Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública

Efeito dos ácidos graxos ômega-3 de origem
marinha em parâmetros bioquímicos,
antropométricos e inflamatórios de adultos que
vivem com HIV em terapia antirretroviral: revisão da
literatura e ensaio clínico

Julicristie Machado de Oliveira

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

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

São Paulo, 2011

Efeito dos ácidos graxos ômega-3 de origem
marinha em parâmetros bioquímicos,
antropométricos e inflamatórios de adultos que
vivem com HIV em terapia antirretroviral: revisão
da literatura e ensaio clínico

Julicristie Machado de Oliveira

Tese apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Nutrição em
Saúde Pública da Faculdade de
Saúde Pública da Universidade de
São Paulo para obtenção do título de
Doutora em Ciências.

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

São Paulo, 2011

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 sua reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da tese.

*Dedico esse trabalho,
com muito carinho e respeito,
às pessoas que vivem com HIV/Aids.*

Agradeço a tudo e a todos que direta ou indiretamente contribuíram com esse trabalho, especialmente os participantes dessa pesquisa, o Carlos Henrique, meus pais Vanda e Joaquim, meus sobrinhos Luísa, José Pedro, Giovani, Luís Henrique, Stacy e Laura, meus irmãos, Adervani, Ludimila e Murilo, e cunhados Ana Paula, Elaine e Alexandre, a Profa. Assoc. Patrícia Helen de Carvalho Rondó, as alunas de Iniciação Científica, Andrea Catalaní e Tatiane Pereira, o Prof. John S Yudkín, o Prof. Assoc. Aluísio Augusto Cotrim Segurado, o Prof. José Maria Pacheco de Souza, os membros e suplentes da Banca, Profa Dra. Denise Bergamaschi, Profa. Dra. Inar Castro, Profa. Dra. Nágila Damasceno, Profa. Dra. Sigríd Santos, Prof. Assoc. Aluísio Segurado, Profa. Assoc. Marly Cardoso, Profa. Dra. Patrícia Jaime, Prof. Assoc. Raul Santos, os funcionários do Serviço de Extensão, em especial a Camila e Ana Paula, meus amigos e colegas, especialmente, Alíne Medeiros, André Sanches, Ana Paula França, Anderson Sena, Bruna Bronhara, Bright Nwaru, Carol Marra, Iris Araújo, Ester Kang, Eliseu Verly, Izumi Omura, Larissa Michelam, Lucas Pirolla, Luísiãna Carneiro, Lina Rospita, Maíra Marra, Maria Carolina Von Atzingen, Manuela Algodres, Marli Inoue, Milena Güesso, Neuber Segri, Simone Freire, Sueli Moreira, Shamyra Castro, e Tarcísio Marra Júnior, as funcionárias da Seção de Pós-graduação, Alessandra Blaya, Maria Aparecida Mendes, Renilda Shimono, e Vânia Santos, e à Fapesp pela concessão de financiamento e bolsa de estudos.

Apresentação

Esta tese de doutorado foi escrita em formato não tradicional. Ela é composta por uma introdução, metodologia e três artigos ou manuscritos científicos. O primeiro é uma revisão da literatura. No segundo e no terceiro, estão descritos os resultados de um estudo de intervenção. Ao final, encontram-se as considerações finais relacionadas aos três artigos em conjunto.

Resumo

Oliveira JM. **Efeito dos ácidos graxos ômega-3 de origem marinha em parâmetros bioquímicos, antropométricos e inflamatórios de adultos que vivem com HIV em terapia antirretroviral: revisão da literatura e ensaio clínico.** [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 2011.

Introdução: A terapia antirretroviral (ART) mudou o curso da Aids, porém está associada a alterações metabólicas e aumento do risco de doenças cardiovasculares. **Objetivo:** Avaliar o efeito da suplementação com ácidos graxos ômega-3 de origem marinha no perfil lipídico, na homeostase da glicose, na distribuição de gordura corporal e nos marcadores inflamatórios de adultos com HIV em ART. **Métodos: Artigo 1.** Trata-se de uma revisão sistemática da literatura com metanálise. Realizou-se busca por ensaios clínicos na base de dados PubMed; 33 artigos foram localizados, seis cumpriram os critérios de inclusão e quatro apresentavam qualidade metodológica adequada. Foi realizada metanálise com efeitos fixos e descrição das diferenças de médias sumárias (DMS (IC95%)). **Artigos 2 e 3.** Trata-se de um ensaio clínico aleatorizado e controlado. Foram recrutados 120 adultos com idade entre 19 e 64 anos, de ambos os sexos. Os indivíduos alocados no grupo intervenção foram suplementados por 24 semanas com 3g de óleo de peixe/dia (900mg de ácidos graxos ômega-3) e indivíduos alocados no grupo controle receberam placebo (óleo de soja). **Resultados: Artigo 1.** Após 8-16 semanas de intervenção com 900-3360mg de ácidos graxos ômega-3/dia, observou-se redução de -80,34mg/dL (IC

95%: -129,08 a -31,60) nas concentrações de triglicérides. A análise agregada de estudos com média de concentração de triglicérides > 300mg/dL no *baseline* e intervenção com 1800-2900mg de ácidos graxos ômega-3/dia resultou em redução de -129,72mg/dL (IC95%: -206,54 a -52,91). **Artigos 2 e 3.** Foram considerados nas análises dados de 83 sujeitos. Os modelos multinível não revelaram relação estatisticamente significativa entre a suplementação com óleo de peixe e as mudanças longitudinais nas concentrações de triglicérides (p=0,335), LDL-C (p= 0,078), HDL-C (p=0,383), colesterol total (p=0,072), apo B (p=0,522), apo A1 (p=0,420), razão LDL-C/apo B (p=0,107), índice homa-2 IR (p=0,387), IMC (p=0,068), circunferência da cintura (p=0,128), relação cintura/quadril (p=0,359), PCR ultra sensível (p=0,918), fibrinogênio (p=0,148), e fator VIII (p=0,073). **Conclusões: Artigo 1.** Diferentes doses de ácidos graxos ômega-3 reduziram modo significativo as concentrações de triglicérides, confirmando a potencial aplicabilidade desse nutriente no tratamento da hipertrigliceridemia em pessoas que vivem com HIV em ART. **Artigos 2 e 3.** Uma dose relativamente baixa de óleo de peixe para pessoas que vivem com HIV em ART não alterou o perfil lipídico, a homeostase da glicose, a distribuição de gordura corporal e a concentração de marcadores inflamatórios. Recomenda-se, em estudos subseqüentes, a avaliação do efeito de doses mais elevadas, bem como a determinação de marcadores inflamatórios mais sensíveis. **Palavras-chave:** Ácidos graxos ômega-3, infecções por HIV, síndrome metabólica, triglicérides, LDL colesterol, HDL colesterol, proteína C reativa, fibrinogênio, fator VIII.

Abstract

Oliveira JM. **Effects of marine omega-3 fatty acids supplementation on biochemical, anthropometric, and inflammatory outcomes in subjects living with HIV on antiretroviral therapy: review and clinical trial.** [PhD Thesis]. Sao Paulo: School of Public Health, USP; 2011.

Background: Although the antiretroviral therapy (ART) revolutionized the care of HIV-infected subjects, it has been associated with metabolic abnormalities and increased risk of cardiovascular diseases. **Aims:** To review the effects of marine omega-3 fatty acids on lipid profile, insulin resistance and inflammatory markers in subjects living with HIV on ART.

Methods: Paper 1. Thirty three articles were found in a PubMed search; six met the inclusion criteria; and four of them were considered of adequate quality and included. Meta-analysis with fixed effects was performed and weighted mean differences (WMD (95%CI)) were described. **Paper 2 and 3.**

The study was conducted in an HIV/Aids care centre affiliated to the Medical School, University of Sao Paulo. This was a randomized controlled trial that assessed the effects of 3g fish oil/day (900mg of omega-3 fatty acids) or 3g soy oil/day (placebo). A hundred and twenty subjects aged between 19 and 64 years were recruited. The statistical analyses were performed in Stata 9.

Results: Paper 1. Data from 83 subjects were included in the analyses. The overall reduction on triglyceride concentrations after 8-16 weeks of treatment with 900-3360mg of omega-3/day was WMD=-80.34mg/dL (95%CI: -129.08 to -31.60). The pooled result of studies with mean triglyceride > 300 mg/dL at

baseline and 1800-2900mg omega-3/day was WMD=-129.72mg (95% CI: -206.54 to -52.91). **Paper 2 and 3.** Multilevel analyses revealed no statistically significant relationships between fish oil supplementation and the longitudinal changes in triglyceride (p= 0.335), LDL-C (p= 0.078), HDL-C (p= 0.383), total cholesterol (p=0.072), apo B (p= 0.522), apo A1 (p=0.420), LDL-C/apo B ratio (p=0.107), homa-2 IR index (p=0.387), BMI (p=0.068), waist circumference (p=0.128), waist/hip ratio (p=0.359), hs-CRP (p=0.918), fibrinogen (p=0.148), and VIII factor (p=0.073). **Conclusions: Paper 1.** Different doses of omega-3 fatty acids reduced significantly triglyceride concentrations confirming the potential applicability of this nutrient on the management of hypertriglyceridemia in HIV-infected subjects on ART. **Paper 2 and 3.** A relatively low dose of fish oil for HIV subjects on ART did not change lipid profile, insulin resistance, body fat distribution, and inflammatory markers. Further investigations should consider the assessment of higher doses and more sensitivity inflammatory markers.

Key-words: Omega-3 fatty acids, HIV infections, metabolic syndrome, triglycerides, LDL cholesterol, C reactive protein, fibrinogen, VIII factor.

Índice

1. INTRODUÇÃO	2
1.1. Histórico e Epidemiologia.....	2
1.2. Aspectos clínicos e tratamento	4
1.3. HIV, antirretrovirais, síndrome metabólica, dislipidemia e alterações cardiovasculares ..	5
1.4. Ácidos poli-insaturados graxos ômega-3 e seu papel cardioprotetor e anti-inflamatório .	9
2. JUSTIFICATIVA E HIPÓTESES	12
3. OBJETIVOS	13
4. METODOLOGIA.....	14
5. RESULTADOS	18
5.1 Artigo 1 – Omega-3 fatty acids and hypertriglyceridemia in HIV-infected subjects on antiretroviral therapy: systematic review and meta-analysis.....	18
5.2 Artigo 2 – Effects of fish oil on lipid profile, insulin resistance and body fat distribution in Brazilian subjects living with HIV on antiretroviral therapy: a randomised, parallel, placebo-controlled trial	33
5.3 Artigo 3 – Effects of a low dose of marine omega-3 fatty acids on inflammatory markers in Brazilian HIV-infected adults on antiretroviral therapy: a randomised, parallel, placebo-controlled trial	49
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	62
7. REFERÊNCIAS.....	65

ANEXOS

Anexo 1 - Questionário sócio-demográfico, de saúde, atividade física e consumo alimentar

Anexo 2 - Parecer do Comitê de Ética da Faculdade de Saúde Pública – COEP/FSP/USP

Anexo 3- Parecer da Comissão de Ética para análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina – CAPPesq/FM/USP

Anexo 4 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Anexo 5 - Currículo Lattes

1. Introdução

1.1. Histórico e Epidemiologia

Os primeiros casos da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (Aids) foram documentados nos Estados Unidos em 1981 (CDC, 1981). Posteriormente, em 1983, o vírus da imunodeficiência humana (HIV) foi isolado em paciente com quadro clínico compatível com a doença (BARRÉ-SINOUSSE et al., 1983). A partir desse ano, houve um aumento significativo do número de pessoas que vivem com HIV em todo o mundo. A epidemia apresentou pico em 1996, quando ocorreram cerca de 3,5 milhões de novos casos. Posteriormente, houve processo de redução e as estimativas referentes a 2008 foram 30% menores quando comparadas às de 1996 (UNAIDS, 2009).

Segundo a UNAIDS (2009), cerca de 33,4 milhões (IC 95%: 31,1-35,8 milhões) de pessoas viviam com HIV em 2008, sendo 46,8% homens, 47,0% mulheres e 6,2% adolescentes ou crianças (idade inferior a 15 anos). Aparentemente, a epidemia de HIV se estabilizou na maior parte das regiões do mundo, apesar da prevalência continuar aumentando na Europa Oriental e na Ásia em decorrência do aumento da incidência. A África sub-Sahariana é considerada a área mais afetada, com 71% dos casos novos estimados em 2008. Outro ponto importante é o ressurgimento da epidemia em homens que se relacionam sexualmente com homens em países de alta renda (UNAIDS, 2009).

A epidemia de Aids no Brasil apresenta mudanças importantes desde

o primeiro caso registrado em 1980. Considerando as diferenças regionais e a extensão do país, é provavelmente mais apropriado se referir à situação brasileira como um conjunto de epidemias. Na década de 80, havia predominância de casos em indivíduos do sexo masculino, com idade entre 20 e 49 anos, com alto nível socioeconômico, homossexuais ou bissexuais, além dos portadores de hemofilia e receptores de sangue. Posteriormente, observou-se também maior incidência entre usuários de drogas injetáveis (FONSECA et al., 2000; SANTOS et al. 2002, FONSECA e BASTOS, 2007).

O número de casos de Aids registrados no Brasil aumentou rapidamente até 1992. A partir desse ano, houve redução gradativa até o final da década, com estabilização da incidência. Nesse período, constatou-se uma transição do perfil epidemiológico resultando em aumento da infecção em indivíduos heterossexuais, do sexo feminino, de baixo nível socioeconômico, com idade entre 30 e 39 anos. De forma geral, as taxas de Aids em homens mais jovens tendem à estabilização, porém há tendência de aumento entre heterossexuais com idade superior a 40 anos (FONSECA et al., 2000; SANTOS et al. 2002, FONSECA e BASTOS, 2007).

Em 2004, SZWARCOWALD e SOUZA JÚNIOR (2006) estimaram em 0,61% (593,787 casos) a taxa de prevalência de HIV em brasileiros com idade entre 15 e 49 anos. Segundo os autores, a taxa foi maior em indivíduos de sexo masculino (0,80%), comparando-se com estimativa em mulheres (0,42%). No ano de 2009, foram notificados 13.661 novos casos de Aids no Brasil, sendo 59,7% em pessoas do sexo masculino e 40,3% em pessoas do sexo feminino (www.datasus.gov.br).

1.2. Aspectos clínicos e tratamento

A transmissão do HIV pode ser horizontal, por contato com sangue contaminado ou por relação sexual desprotegida, ou vertical, caracterizada pela infecção do feto durante a gestação, no momento do parto, e do recém-nascido durante o aleitamento materno (RUBINSTEIN e BENESTEIN, 1986; VAN DER GRAAF e DIEPERSLOOT, 1986).

O HIV infecta preferencialmente os linfócitos-T CD4+ e células como os macrófagos, que possuem receptores CD4+, levando à perda progressiva de células CD4+ circulantes e redução na razão CD4+/CD8+ (HENDERSON e SAAVEDRA, 1995). Com a progressão da doença, ocorre um comprometimento lento do sistema imunológico que se caracteriza clinicamente como a Aids (WATERSON, 1983). Em geral, o período de incubação, compreendido entre a infecção e o aparecimento de sinais e sintomas da fase aguda, é de 5 a 30 dias; e o de latência clínica, período compreendido entre a infecção e sinais e sintomas que caracterizam a síndrome, está entre 5 e 10 anos. No Brasil, para notificação de caso de Aids, há necessidade de diagnóstico de pelo menos uma doença indicativa e/ou contagem de linfócitos T CD4+ <350 células/mm³ (BRASIL, 2008). Do ponto de vista clínico, a contagem de linfócitos T CD4+ <200 células/mm³ é suficiente para definição de Aids (CDC, 1993).

Para evitar a redução na contagem de linfócitos T CD4+ e a progressão da doença, recomenda-se a terapia antirretroviral. Segundo o Programa Nacional de DST e Aids do Brasil (BRASIL, 2008b), os principais objetivos do tratamento são redução da morbi-mortalidade, supressão da carga viral, melhorar a qualidade de vida, preservar e, quando possível,

restaurar o sistema imunológico. Segundo esse programa, a terapia deve ser instituída para indivíduos com manifestações clínicas associadas à imunodeficiência relacionada ao HIV, independente da contagem de linfócitos T CD4+ e da carga viral, e para aqueles com contagem de linfócitos T CD4+ <200 células/mm³, independente dos sintomas e da carga viral. Para indivíduos assintomáticos com contagem de linfócitos T CD4+ entre 200 e 350 células/mm³, o tratamento é recomendado, particularmente quanto mais reduzida estiver a contagem e mais elevada estiver a carga viral.

A terapia antirretroviral altamente ativa (*Highly Active Antiretroviral Therapy* – HAART), utilizada no Programa Nacional de DST e Aids, consiste na combinação de três diferentes drogas. Os esquemas iniciais incluem, preferencialmente, dois inibidores de transcriptase reversa análogos de nucleosídeo (ITRN) associados a um inibidor de transcriptase reversa não-análogo de nucleosídeo (ITRNN) ou, de forma alternativa, a um inibidor de protease reforçado com ritonavir (IP/r) (BRASIL, 2008b).

1.3. HIV, antirretrovirais, síndrome metabólica, dislipidemia e alterações cardiovasculares

A introdução da HAART alterou de modo significativo o curso da Aids, dado o aumento da sobrevida e da qualidade de vida das pessoas que vivem com HIV (BARBARO, 2006; BARBARO e BARBARINI, 2006; OH e HEGELE, 2007). Apesar dos benefícios da terapia em relação à supressão

da replicação viral e progressão da doença, há efeitos tóxicos associados a seu uso que podem comprometer a efetividade do tratamento (BARBARO, 2006; FIELDS-GARDNER e FERGUSON, 2004).

Os esquemas de terapia antirretroviral, especialmente aqueles que incluem os IP, estão associados às alterações metabólicas, na composição corporal (lipodistrofia) e aumento do risco de doenças cardiovasculares (BARBARO, 2006; FIELDS-GARDNER e FERGUSON, 2004). As alterações metabólicas incluem dislipidemia, diabetes tipo 2, resistência à insulina, anormalidades na coagulação, acidemia láctica e elevação de transaminases hepáticas (BARBARO, 2006). A lipodistrofia caracteriza-se por lipoatrofia nas faces, nas extremidades e nas nádegas e lipohipertrofia nas regiões abdominal e dorso-cervical (OH & HEGELE, 2007).

A fisiopatologia da dislipidemia relacionada à HAART é complexa e envolve uma série de efeitos induzidos pelas drogas somados a influências hormonais, imunológicas, pré-disposição genética (OH & HEGELE, 2007) e fatores de risco tradicionais (dieta, hábito de fumar, consumo de álcool, obesidade e sedentarismo) (GRUNFELD, 2010). A dislipidemia em indivíduos em tratamento antirretroviral caracteriza-se por elevação nas concentrações de triglicérides, de colesterol total, de LDL-C, de VLDL-C e redução de HDL-C. O tratamento antirretroviral aumenta a produção de VLDL-C e os IP prejudicam seu catabolismo, além de associarem-se ao acúmulo de gordura intramiocelular que leva à resistência à insulina, com conseqüente elevação da concentração de lipoproteínas ricas em apolipoproteína B e triglicérides. Além disso, a lipodistrofia secundária ao uso de IP reduz a expressão de receptores de LDL-C, por conseguinte, há

elevação nas concentrações dessa lipoproteína. Os IP em conjunto com os ITRN inibem a cadeia respiratória mitocondrial o que pode resultar em anormalidade nos músculos esqueléticos, resistência à insulina e dislipidemia. Além de todas essas vias, os IP podem também interferir na captura de ácidos graxos pelos adipócitos. Os ácidos graxos se mantêm em circulação e tornam-se substrato para a síntese hepática de lipoproteínas ricas em triglicérides. Há também a possibilidade de haver estímulo hepático direto, por meio da regulação de enzimas envolvidas na síntese (OH e HEGELE, 2007).

