*. 2007;43:348.

- Danesh J, Lewington S, Thompson SG, Lowe GD, Collins R, Kostis JB, et al. Plasma fibrinogen level and the risk of major cardiovascular diseases and nonvascular mortality: an individual participant meta-analysis. *JAMA*. 2005;294:1799-809.
- Davison G, Callister R, Williamson G, Cooper KA, Gleeson M. The effect of acute pre-exercise dark chocolate consumption on plasma antioxidant status, oxidative stress and immunoendocrine responses to prolonged exercise. *Eur J Nutr*. 2012;51(1):69-79.
- De Moraes EC, Stefanuto A, Klein GA, Boaventura BC, de Andrade F, Wazlawik E, et al. Consumption of yerba mate (*Ilex paraguensis*) improves serum lipid parameters in healthy dyslipidemic subjects and provides an additional LDL-cholesterol reduction in individuals on statin therapy. *J Agric Food Chem*. 2009;23;57:8316-24.
- Dillinger TL, Barriga P, Escarcega S, Jimenez M, Salazar Lowe D, Grivetti LE. Food of the gods: cure for humanity? A cultural history of the medicinal and ritual use of chocolate. *J Nutr*. 2000;130(8Suppl):2057S-72S.
- Ding EL, Hutfless SM, Ding X, Girotra S. Chocolate and prevention of cardiovascular disease: a systematic review. *Nutr Metab*. 2006;(3):1-12.
- Douek DC, Picker LJ, Koup RA. T cell dynamics in HIV-1 infection. *Annu Rev Immunol*. 2003;21:265-304.
- Duran AC, Almeida LB, Segurado AA, Jaime PC. Diet quality of persons living with HIV/AIDS on highly active antiretroviral therapy. *J Hum Nutr Diet*. 2008;21:346-50.
- 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.
- El-Sadr WM, Lundgren JD, Neaton JD, Gordin F, Abrams D, Arduino RC, et al. CD4+ count-guided interruption of antiretroviral treatment. *N Engl J Med*. 2006;355:2283-96.
- Emery S, Neuhaus JA, Phillips AN, Babiker A, Cohen CJ, Gatell JM, et al. Major clinical outcomes in antiretroviral therapy (ART)-naïve participants and in those not receiving ART at baseline in the SMART study. *J Infect Dis*. 2008;197:1133-44.
- Engler MB, Engler MM, Chen CY, Malloy MJ, Browne A, Chiu EY, et al. Flavonoid-rich dark chocolate improves endothelial function and increases plasma epicatechin concentrations in healthy adults. *J Am Coll Nutr*. 2004;23:197-204.
- Esser D, Mars M, Oosterink E, Stalmach A, Müller M, Afman LA. Dark chocolate consumption improves leukocyte adhesion factors and vascular function in overweight men. *FASEB J*. 2014;28(3):1464-73.
- Fanales-Belasio E, Raimondo M, Suligoi B, Buttò S. HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. *Ann Ist Super Sanita*. 2010;46(1):5-14.

- 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.
- Feldman JG, Goldwasser P, Holman S, DeHovitz J, Minkoff H. C-reactive protein is an independent predictor of mortality in women with HIV-infection. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2003;32:210-14.
- Feruzzi MG, Bordenave N, Hamaker BR. Does flavor impact function? Potential consequences of polyphenols-protein interaction in delivery and bioactivity of flavan-3-ols from foods. *Physiol Behav.* 2012;107(4):591-7.
- Fewtrell MS, Kennedy K, Singhal A, Martin RM, Ness A, Hadders-Algra M et al. How much loss to follow-up is acceptable in long-term randomised trials and prospective studies? *Arch Dis Child.* 2008;93(6):458-61.
- Filip R, López P, Gilbert G, Coussio J, Ferraro G. Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. *Fitoterapia.* 2001;72(7):774-8.
- Figueirae FV, Facchini LA, Piccini RX, Tomasi E, Thumé E, Silveira DS, et al. Physical activity in young adults and the elderly in areas covered by primary health care units in municipalities in the South and Northeast of Brazil. *Cad Saúde Pública Rio de Janeiro.* 2008;24.
- Florindo AA, Oliveira LMR, 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.
- Fock RA, Rogero MM, Vinolo MA, Curi R, Borges MC, Borelli P. Effects of protein-energy malnutrition on NF-kappaB signalling in murine peritoneal macrophages. *Inflammation.* 2010;33(2):101-9.
- Fraga CG, Actis-Goretta L, Ottaviani JJ, Carrasquedo F, Lotito 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.
- FRAM- Study of Fat Redistribution and Metabolic Change in HIV Infection. Fat distribution in women with HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2006;42(5):562-71.
- Franco OH, Bonneux L, De Laet C, Peeters A, Steyerberg EW, Mackenbach JP. The Polymeal: a more natural, safer, and probably tastier (than the Polypill) strategy to reduce cardiovascular disease by more than 75%. *Bmj.* 2004;329(7480):1447-50.
- Friedewald WT, Levy RJ, Friedrickson DS. Estimation of the concentration of Low-density-lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultra centrifuge. *Clin Chem.* 1972;18(6):499-502.
- Friis-Møller N, Thiébaud R, Reiss P, Weber R, Monforte A, De Wit S, et al. Predicting the risk of cardiovascular disease in HIV-infected patients: the data collection on Adverse Effects of Anti-HIV Drugs Study. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2010;17(5):491-501.

Friis-Møller N, Reiss P, Sabin CA, Weber R, Monforte Ad, El-Sadr W, et al. Class of antiretroviral drugs and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med*. 2007;356(17):1723-35.

Fujii TM, Rogero MM. Efeito do consumo isocalórico da ração hiperlipídica e da administração da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) sobre a expressão de proteínas envolvidas na via de sinalização da insulina no músculo sóleo de ratos Wistar. [Tese de Mestrado] . São Paulo: FSP/USP, 2013.