Alguns esquemas de HAART, como aqueles que incluem a zidovudina (ITRN), alguns ITRNN (ex. efavirenz) e IP, estão relacionados a alterações celulares que levam à disfunção endotelial. Os mecanismos envolvem dano ao DNA mitocondrial, morte celular por necrose, redução da expressão da óxido nítrico sintetase e elevação do estresse oxidativo. A disfunção endotelial, a reação autoimune à infecção viral (vasculite) e a doença renal em conjunto contribuem para a patogênese da hipertensão. (BARBARO & SILVA, 2009). Além dessas alterações, a terapia antirretroviral está relacionada à aceleração da aterosclerose, além de aumentar em 26% o risco de infarto agudo do miocárdio em pessoas que vivem com HIV (FRIIS-MØLER et al., 2003).

Estudos publicados anteriormente à introdução da HAART já mostravam associação entre a infecção por HIV e doenças cardiovasculares (BARBARO & SILVA, 2009), incluindo lesões ateroscleróticas mesmo quando os fatores de risco tradicionais não estavam presentes. Há indícios que o vírus favoreça a aterosclerose pelos mecanismos que envolvem a

imunodeficiência, inflamação crônica e disfunção das células endoteliais (FRIIS-MØLER et al., 2003).

Sendo assim, as alterações associadas à infecção por HIV e ao tratamento antirretroviral podem contribuir para o desenvolvimento da Síndrome Metabólica. Segundo a Sociedade Brasileira de Cardiologia (2005), essa síndrome pode ser considerada uma entidade complexa que associa fatores de risco cardiovasculares bem estabelecidos como hipertensão arterial, dislipidemia, diabetes, resistência à insulina, adiposidade central, dentre outros.

BERGENSEN et al. (2006) compararam os componentes da Síndrome Metabólica entre indivíduos com HIV (com ou sem uso de antirretrovirais) e indivíduos saudáveis (controles). Os autores descrevem maior prevalência de Síndrome Metabólica entre indivíduos com uso de HAART (15%), quando comparados a indivíduos com HIV não tratados (2%, $p=0,002$) ou saudáveis (2%, $p=0,019$). Os resultados da análise que excluiu pacientes com sobrepeso indicam que a prevalência de resistência à insulina foi maior nos indivíduos com HIV sob tratamento comparando-se com os controles saudáveis (39% vs 18%, $p=0,012$).

De acordo com YUDKIN (2007) a etiologia da Síndrome Metabólica e sua associação com as doenças cardiovasculares estão relacionadas com situações de inflamação subclínica que precedem as alterações que compõem a síndrome. HOTAMISLIGIL (2006) e SHOELSON et al. (2006) também revisaram a associação entre inflamação e alterações metabólicas, especialmente obesidade, resistência à insulina, diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares. Os autores indicam que as alterações metabólicas estão

fortemente associadas à inflamação crônica, caracterizada por produção anormal de citocinas, aumento dos níveis de reactantes de fase aguda e de outros mediadores.

1.4. Ácidos poli-insaturados graxos ômega-3 e seu papel cardioprotetor e anti-inflamatório

Os ácidos graxos são cadeias de carbono, usualmente de 12 a 24, que apresentam um radical alfa (ácido carboxílico) e um ômega (metila ou n) (HARRIS et al., 2008). Os ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 e ômega-6 são termos genéricos que se referem a um conjunto de lipídios que apresentam a primeira insaturação, ou dupla ligação, nas posições 3 ou 6 das cadeias de carbono a partir do ômega, respectivamente (IOM, 2002; HARRIS et al., 2008). A nomenclatura de um ácido graxo inicia-se com o número de carbonos, seguido do número de duplas ligações e a posição da primeira dupla contada a partir do ômega. Os principais ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 são o alfa-linolênico (ALA, 18:3n-3), o docosahexaenóico (DHA, 22:6n-3) e o eicosapentanoíco (EPA, 20:5n-3). Os principais ácidos graxos poli-insaturados ômega-6 são o ácido linoléico (LA, 18:2n-6) e o araquidônico (AA, 20:4n-6) (HARRIS et al., 2008). Como os mamíferos não apresentam enzimas que possuem habilidade de inserir duplas ligações nessas posições, os ácidos graxos alfa-linolênico e linoléico são considerados essenciais (IOM, 2002).

Os ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 e ômega-6 são encontrados em alimentos de origem vegetal e animal. Muitos alimentos

ricos em ômega-3 também apresentam alto teor de ácidos graxos poli-insaturados ômega-6. Como a razão ômega-6/ômega-3 parece ser mais importante que a quantidade absoluta de ômega-3 na dieta, a redução do consumo de ômega-6 e aumento do consumo de ômega-3 são indicados para prevenção de doenças cardiovasculares e inflamatórias, dentre outras (SIMOPOULOS, 2008).

Os ácidos poli-insaturados graxos ômega-3 são encontrados em alimentos de origem vegetal e animal. Os alimentos de origem vegetal terrestres são fontes de ALA que no organismo humano pode ser convertido a DHA e a EPA. A maior parte dos alimentos de origem marinha (vegetal ou animal) são fontes de ambos: DHA e EPA, porém apresentam predomínio de DHA na composição. A semente de chia, a semente e o óleo de linhaça são exemplos de fontes vegetais terrestres de ALA, o óleo de microalga, o óleo de peixe, o salmão, o arenque e a cavalinha são exemplos de fontes marinhas de EPA e DHA de origem vegetal ou animal (OLIVEIRA et al., 2011). Em relação às fontes de ácidos poli-insaturados graxos ômega-6, pode-se citar os óleos de canola, milho e soja, como fontes de origem vegetal, e carne frango, ovo de galinha e leite de vaca como fontes de origem animal (MARTIN et al., 2006).

Os ácidos graxos poli-insaturados ômega-6 são essenciais para a produção de eicosanóides, compõem a estrutura das membranas celulares e têm papel importante nas vias de sinalização celular (IOM, 2005). Os eicosanóides, que incluem as prostaglandinas (PG), tromboxanos e leucotrienos (LT), modulam a intensidade e duração do processo inflamatório. Apesar da escassez de estudos que investigam a influência do

ácido linoléico ou ácido araquidônico no processo inflamatório em humanos, há indicação de que a suplementação com ácidos graxos poli-insaturados ômega-6 esteja associada a aumento da concentração de ácido araquidônico nas células inflamatórias, bem como aumento na produção de PGE2 e LTB4 (CALDER, 2006).

Os ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 têm papel fundamental no desenvolvimento e manutenção do cérebro e do sistema visual (MARTIN et al., 2006). O papel cardioprotetor dos ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 presentes em peixes ou em óleo de peixe é bem discutido na literatura científica. Os possíveis mecanismos pelos quais esses ácidos graxos reduzem o risco de eventos cardiovasculares incluem: promoção do relaxamento endotelial, desaceleração da formação de placas de ateroma, ação antiinflamatória, antitrombogênica, hipotensiva, redução da expressão das moléculas de adesão, da agregação de plaquetas, de triglicérides e da susceptibilidade à arritmia ventricular (KRIS-ETHERTON et al., 2002; LEE et al., 2009).

Segundo CALDER (2006) e SARAVANAN et al. (2010) o aumento do consumo de ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 (EPA e DHA) resulta em aumento de sua concentração nas células inflamatórias. Essa elevação na concentração celular segue um modelo de dose-reposta e também é dependente da concentração de ácido araquidônico. Estudos de intervenção com ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 em humanos apontam que, como consequência do aumento da incorporação celular, há diminuição da produção de prostaglandinas 2, leucotrienos B4 e E4 e tromboxano B2. Além dessas alterações, há também aumento da produção de LTB5 e PGE3,

mediadores com menor potencial inflamatório, e resolvinas e neuroprotectinas, mediadores anti-inflamatórios. Assim, as evidências sugerem que os ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 exercem a ação antiinflamatória ou imunomodulatória por meio de diferentes mecanismos (WALL et al., 2010).

CARPENTIER et al. (2006), NESCHEN et al. (2007), RUDKOWSKA (2010) e SARAVANAN et al. (2010) revisaram o papel dos ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 na atenuação das alterações metabólicas. Os autores descrevem que o aumento da ingestão ou suplementação dos ácidos graxos está associado à redução da concentração sanguínea de triglicérides e de marcadores inflamatórios. Há relato também de efeito protetor em relação ao risco de doenças cardiovasculares em indivíduos com diabetes tipo 2, sem causar alterações na homeostase da glicose.

2. Justificativa e Hipóteses

Justificativa

Tendo em vista a alta prevalência de alterações metabólicas em indivíduos que vivem com HIV em terapia antirretroviral e os relatos de papel cardioprotetor e anti-inflamatório dos ácidos graxos ômega-3 de origem marinha (EPA e DHA), a revisão da literatura e condução de um ensaio clínico que avalie a intervenção com esse nutriente no grupo em questão torna-se pertinente. Os resultados podem contribuir para a formulação de estratégias de intervenção, prevenção e programas de nutrição e saúde eficientes.

Hipóteses

A suplementação com ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 de origem marinha em adultos que vivem com HIV em terapia antirretroviral pode prevenir a elevação ou reduzir a concentração sanguínea de triglicérides e de marcadores inflamatórios, sem causar alterações importantes no metabolismo da glicose, na concentração de outros marcadores lipídicos e nos parâmetros antropométricos.

3. Objetivos

Objetivo geral

Revisar e avaliar o efeito dos ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 de origem marinha em parâmetros bioquímicos, antropométricos e inflamatórios de adultos que vivem com HIV em terapia antirretroviral.

Objetivos específicos

1. Revisar os efeitos da suplementação com ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 de origem marinha na concentração de triglicérides;
2. Avaliar o efeito da suplementação com óleo de peixe no perfil lipídico, na homeostase da glicose e na distribuição de gordura corporal;
3. Avaliar o efeito da suplementação com óleo de peixe nos marcadores inflamatórios.

4. Metodologia

Trata-se de um ensaio clínico aleatorizado e controlado desenvolvido no Serviço de Extensão ao Atendimento de Pacientes HIV/Aids da Divisão de Clínica de Moléstias Infecciosas e Parasitárias do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – HC/FM/USP.

Entre janeiro e outubro de 2009, os indivíduos foram convidados a participar do estudo no momento de suas retiradas de medicação, de suas consultas de rotina ou por telefone, como descrito na figura 1. Cento e vinte indivíduos foram recrutados e aleatorizados em dois grupos intervenção e controle. O grupo intervenção recebeu óleo de peixe (3 cápsulas de 1g cada/dia) e o controle placebo (3 cápsulas de 1g de óleo de soja cada/dia) por 24 semanas. Os indivíduos incluídos foram entrevistados utilizando-se questionário em anexo (ANEXO 1). Além das questões relacionadas ao perfil sociodemográfico e de saúde, foram coletadas dos prontuários informações sobre tempo de infecção pelo HIV, presença de co-infecções e medicamentos utilizados. A avaliação do estado nutricional foi realizada por pesquisadoras de campo devidamente treinadas de acordo com as recomendações da WHO (1995). A atividade física habitual foi determinada no *baseline* utilizando-se o questionário proposto por FLORINDO (2003). Foram aplicados também dois recordatórios de 24 horas, um referente a um dia da semana e outro a um dia do final de semana, para avaliar o consumo alimentar habitual dos participantes no início do estudo, para que fosse posteriormente calculada a razão entre os ácidos graxos ômega-6 e 3 da dieta.

Figura 1: Fluxograma do ensaio clínico.

Os desfechos primários ou variáveis de interesse principal foram determinados ou calculados no *baseline*, na 12^a e na 24^a semanas de seguimento. São eles:

Perfil lipídico	Marcadores inflamatórios
Triglicérides LDL colesterol HDL colesterol	Proteína C reativa ultra-sensível Fibrinogênio Fator VIII

Os desfechos secundários ou variáveis de interesse secundário foram determinados ou calculados no *baseline*, na 12^a e na 24^a semanas de seguimento. São eles:

Perfil lipídico e metabolismo da glicose	Perfil antropométrico	Perfil imunológico
Colesterol total Apolipoproteína B Apolipoproteína A1 Índice HOMA2 IR Razão LDL-C/Apo B	IMC Circunferência da cintura Relação cintura/quadril	Contagem de linfócitos-T CD4+ Razão CD4+/CD8+ Carga viral do HIV

Parte das determinações imunológicas e bioquímicas acima citadas faz parte da rotina de atendimento aos pacientes do serviço de extensão, como contagem de linfócitos T (CD4+ e CD8+), carga viral do HIV, colesterol total e frações, triglicérides e glicose de jejum. Esses exames são financiados pelo SUS (Sistema Único de Saúde) que garante determinações trimestrais dos mesmos. Portanto, por questões de logística e para não submeter os pacientes a várias coletas de sangue, os exames adicionais

que constam no presente projeto foram realizados, sempre que possível, no mesmo momento desses exames de rotina.

A coleta de amostras de sangue foi realizada por profissional de enfermagem no ambulatório SEAP/HIV/Aids. Foram coletados 35ml de sangue venoso em cinco tubos sem anticoagulante e em dois tubos com citrato de sódio. Após a coleta, as amostras foram transportadas até o Laboratório Central do Instituto Central do Hospital das Clínicas (LACE/ICHC), onde foram realizadas as determinações, com exceção dos exames de carga viral e contagem de linfócitos que foram realizados no Laboratório de Investigação Médica 52 (LIM52/ICHC). Após as dosagens, as amostras remanescentes foram descartadas pelos laboratórios.

Para o desenvolvimento da pesquisa foram considerados, em todas as suas etapas, os princípios éticos fundamentais que norteiam a pesquisa envolvendo seres humanos, descritos e estabelecidos pela Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da FSP e pela CAPPesq do HC/FM/USP (ANEXO 2 e 3). Os pacientes manifestaram voluntariamente o interesse em participar da pesquisa mediante consentimento livre e esclarecido concedido com a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pelo próprio participante (ANEXO 4).

5. Resultados

5.1 Artigo 1 – Omega-3 fatty acids and hypertriglyceridemia in HIV-infected subjects on antiretroviral therapy: systematic review and meta-analysis

A manuscript number has been assigned to Omega-3 fatty acids and hypertriglyceridemia in HIV-infected subjects on antiretroviral therapy: systematic review and meta-analysis

Wednesday, January 26, 2011 5:05 PM

From: "HIV Clinical Trials" <hcteditor@thomasland.com>

To: "Julicristie M Oliveira" <julicristie@yahoo.com>

Dear Dr. Oliveira,

Your submission entitled "Omega-3 fatty acids and hypertriglyceridemia in HIV-infected subjects on antiretroviral therapy: systematic review and meta-analysis" has been assigned the following manuscript number: HCT-D-11-00003.

You will be able to check on the progress of your paper by logging on to Editorial Manager as an author.

The URL is <http://hct.edmgr.com/>.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Kenneth Killion
Managing Editor
HIV Clinical Trials

**Omega-3 fatty acids and hypertriglyceridemia in HIV-infected subjects
on antiretroviral therapy: systematic review and meta-analysis**

Short title: Omega-3, hypertriglyceridaemia and HIV infection

Julicristie M Oliveira, Patrícia HC Rondó

Department of Nutrition, School of Public Health, University of Sao Paulo,
Sao Paulo, Brazil.

Correspondence to:

Julicristie M Oliveira

Faculdade de Saúde Pública, FSP/USP

Departamento de Nutrição

Av. Dr. Arnaldo, 715

Cerqueira César

Sao Paulo, SP, Brazil

CEP: 01246-904

Fax: + 55-11-30667705

E-mail: cristie@usp.br

Abstract

Purpose: Antiretroviral therapy (ART) changed the course of AIDS. However it has been associated with chronic metabolic complications including hypertriglyceridaemia. The aim of this systematic review is to evaluate the effects of marine omega-3 fatty acids in triglyceride concentrations of HIV-infected subjects on ART. Methods: Thirty three articles were found in a PubMed search; six met the inclusion criteria; and four of them were considered of adequate quality and included. Meta-analysis with fixed effects was performed and weighted mean differences (WMD(95%CI)) were described. Results: The overall reduction of triglyceride concentrations after 8-16 weeks of treatment with 900-3360mg of omega-3/day was WMD=-80.34mg/dL (95%CI: -129.08 to -31.60). A short term (4-8 weeks) and a long term (12-16 weeks) intervention were associated with a WMD=-134.36mg/dL (95%CI: -208.04 to -60.69) and with a WMD=-54.09mg/dL (95%CI: -115.77 to 7.59), respectively. The pooled result of studies with mean triglyceride > 300 mg/dL at baseline and 1800-2900mg omega-3/day was WMD=-129.72mg (95% CI: -206.54 to -52.91). Conclusion: Different doses of omega-3 fatty acids reduce significantly triglyceride concentrations confirming the potential applicability of this nutrient on the management of hypertriglyceridemia in HIV-infected subjects on ART.

Key-words: HIV, AIDS, triglycerides, omega-3 fatty acids.

Introduction

Antiretroviral therapy (ART) has changed the course of AIDS, transforming HIV infection in a manageable chronic illness. However, ART has been associated with chronic metabolic complications, including lipodystrophy, insulin resistance, dyslipidaemia, and increased risk of cardiovascular disease. [1-3] The mechanisms whereby ART induces the metabolic alterations are complex and influenced by genetic predisposition, life style, hormonal and immunological profiles. Moreover, HIV-infected patients already have abnormal lipoprotein concentrations independent of treatment with ART.[3]

Hypertriglyceridaemia is one of the most common metabolic alterations in HIV-infected subjects on ART. Results from “Data Collection on Adverse Effects of Anti-HIV Drugs Study” (DAD), a multicentre cohort study involving 17,852 subjects, showed an OR for elevated triglycerides of 1.05, 1.28, and 1.38 per year of exposure to NRTI (nucleoside reverse transcriptase inhibitors), NNRTI (non nucleoside reverse transcriptase inhibitors) and PI (protease inhibitors), respectively ($p < 0.001$). The prevalences of abnormal triglyceride concentrations were 31.8% in NNRTI and 40% in PI users compared to 15.21% in the naïve group ($p < 0.001$). [4]

Some approaches to manage elevated triglycerides concentrations have been assessed, including changes in life style (diet and physical activity), fibrates, and omega-3 fatty acids.[5-10] The mechanism whereby the omega-3 fatty acids triggers the reduction in triglycerides concentration probably includes inhibition of enzymes involved in their hepatic synthesis, a

competition between fatty acids oxidation and triglycerides biosynthesis, and an increased clearance by omega-3 through an enhancement in endogenous lipoprotein lipase activity.[11]

Considering the well documented role of omega-3 fatty acids on the management of hypertriglyceridaemia in non HIV-infected population, the aim of this paper is to review the effect of these fatty acids on triglyceride concentrations of HIV-infected subjects on ART.

Methods

Criteria for considering studies for this review

The eligibility criteria were: 1) Controlled trials (quasi-randomized, randomized or not); 2) marine omega-3 fatty acids intervention (provision of omega-3 rich food, fortified food, purified omega-3 formulation, traditional fish oil capsules or liquid formulation); 3) Control group with placebo or no intervention; 4) With or without co-interventions (dietary counselling, physical activity, life style changes); 5) Adult (>18 years) male and/or non-pregnant/lactating female HIV-infected subjects on ART; 6) Primary outcome: triglyceride concentrations. No language restriction was applied.

Search methods for identification of studies

A PubMed (www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez) search was carried out in January 2011. using the following strategy: (HIV OR AIDS) AND (omega-3 OR "n-3 polyunsaturated fatty acid*" OR "n-3 PUFA" OR "n-3 fatty acid*" OR

"linolenic fatty acid*" OR "fish oil" OR "salmon oil" OR omacor OR lovaza OR "n-3 ethyl*") AND (randomized controlled trial[pt] OR controlled clinical trial[pt] OR randomized controlled trials[mh] OR random allocation[mh] OR double-blind method[mh] OR single-blind method[mh] OR clinical trial[pt] OR clinical trials[mh] OR ("clinical trial"[tw]) OR ((singl*[tw] OR doubl*[tw] OR trebl*[tw] OR tripl*[tw])) AND (mask*[tw] OR blind*[tw])) OR ("latin square"[tw]) OR placebos[mh] OR placebo*[tw] OR random*[tw] OR research design[mh:noexp] OR follow-up studies[mh] OR prospective studies[mh] OR cross-over studies[mh] OR control*[tw] OR prospectiv*[tw] OR volunteer*[tw]) not (animal[mh] not human[mh])

Data selection and analysis

One reviewer (JM Oliveira) assessed potentially eligible studies to determine if they met the inclusion criteria, and extracted data. The selected trials were assessed with the Downs and Black [12] check list for methodological quality (total scores range from 0 to 32). The higher the score, the better the quality of the study and the following cut-point were used: ≥ 16 (adequate) and < 16 (not adequate). The data were double-checked and meta-analysis with fixed effects was performed using the Stata 8 software. Most of the trials presented data in mg/dL. Hence, data presented in mmol/L was converted to mg/dL using the following conversion factor: 0.0113. Weighted mean differences between intervention and control group were calculated. Statistical heterogeneity in each meta-analysis was assessed using Chi-squared test. If substantial heterogeneity was detected,

random-effects meta-analysis was considered. Sub-analyses were performed according to the duration of treatment (≤ 8 weeks, > 8 weeks); daily dose of omega-3 fatty acids formulation (≤ 1000 mg, 1000-3000mg, ≥ 3000 mg); and baseline mean triglycerides concentration (< 200 mg/dL, ≥ 200 mg/dL).

Results

Thirty three articles were found and six met the eligibility criteria [5-10]. Four of them were classified with adequate quality [5-8]. The methodological characteristics of the four studies are described in Table 1. Most of the trials recruited subjects with triglycerides concentration above 150mg/dL [6-8], on stable antiretroviral therapy or treatment for more than 3 months [5-8], without current use/discontinued use of omega-3 formulation for at least 8 weeks before study entry [5-6].

Figures 1 summarizes the overall effects of marine omega-3 fatty acid on triglyceride. A significant reduction of WMD=-80.34mg/dL (95%CI: -129.08 to -31.60) after 8-16 weeks of treatment with 900-3360mg of omega-3/day was observed. A short term intervention of 4-8 weeks resulted in a WMD=-134.36mg/dL (95%CI: -208.04 to -60.69). A long term intervention of 12-16 weeks did not result in a significant reduction (WMD=-54.09mg/dL; 95%CI: -115.77 to 7.59). The pooled result of studies with mean triglyceride > 300 mg/dL at baseline and 1800-2900mg omega-3/day intervention was WMD=-129.72mg (95% CI: -206.54 to -52.91) (Table 2).

Table 1 Methodological characteristics of the included studies

Reference Country	Study Design	N	Intervention	EPA [□] and DHA ^{■□} content	Endpoints (weeks of intervention)	Quality Score (Downs and Black [14])
THUSGAARD et al. [6] Denmark	Placebo-controlled, double-blind, randomized trial	25	4g of omega-3-acid ethyl esters** /day	1520mg DHA 1840mg EPA	12	22
		23	Placebo			
BARIL et al. [7] Canada	Randomized, open-label, parallel [§] and crossover, multicenter trial	26	3g of salmon oil [#] /day	360mg DHA 540mg EPA	12	20
		31	No intervention			
DE TRUCHIS et al. [8] France	Double-blind, phase 4, randomized, 2-arm, parallel-group study	58	6g of fish oil ^{###} /day + dietary counselling	720mg DHA 1080mg EPA	8	25
		62	Placebo + dietary counselling			
WOHL et al. [9] USA	Open-label, randomized, controlled trial	24	12.5g of a emulsified liquid formulation [§] of omega-3 fatty acid/day + dietary/physical active counselling	1150mg DHA 1750mg EPA	4, 16	17
		20	Dietary/physical active counselling			

[§]Only the parallel period was considered; [□]EPA=eicosapentaenoic acid; ^{■□}DHA=docosahexaenoic acid; **Omacor®, Pronova BioPharma, Norway, AS; [#]Jamieson Laboratories, Toronto, Canada; ^{###}MaxEPA™, Seven Seas Health Care, Hull, England; [§]no information about the amount of liquid formulation ingested/day was provided by the author, but the Coromega® website (<http://www.coromega.com>) was checked.

Figure 1 Effects of marine omega-3 fatty acids on triglyceride concentrations

Table 2 Effects of marine omega-3 fatty acids on triglyceride according to the duration of treatment, concentration at baseline, and dose.

<i>Studies with 4 to 8 weeks of intervention</i>					
Studies	Dose (mg)	WMD	[95% Conf. Interval]		% Weight
WOHL et al. [9]	2900	-197	-392.56	-1.44	14.19
DE TRUCHIS et al. [8]	1800	-124	-203.54	-44.46	85.81
Pooled*	1800-2900	-134.36	-208.04	-60.69	
<i>Studies with 12 to 16 weeks of intervention</i>					
Studies	Dose	WMD	[95% Conf. Interval]		% Weight
WOHL et al. [9]	2900	-209	-504.98	86.98	4.34
BARIL et al. [7]	900	-53	-161.25	55.25	32.47
THUSGAARD et al. [6]	3360	-44	-121.59	33.59	63.19
Pooled**	9000-3360	-54.09	-115.77	7.59	
<i>Studies with triglycerides > 300 mg/dL at baseline</i>					
Studies	Dose	WMD	[95% Conf. Interval]		% Weight
WOHL et al. [9]	2900	-209	-504.98	86.98	4.479
BARIL et al. [7]	900	-53	-161.25	55.25	33.49
DE TRUCHIS et al. [8]	1800	-124	-203.54	-44.46	62.03
Pooled***	900-2900	-104.03	-166.67	-41.39	
<i>Studies with triglycerides > 300 mg/dL at baseline and dose of omega-3 > 1000mg</i>					
Studies	Dose	WMD	[95% Conf. Interval]		% Weight
WOHL et al. [9]	2900	-209	-504.98	86.98	6.73
DE TRUCHIS et al. [8]	1800	-124	-203.54	-44.46	93.27
Pooled****	1800-2900	-129.72	-206.54	-52.91	

*Heterogeneity chi-squared=0.46 (p = 0.498); Test of WMD=0, z= 3.57, p=0.000; **Heterogeneity chi-squared=1.12 (p=0.572); Test of WMD=0, z=1.72, p=0.086; ***Heterogeneity chi-squared=1.58 (p=0.454); Test of WMD=0, z= 3.25, p=0.001; ****Heterogeneity chi-squared=0.30 (p=0.587); Test of WMD=0, z= 3.31, p=0.001.

Discussion

The pooled result of four intervention trials was consistent with a significant reduction of -80.34mg/dL (95%CI: -129.08 to -31.60) in triglyceride concentrations of HIV subjects on antiretroviral therapy. Apparently higher doses of omega-3 fatty acids led to a better triglyceride profile when the mean concentration was > 300mg/dL at baseline (WMD=-129.72mg, 95% CI: -206.54 to -52.91).

The dose response relationship between omega-3 and triglyceride reduction was observed previously in reviews of studies conducted in non-HIV populations [13-15]. Eslick et al. [15] estimated that an average dose of 3250mg/day of omega-3 fatty acids (1900mg EPA plus 1350mg DHA) is necessary for a clinically significant reduction in triglyceride concentrations. Moreover, the proportional triglyceride reduction was significantly related to baseline concentrations. According to Jacobson [13] each increase of 1g fish/day is associated with a decrease in triglycerides concentrations of 8mg/dL, and each mean increase in baseline triglycerides of 100mg/dL is associated with an additional decrease of 16mg/dL. Thus, a considerable amount of traditional fish oil (~10 capsules) are necessary for a clinically reduction in triglyceride concentrations. Alternatively, concentrated omega-3-acid ethyl esters is a formulation that is recommended only for severe hypertriglyceridaemia (>500mg/dL) [16], and the emulsified liquid formulation that has an enhanced absorption compared to the traditional fish oil [17] can be considered. Another possibility are the microalgae oil capsules that can significantly lower triglycerides concentrations. They rarely cause

gastrointestinal side effects (fishy taste and eructation), are appropriate for vegans/ vegetarians and are essentially free of mercury and dioxins [18].

The reviewed studies assessed especially the impact of omega-3 fatty acids on triglyceride concentrations. However investigations conducted with populations with chronic disease have pointed out a significant impact on other cardiovascular risk variables. [20] Although omega-3 fatty acids probably play a role as an anti-inflammatory agent on cardiovascular protection, only one reviewed study evaluated the effects of omega-3 on inflammatory markers. Thusgaard et al. [5] described a significant increase in leucotriene-B5 (LTB5) concentration in the intervention group (4.0 to 11.5 ng/10⁷; p<0.001). The authors observed a decrease in LBT4 concentration in both groups, but the difference between groups were not significant (p=0.054). No differences with the intervention were observed for high sensitivity C-reactive protein (hsCRP), vascular cell adhesion molecule, and intercellular adhesion molecule concentrations.

Nutritional approaches are important to manage hypertriglyceridaemia in HIV-infected subjects on ART, and consequently promote other aspects of health, including improvement of quality of life, and avoidance of additional drugs and their interactions. Different doses of omega-3 fatty acids reduce significantly triglyceride concentrations confirming the potential applicability of this nutrient on the management of hypertriglyceridemia in HIV-infected subjects on ART.

Acknowledgements: Sao Paulo State Research Foundation – FAPESP
(Funding process numbers 2008/50970-8 and 2008/55532-9).

References

1. Barbaro G. Highly active antiretroviral therapy-associated metabolic syndrome: pathogenesis and cardiovascular risk. *Am J Ther.* 2006;13:248-260.
2. Barbaro G, Barbarini G. Highly active antiretroviral therapy-associated metabolic syndrome and cardiovascular risk. *Chemotherapy.* 2006;52:161-165.
3. Oh J, Hegele RA. HIV-associated dyslipidaemia: pathogenesis and treatment. *Lancet Infect Dis.* 2007;7:787-796.
4. Friis-Møller N, Weber R, Reiss P, et al. Cardiovascular disease risk factors in HIV patients--association with antiretroviral therapy. Results from the DAD study. *AIDS.* 2003;17:1179-1193.
5. Thusgaard M, Christensen JH, Mørn B, Andersen TS, Vige R, Arildsen H, Schmidt EB, Nielsen H. Effect of fish oil (n-3 polyunsaturated fatty acids) on plasma lipids, lipoproteins and inflammatory markers in HIV-infected patients treated with antiretroviral therapy: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Scand J Infect Dis.* 2009;41:760-766.
6. Baril JG, Kovacs CM, Trottier S, Roederer G, Martel AY, Ackad N, Koulis T, Sampalis JS. Effectiveness and tolerability of oral administration of low-dose salmon oil to HIV patients with HAART-associated dyslipidemia. *HIV Clin Trials.* 2007;8:400-411.

7. De Truchis P, Kirstetter M, Perier A, Meunier C, Zucman D, Force G, Doll J, Katlama C, Rozenbaum W, Masson H, Gardette J, Melchior JC. Reduction in triglyceride level with N-3 polyunsaturated fatty acids in HIV-infected patients taking potent antiretroviral therapy: a randomized prospective study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007;44:278-285.
8. Wohl DA, Tien HC, Busby M, Cunningham C, Macintosh B, Napravnik S, Danan E, Donovan K, Hossenipour M, Simpson RJ Jr. Randomized study of the safety and efficacy of fish oil (omega-3 fatty acid) supplementation with dietary and exercise counselling for the treatment of antiretroviral therapy-associated hypertriglyceridemia. *Clin Infect Dis*. 2005;41:1498-1450.
9. Carter VM, Woolley I, Jolley D, Nyulasi I, Mijch A, Dart A. A randomised controlled trial of omega-3 fatty acid supplementation for the treatment of hypertriglyceridemia in HIV-infected males on highly active antiretroviral therapy. *Sex Health* 2006;3:287-290.
10. Manfredi R, Calza L, Chiodo F. Polyunsaturated ethyl esters of n-3 fatty acids in HIV-infected patients with moderate hypertriglyceridemia: comparison with dietary and lifestyle changes, and fibrate therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2004;36: 878-880.
11. McKenney JM, Sica D. Role of prescription omega-3 fatty acids in treatment of hypertriglyceridemia. *Pharmacotherapy*. 2007;27:715-728.
12. Downs SH, Black N. The feasibility of creating a checklist for the assessment of the methodological quality both of randomised and non-randomised studies of health care interventions. *J Epidemiol Community Health*. 1998;52:377-84.
13. Jacobson TA. Role of n-3 fatty acids in the treatment of

hypertriglyceridaemia and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr.* 2008;87:1981-1990.

14. Harris WS. N-3 fatty acids and serum lipoproteins: human studies. *Am J Clin Nutr.* 1997;65:1645S-1654S.

15. Eslick GD. Benefits of fish oil supplementation in hyperlipidemia: a systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiol.* 2009;136:4-16.

16. Sadovsky R, Kris-Etherton P. Prescription omega-3-acid ethyl esters for the treatment of very high triglycerides. *Postgrad Med.* 2009;121:145-153.

17. Raatz SK, Redmon JB, Wimmergren N, Donadio JV, Bibus DM. Enhanced absorption of n-3 fatty acids from emulsified compared with encapsulated fish oil. *J Am Diet Assoc.* 2009;109:1076-1081.

18. Ryan AS, Keske MA, Hoffman JP, Nelson EB. Clinical overview of algal-docosahexaenoic acid: effects on triglyceride levels and other cardiovascular risk factors. *Am J Ther.* 2009;16:183-192.

19. Musa-Veloso K, Binns MA, Kocenas AC, et al. Long-chain omega-3 fatty acids eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid dose-dependently reduce fasting serum triglycerides. *Nutr Rev.* 2010;68:155-167.20.

20. Kris-Etherton PM, Williams SH, Appel LJ. Fish Consumption, Fish Oil, Omega-3 Fatty Acids, and Cardiovascular Disease. *Circulation.* 2002;106:2747-2757.

5.2 Artigo 2 – Effects of fish oil on lipid profile, insulin resistance and body fat distribution in Brazilian subjects living with HIV on antiretroviral therapy: a randomised, parallel, placebo-controlled trial

Short title: Fish oil for HIV subjects

JM Oliveira¹, PHC Rondó¹, AW Catalani¹, AAC Segurado², JMP Souza³, JS
Yudkin⁴

¹Department of Nutrition, School of Public Health, University of Sao Paulo, Sao Paulo, SP, Brazil.

²Department of Infectious Diseases, Medical School, University of Sao Paulo, Sao Paulo, SP, Brazil.

³Department of Epidemiology, School of Public Health, University of Sao Paulo, Sao Paulo, SP, Brazil.

⁴University College London, London, UK.

Correspondence to:

Julicristie M. Oliveira.

Faculdade de Saúde Pública, FSP/USP. Departamento de Nutrição.

Av. Dr. Arnaldo, 715. Cerqueira César.

São Paulo, SP, CEP: 01246-904. Brasil.

E-mail: cristie@usp.br.

Abstract

Background: Although antiretroviral therapy (ART) has revolutionized the care of HIV-infected subjects, it has been associated with metabolic abnormalities. Hence, this study was planned to investigate the effects of fish oil on lipid profile, insulin resistance, and body fat distribution in Brazilian subjects with HIV on ART, because marine omega-3 fatty acids have been suggested to improve features of the metabolic syndrome. **Methods:** This was a randomized, parallel, placebo-controlled trial that assessed the effects of 3g fish oil/day (540mg of eicosapentaenoic acid - EPA plus 360mg of docosahexaenoic acid - DHA) or 3g soy oil/day (placebo) to 83 male and non-pregnant female Brazilian subjects living with HIV on ART. **Results:** No statistically significant relationships between fish oil supplementation and longitudinal changes in triglyceride ($p=0.335$), LDL-C ($p=0.078$), HDL-C ($p=0.383$), total cholesterol ($p=0.072$), Apo B ($p=0.522$), Apo A1 ($p=0.420$), LDL-C/Apo B ratio ($p=0.107$), homa-2 IR index ($p=0.387$), BMI ($p=0.068$), waist circumference ($p=0.128$), and waist/hip ratio ($p=0.359$) were observed. **Conclusion:** Low dose of fish oil for HIV subjects did not alter lipid profile, insulin resistance, and body fat distribution in HIV subjects on ART. **Registration number:** NTR1798.

Key words: HIV, AIDS, fish oils, omega-3 fatty acids, hypertriglyceridemia, LDL cholesterol.

Introduction

Antiretroviral therapy (ART) revolutionized the care of HIV-infected subjects. However it has been associated with body fat changes and chronic metabolic complications including a reduction in high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), increases in non-HDL-C and triglycerides, and insulin resistance [1,2].

ART regimens with protease inhibitor (PI) and non-nucleoside transcriptase reverse inhibitor (NNRTI) are associated with the highest prevalence of dyslipidaemia. A possible additive effect of combining these two drug classes was observed in a multicentre cohort involving 17,852 subjects. In this study, the prevalences of elevated triglycerides ($>200\text{mg/dL}$ or $2.26\mu\text{mol/L}$) were 31.8%, 40.0% and 54.3% in subjects treated with NNRTI, PI, and NNRTI+PI, respectively, compared to 15.2% in the naïve group ($p<0.001$) [1].