Gelber RP, Gaziano JM, Orav EJ, Manson JE, Buring JE, Kurth T. Measures of obesity and cardiovascular risk among men and women. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52(8):605-15.

Giuseppe R, Castelnuovo A, Centritto F, Zito F, Curtis A, Costanzo S, et al. Regular consumption of dark chocolate is associated with low serum concentrations of C-reactive protein in a healthy italian population. *J Nutr*. 2008;138:1939–45.

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.

Granger BB, Swedberg K, Ekman I, et al. Adherence to candesartan and placebo and outcomes in chronic heart failure in the CHARM programme: double-blind, randomised, controlled clinical trial. *Lancet*. 2005 Dec 10;366(9502):2005-11.

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.

Grassi D, Desideri G, Necozione S, Lippi C, Casale R, Properzi G, et al. Blood pressure is reduced and insulin sensitivity increased in glucose-intolerant, hypertensive subjects after 15 days of consuming high-polyphenol dark chocolate. *J Nutr*. 2008;138(9):1671-6.

Grinspoon SK, Grunfeld C, Kotler DP, Currier JS, Lundgren JD, Dube MP, et al. State of the science conference: initiative to decrease cardiovascular risk and increase quality of care for patients living with HIV/AIDS: executive summary. *Circulation*. 2008;118(2):198-210.

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

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.

Hallal PC, Vistora CG, Wells JC, Lima RC. Physical inactivity: prevalence and associated variables in brazilian adults. *Med Sci Sports Exerc*. 2003;35(11):1894-900.

Hamed MS, Gambert S, Bliden KP, Bailon O, Anand S, Antonino MJ, et al. Dark chocolate effect on platelet activity, C-reactive protein and lipid profile: a pilot study. *South Med J*. 2008;101(12):1203-8.

Han LK, Zheng YN, Xu B, Okuda H, Kimura Y. Saponins from platycodi radix ameliorate high fat diet-induced obesity in mice. *J Nutr*. 2002;132(8):2241-5.

Han LK, Zheng YN, Yoshikawa M, Okuda H, Kimura Y. Antiobesity effects of chikusetsusaponins isolated from *Panax japonicus* rhizomes. *BMC Complement Altern Med*. 2005;5:9.

Hatano H, Delwart EL, Norris PJ, Lee TH, Neilands TB, Kelley CF, et al. Evidence of persistent low-level viremia in long-term HAART-suppressed, HIV-infected individuals. *AIDS*. 2010;24:2535-9.

Heck CI, Mejia EG de. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): a comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. *J Food Sci*. 2007;72(9):R138-51.

Heiligenberg M, Lutter R, Pajkrt D, Adams K, De Vries H, Heijman T et al. Effect of HIV and Chlamydia Infection on Rectal Inflammation and Cytokine Concentrations in Men Who Have Sex with Men. *Clin Vaccine Immunol*. 2013;20(10):1517–1523.

Henderson JS, Joyce RA, Hall GR, et al. Chemical and archaeological evidence for the earliest cacao beverages. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(48):18937-40

Heptinstall S, May J, Fox S, Kwik-Urbe C, Zhao L. Cocoa flavanols and platelet and leukocyte function: recent in vitro and ex vivo studies in healthy adults. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2006;47(2):197-205.

Hiscott J, Kwon H, Genin P. Hostile takeovers: viral appropriation of the NF- κ B pathway. *J Clin Invest*. 2001;107:143-51.

Holst B, Williamson G. Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants. *Curr Opin Biotechnol*. 2008;19(2):73-82.

Hostettmann K, Marston A. *Saponins*. Cambridge, New York: Cambridge University Press, 1995.

Hunt PW. HIV and inflammation: mechanisms and consequences. *Curr HIV/AIDS Rep*. 2012;9:139-47.

Hurst WJ, Tarka SM Jr, Powis TG, et al. Cacao usage by the earliest Maya civilization. *Nature*. 2002;418(6895):289-90.

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

Ibrahim KY, Recordon-Pinson P, Malvy D, *et al.* Intermittent HIV-1 viremia (blips) and virological failure in a cohort of people living with HIV from São Paulo, Brazil. *AIDS Patient Care STDS*. 2012 Sep;26(9):512-5.

[IDF]. Clinical Guidelines Task Force. Global Guideline for Type 2 Diabetes: recommendations for standard, comprehensive, and minimal care. *Diabet Med*. 2000; 23:579-93.

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.

Jia L, Liu X, Bai YY, Li SH, Sun K, He C, *et al.* Short-term effect of cocoa product consumption on lipid profile: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr*. 2010;92(1):218-25.

Jong E, Louw S, Van Gorp EC, Meijers JC, Ten Cate H, Jacobson BF. The effect of initiating combined antiretroviral therapy on endothelial cell activation and coagulation markers in South African HIV infected individuals. *Thromb Haemost*. 2010;104:1228-34.

Kahle K, Kraus M, Richling E. Polyphenol profiles of apple juices. *Mol Nutr Food Res*. 2005;49(8):797-806.

Kaio DJ, Rondó PH, Souza JM, 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 Vitaminol (Tokyo)*. 2013;59(6):496-502.

Kalayjian RC, Machekano RN, Rizk N, Robbins GK, Gandhi RT, Rodriguez BA, *et al.* Pre-treatment of soluble cellular receptors and interleukin-6 are associated with HIV disease progression in HAART-treated subjects. *J Infect Dis*. 2010;201(12):1796-805.

Kay CD, Kris-Etherton PM, West SG. Effects of antioxidant-rich foods on vascular reactivity: review of the clinical evidence. *Curr Atheroscler Rep*. 2006;8:510-22.

Keating SM, Golub ET, Nowicki M, Young M, Anastos K, Crystal H, *et al.* The effect of HIV infection and HAART on inflammatory biomarkers in a population-based cohort of US women. *AIDS*. 2011;25(15):1823-32.