Clinical trials have been conducted to evaluate the effects of omega-3 (eicosapentaenoic acid - EPA and docosahexaenoic acid – DHA) alone or in combination with dietary and physical activity counselling and/or fibrate on triglycerides concentrations of HIV-infected subjects on ART [3-7]. Different omega-3 doses from 900 to 6000mg/day have been associated with a reduction on triglyceride concentrations by 9%-46% with [3-7]. According to Jacobson [19] clinically significant reductions in triglycerides occur only with a minimal dose of 2000mg, generally 3000-4000mg, of omega-3 fatty acids. An intake of 12-15 traditional fish oil capsules would be necessary. The problem with high doses for patients with HIV/AIDS is, firstly, that they are already taking a large number of medications; and secondly the fishy taste associated with these doses leads to poor adherence. Supplementation with a low dose of EPA plus DHA (900mg/day) was investigated only in one study, and a reduction of 13% was observed [6].

Regarding insulin resistance, prior studies have shown an association between omega-3 consumption and reduced prevalence of type 2 diabetes and impaired glucose tolerance. Although further epidemiological studies failed to describe an effect of intake of this fatty acid on insulin resistance, a cardioprotective effect was shown in type 2 diabetic

subjects without changes in glucose control or insulin activity [8]. Two clinical trials conducted with HIV-infected subjects described similar results, showing no influence of EPA plus DHA from fish oil on fasting glucose and insulin resistance [3,8].

There is limited scientific information on the role of omega-3 fatty acids in the management and prevention of the ART associated metabolic abnormalities in HIV-infected subjects. Hence, this study was planned to investigate the effects of low dose fish oil on lipid profile, insulin resistance and body fat distribution in this population.

Methods

Study population

This randomised, parallel, placebo-controlled trial was carried out at an HIV/AIDS care centre in São Paulo city, Brazil, affiliated to the Medical School, University of São Paulo. This study was registered at the Nederland's Trial Register (www.trialregister.nl, NTR1798). From January 2009 to October 2009, 768 subjects' medical records were assessed for inclusion criteria. From May 2009 to October 2010, 120 male and non-pregnant female subjects aged 19-64 years, in a stable ART for at least 3 months, with triglycerides concentrations > 100mg/dL (1.13µmol/L), LDL-C concentrations < 160mg/dL (4.14µmol/L), fasting glucose < 126mg/dL (7.00 µmol/L), without symptoms of severe associated disease, and no current use of nutritional supplement, statin, fibrate, metformin or anticoagulant were included. All subjects enrolled were asked to continue their regular diet during the trial, but to follow their health care professional's recommendations. The study was conducted according to the ethical principles of the Helsinki Declaration and was approved by the Ethics in Research Committees of the Public Health School and Medical School Hospital, University of Sao Paulo, Brazil, and all subjects signed an informed consent.

Study protocol

A hundred and twenty subjects were assigned to 3g fish oil/day (n=62, 3 capsules with

1g each, total of 540mg EPA plus 360mg DHA) or 3g of soy oil/day (n=58, 3 placebo capsules with 1g each) for 24 weeks using a randomised number table generated in Excel®. The placebo was very similar to fish oil capsule, but slightly different in colour. All capsules were provided by Relthy® Pharmacy Company (Indaiatuba, Sao Paulo, Brazil). The subjects were asked to take 3 capsules once a day with a meal and avoid ingesting them with other drugs including ART. The trial was designed to be double-blind, but during the protocol some subjects felt fish tasty and we have decided not to consider this a blinded study. Supplement compliance and potential side effects associated with fish oil intake were monitored during the follow up visits.

The primary endpoints were to compare intra and inter groups changes in triglyceride, LDL-C, and HDL-C concentrations during the follow-up. The secondary endpoints were to compare the intra and inter groups changes in total cholesterol, apolipoprotein B (Apo B), apolipoprotein A1 (Apo A1), LDL-C/Apo B ratio, homeostasis model assessment for insulin resistance (HOMA-2 IR index), BMI, waist circumference, and waist/hip ratio in the same period of time.

At baseline, a questionnaire was applied to obtain socioeconomic, demographic and health information. In addition, a questionnaire validated for Brazilian HIV subjects by FLORINDO et al. [9] adapted from BAECKE et al. [10] was used to calculate the habitual physical activity scores. Weight and height were measured with a portable Tanita® (BC 558, EUA) and a CMS Weighing Equipment® (United Kingdom) anthropometer. Waist, hip and neck circumferences were measured with a TBW® (Brazil) non-elastic metric tape. All measurements were taken in duplicate. The BMI and the waist/hip ratio were calculated. Two 24h recalls were applied; the first one at the baseline and a second by phone within 2 weeks after enrollment, according to the USDA five steps recommendation [11]. The food intake records were analyzed with the Nutwin® software [12]. Food composition data from North American [13], Brazilian [14] and Japanese [15] tables were added to the software when necessary. Mean intakes of omega-6, omega-3, and omega-6/omega-3 fatty acids were

calculated.

Laboratory measurements

Blood samples were collected at baseline, 12, and 24 weeks after supplementation. All subjects were asked to fast overnight for 12h. Serum triglycerides, total cholesterol, LDL-C, HDL-C and glucose were measured by automated enzymatic colorimetric methods. Serum Apo A1 and B were determined by immunoturbimetry and insulin by immunofluorimetry (Auto DELFIA® Insulin Kit, Finland). The LDL-C/Apo B ratio was calculated. The lymphocytes T CD4+ and CD8+ were analyzed by flow cytometry (FACSCalibur®, BD Biosciences) and the CD4+/CD8+ ratio was calculated. The directed quantification of HIV-1 RNA in plasma was performed with the Bayer® System 340 (bDNA Analyzer). The HOMA-2 IR index was obtained according to WALLACE et al. [16]. All these biochemical parameters were measured at the Central Laboratory of Medical School Hospital, University of Sao Paulo, Brazil.

Statistical analysis

The sample size was calculated based on high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP, outcome not included here), in which we planned to detect a 0.40mg/L of the mean difference in serum concentrations between fish oil and placebo, with a power of 95% and alpha=5%. The sample size was adjusted for an estimated follow-up loss rate of 25%, which resulted in 120 subjects (~60 in each group).

Data were analyzed with the software Stata 8. Skewness/Kurtosis tests for normality were applied to all continuous variables. The ladder of powers for a transformation that converts the outcomes into a normally distributed variable was calculated. Triglycerides, LDL-C, HOMA-2 IR index and waist/hip ratio were not normally distributed and were log-transformed to be included in the multilevel models. Total cholesterol, HDL-C, Apo A1, Apo B, LDL-C/Apo B ratio, BMI and waist circumference were normally distributed. The data are

expressed as mean (standard deviation) and median (interquartile range). Multilevel analyses with random effects were carried out to assess the longitudinal fish oil effects. Interactions between intervention group and time were tested. The differences were considered statistically significant based on p value.

Losses to follow up and exclusions

Twenty six and 12 subjects were dropouts between the baseline and the 12th week visit and between the 12th week and the 24th week visit, respectively. The reasons are described in figure 1. During the analysis, data from 3 subjects (2 placebo and 1 fish oil) who started lipid lowering medications (fibrates/statins) soon after the baseline were excluded. Only data regarded the 24th week visit from three subjects (all fish oil) who started lipid lowering medications after the 12th week visit were excluded. In addition, all data from 6 subjects (2 placebo and 4 fish oil) with hs-CRP > 10mg/L (data not shown) in the baseline were excluded, because of the possibility of an intercurrent infection. Only data regarding the 12th week or to the 24th week visit from 12 subjects (12th week: 5 placebo and 2 fish oil; 24th week: 3 placebo and 2 fish oil) with hs-CRP > 10mg/L in the 12th week or in the 24th week visit were excluded, respectively. Finally, 83 data from subjects with at least two measurements (baseline plus 12th or 24th visit) were considered in the final analysis.

Results

Characteristics of the participants are given in table 1. The age, socioeconomic factors, dietary omega-6/omega-3 ratio, physical activity scores, alcohol intake habit, nutritional status and HIV parameters were similar in the two groups. The prevalence of smoking was not significantly different between the groups (p=0.066). Most of the subjects enrolled were single, divorced or widowed. The proportions of current use of protease inhibitors (PI) and of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTI) were 56.6% and 44.5%, respectively.

Supplement compliances were 85.1% (7.7%) and 83.7% (13.5%) in the fish oil and placebo groups, respectively. Five subjects (4 fish oil and 1 placebo) experienced transient episodes of diarrhoea. Other subjects from the fish oil group declared some other short-term side effects as abdominal pain (2), loss of appetite (1), heartburn (2) and headache (3). One subject felt heartburn with placebo. No significant changes were noted in CD4+ count, CD4+/CD8+ ratio or viral load during the follow up (data not shown)

No statistically significant differences between groups on primary outcomes were observed at baseline (table 2). No significant differences between groups on secondary outcomes were observed at baseline, except for total cholesterol and BMI (table 3).

Multilevel analyses revealed no statistically significant relationship between fish oil supplementation and longitudinal changes in triglyceride ($p=0.335$), LDL-C ($p=0.078$), HDL-C ($p=0.383$), total cholesterol ($p=0.072$), Apo B ($p=0.522$), Apo A1 ($p=0.420$), LDL-C/Apo B ratio ($p=0.107$), homa-2 IR index ($p=0.387$), BMI ($p=0.068$), waist circumference ($p=0.128$), and waist/hip ratio ($p=0.359$).

Table 1 Characteristics of the subjects

Characteristics/Groups	Fish oil	Placebo	Total
N (%)	43 (51.8%)	40 (48.2%)	83 (100%)
Age, mean (sd)	43.1 (7.4)	42.8 (6.3)	43.0 (6.8)
Gender, n (%)			
Male	33 (76.7%)	31 (77.5%)	64 (77.1%)
Female	10 (23.3%)	9 (22.5%)	19 (22.9%)
Marital status, n (%)			
Married/stable relationship	19 (44.2%)	18 (45.0%)	37 (44.6%)
Single/divorced/widowed	24 (55.8%)	22 (55.5%)	46 (55.4%)
Socio-economic factors, mean (sd)			
<i>Per capita</i> income/month	2.5 (1.7)	3.3 (3.0)	2.9 (2.4)
Years of study	13.2 (4.3)	12.3 (3.8)	12.7 (4.1)
Life style characteristics			
Smoking habit, n (%)	14 (32.6%)	21 (52.5%)	35 (42.2%)
Alcohol intake habit, n (%)	29 (67.4%)	26 (65.0%)	55 (66%)
Dietary omega-6/omega-3 ratio, mean (sd)	9.1 (3.3)	9.3 (5.0)	9.2 (4.2)
Habitual physical activity score, mean (sd)	7.9 (1.5)	7.9 (1.2)	7.9 (1.4)
HIV/Aids parameters, mean (sd)			
CD4+ cell count (cells/mm3) [#]	591.8 (259.6)	616.2 (366.9)	603.8 (315.4)
CD4+/CD8+ ratio	0.93 (0.69)	0.74 (0.41)	0.84 (0.58)
HIV viral load ^{##}	40.3 (182.5)	65.8 (244.7)	53.0 (214.8)
Years of infection	10.3 (5.7)	10.9 (5.0)	10.6 (5.4)
Years of ART	8.3 (4.1)	9.2 (3.5)	8.7 (3.9)
Current ART, n (%)			
2 NRTI + 1 NNRTI	20 (46.5%)	15 (37.5%)	35 (42.2%)
2 NRTI + 1 or 2 PI	19 (44.2%)	16 (40.0%)	35 (42.2%)
Other combinations	4 (9.3%)	9 (22.5%)	13 (15.6%)
Current use of PI	22 (51.2%)	25 (62.5%)	47 (56.6%)
Current use of NNRTI	21 (48.8%)	16 (40.0%)	37 (44.5%)

*In Brazilian Minimum Wages - BMW (one BMW=306 US dollar); **10 missing values; [#]two missing values; ^{##}one outlier value excluded; ART=antiretroviral therapy; NRTI=nucleoside reverse transcriptase inhibitor; NNRTI=non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor; PI=protease inhibitor.

Table 2 Primary endpoints

	Fish oil			Placebo		
	N	Mean (SD)	Median (IQR)	N	Mean (SD)	Median (IQR)
Triglycerides (mg/dL)						
Baseline*	43	174.5 (85.6)	159 (126-196)	40	185.0 (90.9)	160 (122-226)
12 th week	42	167.6 (92.5)	142 (107-200)	36	188.1 (111.7)	159 (118-221)
24 th week	31	141.7 (59.7)	122 (101-177)	35	158.6 (59.0)	150 (111-199)
LDL-C (mg/dL)						
Baseline**	43	99.8 (26.2)	102 (80-120)	40	114.9 (43.4)	107 (80-136)
12 th week	42	111.0 (29.3)	113 (92-128)	36	119.1 (41.9)	119 (90-141)
24 th week	31	119.4 (29.3)	117 (99-136)	35	122.7 (38.7)	124 (94-148)
HDL-C (mg/dL)						
Baseline**	43	45.6 (13.5)	44 (37-55)	40	45.5 (11.2)	44 (38-53)
12 th week	42	43.9 (14.7)	42 (34-53)	36	45.0 (12.0)	45 (37-52)
24 th week	31	43.2 (12.7)	46 (34-52)	35	43.6 (11.2)	40 (35-51)

*p=0.613; **p=0.158; ***p=0.990.

Table 3 Secondary endpoints

	Fish oil			Placebo		
	N	Mean (SD)	Median (IQR)	N	Mean (SD)	Median (IQR)
Total cholesterol (mg/dL)						
Baseline*	43	177.2 (34.2)	178 (151-200)	40	195.9 (48.9)	189 (170-212)
12 th week	42	187.2 (34.6)	193 (169-203)	36	199.6 (45.4)	199 (167-220)
24 th week	31	190.8 (36.6)	189 (173-208)	35	197.6 (44.3)	197 (167-231)
Apolipoprotein B (mg/dL)						
Baseline**	43	89.3 (22.0)	88.3 (78.1-103.2)	40	96.8 (27.5)	95.2 (73.4-116.0)
12 th week	42	86.9 (20.0)	85.7 (77.9-101.8)	36	91.1 (24.3)	87.4 (74.2-106.1)
24 th week	31	89.6 (20.5)	84.8 (73.5-104.4)	35	92.9 (24.6)	87.8 (73.5-109.1)
Apolipoprotein A1 (mg/dL)						
Baseline***	43	136.3 (28.6)	134.7 (122.2-156.2)	40	135.9 (23.1)	133.2 (119.7-149.1)
12 th week	42	131.6 (27.4)	131.6 (120.2-146.6)	36	132.8 (19.7)	128.2 (114.1-157.1)
24 th week	31	132.7 (29.4)	133.8 (116.7-144.6)	35	131.0 (22.4)	139.3 (111.9-157.2)
LDL-C/Apo B ratio						
Baseline****	43	1.13 (0.18)	1.11 (1.00-1.24)	40	1.17 (0.21)	1.21 (1.01-1.32)
12 th week	42	1.28 (0.19)	1.27 (1.15-1.43)	36	1.29 (0.25)	1.35 (1.07-1.49)
24 th week	31	1.34 (0.14)	1.33 (1.22-1.44)	35	1.31 (0.19)	1.33 (1.20-1.44)
HOMA-2 IR index						
Baseline°	43	1.37 (1.03)	0.9 (0.7-1.7)	40	1.09 (0.72)	0.9 (0.6-1.45)
12 th week	42	1.46 (1.68)	1.1 (0.7-1.7)	36	1.26 (1.01)	0.95 (0.6-1.7)
24 th week	31	1.37 (1.43)	0.9 (0.6-1.7)	35	1.25 (1.36)	0.90 (0.7-1.3)
BMI (kg/m²)						
Baseline°°	43	24.8 (3.6)	24.8 (21.9-27.3)	40	23.2 (3.8)	22.2 (21.0-26.1)
12 th week	42	24.8 (3.4)	24.4 (22.3-26.5)	36	23.1 (3.6)	22.8 (20.8-25.8)
24 th week	31	24.6 (3.3)	24.4 (22.6-26.4)	35	23.2 (3.8)	22.8 (21.0-26.5)
Waist circumference (cm)						
Baseline°°°	43	89.2 (10.2)	87.4 (80.5-97.0)	40	85.0 (10.8)	83.8 (76.0-91.0)
12 th week	42	89.4 (9.8)	87.4 (82.2-97.4)	36	84.9 (9.9)	83.0 (77.8-91.1)
24 th week	31	89.4 (9.5)	87.6 (84.3-93.3)	35	84.7 (11.1)	83.4 (77.5-91.6)
Waist to hip ratio						
Baseline°°°°	43	0.92 (0.08)	0.90 (0.86-0.96)	40	0.90 (0.08)	0.91 (0.85-0.95)
12 th week	42	0.93 (0.08)	0.91 (0.87-0.95)	36	0.91 (0.07)	0.90 (0.86-0.96)
24 th week	31	0.93 (0.08)	0.91 (0.87-0.97)	35	0.90 (0.08)	0.90 (0.85-0.95)

*p=0.046; **p=0.175; ***p=0.950; ****p=0.330; °p=0.261; °°p=0.049; °°°p=0.071; °°°°p=0.435.

Discussion

In this trial, the effects of 3g of fish oil (540mg EPA plus 360mg DHA) were evaluated in HIV subjects on ART and high risk of metabolic diseases, considering the high proportions of smoking, alcohol intake, overweight/obesity, and sedentary behaviour in this group.

After 24 weeks of follow up, no significant changes in LDL-C, HDL-C and total cholesterol were observed with fish oil. These results did not corroborated findings of a meta-analysis that included 47 randomized placebo controlled trials involving adults at high risk of cardiovascular disease. According to this meta-analysis, EPA and/or DHA intakes were associated with a small increase in LDL-C, HDL-C and no change in total cholesterol [17]. LDL-C concentrations decrease during infection, but there are changes in its particle size resulting in an increase in concentration of the more proatherogenic small dense LDL-C (pattern B) [18]. These particles have a lower binding affinity for the LDL-C receptor, resulting in impaired clearance and increased circulation time [16]. Furthermore, small dense LDL-C particles can easily cross the endothelial barrier and be deposited in the vascular wall. They are also more prompt to oxidative modification, which plays a central role in the pathogenesis of atherosclerosis [18,19]. The exclusion of subjects with hsCRP > 10mg/dL in the present study avoided the confounding influence of an ongoing infection on fish oil effects.

Apo A1 and Apo B concentrations did not change significantly with fish oil. BALK et al. [20] found no consistent change in Apo A1 and Apo B concentrations after analyzing randomized trials that assessed the effects of omega-3 fatty acids intake. In accordance with other studies, no effect was noted on insulin resistance [7,20], and on anthropometric variables [21].

In the present trial, triglyceride concentrations did not reduce with fish oil. As far as we know, nine intervention studies have been conducted in HIV-infected subjects on ART to assess the effects of omega-3 fatty acids from traditional fish oil supplements, purified fish oil formulations and fish oil plus fish intake. Different omega-3 doses from 900 to 6000mg/day have been associated with a reduction on triglyceride concentrations by 9%-46% [3-7].

According to Jacobson [22] clinically significant reductions in triglycerides occur only with a minimal dose of 2000mg, generally 3000-4000mg, of omega-3 fatty acids. An intake of 12-15 traditional fish oil capsules would be necessary. These amounts can be considered unreasonable, especially for HIV-infected subjects who ingest a considerable number of medicines every day. Furthermore, the fishy taste can be another restrictive point. In the present study, even with a small dose of 3 capsules a day, some subjects reported this side effect. Two alternatives to traditional fish oil capsules are pills made of concentrated and purified fish oil with 900mg of EPA plus DHA [23] and microalgae oil capsules [24]. The first has been approved by the US Food and Drug Administration and is recommended to treat severe hypertriglyceridaemia (>500mg/dL) [23]. The second has been reviewed by RYAN et al. [24] and, in doses of 1000-2000mg of DHA from microalgae, significantly lowered triglycerides concentrations by up to 26%, and seldom causes gastrointestinal complaints such as fishy taste and eructation. Furthermore, this oil is essentially free of oceanic contaminants (mercury, dioxins) and suitable for vegans and vegetarians.

A low dose of fish oil for 24 weeks in treated HIV subjects did not change lipid profile, insulin resistance and body fat distribution in Brazilian subjects living with HIV on antiretroviral therapy.

Acknowledgements: Sao Paulo State Research Foundation – FAPESP, process number 2008/50970-8.

References

1. Friis-Møller N, Weber R, Reiss P, et al. Cardiovascular disease risk factors in HIV patients--association with antiretroviral therapy. Results from the DAD study. *AIDS* 2003;17:1179-93.
2. Grunfeld C. Dyslipidemia and its Treatment in HIV Infection. *Top HIV Med* 2010;18:112-8.

3. Wohl DA, Tien HC, Busby M, Cunningham C, Macintosh B, Napravnik S, Danan E, Donovan K, Hossenipour M, Simpson RJ Jr. Randomized study of the safety and efficacy of fish oil (omega-3 fatty acid) supplementation with dietary and exercise counselling for the treatment of antiretroviral therapy-associated hypertriglyceridemia. *Clin Infect Dis* 2005, 41: 1498-50.
4. Gerber JG, Kitch DW, Fichtenbaum CJ, Zackin RA, Charles S, Hogg E, Acosta EP, Connick E, Wohl D, Kojic EM, Benson CA, Aberg JA. Fish oil and fenofibrate for the treatment of hypertriglyceridemia in HIV-infected subjects on antiretroviral therapy: results of ACTG A5186. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2008, 47: 459-66.
5. Thusgaard M, Christensen JH, Mørn B, Andersen TS, Vige R, Arildsen H, Schmidt EB, Nielsen H. Effect of fish oil (n-3 polyunsaturated fatty acids) on plasma lipids, lipoproteins and inflammatory markers in HIV-infected patients treated with antiretroviral therapy: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Scand J Infect Dis* 2009, 41: 760-6.
6. Baril JG, Kovacs CM, Trottier S, Roederer G, Martel AY, Ackad N, Koulis T, Sampalis JS. Effectiveness and tolerability of oral administration of low-dose salmon oil to HIV patients with HAART-associated dyslipidemia. *HIV Clin Trials* 2007, 8: 400-11.
7. De Truchis P, Kirstetter M, Perier A, Meunier C, Zucman D, Force G, Doll J, Katlama C, Rozenbaum W, Masson H, Gardette J, Melchior JC. Reduction in triglyceride level with N-3 polyunsaturated fatty acids in HIV-infected patients taking potent antiretroviral therapy: a randomized prospective study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007, 44: 278-85.
8. Rudkowska I. Fish oils for cardiovascular disease: Impact on diabetes. *Maturitas* 2010;67:25-8.
9. Florindo AA, Latorre MRD, Santos ECM, Negrão CE, Azevedo L, Segurado AC. Validity and reliability of the Baecke questionnaire for the evaluation of habitual physical activity among people living HIV/AIDS. *Cad Saude Publica* 2006;3:535-41.
10. Baecke JA, Burema J, Frijters JE. A short questionnaire for the measurement of habitual physical activity in epidemiological studies. *Am J Clin Nutr* 1982;36:936-42.

11. Programa de Apoio a Nutrição – NutWin [software]. Departamento de Informática em Saúde. Universidade Federal de São Paulo; 2005.
12. Conway JM, Ingwersen LA, Vinyard BT, Moshfegh AJ. Effectiveness of the USDA's Five-Step Multiple-pass method to assess food intake in obese and nonobese women, *Am J Clin Nutr* 2003;77:1171-8.
13. US Department of Agriculture, Agricultural Research Service. 2008. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 21. Nutrient Data Laboratory Home Page, <http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl>.
14. NEPA-UNICAMP. Tabela brasileira de composição de alimentos (Versão II). 2 ed. Campinas: NEPA-UNICAMP, 2006.
15. HAGIWARA, K. Standard tables of food composition in Japan. 5 ed. Tokyo: National Institute Health and Nutrition, 1995.
16. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care* 2004;27:1487-95.
17. Eslick GD. Benefits of fish oil supplementation in hyperlipidemia: a systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiol* 2009;136:4-16.
18. Khovidhunkit W, Kim MS, Memon RA, Shigenaga JK, Moser AH, Feingold KR, Grunfeld C. Thematic review series: The Pathogenesis of Atherosclerosis. Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism mechanisms and consequences to the host. *J Lipid Res* 2004;45:1169-96.
19. Mello AP, Silva IT, Oliveira AS, Nunes VS, Abdalla DS, Gidlund M, Damasceno NR. Electronegative low-density lipoprotein is associated with dense low-density lipoprotein in subjects with different levels of cardiovascular risk. *Lipids* 2010;45:619-25.
20. Balk E, Chung M, Lichtenstein A, Chew P, Kupelnick B, Lawrence A, DeVine D, Lau J. Effects of Omega-3 Fatty Acids on Cardiovascular Risk Factors and Intermediate Markers of Cardiovascular Disease. Evidence Report/Technology Assessment No. 93 (Prepared by Tufts-New England Medical Center Evidence-based Practice Center under Contract No. 290-

02-0022). AHRQ Publication No. 04-E010-2. Rockville, MD: Agency for Healthcare Research and Quality. March 2004.

21. Bays HE, Maki KC, Doyle RT, Stein E. The effect of prescription omega-3 fatty acids on body weight after 8 to 16 weeks of treatment for very high triglyceride levels. *Postgrad Med* 2009;121:145-50.

22. Jacobson TA. Role of n-3 fatty acids in the treatment of hypertriglyceridaemia and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2008;87:1981-90.

23. Sadovsky R, Kris-Etherton P. Prescription omega-3-acid ethyl esters for the treatment of very high triglycerides. *Postgrad Med* 2009;121:145-53.

24. Ryan AS, Keske MA, Hoffman JP, Nelson EB. Clinical overview of algal-docosahexaenoic acid: effects on triglyceride levels and other cardiovascular risk factors. *Am J Ther* 2009;16:183-92.

5.3 Artigo 3 – Effects of a low dose of marine omega-3 fatty acids on inflammatory markers in Brazilian HIV-infected adults on antiretroviral therapy: a randomised, parallel, placebo-controlled trial

A manuscript number has been assigned to YCLNU-D-11-00037

Monday, January 24, 2011 6:07 PM

From: "Clinical Nutrition" <espenjournals@espen.org>

To: julicristie@yahoo.com

Ms. Ref. No.: YCLNU-D-11-00037

Title: "Effects of a low dose of marine omega-3 fatty acids on inflammatory markers in Brazilian HIV-infected adults on antiretroviral therapy: a randomised, parallel, placebo-controlled trial"

Dear Juli,

Your submission "Effects of a low dose of marine omega-3 fatty acids on inflammatory markers in Brazilian HIV-infected adults on antiretroviral therapy: a randomised, parallel, placebo-controlled trial" has been assigned manuscript number YCLNU-D-11-00037.

To track the status of your paper, please do the following:

1. Go to this URL: <http://ees.elsevier.com/yclnu/>
2. Enter your login details
3. Click [Author Login]
This takes you to the Author Main Menu.
4. Click [Submissions Being Processed]

Thank you for submitting your work to Clinical Nutrition.

Kind regards,

Nicolaas E.P. Deutz, MD, PhD
Editor-in-Chief
Clinical Nutrition

Effects of a low dose of marine omega-3 fatty acids on inflammatory markers in Brazilian HIV-infected adults on antiretroviral therapy: a randomised, parallel, placebo-controlled trial

Julicristie M Oliveira¹, Patrícia HC Rondó¹, Tatiane N Pereira¹, Camila M
Picone², Aluísio AC Segurado², John S Yudkin³

¹Department of Nutrition, School of Public Health, University of Sao Paulo, Sao Paulo, SP, Brazil.

²Department of Infectious Diseases, Medical School, University of Sao Paulo, Sao Paulo, SP, Brazil.

³University College London, London, UK.

Correspondence to:

Julicristie M Oliveira

Faculdade de Saúde Pública, FSP/USP

Departamento de Nutrição

Av. Dr. Arnaldo, 715. Cerqueira César

São Paulo, SP, CEP: 01246-904. Brasil

Fax: + 55-11-30667705

E-mail: cristie@usp.br

Abstract

Background & Aims: Can a low dose of marine omega-3 fatty acids reduce or prevent the increase of inflammatory markers concentrations in HIV-infected subjects on treatment with antiretrovirals? **Methods:** This was a randomised, parallel, placebo-controlled trial that investigated the effects of 3g fish oil/day (540mg of eicosapentaenoic acid - EPA plus 360mg of

docosahexaenoic acid - DHA) or 3g soy oil/day (placebo) in 83 male and non-pregnant female HIV-infected adults on antiretroviral therapy. **Results:** There were no differences between groups for the outcomes at baseline. Multilevel analyses revealed no statistically significant relationship between the longitudinal changes in hs-CRP (Wald Chi2=0.17, p=0.918), fibrinogen (Wald Chi2=3.82, p=0.148), and VIII factor (Wald Chi2=5.25, p=0.073) and fish oil and time. **Conclusions:** Compared to placebo, a low dose of marine omega-3 fatty acids for 24 weeks did not change hs-CRP, fibrinogen, and VIII factor concentrations in treated HIV-infected subjects. Further investigations should consider the assessment of more sensitive inflammatory markers or higher doses to evaluate the effects of marine omega-3 fatty acids in this population. Registered at the Netherlands Trial Register, Identifier no. NTR1798.

Key words: HIV infection, AIDS, metabolic syndrome, inflammation, C reactive protein, fibrinogen, VIII factor.

Introduction

The benefits of antiretroviral therapy on morbidity and mortality of HIV-infected subjects have been limited by the development of the metabolic syndrome [1] and cardiovascular diseases [2]. Although the basic mechanisms of these alterations are still not completely elucidated, they are probably secondary to a synergistic effect of HIV infection, antiretroviral drugs, genetic, and environmental factors [3].

The evidence which supports the role of inflammation on the metabolic syndrome and cardiovascular diseases are increasing and some biomarkers of

chronic mild inflammation are emerging as novel risk factors [4-7]. Concomitantly, clinical trials have assessed the effects of marine omega-3 fatty acids as anti-inflammatory agents in subjects with the metabolic syndrome and cardiovascular diseases [8]. We have found only one publication that has investigated the impact of omega-3 fatty acids on the inflammatory profile of HIV-subjects on ART [9]. Thus, the aim of this paper is to answer the following question: Can a low dose of marine omega-3 fatty acids reduce or prevent the increase in concentrations of inflammatory markers in HIV-infected subjects on antiretroviral treatment?

Material and Methods

This was a randomised, parallel, placebo-controlled trial registered at the Netherlands Trial Register, Identifier no. NTR1798. The study was developed at an HIV/AIDS Care Centre in São Paulo city, Brazil, affiliated to the Medical School, University of São Paulo.

The sample size was calculated to detect a 0.40mg/L in the mean difference in hsCRP concentrations between groups (power=95%, alpha=5%). The sample size was adjusted for an estimated follow-up loss rate of 25%, resulting in 120 subjects (~60 per group).

From January 2009 to October 2009, 768 subject's medical records were evaluated for eligibility. The inclusion criteria were: men or non-pregnant women, between 19 and 64 years old, at least 3 months of stable ART, blood triglycerides > 100mg/dL (1.13μmol/L), LDL-c concentrations < 160mg/dL (4.14μmol/L), fasting glucose < 126mg/dL (7.0 0μmol/L), without symptoms of severe associated disease, and no current use of nutritional supplement, anticoagulant, hypoglycaemic, and lipid lowering drugs. From May 2009 to

October 2010, 215 subjects were invited to participate in the study and 120 subjects gave their consent.

The subjects were randomised into two groups using a randomised number table generated in Excel®. The intervention group received 3g fish oil/day (n=62, 3 capsules with 1g each, total 540mg of EPA and 360mg of DHA) or 3g of soy oil/day (n=58, 3 placebo capsules with 1g each) for 24 weeks (Figure 1). The capsules were provided by Relthy® Pharmacy Company (Indaiatuba, Sao Paulo, Brazil). The fish oil and placebo capsules were almost identical with a slightly difference in colour. Although the study was designed to be double-masked, during the protocol some subjects detected a fishy taste so we decided not to consider this a masked trial. Fish oil capsule compliance and their potentially associated side effects were monitored during the follow up.

A questionnaire was applied to obtain socioeconomic, demographic and health information. Weight and height (in duplicate) were measured with a portable Tanita® balance and a CMS Weighing Equipment® anthropometer, and the BMI was calculated. Waist, hip and neck circumferences were measured with a TBW® non-elastic metric tape. All measurements were taken in duplicate.

The inflammatory markers were measured at the Central Laboratory of the Medical School Hospital, University of Sao Paulo. Subjects' blood samples were collected at baseline, 12th, and 24th week visit, after 12h of fasting. Serum hs-CRP was determined by immunoturbidimetry (CardioPhase® hsCRP, Siemens). Fibrinogen was determined by modified Clauss method and VIII factor based on the activated partial thromboplastin time (APTT) (BCS System® XP, Siemens). The lymphocyte T CD4+ and CD8+ were analyzed by flow cytometry (FACSCalibur®, BD Biosciences) and HIV viral load was determined by directed quantification of HIV-1 RNA in plasma (Bayer System®

340 - bDNA Analyzer).

Between the baseline and the 12th week, and the 12th and 24th visits 26 and 12 subjects dropped out, respectively. During the analysis, data from subjects who started lipid lowering medications and those with hsCRP > 10 mg/L were excluded, because of the possibility of an intercurrent infection.

All outcomes were not normally distributed. The data are expressed as median and inter-quartile range. The non parametric Mann-Whitney test was used for comparisons between the two groups at the baseline. The outcomes were log-transformed to be included in the models. Multilevel analyses with random effects were carried out to assess the longitudinal fish oil effects. The differences were considered statistically significant based on p value. Data were analyzed with the software Stata 8.

Figure 1 Trial flow chart

Results

Subject characteristics are described in Table 1. Eighty three men and women with a mean of age 43.0 ± 6.8 years (range 26-61) were included. The mean CD4+ cell count was 603.8 ± 315.4 cells/mm³ in total, and was comparable between the groups. Most of the subjects were male, single/divorced/widowed, had normal BMI and were on protease inhibitors. Supplement compliances were 85.1% (7.7%) and 83.7% (13.5%) in the fish oil and placebo groups, respectively. Some subjects from the fish oil group experienced transient diarrhoea episodes (n=4), abdominal pain (n=2), loss of appetite (n=1), heartburn (n=2) and headache (n=3). Only one subject from the placebo group experienced transient episodes of diarrhoea. These side effects were noted only at the beginning of the study. Regarding CD4+ count, CD4+/CD8+ ratio or viral load, no harmful effects associated with fish oil were noted.

No statistically significant differences between groups on primary outcomes were observed at baseline (table 2). Multilevel analyses revealed no statistically significant relationship between the longitudinal changes in the outcomes associated with fish oil supplementation and time (table 3).

Table 1 Characteristics of the subjects

Characteristics/Groups	Fish oil	Placebo	Total
N (%)	43 (51.8%)	40 (48.2%)	83 (100%)
Age, mean (sd)	43.1 (7.4)	42.8 (6.3)	43.0 (6.8)
Gender, n (%)			
Male	33 (76.7%)	31 (77.5%)	64 (77.1%)
Female	10 (23.3%)	9 (22.5%)	19 (22.9%)
Marital status			
Married/stable relationship	19 (44.2%)	18 (45.0%)	37 (44.6%)
Single/divorced/widowed	24 (55.8%)	22 (55.5%)	46 (55.4%)
Socio-economic factors, mean (sd)			
<i>Per capita</i> income/month	2.5 (1.7)	3.3 (3.0)	2.9 (2.4)
Years of study	13.2 (4.3)	12.3 (3.8)	12.7 (4.1)
Life style characteristics, n (%)			
Smoking habit	14 (32.6%)	21 (52.5%)	35 (42.2%)
Alcohol intake habit	29 (67.4%)	26 (65.0%)	55 (66%)
Nutritional status, mean (sd)			
BMI	24.8 (3.6)	23.2 (3.8)	24.0 (3.8)
Waist circumference (cm)	89.2 (10.2)	85.0 (10.8)	87.2 (10.6)
Waist/hip ratio	0.92 (0.08)	0.90 (0.08)	0.91 (0.08)
Neck circumference (cm)	38.4 (3.6)	36.8 (3.5)	37.7 (3.6)
HIV/Aids parameters, mean (sd)			
CD4+ cell count (cells/mm3) [#]	591.8 (259.6)	616.2 (366.9)	603.8 (315.4)
CD4+/CD8+ ratio	0.93 (0.69)	0.74 (0.41)	0.84 (0.58)
HIV viral load ^{##}	40.3 (182.5)	65.8 (244.7)	53.0 (214.8)
Years of infection	10.3 (5.7)	10.9 (5.0)	10.6 (5.4)
Years of ART	8.3 (4.1)	9.2 (3.5)	8.7 (3.9)
Current ART, n (%)			
2 NRTI + 1 NNRTI	20 (46.5%)	15 (37.5%)	35 (42.2%)
2 NRTI + 1 PI	6 (14.0%)	2 (5.0%)	8 (9.6%)
2 NRTI + 2 PI	13 (30.2%)	14 (35.0%)	27 (32.5%)
Other combinations	4 (9.3%)	9 (22.5%)	13 (15.7%)
Use of PI	22 (51.2%)	25 (62.5%)	47 (56.6%)

Use of NNRTI	21 (48.8%)	16 (40.0%)	37 (44.5%)
Supplement compliance, mean (sd)**	85.1% (7.7%)	83.7% (13.5%)	84.4% (11.0%)

*In Brazilian Minimum Wages - BMW (one BMW=306 US dollar); #two missing values; ##one outlier value excluded; ART=antiretroviral therapy; NRTI= nucleoside reverse transcriptase inhibitor; NNRTI=non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor; PI=protease inhibitor; **10 missing values.

Table 2 Primary endpoints

	Fish oil		Placebo	
	N	Median (IQR)	N	Median (IQR)
High sensitivity C-reactive protein (mg/L)				
Baseline*	43	2.34 (0.74-3.75)	40	1.68 (0.76-3.23)
12 th week	42	1.93 (0.79-3.15)	36	1.40 (0.87-3.13)
24 th week	31	2.36 (0.65-3.52)	35	2.10 (0.94-3.40)
Fibrinogen (mg/dL)				
Baseline**	43	266 (236-364)	39	323 (260-415)
12 th week	42	275 (234-349)	35	320 (251-405)
24 th week	31	262 (233-346)	34	306 (245-388)
VIII factor (%)				
Baseline***	43	92 (65-110)	38	83 (69-113)
12 th week	42	83 (61-106)	33	78 (51-97)
24 th week	30	96 (87-117)	34	98 (81-111)

Inter-group comparisons at baseline: *p=0.548, **p=0.070, ***p=0.898.