Kenny TP, Shu S, Moritoki Y, Keen CL, Gershwin ME. Cocoa flavanols and procyanidins can modulate the lipopolysaccharide activation of polymorphonuclear cells in vitro. *J Med Food*. 2009;(1)1-7

Klatt NR, Funderburg NT, Brenchley JM. Microbial translocation, immune activation, and HIV disease. *Trends Microbiol*. 2013;21:6-13.

Kris-Etherton PM, Keen CL. Evidence that the antioxidant flavonoids in tea and cocoa are beneficial for cardiovascular health. *Curr Opin Lipidol*. 2002;13:41-9.

Kristoffersen US, Kofoed K, Kronborg G, Benfield T, Kjaer A, Lebech AM. Changes in biomarkers of cardiovascular risk after a switch to abacavir in HIV-1-infected individuals receiving combination antiretroviral therapy. *HIV Med.* 2009;10(10):627-33.

Kuller LH, Tracy R, Belloso W, De Wit S, Drummond F, Lane HC, et al. Inflammatory and coagulation biomarkers and mortality in patients with HIV infection. *PLoS Med.* 2008;5(10):e203.

Kushner I, Broder ML, Karp D. Control of the acute phase response. Serum C-reactive protein kinetics after acute myocardial infarction. *J Clin Invest.* 1978;61:235-42.

Langkilde A, Petersen J, Klausen HH, Henriksen JH, Eugen-Olsen J, Andersen O. Inflammation in HIV-infected patients: impact of HIV, lifestyle, body composition, and demography - a cross sectional cohort study. *PlosOne.* 2012;7(12):e51698.

Lanzetti M, Bezerra FS, Romana-Souza B, Brando-Lima AC, Koatz VL, Porto, LC, et al. Mate tea reduced acute lung inflammation in mice exposed to cigarette smoke. *Nutrition.* 2008;24(4):375-81.

Lederman MM, Calabrese L, Funderburg NT, Clagett B, Medvik K, Bonilla H, et al. Immunologic failure despite suppressive antiretroviral therapy is related to activation and turnover of memory CD4 cells. *J Infect Dis.* 2011;204(8):1217-26.

Lehnert M, Kovacs EJ, Molina PE, Relja B. Modulation of inflammation by alcohol exposure. *Mediators Inflamm.* 2014;2014:283756.

Levi M, Van der Pollt, Buller HR. Bidirectional relation between inflammation and coagulation. *Circulation.* 2004;109(22):2698-704.

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.

Lohman TG, Roche AF, Martorell R. Anthropometric standardization reference manual. Champaign, Illinois: Human Kinetics Books; 1988.

Lotito SB, Actis-Goretta L, Renart ML, Caligiuri M, Rein D, Schmitz HH, et al. Influence of oligomer chain length on the antioxidant activity of procyanidins. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;276:945-51.

Luc G, Bard JM, Juhan-Vague I, Ferrieres J, Evans A, Amouyel P, et al. C-reactive protein, interleukin-6, and fibrinogen as predictors of coronary heart disease: the PRIME Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23(7):1255-61.

Mackenzie GG, Carrasquedo F, Delfino JM, Keen CL, Fraga CG, Oteiza PI. Epicatechin, catechin, and dimericprocyanidins inhibit PMA-induced NF-KappaB activation at multiple steps in Jurkat T cells. *FASEB J.* 2004;18:167-9.

Madden E, Lee G, Kotler DP, Wanke C, Lewis CE, Tracy R, et al. Association of antiretroviral therapy with fibrinogen levels in HIV-infection. *AIDS.* 2008;22:707-15.

Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémesy C, Jiménez L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*. 2004;79:724-47.

Mao TK, Powell J, Van de Waters J, Keen CL, Schmitz HH, Hammerstone JF, et al. Effect of cocoa procyanidins on the secretion of interleukin 1 beta in peripheral blood mononuclear cells. *J MedFood*. 2000;3:107-14.

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

Matsudo S, Araújo T, Matsudo V, Andrade D, Andrade E, Oliveira LC, et al. Questionário internacional de atividade física (IPAQ): estudo de validade e reprodutibilidade no Brasil. *Rev Bras Ativ Fís Saúde*. 2001;6:5-18.

Matsumoto RL, Bastos DH, Mendonça S, Nunes VS, Bartchewsky W, Ribeiro ML et al. Effects of mate tea (*Ilex paraguariensis*) ingestion on mRNA expression of antioxidant enzymes, lipid peroxidation, and total antioxidant status in healthy young women. *J Agric Food Chem*. 2009;11;57(5):1775-80.

Mehrinfar R, Frishman WH. Flavanol-rich cocoa: a cardioprotective nutraceutical. *Cardiol Rev*. 2008;16:109-15.

Melchior R, Nemes MIB, Alencar TMD, Buchala CM. Desafios da adesão do tratamento de pessoas vivendo com HIV/aids no Brasil. *Rev Saúde Publica*. 2007;41(2):87-93.

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

Menini T, Heck C, Schulze J, Mejia E, Gugliucci A. Protective action os *Ilex paraguaensis* extract agains free radical inactivation of paraoxonase-1 in high-density lipoprotein. *Planta Med*. 2007;73(11):1141-7.

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.

Miller KB, Stuart DA, Smith NL, Lee CY, McHale NL, Flanagan JA, et al. Antioxidant activity and polyphenol and procyanidin contents of selected commercially available cocoa-containing and chocolate products in the United States. *J Agric Food Chem*. 2006;54(11):4062-8.

MS - Ministério da Saúde (Brasil) [homepage na internet]. Recomendações para terapia anti-retroviral em adultos e adolescentes infectados pelo HIV. Secretaria de Vigilância em Saúde, Programa Nacional de DST/AIDS, Ministério da Saúde – SVS; Brasília, 2006 [acesso 10 out 2013]. Disponível em: <http://www.aids.gov.br>.

MS - Ministério da Saúde (Brasil) [homepage na internet]. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais: Portal sobre aids, doenças sexualmente transmissíveis e hepatites virais –

Aids– Sintomas e fases da aids; Brasília, 2013a [acesso 05 nov 2013]. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pagina/sintomas-e-fases-da-aids>

MS - Ministério da Saúde (Brasil) [homepage da internet]. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais: Portal sobre aids, doenças sexualmente transmissíveis e hepatites virais – Aids em números – Aids no Brasil; Brasília, 2013b [acesso 07 nov 2013]. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pagina/aids-no-brasil>

MS - Ministério da Saúde (Brasil) [homepage da internet]. Brasília: Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais: Portal sobre aids, doenças sexualmente transmissíveis e hepatites virais – Aids em números – Boletim Epidemiológico – Aids – DST; Brasília, 2013c [acesso 09 jan 2014]. Disponível em: http://www.aids.gov.br/sites/default/files/publicacao/2010/boletim2010_preliminar_pdf_34434.pdf

MS - Ministério da Saúde (Brasil) [homepage da internet]. Brasília: Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais: Portal sobre aids, doenças sexualmente transmissíveis e hepatites virais – Aids– Medicamentos; Brasília, 2013d [acesso 09 jan 2014]. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pagina/quais-sao-HYPERLINK>
"http://www.aids.gov.br/pagina/quais-sao-os-antirretrovirais"os-antirretrovirais

MS - Ministério da Saúde (Brasil)/ Secretaria de Vigilância em Saúde/ Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para manejo da infecção pelo HIV em adultos. MS/SVS/DDAHV. Brasília: Ministério da Saúde 2013e.

Monagas M, Urpi-Sarda M, Sánchez-Patán F, Llorach R, Garrido I, Gómez-Cordovés C et al. Insights in to the metabolismo and microbial biotransformation of dietary flavan-30ols and the bioactivity of their metabolites. *Food Funct.* 2010;1:233-53.

Morais EC de, Stefanuto A, Klein GA, Boaventura BC, Andrade F de, 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.

Mortensen RF. C-reactive protein, inflammation, and innate immunity. *Immunol Res.* 2001;24(2):163-76.

Mosimann AL, Wilhem-Filho D, Silva EL da. Aqueous extract of *Ilex paraguariensis* attenuates the progression of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Bio Factors.* 2006;26(1):59-70.

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

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

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

Nader GA, Lundberg IE. Exercise as an anti-inflammatory intervention to combat inflammatory diseases of muscle. *Curr Opin Rheumatol*. 2009;21(6):599-603.

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

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

Neuhaus J, Jacobs Dr, Jr., Baker JV, Calmy A, Duprez D, La Rosa A, et al. Markers of inflammation, coagulation, and renal function are elevated in adults with HIV infection. *J Infect Dis*. 2010;1788-95.

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

Oh J, Hegele RA. HIV-Associated dyslipidemia: pathogenesis and treatment. *Lancet Infect Dis*. 2007;7(12):787-96.

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

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

Oliveira JM, Rondo HCP, Yudkin JS, Souza MPJ, Pereira TN, Catalani AW. Effects of fish oil on lipid profile and other metabolic outcomes in HIV-infected patients on antirretroviral therapy: a randomized placebo-controlled trial. *Int J STD AIDS*. 2014;25(2):96-104.

Omeregíe R, Adeghe JE, Ogefere HO, Omokaro EU, Ekeh CC. Haemorheologic and fibrinolytic activity in Nigerian HIV infected patients. *Afr Health Sci*. 2008;8(4):217-9.

Osakabe N, Natsume M, Adachi T, Yamagishi M, Hirano R, Takizawa T, et al. Effects of cacao liquor polyphenols on the susceptibility of low-density lipoprotein to oxidation in hypercholesterolemic rabbits. *J Atheroscler Thromb*. 2000;7(3):164-8.

Ostrowski SR, Katzenstein TL, Piironen T, Gerstoft J, Pedersen BK, Ullum H. Soluble urokinase receptor levels in plasma during 5 years of highly active antiretroviral therapy in HIV-1-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2004;35(4):337-42.

Pang J, Choi Y, Park T. *Ilex paraguariensis* extract ameliorates obesity induced by high-fat diet: potential role of AMPK in the visceral adipose tissue. *Arch Biochem Biophys*. 2008;476(2):178-85.

Payne MJ, Hurst WJ, Miller KB, et al. Impact of fermentation, drying, roasting, and Dutch processing on epicatechin and catechin content of cacao beans and cocoa ingredients. *J Agric Food Chem*. 2010 Oct 13;58(19):10518-27.

Palella FJ, Baker RK, Moorman AC, Chemiel JS, Wood KC, Brooks JT, et al. Mortality in the highly active antiretroviral therapy era: changing causes of death and disease in the HIV outpatient study. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2006;43:27-34.

Pappas RS. Toxic elements in tobacco and in cigarette smoke: inflammation and sensitization. *Metallomics*. 2011 Nov;3(11):1181-98.

Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO 3rd, 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(3):499-511.

Piche ME, Lemieux S, Weisnagel SJ, Corneau L, Nadeau A, Bergeron J. Relation of high-sensitivity C-reactive protein, interleukin-6, tumor necrosis factor- α , and fibrinogen to abdominal adipose tissue, blood pressure, and cholesterol and triglyceride levels in healthy postmenopausal women. *Am J Cardiol*. 2005;96(1):92-7.

Piconi S, Parisotto S, Rizzardini G, Passerini S, Meraviglia P, Schiavini M, et al. Atherosclerosis is associated with multiple pathogenic mechanisms in HIV-infected antiretroviral-naïve or treated individuals. *AIDS*. 2013;27:381-9.

Pimentel GD. AMP-activated protein kinase (AMPK): The key role in metabolic regulation and control of food intake: [review]. *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr*. 2009;34(1):159-73.