Table 3 Multilevel models

hs-CRP	Coefficient	SD	z	p	95% Confidence Interval
Fish oil	0.070	0.186	0.38	0.705	-0.293 to 0.434
Time	0.009	0.049	0.17	0.861	-0.088 to 0.105
Constant	0.425	0.164	2.59	0.010	-0.104 to 0.747
Wald Chi2=0.17, p=0.918					
Fibrinogen	Coefficient	SD	z	p	95% Confidence Interval
Fish oil	-0.099	0.052	-1.92	0.055	-0.200 to 0.002
Time	-0.004	0.012	-0.39	0.699	-0.029 to 0.020
Constant	4.767	0.444	129.78	0.000	5.680 to 5.854
Wald Chi2=3.82, p=0.148					
VIII factor	Coefficient	SD	z	p	95% Confidence Interval
Fish oil	0.007	0.058	0.12	0.902	-0.106 to 0.120
Time	0.061	0.027	2.29	0.022	-0.009 to 0.114
Constant	4.328	0.067	64.40	0.000	-4.196 to 4.460
Wald Chi2=5.25, p=0.073					

Discussion

In the present study, a low dose of marine omega-3 fatty acids (540mg EPA and 360mg DHA) for 24 weeks did not change hs-CRP, fibrinogen, and VIII factor in treated HIV-infected subjects. As far as we know, this is the first study that assessed the influence of marine omega-3 on fibrinogen and VIII factor. Only one previous study investigated the effects of these fatty acids on hs-CRP concentrations in a population on treatment with ARVs [9]. Our results are consistent with previous studies developed with non HIV-infected populations [8, 10-11].

We hypothesized four possible explanations for the absence of effects. First, this dose was not sufficient to produce physiologic changes considering the presumable advanced cardiometabolic alteration secondary to the long term exposure to HIV infection (10.6 ± 5.4 years), ARV treatment (8.7 ± 3.9 years), high prevalences smoking (42.2%) and alcohol consumption (66%). Second, the use of inflammatory markers to evaluate sub-clinical cardiometabolic alteration can be overlapped by the susceptibility to opportunistic infection in this group. Third, a low dose of marine omega-3 fatty acids was not enough to reduce the inflammatory markers in this population. Fourth, the anti-inflammatory and cardioprotective actions of marine omega-3 fatty acids are probably related to other physiological pathways rather than through an involvement of CRP, fibrinogen, and VIII factor.

Balk et al. [11] who reviewed the effects of omega-3 fatty acids on several cardiovascular risk factors and intermediate markers in healthy adults or at increased risk of cardiovascular disease and found no consistent effect on fibrinogen and VIII factor. Madsen et al.[8] also found no significant reduction in hs-CRP variable in subjects with previous myocardial infarction after 12 weeks supplementation with 5.2g of omega-3 fatty acids. Thusgaard et al [9]

investigated the impact of 4g of omega-3-acid ethyl esters (1520mg DHA plus 1840mg EPA) for 12 weeks on inflammatory profile of HIV subjects treated with ART and described no changes in hs-CRP, making it unlikely that our findings were the consequence of an inadequate dose of the fatty acids. Moreover, the exclusion of data from subjects with high CRP could avoid or minimize the influence of an intercurrent infection in our results.

The mechanisms whereby marine omega-3 fatty acids play their role in inflammation modulation include the reduction and increase of inflammatory and anti-inflammatory mediators, respectively. According to James et al. [12] doses of 2400 to 4500mg (EPA + DHA) can reduce the monocyte synthesis of tumor necrosis factor alfa (TNF-alfa) and interleukin 1 beta (IL1-beta) in healthy subjects and with rheumatoid arthritis. The ingestion of fish oil results in an elevated concentration of EPA and DHA in inflammatory cells and, consequently, decrease the production some eicosanoids as prostaglandins E2 (PGE2) that induce the production of IL-6, and as leucotriene B4 (LTB4) a chemotactic agent involved in the stimulation of IL-6, IL-1beta and TNF-alfa production by macrophages [13]. EPA as a substrate of cyclooxygenase and lipoxygenase enzymes is converted to less inflammatory or anti-inflammatory eicosanoids as PG3 and LT5 series [13]. Moreover, EPA and DHA are enzymatically converted into resolvins and protectins for resolution phase interaction products [14]. These novels mediators are involved in blocking T-cell migration and promoting its apoptosis, as well as in blocking neutrophil migration, infiltration and recruitment [15]. In the trial by Thusgaard et al. [9] a significant rise in LTB5, an anti-inflammatory factor, was noted with omega-3 fatty acids. Thus, further investigations should consider the assessment of more sensitive inflammatory markers to evaluate the effects of marine omega-3 fatty acids in HIV-infected subjects on ART.

Acknowledgements

Sao Paulo State Research Foundation – FAPESP, process number 2008/50970-8.

Conflict of interest statement

The authors have nothing to declare.

Statement of authorship

JMO, PHC and JSY contributed to the conception and design of the study. JMO, TNP, CMP and AACS contributed to recruitment and follow-up of patients. JMO analyzed, interpreted the data and drafted the manuscript. All authors participated in revising the manuscript and the final approval of the submitted version.

References

1. Tsiodras S, Perelas A, Wanke C, Mantzoros CS. The HIV-1/HAART associated metabolic syndrome - novel adipokines, molecular associations and therapeutic implications. *J Infect* 2010; 61 :101-13.
2. Currier JS. Update on cardiovascular complications in HIV infection. *Top HIV Med* 2009; 17: 98-103.
3. Grunfeld C. Dyslipidemia and its Treatment in HIV Infection. *Top HIV Med* 2010; 18: 112-8.
4. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO 3rd, Criqui M, Fadl YY, Fortmann SP, Hong Y, Myers GL, Rifai N, Smith SC Jr, Taubert K, Tracy RP, Vinicor F; Centers for Disease Control and Prevention; American Heart Association. Markers of inflammation and cardiovascular

disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003; 107: 499-511.

5. Yudkin JS. Inflammation, obesity, and the metabolic syndrome. *Horm Met Res* 2007; 39: 707-9.

6. Corrado E, Rizzo M, Coppola G, Fattouch K, Novo G, Marturana I, Ferrara F, Novo S. An update on the role of markers of inflammation in atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb* 2010; 17: 1-11.

7. Bajpai A, Goyal A, Sperling L. Should we measure C-reactive protein on earth or just on JUPITER? *Clin Cardiol* 2010; 33: 190-8.

8. Madsen T, Christensen JH, Schmidt EB. C-reactive protein and n-3 fatty acids in patients with a previous myocardial infarction: a placebo-controlled randomized study. *Eur J Nutr* 2007; 46: 428-30.

9. Thusgaard M, Christensen JH, Mørn B, Andersen TS, Vige R, Arildsen H, Schmidt EB, Nielsen H. Effect of fish oil (n-3 polyunsaturated fatty acids) on plasma lipids, lipoproteins and inflammatory markers in HIV-infected patients treated with antiretroviral therapy: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Scand J Infect Dis* 2009; 41: 760-766.

10. Balk E, Chung M, Lichtenstein A, Chew P, Kupelnick B, Lawrence A, DeVine D, Lau J. Effects of Omega-3 Fatty Acids on Cardiovascular Risk Factors and Intermediate Markers of Cardiovascular Disease. Evidence Report/Technology Assessment No. 93 (Prepared by Tufts-New England Medical Center Evidence-based Practice Center under Contract No. 290-02-0022). AHRQ Publication No. 04-E010-2. Rockville, MD: Agency for Healthcare Research and Quality. March 2004.

11. Balk EM, Lichtenstein AH, Chung M, Kupelnick B, Chew P, Lau J. Effects of omega-3 fatty acids on serum markers of cardiovascular disease risk: a

systematic review. *Atherosclerosis* 2006; 189: 19-30.

12. James MJ, Gibson RA, Cleland LG. Dietary polyunsaturated fatty acids and inflammatory mediator production. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 343S-8S.

13. Wall R, Ross RP, Fitzgerald GF, Stanton C. Fatty acids from fish: the anti-inflammatory potential of long-chain omega-3 fatty acids. *Nut Rev* 2010; 68: 280-9.

14. Spite M, Serhan CN. Novel lipid mediators promote resolution of acute inflammation: impact of aspirin and statin. *Circ Res* 2010; 107: 1170-84.

15. Weitz D, Weintraub H, Fisher E, Schwarztzbard AZ. Fish oil for the treatment of cardiovascular disease. *Cardiology in Review* 2010; 18:258-63.

6. Considerações finais

Este estudo, composto por um artigo de revisão e dois artigos originais, teve como objetivo avaliar o efeito de uma intervenção nutricional em parâmetros de risco cardiovascular em pessoas que vivem com HIV/Aids em terapia antirretroviral. No primeiro artigo, buscou-se reunir, discutir e interpretar os resultados já publicados sobre os efeitos dos ácidos poli-insaturados graxos ômega-3 de origem marinha nessa população. Nos dois artigos subsequentes, estão descritos os resultados de um ensaio clínico que avaliou o impacto da suplementação com óleo de peixe em uma amostra de brasileiros adultos que vivem com o vírus e recebem tratamento medicamentoso e de saúde providos pelo Sistema Único de Saúde – SUS, Ministério da Saúde – MS, Brasil. Não foi identificado na literatura outro estudo de intervenção que buscasse avaliar o efeito da suplementação com ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 nessa população no Brasil.

Apesar desse nutriente bastante estudado, especialmente em relação ao seu papel cardioprotetor e anti-inflamatório, somente seis estudos de intervenção que avaliam seus

efeitos na concentração de triglicérides na população em questão foram identificados na literatura. Desses seis estudos, quatro apresentaram qualidade metodológica suficiente para serem incluídos na revisão. Essas investigações não são homogêneas com relação a uma série de aspectos, como tipo de formulação, dose de ômega-3 e tempo de intervenção. Mesmo considerando essas limitações, observou-se, por meio da metanálise, uma redução significativa do ponto de vista estatístico e clínico nas concentrações de triglicérides. Esse resultado confirmou os achados já observados em relação ao papel dos ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 no tratamento da hipertrigliceridemia em populações não portadoras do HIV.

Em relação ao ensaio clínico, não foi descrita mudança estatisticamente significativa na concentração de triglicérides, HDL-C e LDL-C. Esses resultados não corroboraram os observados para as populações que vivem ou não com HIV, pois estudos de intervenção e revisões sistemáticas descrevem de forma consistente reduções significativas nas concentrações de triglicérides. Segundo esses estudos, há uma relação dose-resposta dependente da concentração inicial. Ou seja, quanto maior a dose, maior é a redução, especialmente quando as concentrações iniciais de triglicérides estão mais elevadas. Dessa forma, a dose de 3g de óleo de peixe/dia utilizada no presente estudo pode ter sido insuficiente para reduzir as concentrações de forma significativa, pois as medianas iniciais nos grupos intervenção e controle estavam abaixo de 200mg/dL.

O efeito anti-inflamatório dos ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 pode constituir um dos mecanismos pelos quais esse nutriente exerce seu papel cardioprotetor. No presente estudo, a suplementação com óleo de peixe não alterou de forma significativa a concentração de proteína C reativa ultra-sensível, fibrinogênio e fator VIII. Os resultados de estudos realizados com populações não portadoras de HIV não são consistentes. Provavelmente, a ação anti-inflamatória dos ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 ocorre por outras vias fisiológicas e não pela influência direta nos marcadores acima citados. Deve-se considerar também que a dose utilizada possa ser insuficiente para causar alterações,

especialmente nessa população que está exposta a vários fatores de risco cardiovascular. No presente estudo, observaram-se altas prevalências de consumo de álcool, de hábito de fumar, além de exposição ao vírus há mais de 10 anos e aos antirretrovirais há mais de 8 anos em média, respectivamente.

O desenvolvimento de abordagens nutricionais para prevenção e manejo das alterações metabólicas e cardiovasculares em pessoas que vivem com HIV em tratamento com antirretrovirais é necessário e importante. A dose de óleo de peixe utilizada no estudo de intervenção foi relativamente baixa, porém doses mais elevadas poderiam ser de difícil aceitação por essa população que faz a ingestão diária de uma quantidade considerável de medicamentos. Outro ponto importante são os efeitos colaterais, como gosto e cheiro de peixe, que se intensificam com o aumento da dose. Dessa forma, a avaliação de formulações a base de óleo de microalgas ou de óleo de peixe concentrado podem ser alternativas terapêuticas para regularização da concentração de triglicérides em pessoas que vivem com HIV em terapia antirretroviral. Sugere-se também a avaliação de seus efeitos em marcadores inflamatórios mais sensíveis, como o LTB₅.

7. Referências

1. Centers for Disease Control. Pneumocystis pneumonia--Los Angeles. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1981; 250-252.
2. Barré-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). Science 1983; 220:868-71.
3. UNAIDS - Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. AIDS epidemic update: special report on HIV/AIDS. UNAIDS, 2009.
4. Fonseca MG, Bastos FI, Derrico M, Andrade CLT, Travassos C, Szwarcwald CL. AIDS e grau de escolaridade no Brasil: evolução temporal de 1986 a 1996. Cad Saúde Públ 2000; 16:77-87.
5. Santos NJS, Tayra A, Silva SR, Buchalla CM, Laurentini R. A aids no. Estado de São Paulo. As mudanças no perfil da epidemia e perspectivas da vigilância epidemiológica Rev Bras Epidemiologia 2002; 5:286-310.
6. Fonseca MGP, Bastos FI. Twenty-five years of the AIDS epidemic in Brazil: principal epidemiological findings, 1980-2005. Cad Saúde Pública 2007; 23:S333-43 .
7. Szwarcwald CL, Souza Júnior PRB. Estimativa da prevalência de HIV na população brasileira de 15 a 49 anos, 2004. In: MS-SVE. Boletim epidemiológico DST/AIDS. Brasília: MS, 2006.
8. Rubinstein A, Bernstein L. The epidemiology of pediatric acquired immunodeficiency syndrome. Clin Immunol Immunopathol 1986; 40:115-21.
9. van der Graaf M, Diepersloot RJ. Transmission of human immunodeficiency virus (HIV/HTLV-III/LAV): a review. Infection 1986; 14:203-11.
10. Henderson RA, Saavedra JM. Nutritional considerations and management of the child with human immunodeficiency virus infection. Nutrition 1995; 11:121-8.
11. Waterson AP. Acquired immune deficiency syndrome. BMJ 1983; 286:743-6.

12. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 7. ed. rev. – Brasília: Ministério da Saúde, 2008a.
13. Centers for Disease Control. 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. MMWR 1992; 41:RR-17.
14. Brasil. Ministério da Saúde. Recomendações para terapia anti-retroviral em adultos e adolescentes infectados pelo HIV. Secretaria de Vigilância em Saúde, Programa Nacional de DST e AIDS. Brasília: Ministério da Saúde, 2008b.
15. Barbaro G. Highly active antiretroviral therapy-associated metabolic syndrome: pathogenesis and cardiovascular risk. Am J Ther 2006; 13:248-60.
16. Barbaro G, Barbarini G. Highly active antiretroviral therapy-associated metabolic syndrome and cardiovascular risk. Chemotherapy 2006; 52:161-5.
17. Oh J, Hegele RA. HIV-associated dyslipidaemia: pathogenesis and treatment. Lancet Infect Dis 2007; 7:787-796.
18. Fields-Gardner C, Fergusson P. American Dietetic Association; Dietitians of Canadá. Position of the American Dietetic Association and Dietitians of Canada: nutrition intervention in the care of persons with human immunodeficiency virus infection. J Am Diet Assoc 2004; 104:1425-41.
19. Grunfeld C. Dyslipidemia and its Treatment in HIV Infection. Top HIV Med 2010; 18: 112-8.
20. Barbaro G, Silva EF. Cardiovascular complications in the acquired immunodeficiency syndrome. Rev Assoc Med Bras 2009; 55: 621-30.
21. Friis-Møller N, Weber R, Reiss P, et al. Cardiovascular disease risk factors in HIV patients--association with antiretroviral therapy. Results from the DAD study. AIDS 2003; 17:1179-93.

22. Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. *Arq Bras Cardiol* 2005; 84:3-28.
23. Bergersen BM, Schumacher A, Sandvik L, Bruun JN, Birkeland K. Important differences in components of the metabolic syndrome between HIV-patients with and without highly active antiretroviral therapy and healthy controls. *Scand J Infect Dis* 2006; 38:682-9.
24. Yudkin JS. Insulin resistance and the metabolic syndrome – or 10 pitfalls of epidemiology. *Diabetologia*. 2007;50:1576-86.
25. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*. 2006; 444:860-7.
26. Sholeson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest*. 2006; 116:1793-1801.
27. Institute of Medicine (IOM). Dietary fats: total fat and fatty acids. In: Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids. Washington, DC: National Academy Press, 2002.
28. Simopoulos AP. The omega-6/omega-3 fatty acid ratio, genetic variation, and cardiovascular disease. *Asia Pac J Clin Nutr* 2008; 17:131-4.
29. Oliveira JM, Luzia LA, Rondó PHC. Fontes alimentícias e formulações de ácidos graxos ômega-3: saúde individual, coletiva e sustentabilidade. Manuscrito a ser submetido.
30. Martin CA, Almeida VV, Ruiz MR, Visentainer JEL, Matshushita M, Souza NE, Visentainer JV. Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. *Rev Nutr*. 2006; 19:761-70.
31. Calder PC. N-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *Am J Clin Nutr* 2006; 83:1505S-19S.
32. Kris-Etherton PM, Williams SH, Appel LJ. Fish Consumption, Fish Oil, N-3 Fatty Acids, and Cardiovascular Disease. *Circulation* 2002; 106:2747-57.
33. Lee JH, O'Keefe JH, Lavie CJ, Harris WS. Omega-3 fatty acids: cardiovascular benefits, sources and sustainability. *Nat Rev Cardiol* 2009; 6:753-8.
34. Saravanan P, Davidson NC, Schmidt EB, Calder PC. Cardiovascular effects of marine

- omega-3 fatty acids. *Lancet* 2010; 376:540-50.
35. Wall R, Ross RP, Fitzgerald GF, Stanton C. Fatty acids from fish: the anti-inflammatory potential of long-chain omega-3 fatty acids. *Nut Rev* 2010; 68: 280-9.
36. Carpentier YA, Portois L, Malaisse WJ. N-3 fatty acids and the metabolic syndrome. *Am J Clin Nutr* 2006; 83:1499S-1504S.
37. Neschen S, Morino K, Dong J, et al. n-3 Fatty acids preserve insulin sensitivity in vivo in a peroxisome proliferator-activated receptor-alpha-dependent manner. *Diabetes* 2007; 56:1034-41.
38. Rudkowska I. Fish oils for cardiovascular disease: Impact on diabetes. *Maturitas* 2010; 67:25-8.
39. World Health Organization (WHO). Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Technical Report Series.854. Geneva: WHO, 1995.
40. Florindo AA. Atividade física habitual e sua relação com a composição corporal em adultos portadores de HIV/AIDS em uso de terapia anti-retroviral de alta atividade. FSP, 2003. [Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde Pública - FSP/USP para obtenção do grau de Doutor].

ANEXO 1

DADOS DO PARTICIPANTE – Projeto ÔMEGA-3

GRUPO: ALFA () BETA

I. Caracterização Sócio-demográfica

Identificação do paciente no estudo	Id ____
Identificação do paciente no serviço	Idservico _____
Nome do paciente:	
Sexo (0. Masculino, 1. Feminino)	Sexo ____
Raça/Cor: (0. branco, 1. pardo, 2. negro, 3. oriental, 4. indígena, 9. si)	Raca ____
Data de nascimento (dd/mm/aaaa):	Datanasc ____/____/____
Data da entrevista (dd/mm/aaaa):	Dataentre ____/____/____
Idade (anos)	Idade ____
Contatos Telefone residencial: _____ Celular: _____ Melhor período para contato: _____ Recado (anotar nome): _____ E-mail: _____	
União (0. solteiro/não unido, 1. casado/vive com companheiro/união estável, 2. separado/divorciado, 3. viúvo, 4. namoro, 9. si)	Uniao ____
Ocupação (0. não, 1. sim)	Ocupa ____
Detalhar a ocupação	_____ _____
Escolaridade (em anos de estudo – séries completadas com sucesso)	Escola ____
Formação (0. sem escolaridade, 1. ensino fundamental incompleto, 2. ensino fundamental completo, 3. ensino médio completo, 4. ensino médio incompleto, 5. ensino superior completo, 6. ensino superior incompleto, 7. pós-graduação completa, 8. pós-graduação incompleta)	Formação ____
Renda familiar total (em reais)	Renda ____
Número total de membros da família	Familia ____
Tipo de residência (0. alugada, 1. própria, 2. outros, 9. si)	Casa ____

Número total de cômodos da residência	Comodos __ __
Material da residência (0. madeira, 1. alvenaria, 2. outros, 9. si)	Materialcasa __
Acesso à rede de água (0. não, 1. sim, 9. si)	Agua __
Acesso à rede de esgoto (0. não, 1. sim, 9. si)	Esgoto __
Acesso à coleta pública de lixo (0. não, 1. sim, 9. si)	Lixo __

si = sem informação

II. Caracterização do perfil de saúde

Histórico familiar (materno e paterno):	
Fumantes (0. não, 1. sim, 9. si)	Fuma __
Número de cigarros por dia	Ncigarros ____
Consumo de álcool (0. não, 1. sim, 9. si)	Alcool __
Frequência do consumo de álcool (0. diário, 1. 1-3 vezes por semana, 2. 4-6 vezes por semana, 9. si)	Falcool __
Data do diagnóstico (dd/mm/aaaa)	Datadiag __ __/__ __/____
Data do início do tratamento no serviço (dd/mm/aaaa)	Dataserv __ __/__ __/____
Data do início da terapia antiretroviral (dd/mm/aaaa)	Datatrat __ __/__ __/____
HISTÓRICO DE MEDICAÇÃO	
Uso de IP (0. não, 1. sim, 9. si)	Usoip ____
Tempo de uso de IP (meses)	Tempoip ____
AMPRENAVIR (APV,) (0. não, 1. sim)	Apv ____

Tempo de uso de Amprenavir (meses)	Tempoapv _____
FOSAMPRENAVIR	Fosapv _____
Tempo de uso de Fosamprenavir (meses)	Tempofosapv _____
ATAZANAVIR (ATV, Reyataz) (0. não, 1. sim)	Atv _____
Tempo de uso de Atazanavir (meses)	Tempoatv_____
INDINAVIR (IDV, Crixivan) (0. não, 1. sim)	Idv _____
Tempo de uso de Indinavir (meses)	Tempoidv_____
LOPINAVIR/r (LPV/r, Kaletra) (0. não, 1. sim)	Lpv _____
Tempo de uso de Lopinavir (meses)	Tempolpv_____
NELFINAVIR (NFV, Viracept) (0. não, 1. sim)	Nfv _____
Tempo de uso de Nelfinavir (meses)	Temponfv_____
RITONAVIR (RTV, Norvir) (0. não, 1. sim)	Rtv _____
Tempo de uso de Ritonavir (meses)	Temporv_____
SAQUINAVIR (SQV, Invirase, Fortovase) (0. não, 1. sim)	Sqv _____
Tempo de uso de Saquinavir (meses)	Temposqv_____
DARUNAVIR (DRV) (0. não, 1. sim)	Drv _____
Tempo de uso de Daunavir (meses)	Tempodrv_____
Uso de ITRN (0. não, 1. sim, 9. si)	Usoitrn _____
Tempo de uso de ITRN (meses)	Tempoitrn _____
ABACAVIR (ABC) (0. não, 1. sim)	Abc _____
Tempo de uso de Abacavir	Tempoabc_____
DIDANOSINA (Ddl, Videx) (0. não, 1. sim)	Ddi _____
Tempo de uso de Didanosina (meses)	Tempoddi _____
ESTAVUDINA (d4T, zenit) (0. não, 1. sim)	Estav _____
Tempo de uso de Estavidina (meses)	Tempoestav _____
LAMIVUDINA (3TC,Epivir, Biovir) (0. não, 1. sim)	Lamiv _____
Tempo de uso de Lamivudina (meses)	Tempolamiv _____
TENOFOVIR (TDF) (0. não, 1. sim)	Tdf _____

Tempo de uso de Tenofovir (meses)	Tempotdf _____
ZIDOVUDINA (AZT, Retrovir, Biovir) (0. não, 1. sim)	Azt _____
Tempo de uso de Zidovudina (meses)	Tempoazt _____
Uso de ITRNN (0. não, 1. sim, 9. si)	Usoitrnn ____
Tempo de uso de ITRNN	Tempoitrnn _____
EFAVIRENZ (EFV) (0. não, 1. sim)	Efv ____
Tempo de uso de efavirenz (meses)	Tempoefv _____
NEVIRAPINA (NVP) (0. não, 1. sim)	Nvp _____
Tempo de uso de Nevirapina (meses)	Temponvp _____
Uso de inibidor de fusão - IF (0. não, 1. sim, 9. si)	Usoif _____
Tempo de uso de IF (meses)	Tempoif _____
ENFUVIRTIDA (T20, ENF, Fuzeon) (0. não, 1. sim)	Enf _____
Tempo de uso de enfuvirtida (meses)	Tempoenf _____
Uso de inibidor de integrase – II (0. não, 1. sim, 9. si)	Usoii ____
Tempo de uso de II (meses)	Tempoii _____
RALTEGRAVIR (0. não, 1. sim)	Rtg _____
Tempo de uso de Raltegravir (meses)	Temportg _____
Uso de inibidor do receptor Ccr5 (0. não, 1. sim, 9. si)	Usoirc _____
Tempo de uso de IRCcr5 (meses)	Tempoirc _____
MARAVIROC (0. não, 1. sim)	Mrvc _____
Tempo de uso de Maraviroc (meses)	Tempomrvc _____
TERAPIA ATUAL	
Esquema de terapia atual (0. 2ITRN + 1ITRNN; 1. 2ITRN + 1IP)	Terapiatual ____
Data do início da terapia antiretroviral atual (dd/mm/aaaa)	Datatatual ____/____/____ _ _ ____
Medicamentos utilizados na terapia atual (anotar também os não antiretrovirais):	
EFEITOS ADVERSOS (após 3 dias do início)	

Náusea (0. não, 1. sim, 9. si)	Nauseab ____
Vômito (0. não, 1. sim, 9. si)	Vomitob ____
Dor abdominal (0. não, 1. sim, 9. si)	Dorabb ____
Falta de apetite (0. não, 1. sim, 9. si)	Apetiteb ____
Dor de cabeça (0. não, 1. sim, 9. si)	Dorcabb ____
Sangramento nasal (0. não, 1. sim, 9. si)	Sangnasalb ____
Outros: _____ _____	

si = sem informação

III. Caracterização nutricional – Baseline Data: ____/____/____

Peso médio (Kg) P1: _____ P2: _____	Pesob _____, _____
Estatuta média (m) E1: _____ E2: _____	Estatb _____, _____
Circunferência da cintura (cm) CC1: _____ CC2: _____	CCb _____, _____
Circunferência do quadril (cm) CQ1: _____ CQ2: _____	CQb _____, _____
Circunferência do pescoço (cm) CP1: _____ CP2: _____	CPb _____, _____

IV. Histórico de doenças (preferência retirar dados dos laudos médicos)

V. Adesão à Terapia Antiretroviral - Baseline Data: ____/____/____

Número total de medicamentos ingeridos nos três dias anteriores à entrevista	Medconsb ____
Número total de medicamentos que deviriam ser ingeridos nos três dias anteriores à entrevista	Medrecb ____

VI. Caracterização nutricional – 2º Momento Data: ____/____/____

Peso médio (Kg) P1: _____ P2: _____	Peso2 _____, _____
Estatuta média (m) E1: _____ E2: _____	Estat2 _____, _____
Circunferência da cintura (cm) CC1: _____ CC2: _____	CC2 _____, _____
Circunferência do quadril (cm) CQ1: _____ CQ2: _____	CQ2 _____, _____
Circunferência do pescoço (cm) CP1: _____ CP2: _____	CP2 _____, _____

VII. Caracterização nutricional – 3º Momento Data: ____/____/____

Peso médio (Kg) P1: _____ P2: _____	Peso3 _____, _____
Estatuta média (m) E1: _____ E2: _____	Estat3 _____, _____
Circunferência da cintura (cm) CC1: _____ CC2: _____	CC3 _____, _____
Circunferência do quadril (cm) CQ1: _____ CQ2: _____	CQ3 _____, _____
Circunferência do pescoço (cm) CP1: _____ CP2: _____	CP3 _____, _____

VIII. OBSERVAÇÕES

IX. Caracterização da atividade física e dieta - *baseline*

Id: _____ Data: ____/____/____

QUESTIONÁRIO DE ATIVIDADE FÍSICA HABITUAL

Por favor, circule a resposta apropriada para cada questão:

1) Qual tem sido sua principal ocupação? 1 3 5

--

2) No trabalho, eu sento: 1 2 3 4 5
nunca / raramente / algumas vezes / freqüentemente / sempre

3) No trabalho, eu fico em pé: 1 2 3 4 5
nunca / raramente / algumas vezes / freqüentemente / sempre

4) No trabalho, eu ando: 1 2 3 4 5
nunca / raramente / algumas vezes / freqüentemente / sempre

5) No trabalho, eu carrego carga pesada: 1 2 3 4 5
nunca / raramente / algumas vezes / freqüentemente / sempre

6) Após o trabalho, eu estou cansado: 5 4 3 2 1
muito freqüentemente / freqüentemente / algumas vezes / raramente / nunca

7) No trabalho, eu suco: 5 4 3 2 1
muito freqüentemente / freqüentemente / algumas vezes / raramente / nunca

8) Em comparação com outros da minha idade, eu penso que meu trabalho é fisicamente: 5 4 3 2 1
muito mais pesado / mais pesado / tão pesado quanto / mais leve / muito mais leve

9) Você pratica ou praticou esporte ou exercício físico nos últimos 12 meses: 1 3 5
sim / não

Qual esporte ou exercício físico você praticou mais freqüentemente? 5 4 3 2 1

--

Quantas horas por semana?					
	<1	1<2	2<3	3<4	>4
Quantos meses por ano?					
	1	1-3	4-6	7-9	>9
Se você faz ou fez um segundo esporte ou exercício físico, qual o tipo?					
	1		3		5
Quantas horas por semana?					
	<1	1<2	2<3	3<4	>4
Quantos meses por ano?					
	1	1-3	4-6	7-9	>9
10) Em comparação com outros da minha idade, eu penso que minha atividade física durante as horas de lazer é:					
	5	4	3	2	1
muito maior / maior / a mesma / menor / muito menor					
11) Durante as horas de lazer, eu suo:					
	5	4	3	2	1
muito freqüentemente / freqüentemente / algumas vezes / raramente / nunca					
12) Durante as horas de lazer, eu pratico esporte ou exercício físico:					
	1	2	3	4	5
nunca / raramente / algumas vezes / freqüentemente / muito freqüentemente					
13) Durante as horas de lazer, eu vejo televisão:					
	1	2	3	4	5
nunca / raramente / algumas vezes / freqüentemente / muito freqüentemente					
14) Durante as horas de lazer, eu ando:					
	1	2	3	4	5
nunca / raramente / algumas vezes / freqüentemente / muito freqüentemente					
15) Durante as horas de lazer, eu ando de bicicleta:					
	1	2	3	4	5
nunca / raramente / algumas vezes / freqüentemente / muito freqüentemente					
16) Durante quantos minutos por dia você anda a pé ou de bicicleta indo e voltando do trabalho, escola ou compras?					
<5 / 5-15 / 16-30 / 31-45 / >45	1	2	3	4	5
Total em minutos:					

Instruções para cálculo do escore de atividade física

FÓRMULAS PARA O CÁLCULO DOS ESCORES DO QUESTIONÁRIO DE BAECKE DA AFH

ATIVIDADES FÍSICAS OCUPACIONAIS - AFO

$$\text{ESCORES DE AFO} = \frac{\text{QUESTÃO 1} + \text{QUESTÃO 2} + \text{QUESTÃO 3} + \text{QUESTÃO 4} + \text{QUESTÃO 5} + \text{QUESTÃO 6} + \text{QUESTÃO 7} + \text{QUESTÃO 8}}{8}$$

CÁLCULO DA 1ª QUESTÃO REFERENTE AO TIPO DE OCUPAÇÃO:

- INTENSIDADE (TIPO DE OCUPAÇÃO) = 1 PARA PROFISSIONAIS COM GASTO ENERGÉTICO LEVE, 3 PARA PROFISSIONAIS COM GASTO ENERGÉTICO MODERADO, 5 PARA PROFISSIONAIS COM GASTO ENERGÉTICO VIGOROSO (DETERMINADO PELA RESPOSTA DO TIPO DE OCUPAÇÃO: O GASTO ENERGÉTICO DA PROFISSÃO DEVE SER CONFERIDO NO COMPÊNDIO DE ATIVIDADES FÍSICAS DO AINSWORTH).

EXERCÍCIOS FÍSICOS NO LAZER - EFL

CÁLCULO DA QUESTÃO 9 REFERENTE A PRÁTICA DE ESPORTES/EXERCÍCIOS FÍSICOS:

- INTENSIDADE (TIPO DE MODALIDADE) = 0,76 PARA MODALIDADES COM GASTO ENERGÉTICO LEVE, 1,26 PARA MODALIDADES COM GASTO ENERGÉTICO MODERADO OU 1,76 PARA MODALIDADES COM GASTO ENERGÉTICO VIGOROSO (DETERMINADO PELA RESPOSTA DO TIPO DE MODALIDADE: O GASTO ENERGÉTICO DA MODALIDADE DEVE SER CONFERIDO NO COMPÊNDIO DE ATIVIDADES FÍSICAS DE AINSWORTH).
- TEMPO (HORAS POR SEMANA) = 0,5 PARA MENOS DE UMA HORA POR SEMANA OU 1,5 ENTRE MAIOR QUE UMA HORA E MENOR QUE DUAS HORAS POR SEMANA OU 2,5 PARA MAIOR QUE DUAS HORAS E MENOR QUE TRÊS HORAS POR SEMANA OU 3,5 PARA MAIOR QUE 3 HORAS E ATÉ 4 POR SEMANA OU 4,5 PARA MAIOR QUE QUATRO HORAS POR SEMANA (DETERMINADO PELA RESPOSTA DAS HORAS POR SEMANA DE PRÁTICA).
- PROPORÇÃO (MESES POR ANO) = 0,04 PARA MENOR QUE UM MÊS OU 0,17 ENTRE UM A TRÊS MESES OU 0,42 ENTRE QUATRO E SEIS MESES OU 0,67 ENTRE SETE E NOVE MESES OU 0,92 PARA MAIOR QUE NOVE MESES (DETERMINADO PELA RESPOSTA DOS MESES POR ANO DE PRÁTICA).

PARA O CÁLCULO DESTA QUESTÃO, OS VALORES DEVEM SER MULTIPLICADOS E SOMADOS:

$$[\text{MODALIDADE 1} = (\text{INTENSIDADE} \times \text{TEMPO} \times \text{PROPORÇÃO}) + \text{MODALIDADE 2} = (\text{INTENSIDADE} \times \text{TEMPO} \times \text{PROPORÇÃO})]$$

APÓS O RESULTADO DESSE CÁLCULO, PARA O VALOR FINAL DA QUESTÃO 9, DEVERÁ SER ESTIPULADO UM ESCORE DE 0 A 5 DE ACORDO COM OS CRITÉRIOS ESPECÍFICADOS ABAIXO:

$$[0(\text{SEM EXERCÍCIO FÍSICO})=1 / \text{ENTRE } 0,01 \text{ ATÉ } <4=2 / \text{ENTRE } 4 \text{ ATÉ } <8=3 / \text{ENTRE } 8 \text{ ATÉ } <12=4 / \geq 12,00=5]$$

OS ESCORES DAS QUESTÕES DOIS A QUATRO SERÃO OBTIDOS DE ACORDO COM AS RESPOSTAS DAS ESCALAS DE LIKERT O ESCORE FINAL DE EFL DEVERÁ SER OBTIDO DE ACORDO COM A FÓRMULA ESPECIFICADA ABAIXO:

$$\text{ESCORE DE EFL} = \frac{\text{QUESTÃO 9} + \text{QUESTÃO 10} + \text{QUESTÃO 11} + \text{QUESTÃO 12}}{4}$$

ATIVIDADES FÍSICAS NO LAZER E LOCOMOÇÃO (ALL)

OS ESCORES DAS QUESTÕES CINCO A OITO SERÃO OBTIDOS DE ACORDO COM AS RESPOSTAS DAS ESCALAS DE LIKERT O ESCORE FINAL DE ALL DEVERÁ SER OBTIDO DE ACORDO COM A FÓRMULA ESPECIFICADA ABAIXO:

$$\text{ESCORE DE ALL} = \frac{(6 - \text{QUESTÃO 13}) + \text{QUESTÃO 14} + \text{QUESTÃO 15} + \text{QUESTÃO 16}}{4}$$

$$\text{***** ESCORE TOTAL DE ATIVIDADE FÍSICA (ET) = AFO + EFL + ALL *****}$$

Fonte: Florindo, AA. Atividade Física Habitual e Composição Corporal em Portadores do HIV/aids adultos em Terapia Anti-retroviral de Alta Atividade. Tese de Doutorado, FSP/USP, 2003.