Pimentel GD, Lira FS, Rosa JC, Caris AV, Pinheiro F, Ribeiro EB, et al. Yerba mate extract (*Ilex paraguariensis*) attenuates both central and peripheral inflammatory effects of diet-induced obesity in rats. *J Nutr Biochem*. 2013;24(5):809-18.

Pine SR, Mechanic LE, Enewold L, Chaturvedi AK, Katki HA, Zheng YL, et al. Increased levels of circulating interleukin 6, interleukin 8, C-reactive protein, and risk of lung cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2011;103(14):1112-22.

Pontilho PM, Teixeira AMN, Yuan C, Luzia LA, Bastos DHM, Rondó PH. Yerba Mate (*Ilex Paraguaensis* A. St. Hil) and risk factors for cardiovascular disease. *Food Nutr Res*. 2015;3(3):182-90.

Postorino M, Marino C, Tripepi G, Zoccali C, CREDIT (Calabria Registry of Dialysis and Transplantation) Working Group. Abdominal obesity and all-cause and cardiovascular mortality in end-stage renal disease. *J Am Coll Cardiol*. 2009;53(15):1265-72.

Potula R, Haorah J, Knipe B, Leibhart J, Chrastil J, Heilman D, et al. Alcohol abuse enhances neuroinflammation and impairs immune responses in an animal model of human immunodeficiency virus-1 encephalitis. *Am J Pathol*. 2006;168(4):1335-44.

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.

Puangraphant S, Dia VP, de Mejia EG, Garcia G, Berhow MA, Wallig MA. Yerba mate tea and mate saponins prevented azoxymethane-induced inflammation of rat colon through suppression of NF- κ B p65ser(311) signaling via I κ B- α and GSK-3 β reduced phosphorylation. *Biofactors*. 2013;39(4):430-40.

Puangraphant S, Berhow MA, Vermillion K, Potts G, Gonzalez de Mejia E. Dicafeoylquinic acids in Yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hilaire) inhibit NF- κ B nucleus translocation in macrophages and induce apoptosis by activating caspases-8 and -3 in human colon cancer cells. *Mol Nutr Food Res*. 2011;55(10):1509-22.

Puangraphant S, Mejia EG. Saponins in yerba mate tea (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil) and quercetin synergistically inhibit iNOS and COX-2 in lipopolysaccharide-induced macrophages through NF κ B pathways. *J Agric Food Chem*. 2009;57(19):8873-83.

Quinones M, Miguel M, Aleixandre A. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el Sistema cardiovascular. *Nutr Hosp*. 2012;27(1):76-89.

Ramiro-Puig E, Castell M. Cocoa: antioxidant and immunomodulator. *Br J Nutr*. 2009 Apr;101(7):931-40.

Ramiro-Puig E, Casadesús G, Lee HG, et al. Neuroprotective effect of cocoa flavonoids on in vitro oxidative stress. *Eur J Nutr*. 2009 Feb;48(1):54-61.

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.

Ridker PM, Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation*. 2003;107(3):363-9

Rios LY, Bennett RN, Lazarus SA, Révész C, Scalbert A, Williamson G. Cocoa procyanidins are stable during gastric transit in humans. *Am J Clin Nutr*. 2002;43:699-705.

Roberts WL, Schwarz EL, Ayanian S, Rifai N. Performance characteristics of a point of care C-reactive protein assay. *Clin Chim Acta*. 2001;314:255-9.

Rogero MM, Borelli P, Fock RA, Borges MC, Vinolo MA, Curi R, et al. Effects of glutamine on the nuclear factor-kappaB signaling pathway of murine peritoneal macrophages. *Amino Acids*. 2010;39(2):435-41.

Rosa FT, Zulet MÁ, Marchini JS, Martínez JA. Bioactive compounds with effects on inflammation markers in humans. *Int J Food Sci Nutr*. 2012;63(6):749-65.

Rusconi M, Conti A. Theobroma cacao L., the Food of the Gods: a scientific approach beyond myths and claims. *Pharmacol Res*. 2010;61(1):5-13.

Sanbongi C, Osakabe N, Natsume M, Takizawa T, Gomi S, Osawa T. Antioxidative polyphenols isolated from theobroma cacao. *J Agric Food Chem*. 1998;46:454-7.

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

Santos NJS, Tayra A, Silva SR, Buchalla CM, Laurenti R. A AIDS no Estado de São Paulo: as mudanças no perfil da epidemia e perspectivas da vigilância epidemiológica. *Rev Bras Epidemiol*. 2002;5(3):286-310.

Scalbert A, Johnson IT, Saltmarsh M. Polyphenols: antioxidants and beyond. *Am J Clin Nutr*. 2005;81:S215-17.

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

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.

Schroeter H, Heiss C, Balzer J, Kleinbongard P, Keen CL, Hollenberg NK et al. (-)-Epicatechin mediates beneficial effects of flavanol-rich cocoa on vascular function in humans. *Proc Natl Acad Sci*. 2006;103(4):1024-9.

Senn S. *Statistics in Practice – Cross-over Trials in Clinical Research*. 2^o ed. London: Wiley; 2002. 1-16.

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;52:1340-8.

Serafini M, Bugianesi R, Maiani G, Valtuena S, De Santis S, Crozier A. Plasma antioxidants from chocolate. *Nature*. 2003;424(6952):1013.

Sesso HD, Wang L, Buring JE, Ridker PM, Gaziano JM. Comparison of interleukin-6 and C-reactive protein for the risk of developing hypertension in women. *Hypertension*. 2007;49(2):304-10.

Sevastianova K, Sutinen J, Kannisto K, Hamsten A, Ristola M, Yki-Järvinen H. Adipose tissue inflammation and liver fat in patients with highly active antiretroviral therapy-associated lipodystrophy. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2008;295(1):E85-91.

Siemes C, Visser LE, Coebergh JW, Splinter TA, Wittman JC, Uitterlinden AG, et al. C-reactive protein levels, variation in the C-reactive protein gene, and cancer risk: the Rotterdam Study. *J Clin Oncol*. 2006;24:5216-22.

Silva EL, Neiva TJC, Shirai M, Terao J, Abdalla DSP. Acute ingestion of yerba mate infusion (*Ilex paraguensis*) inhibits plasma and lipoprotein oxidation. *Food Research International*. 2008;41:973-9.

Silverberg MJ, Neuhaus J, Bower M, Gey D, Hatzakis A, Henry K, et al. Risk of cancers during interrupted antiretroviral therapy in the SMART study. *AIDS*. 2007;21:1957-63.

Simões E, Gomes AL. Respostas fisiológicas, hematológicas e bioquímicas do portador de HIVa um programa de atividade física orientada. *Fitness & Performance Journal*. 2006;v.5;n°3;139-145,

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

Spencer JPE, Chaundry F, Pannala AS, Srai SK, Debnam E, Rice-Evans C. Decompositon os cocoa procyanidins in the gastric milieu. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2000;272:236-41.

Stacey AR, Norris PJ, Qin L, Haygreen EA, Taylor E, Heitman J, et al. Induction of a striking systemic cytokine cascade prior to peak viremia in acute human immunodeficiency virus type 1 infection in, contrast to more modest and delayed responses in acute hepatitis B and C virus infections. *J Virol*. 2009;83(8):3719-33.

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

Tanaka S, Miki T, Sha S, Hirata K, 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.

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

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

Tracy RP. Inflammation markers and coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol*. 1999;10:435-41.

Tzounis X, Rodriguez-Mateos A, Vulevic J, Gibson GR, Kwik-Urbe C, Spencer JP. Prebiotic evaluation of cocoa-derived flavanols in healthy humans by using a randomized, controlled, double-blind, crossover intervention study. *Am J Clin Nutr*. 2011;93:62-72

UNAIDS - Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. Report on the Global AIDS Epidemic – Overview of the Global AIDS Epidemic. Geneva; 2010. [acesso 2013 nov.04]. Disponível em: http://www.unaids.org/GlobalReport/Global_report.htm

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

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.

Vázquez-Agell M, Urpi-Sarda M, Sacanella E, Camino-López S, Chiva-Blanch G, Llorente-Cortés V, et al. Cocoa consumption reduces NF- κ B activation in peripheral blood mononuclear cells in humans. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2013;23(3):257-63.

Vlachopoulos C, Alexopoulos N, Stefanadis C. Effect of dark chocolate on arterial function in healthy individuals: cocoa instead of ambrosia? *Curr Hypertens Rep.* 2006;8:205–11.

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.

Waterhouse AL, Shirley JR, Donovan JL. Antioxidants in chocolate. *Lancet.* 1996;348(9030):834

WHO - World Health Organization [homepage na internet]. Atiretroviral therapy for HIV infection in adults and adolescents - Recommendations for a public health approach. Genebra; 2010 [acesso em 12 jan 2014] Disponível em: http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241599764_eng.pdf

APÊNDICES:

APÊNDICE 1. Questionário de recusa.

<p>1. Nome _____</p> <p>2. Identificação do paciente (id1_3)</p> <p>3. Sexo (sex) _ 1. Masculino ☐ 2. Feminino ☐</p> <p>4. Data de nascimento (nasc4_nac11) _/_/_/____</p> <p>5. Idade (Idd12_Idd13) _ _ 6. Escolaridade EF 1 ☐ EM1 ☐ SP1 ☐</p> <p>7. tempo de diagnóstico(tdiag _ tdiag)_ _ _ _ EF2 ☐ EM2 ☐ SP2 ☐ PG ☐</p> <p>8. Tempo de tratamento (tmento14_tmento17)_ _ _ _</p> <p>9. Motivo da recusa _____</p>	<div>☐</div> <div>☐</div> <div>--/--/----</div> <div>☐ anos</div> <div>☐ anos ☐ meses</div> <div>☐</div>
---	--

APÊNDICE 2. *Check list* dos critérios de exclusão.

1. Nome _____		
2. Identificação do paciente	_____	
3. Idade (19 a 59 anos)	__ anos	
4. Tempo de tratamento (mínimo 6 meses)	__ anos __ meses	
5. Está gestante?	1. Sim ☐	2. Não ☐
6. É vegetariano?	1. Sim ☐	2. Não ☐
7. Participa de alguma outra pesquisa?	1. Sim ☐	2. Não ☐
8. Reside em São Paulo?	1. Sim ☐	2. Não ☐
9. Possui tipo de alergia ou intolerância ao chocolate?	1. Sim ☐	2. Não ☐
10. Possui tipo de alergia ou intolerância ao chá?	1. Sim ☐	2. Não ☐
11. Diabetes?	1. Sim ☐	2. Não ☐
12. Doença de Chagas?	1. Sim ☐	2. Não ☐
13. Obesidade? Peso >150kg	1. Sim ☐	2. Não ☐
14. Toma algum medicamento para controle de colesterol e/ou triglicérides?	1. Sim ☐	2. Não ☐
15. Toma anti-hipertensivo?	1. Sim ☐	2. Não ☐
16. Já sofreu infarto (IAM) ou derrame (AVE)?	1. Sim ☐	2. Não ☐
17. Sofre de arritmia cardíaca?	1. Sim ☐	2. Não ☐
18. Utiliza marca-passo ou possui outro tipo de placa metálica no corpo?	1. Sim ☐	2. Não ☐
19. Possui insuficiência renal? (Cr> 2,0mg/dL)	1. Sim ☐	2. Não ☐
20. Possui algum tipo de doença intestinal grave (má absorção)?	1. Sim ☐	2. Não ☐
21. Tem hipotireoidismo? (TSH> 6,0U/mL)	1. Sim ☐	2. Não ☐
22. Possui insuficiência hepática?	1. Sim ☐	2. Não ☐
23. Possui algum tipo de câncer?	1. Sim ☐	2. Não ☐
24. Está com alguma doença oportunista? (Tb...)	1. Sim ☐	2. Não ☐
Qual? _____		
25. Consome bebidas alcóolicas diariamente?	1. Sim ☐	2. Não ☐

APÊNDICE 3. Controle de intervenção

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 JEJUM

O(a) Sr(a) deve **consumir sozinho um** tablete de chocolate todos os dias pelos próximos 15 dias. O(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: ____/____/____ 9º 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
☐	☐	EXAME				
14ª	15ª					

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 JEJUM

O(a) Sr(a) deve **consumir sozinho um** sachet de chá todos os dias pelos próximos 15 dias. O(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: ____/____/____ 9º 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
☐	☐	EXAME				
14ª	15ª					

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

ANEXOS

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

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – COEP/FSP

Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública

OF.COEP/328/09

17 de novembro de 2009.

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

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

Claudio Leone
Professor Titular

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa – COEP

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

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

APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 02/02/2011, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **0753/10**, intitulado: **"EFEITO DA INGESTÃO DE CHOCOLATE E CHÁ MATE NO ENDOTÉLIO DE INDIVÍDUOS COM HIV/AIDS: ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO, CEGO, CONTROLADO POR PLACEBO"** apresentada 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: **Líania 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

Aprovação projeto mãe Cappelq.jpg

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

ANEXO 3. Carta de aprovação da pesquisa no Comitê de ética do IIER.

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENADORIA DE SERVIÇOS DE SAÚDE
INSTITUTO DE INFECTOLOGIA EMÍLIO RIBAS
DIVISÃO CIENTÍFICA
SERVIÇO DE ENSINO E PESQUISA

DIVISÃO CIENTÍFICA

PROTOCOLO DE PESQUISA Nº 44/2012

TÍTULO: "Efeito da Ingestão de chocolate e chá mate no endotélio de indivíduos com HIV/AIDS: ensaio clínico randomizado, cego controlado por placebo"

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Patrícia Helen de Carvalho Rondó

COLABORADOR: Lianid Alves Luzia, Suelen Jorge de Souza, Aline de Almeida Petrilli, Andrea Mariana Nunes da Costa Teixeira, Patrícia de Moraes Pontilho

AUTORIZAÇÃO PARA INÍCIO DO ESTUDO

Devidamente aprovado pela Comissão Científica, Comitê de Ética em Pesquisa e Diretoria Técnica de Departamento deste Instituto, e regular quanto às informações sobre financiamento do projeto, o protocolo de pesquisa acima está **AUTORIZADO** para ter início.

Registre-se. Comunique-se.

São Paulo, 10 de outubro de 2012.

Profa. Dra. Maria Aparecida Telles Guerra
Chefe da Seção de Pesquisas e Trabalhos Científicos

ANEXO 4. Termo de Consentimento livre esclarecido.

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

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

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

1. DADOS DE IDENTIFICAÇÃO

NOME:.....

..

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : M ☐ F ☐

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº APTO:
.....

BAIRRO: CIDADE
.....

CEP: TELEFONE: DDD (.....)
.....

II - DADOS SOBRE A PESQUISA

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

2. PESQUISADOR : Dr. Aluísio Augusto Cotrim Segurado

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

UNIDADE DO HCFMUSP: CASA DA AIDS/USP

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO	x	RISCO MÉDIO	☐
RISCO BAIXO	☐	RISCO MAIOR	☐

4. DURAÇÃO DA PESQUISA: 60 dias de intervenção.

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

2 – Os participantes do estudo serão suplementados com aproximadamente 65 g de chocolate em barra ou placebo de chocolate e com 200 mL de chá solúvel ou placebo de chá solúvel. A suplementação será diária com duração de 60 dias em quatro fases de 15 dias e monitorada por contato pessoal, telefônico entre os pesquisadores e os participantes e a cada período parcial e ao final será controlada por meio de respostas a questionários e coletas de sangue para exames laboratoriais.

3 – Estou ciente que devo seguir a suplementação prescrita pelos pesquisadores: consumo diário de 1 barra de chocolate ou 200 mL de chá durante 60 dias, conforme explicado anteriormente. Concordo em permitir a coleta de 20 mL de sangue venoso, antes do início da intervenção e 15, 30, 45 e 60 dias após o início da suplementação. Responderei a um questionário fornecendo dados referentes à minha doença e minhas condições sócio-econômicas; terei meu peso, altura e dados corporais medidos. Serei submetido a exame arterial realizado por aparelho semelhante ao utilizado para medir a pressão que não causará dor, no máximo um pequeno desconforto causado pelo ajuste da braçadeira. Por último autorizo consulta ao meu prontuário para obtenção de informações referentes a exames e medicamentos utilizados.

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

5 – Estou ciente que essa pesquisa será importante para avaliar se, a intervenção com os suplementos usados, é benéfica para pacientes com HIV/AIDS em terapia com antirretrovirais e para futura aplicação dos resultados obtidos. Pode não haver benefício

direto para mim, mas no final do estudo poderá ser concluído benefício do uso dos suplementos para pacientes nas mesmas condições.

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

Os principais investigadores são: Dr. **Aluísio Augusto Cotrim Segurado**; Dra. **Patricia Helen de Carvalho Rondó** e Dra. **Liania Alves Luzia** que será a pesquisadora que aplicará os questionários e fará monitoria da suplementação, durante o período da pesquisa eles poderão ser encontrados no endereço: *Rua Frei Caneca nº 557*, Telefone(s) (11) 3120 5290 e (11) 3061 7868. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a pesquisa poderá entrar em contato com eles. Se ainda restar alguma dúvida você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 3069-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnet.usp.br
8 – Você poderá retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;

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

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

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

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

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

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

Eu discuti com o Dr. **Aluísio Augusto Cotrim Segurado** ou com as Dras **Liania Alves**

Luzia e Patricia Helen de Carvalho Rondó sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os objetivos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal Data ____/____/____

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

Assinatura do responsável pelo estudo Data ____/____/____

Qualquer dúvida entrar em contato com uma das pesquisadoras executantes:

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

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

nutricionistas.usp@gmail.com

Nutricionistas: Aline de Almeida Petrilli

Andrea Mariana Nunes da Costa Teixeira

Patrícia de Moraes Pontilho

Suelen Jorge de Souza

CURRÍCULO LATTES DA MESTRANDA

Aline de Almeida Petrilli

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/2627416881985018>

Última atualização do currículo em 25/02/2013

Nutricionista formada pelo Centro Universitário São Camilo, Março 2011. Com ênfase em Nutrição Clínica a nível ambulatorial e hospitalar. Mestranda na Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (FSP/USP), Tutora no Curso Intensivo de Nutrição Clínica Hospitalar do Instituto Racine. **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome Aline de Almeida Petrilli

Nome em citações bibliográficas PETRILLI, A. A.

Endereço

Formação acadêmica/titulação

- 2013** Mestrado em andamento em Nutrição em Saúde Pública.
Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.
Título: Efeito da ingestão de chocolate e chá mate no perfil inflamatório e estresse oxidativo de indivíduos com HIV/AIDS., Orientador: Patrícia Helen de Carvalho Rondó.
Palavras-chave: Chá Mate; Cacau; Estresse Oxidativo; Perfil Inflamatório; HIV/AIDS; Nutrição em Saúde Pública.
Grande área: Ciências Biológicas / Área: Imunologia.
Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Medicina / Subárea: Infectologia.
Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Nutrição / Subárea: Nutrição em Saúde Pública.
Setores de atividade: Alimentação; Atividades de atenção à saúde humana; Outras atividades profissionais, científicas e técnicas.
- 2007 - 2011** Graduação em Nutrição.
Centro Universitário São Camilo, CUSC, Brasil.
Título: Perfil higiênico-sanitário de dogueiros motorizados na região da Mooca- S.P.,
Orientador: Liliana Paula Bricarello.
- 2003 - 2007** Ensino Médio (2º grau).
Colégio Objetivo - Paraty.
- 1995 - 2003** Ensino Fundamental (1º grau).
Colégio Objetivo - Paraty.

Formação Complementar

- 2013** Nutrição Clínica Hospitalar. (Carga horária: 96h).
Instituto Racine.
- 2012 - 2012** Nutrição Clínica Aplicada. (Carga horária: 96h).
Instituto Racine.
- 2011 - 2011** Curso básico de francês. (Carga horária: 200h).
Aliança Francesa.
- 2009 - 2009** Introdução à Liga de Obesidade Infantil. (Carga horária: 8h).
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
- 2006 - 2006** Reeducação Alimentar e Culinária Natural. (Carga horária: 18h).
A Flora Medicinal.
- 2000 - 2005** Inglês. (Carga horária: 480h).
Maria Elina (Professora Particular).

CURRICULO LATTES DA ORIENTADORA

Patricia Helen de Carvalho Rondó

Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq - Nível 2 - CA SN - Saúde Coletiva e Nutrição

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/3061667720023102>

Última atualização do currículo em 08/06/2015

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. Responsável pelo Laboratório de Micronutrientes da FSP, USP, desde 2000. Diretora do Centro de Saúde Escola da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, USP, de 2010-2014. Professora Titular da Faculdade de Saúde Pública desde 2011 e Vice-Diretora da Faculdade de Saúde Pública desde abril de 2014. 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 23 alunos de Pós-Graduação: 17 de mestrado, 6 de doutorado e 2 de pós-doutorado. 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;RONDO PH;SCHILLING PR;RONDO PHC;RONDO PHD;RONDO, P H C;RONDÓ, P H C;RONDÓ, PATRÍCIA HELEN CARVALHO;RONDÓ, P H;RONDÓ, PATRICIA;RONDO, P. H.;RONDÓ, PATRÍCIA H C;RONDÓ, PATRÍCIA H.C.

Endereço

Endereço Profissional Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, Departamento de Nutrição.
AV DOUTOR ARNALDO 715
CERQUEIRA CESAR
01246904 - São Paulo, SP - Brasil
Telefone: (11) 30617867
Fax: (11) 30822653
URL da Homepage: www.fsp.usp.br

Formação acadêmica/titulação

- 1989 - 1993** Doutorado em Public Health.
University of London, UL, Inglaterra.
Título: The influence of maternal nutritional factors on intrauterine growth retardation, Ano de obtenção: 1994.
Orientador: Prof. Andrew M Tomkins.
Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Brasil.
Palavras-chave: intrauterine growth retardation; Maternal Nutritional Status; MICRONUTRIENTES.
Grande área: Ciências da Saúde / Área: Medicina / Subárea: Saúde Materno-Infantil / Especialidade: Nutrição.
Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Nutrição / Subárea: Análise Nutricional de População / Especialidade: Micronutrientes.
Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Medicina / Subárea: Saúde Materno-Infantil.
Setores de atividade: Saúde Humana; Nutrição e Alimentação.
- 1987 - 1988** Mestrado em Master in Community Medicine.
University of Leeds, LEEDS, Inglaterra.
Título: Supplementary feeding programmes and nutritional status of the Brazilian children: A critical analysis based on the country reality, Ano de Obtenção: 1988.
Orientador: Dr Peter Cox.
Bolsista do(a): University of Leeds.
Palavras-chave: Supplementary Feeding programs; Brazilian children; Critical analysis; nutritional status.
Grande área: Ciências da Saúde / Área: Saúde Coletiva / Subárea: Saúde Pública / Especialidade: Nutrição.
Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Saúde Coletiva / Subárea: Saúde Pública.
Setores de atividade: Saúde Humana; Nutrição e Alimentação.