Id:_____ DATA: __/__/____ DIA DA SEMANA: _____
1º () 2º () Recordatório

Id:_____ DATA: __/__/__ DIA DA SEMANA: _____

1º () 2º () Recordatório

[illegible]

Instruções para a realização

A) Cinco passos para realização do Recordatório de 24h:

Passo	Etapa	Descrição
1	Lista rápida	Coletar uma lista de alimentos consumidos no dia anterior. Não questionar sobre horário, refeição ou quantidade. Deixar o entrevistado descrever de forma livre os alimentos consumidos.
2	Alimentos esquecidos na lista	Coletar as informações sobre alimentos que podem ter sido esquecidos durante a lista rápida. Questionar sobre alimentos consumidos de acordo com as categorias: <ul style="list-style-type: none">❖ Bebidas não-alcoólicas❖ Bebidas alcoólicas❖ Doces❖ Petiscos❖ Frutas❖ Hortaliças (verduras e legumes)❖ Queijos❖ Pães❖ Tempero de salada❖ Outros alimentos
3	Horário e refeição	Coletar o horário e refeição para cada alimento consumido. Agrupar os alimentos consumidos de acordo com as refeições.
4	Detalhamento e revisão	Coletar uma descrição detalhada de cada alimento consumido, incluindo quantidades e adições. Revisar as refeições realizadas para detectar mais alimentos esquecidos.
5	Revisão final	Coletar alimentos adicionais não incluídos anteriormente.

Fonte: Adaptado de USDA – Automated Multiple Pass Method (Raper et al., 2004).

B) Instruções adicionais – questionar sobre:

- sobras,

- modo de preparo dos alimentos,
- marca e tipo (tradicional, modificado, light, diet, integral, desnatado, etc),
- varied

ade

(ex.:

banana

prata ou

nanica),

- alimen

tos

compost

os (ex.:

mingau, sopa, vitamina, etc),

- tipos de azeites, óleos, margarinas, manteiga, maionese, molhos,
- solicitar receita da preparação quando necessário.

- Fonte: Adaptado de Inquéritos Alimentares: Métodos e Bases Científicas. (Fisberg et al., 2005).

Universidade de São Paulo

Faculdade de Saúde Pública

Av. Dr. Arnaldo, 715 – CEP 01246-904 – São Paulo – Brasil

ANEXO 2

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

I – DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA

1. Dados de Identificação

Nome do Paciente:

.....

Documento de Identidade Nº :..... Sexo: () M () F

Data de Nascimento:...../...../.....

Endereço:.....Nº:.....Apto:.....

.....

Bairro:.....Cidade:.....

.....

CEP:.....Telefone:.....

...

II – DADOS SOBRE A PESQUISA

1. Título do Protocolo de Pesquisa:

Efeito da suplementação com ômega-3 nos parâmetros inflamatórios, bioquímicos e cardiovasculares de adultos com HIV em HAART: ensaio clínico controlado, aleatorizado e duplo-cego

Pesquisador: Julicristie Machado de Oliveira

Documento de Identidade Nº : 26620272-x Sexo: () M (X) F

Cargo/Função: Aluna de Pós-graduação, Nível Doutorado

Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública da USP

Demais pesquisadores envolvidos:

Alúcio Augusto Cotrim Segurado, Professor Associado, FMUSP

Patrícia Helen de Carvalho Rondó, Professora Associada, FSPUSP

2. Avaliação de Risco da Pesquisa

() Sem Risco (X) Risco Mínimo () Risco Médio
() Risco Baixo () Risco Maior

(Probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo. Nos projetos com coleta de sangue incluir, detalhadamente, as possíveis reações decorrentes desse procedimento.)

3. Duração da Pesquisa: Seis meses.

III – REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO SUJEITO DA PESQUISA OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA, CONSIGNANDO:

O objetivo da pesquisa é avaliar o efeito da suplementação de ômega-três (nutriente essencial) na quantidade de marcadores de inflamação (mediadores inflamatórios), bioquímicos no sangue (glicose, colesterol, triglicérides) e também indicadores da saúde do coração em pacientes em terapia antiretroviral de alta potência.

Como benefícios, os participantes da pesquisa farão exames de saúde que não estão disponíveis na assistência de rotina, tais como: porcentagem de gordura corporal, elasticidade dos vasos sanguíneos, mediadores inflamatórios e insulina.

Ao final do estudo, se a suplementação com o nutriente for eficaz, todos os participantes receberão o suplemento gratuitamente por seis meses.

Alguns desconfortos podem ocorrer após a suplementação, como náusea e dor de cabeça, porém há informações que esses efeitos colaterais ocorrem quando há ingestão de uma dose maior de suplemento que a utilizada nesse estudo.

O estudo inclui coleta de sangue que será feita no mesmo dia dos exames que são agendados de rotina. Nesse momento, o participante pode sentir dor devido à picada da agulha.

O participante poderá integrar o grupo que receberá o suplemento ou que receberá placebo (cápsula sem suplemento).

Realizará exames para os quais serão necessárias 10 horas de jejum a partir do dia anterior, no momento inicial, no meio (3 meses) e final da pesquisa (6 meses após o início da suplementação com o nutriente).

O participante será pesado e serão medidas as dobras de pele braço, a estatura, a circunferência da cintura, a do quadril e a do pescoço no momento inicial, no meio (3 meses) e final da pesquisa (6 meses após o início da suplementação com o nutriente).

Serão realizadas as determinações da porcentagem de gordura corporal, da pressão arterial e da elasticidade das dos vasos sangüíneos no momento inicial, no meio (3 meses) e final da pesquisa (6 meses após o início da suplementação com o nutriente).

Será aplicado um questionário com questões referentes à situação de saúde, antecedentes familiares e condição financeira.

O prontuário será consultado para obter informações referentes à saúde.

Esta pesquisa não envolve nenhum risco à minha integridade física.

IV – ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA

O participante da pesquisa terá acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para dirimir eventuais dúvidas. Terá também liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência. Terá a salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade, ou seja, as informações obtidas são sigilosas e meu nome não será

divulgado. Caso ocorra danos à saúde eventuais danos à saúde, decorrentes da pesquisa, terá a disponibilidade de assistência no HCFMUSP.

V – INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.
--

Julicristie M Oliveira
Avenida Dr Arnaldo 715
Telefone: 7381 9580
Email: julicristie@yahoo.com

Patrícia HC Rondó
Avenida Dr Arnaldo 715
Telefone: 3061 7867
Email: julicristie@yahoo.com

Aluísio AC Segurado
Professor Associado – FMUSP
Departamento de Moléstias Infecciosas e Parasitárias – FMUSP
Rua Frei Caneca, 557. Cerqueira César. Cep 05403-000.
Telefone: 3120 5290
Email: segurado@usp.br.

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com:

Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da FM/USP – 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.

Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da FSP/USP – Av. Dr. Arnaldo, 715 – Térreo – tel: 3061-7779 ou 7742 – E-mail: cope@fsp.usp.br.

VI – CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

São Paulo, _____ de _____ de _____.

Assinatura do sujeito de pesquisa

Assinatura do pesquisador
(carimbo ou nome legível)

ANEXO 3

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – COEP/FSP

Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública

Of.COEP/ 194 / 08

Protocolo	1771
Projeto de Pesquisa	EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM ÔMEGA-3 NOS PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS, BIOQUÍMICOS E CARDIOVASCULARES DE ADULTOS COM HIV EM HAART: ENSAIO CLÍNICO CONTROLADO, ALEATORIZADO E DUPLO-CEGO
Pesquisador(a)	Julicristie Machado de Oliveira

11 de JULHO de 2008.

Prezado(a) Orientador(a),

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo - COEP analisou, em sua 6.ª/08 Sessão ORDINÁRIA, realizada em 04.07.08, de acordo com os requisitos da Resolução CNS/196/96 e suas complementares, o protocolo de pesquisa acima intitulada e o considerou **APROVADO COM RECOMENDAÇÃO**, devendo a pesquisadora atender às seguintes recomendações apresentadas no parecer do relator: "como os sujeitos de pesquisa são pacientes do HC, recomenda-se que o projeto seja aprovado em seu mérito, mas que para sua realização aguarde a aprovação da CapPesq". Assim que cumprido o solicitado, uma cópia do parecer de aprovação deverá ser encaminhado para arquivo neste COEP.

Cabe lembrar que conforme Resolução CNS/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 finais;
5. Justificar, perante o CEP, interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Atenciosamente,

Claudio Leone

Professor Associado
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa – FSP/COEP

lim.ª Sr.ª
Prof.ª Dr.ª PATRÍCIA HELEN DE CARVALHO RONDÓ
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – COEP/FSP

Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública

Of.COEP/ 245 / 08

Protocolo	1771
Projeto de Pesquisa	EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM ÔMEGA-3 NOS PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS, BIOQUÍMICOS E CARDIOVASCULARES DE ADULTOS COM HIV EM HAART: ENSAIO CLÍNICO CONTROLADO, ALEATORIZADO E DUPLO-CEGO
Pesquisador(a)	Julicristie Machado de Oliveira

19 de SETEMBRO de 2008.

Prezado(a) Orientador(a),

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo - COEP analisou, em sua 8.ª/08 Sessão ORDINÁRIA, realizada em 12/09/2008, de acordo com os requisitos da Resolução CNS/196/96 e suas complementares, o protocolo de pesquisa acima intitulado e o considerou que as recomendações anteriormente apresentadas por este COEP foram atendidas.

Cabe lembrar que conforme Resolução CNS/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 Associado
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa – FSP/COEP

Ilm.º Sr.º
Prof.ª Dr.ª PATRÍCIA HELEN DE CARVALHO RONDÓ
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO
FACULDADE DE SAÚDE PÚBLICA

ANEXO 4

APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 17/12/2008, **APROVOU o(s) documento(s)** abaixo mencionado(s) no Protocolo de Pesquisa nº **0171/08**, intitulado: **"EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM ÔMEGA-3 NOS PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS, BIOQUÍMICOS E CARDIOVASCULARES DE ADULTOS COM HIV EM HAART: ENSAIO CLÍNICO CONTROLADO, ALEATORIZADO E DUPLO-CEGO"** apresentado pelo Departamento de **MOLÉSTIAS INFECCIOSAS E PARASITÁRIAS**.

- **Adendo ao projeto com inclusão de questionário de atividade física**

Pesquisador (a) Responsável: **Prof. Dr. Aluísio Augusto Cotrim Segurado**

CAPPesq, 17 de Dezembro de 2008

Prof. Dr. Eduardo Massad
**Presidente da Comissão
de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa**

ANEXO 5

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENADORIA DE CONTROLE DE DOENÇAS
INSTITUTO ADOLFO LUTZ
Comitê de Ética em Pesquisa - CEPAL
Av. Dr. Arnaldo, 355 - Sala 83 - Cerqueira César - 01246-902
Fone: 3068-2859 e-mail: cepal@ial.sp.gov.br

São Paulo, 20 de agosto de 2010.

Protocolo: **056/2010**

Projeto de Pesquisa - “Efeito da suplementação com ômega-3 nos parâmetros inflamatórios, bioquímicos e cardiovasculares de adultos com HIV em HAART: ensaio clínico controlado, aleatorizado e duplo-cego”.

Pesquisador Responsável: Lourdes Redher de Andrade Vaz de Lima

Instituição: Instituto Adolfo Lutz

O Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Adolfo Lutz – CEPAL analisou e deliberou em reunião de 19 de agosto de 2010, de acordo com a Resolução CNS nº 196 de 10 de outubro de 1996 e suas resoluções complementares, o projeto acima apresentado na categoria **APROVADO**.

Em conformidade com o item IX.2 da Resolução CNS nº 196/96 - cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar os relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo, sob sua guarda, por 5 anos, os dados da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar, perante o CEP, interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados. Os relatórios parciais deverão ser encaminhados a cada seis meses a partir do início da pesquisa.

Luz Marina Trujillo

Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
Instituto Adolfo Lutz – CEPAL

Julicristie Machado de Oliveira

é graduada em Nutrição (2002), Mestre em Saúde Pública (2006) e doutoranda em Nutrição em Saúde Pública (FSP/USP). Tem experiência na área de assistência e pesquisa em Saúde Pública e Nutrição. Como docente, atuou nas disciplinas Nutrição em Saúde Coletiva, Educação Nutricional, Epidemiologia, Saúde Coletiva 1 e 2 e supervisão de estágio em Nutrição em Saúde Coletiva.
(Texto informado pelo autor)

Última atualização do currículo em 11/11/2010

Endereço para acessar este CV:

<http://lattes.cnpq.br/2569842077393348>

Dados pessoais

Nome Julicristie Machado de Oliveira

Nome em citações bibliográficas OLIVEIRA, JM; OLIVEIRA-MENEGOZZO, JM

Sexo Feminino

Endereço profissional Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública.
Av Dr Arnaldo, 715
Cerqueira César
01246-904 - São Paulo, SP - Brasil
URL da Homepage: www.fsp.usp.br

Formação acadêmica/Titulação

- 2007** Doutorado em andamento em Nutrição em Saúde Pública .
Universidade de São Paulo, USP, Brasil.
Título: Efeito da suplementação com ômega-3 no perfil lipídico, na homeostase da glicose e nos parâmetros inflamatórios de adultos com HIV em terapia antiretroviral: ensaio clínico aleatorizado e controlado. . *Orientador:* Patricia Helen de Carvalho Rondo.
Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, Brasil.
- 2004 - 2006** Mestrado em Saúde Pública (Conceito CAPES 5) .
Universidade de São Paulo, USP, Brasil.
Título: Suplementação de vitamina A em lactantes: revisão sistemática, *Ano de Obtenção:* 2006.
Orientador: Denise Pimentel Bergamaschi.
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil.
Palavras-chave: Vitamina A; Lactação; Suplementação; Ensaios clínicos aleatorizados; Revisão sistemática; metanálise.
Grande área: Ciências da Saúde / *Área:* Saúde Coletiva / *Subárea:* Saúde Pública.
Grande área: Ciências da Saúde / *Área:* Saúde Coletiva / *Subárea:* Epidemiologia.
Grande área: Ciências da Saúde / *Área:* Nutrição.
Setores de atividade: Nutrição e Alimentação; Cuidado À Saúde das Populações Humanas.
- 2003 - 2004** Especialização em Saúde Nutrição e Alimentação Infantil . (Carga Horária: 1900h).
Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP, Brasil.
Título: - .
Orientador: - .
Bolsista do(a): Fundação do Desenvolvimento Administrativo de SP, . .
- 1998 - 2002** Graduação em Nutrição .
Universidade de São Paulo, USP, Brasil.
Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Brasil.

Formação complementar

- 2010 - 2010** Extensão universitária em As Práticas Corporais e a Saúde. (Carga horária: 12h).
Faculdade de Saúde Pública - USP.
- 2010 - 2010** Extensão universitária em Yoga. (Carga horária: 180h).
Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas.
- 2010 - 2010** Extensão universitária em Carta da Terra, Slow Food e SAN. (Carga horária: 6h).
Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP, Brasil.
- 2010 - 2010** Extensão universitária em II Seminário de Escrita Científica em Pesquisas Qu. (Carga horária: 16h).
Faculdade de Saúde Pública - FSP/USP.
- 2010 - 2010** Extensão universitária em Saúde, ambiente e sustentabilidade. (Carga horária: 8h).
Faculdade de Saúde Pública - FSP/USP.
- 2010 - 2010** International Course in Nutritional Epidemiology. (Carga horária: 72h).
Imperial College London.
- 2010 - 2010** Clinical Trials. (Carga horária: 30h).

Patricia Helen de Carvalho Rondó
Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq - Nível 1B

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). Atualmente é Professor Associado da Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo. 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 12 alunos de Pós-Graduação: 7 de mestrado e 5 de doutorado. Colaboração em pesquisa com as universidades de Londres e Southampton na Inglaterra. Experiência em Nutrição 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 nascimento e doenças crônicas na idade adulta; avaliação e controle da deficiência de micronutrientes.

(Texto informado pelo autor)

Última atualização do currículo em 13/09/2010

Endereço para acessar este CV:

<http://lattes.cnpq.br/3061667720023102>

Dados pessoais

Nome	Patricia Helen de Carvalho Rondó
Nome em citações bibliográficas	RONDÓ PHC; RONDÓ PHD; RONDO PH; SCHILLING PR; RONDÓ PHC; RONDÓ PH; RONDÓ PHD
Sexo	Feminino
Endereço profissional	Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, Departamento de Nutrição. AV DOUTOR ARNALDO 715 CERQUEIRA CESAR 01246-904 - São Paulo, SP - Brasil Telefone: (11) 30617867 Fax: (11) 30822653 URL da Homepage: www.fsp.usp.br

Formação acadêmica/Titulação

2007	Livre-docência.
Universidade de São Paulo, USP, Brasil.
Título: <i>Peso ao nascimento e complacência arterial. Ano de obtenção:</i> 2007.
<i>Palavras-chave:</i> baixo peso ao nascer; complacência arterial.
<i>Grande área:</i> Ciências da Saúde / <i>Área:</i> Medicina / <i>Subárea:</i> Saúde Materno-Infantil.
<i>Grande área:</i> Ciências da Saúde / <i>Área:</i> Saúde Coletiva / <i>Subárea:</i> Saúde Pública.
<i>Grande área:</i> Ciências da Saúde / <i>Área:</i> Nutrição.
<i>Sectores de atividade:</i> Nutrição e Alimentação; Cuidado À Saúde das Populações Humanas.
2006 - 2007	Pós-Doutorado .
University Of London.
Bolsista do(a): Erasmus Mundus-European Community, . .
1994 - 1996	Pós-Doutorado .
Universidade de São Paulo, USP, Brasil.
Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Brasil.
<i>Grande área:</i> Ciências da Saúde / <i>Área:</i> Nutrição / <i>Subárea:</i> Análise Nutricional de População / <i>Especialidade:</i> Antropometria.
<i>Grande área:</i> Ciências da Saúde / <i>Área:</i> Nutrição / <i>Subárea:</i> Desnutrição e Desenvolvimento Fisiológico.
<i>Grande área:</i> Ciências da Saúde / <i>Área:</i> Medicina / <i>Subárea:</i> Saúde Materno-Infantil.
1989 - 1993	Doutorado em Public Health .
University of London, UL, Inglaterra.
Título: <i>The influence of maternal nutritional factors on intrauterine growth retardation, Ano de Obtenção:</i> 1994.
Orientador: Prof. Andrew M Tomkins.
Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Brasil.
<i>Palavras-chave:</i> intrauterine growth retardation; Maternal Nutritional Status; MICRONUTRIENTES.
<i>Grande área:</i> Ciências da Saúde / <i>Área:</i> Medicina / <i>Subárea:</i> Saúde Materno-Infantil / <i>Especialidade:</i> Nutrição.
<i>Grande área:</i> Ciências da Saúde / <i>Área:</i> Nutrição / <i>Subárea:</i> Análise Nutricional de População / <i>Especialidade:</i> Micronutrientes.
<i>Grande área:</i> Ciências da Saúde / <i>Área:</i> Medicina / <i>Subárea:</i> Saúde Materno-Infantil.
<i>Sectores de atividade:</i> Saúde Humana; Nutrição e Alimentação.
1987 - 1988	Mestrado em Master in Community Medicine .
University of Leeds, LEEDS, Inglaterra.
Título: <i>Supplementary feeding programmes and nutritional status of the Brazilian children: A critical analysis based on the country reality, Ano de Obtenção:</i> 1988.
Orientador: Dr Peter Cox.
Bolsista do(a): University of Leeds, . .
<i>Palavras-chave:</i> Supplementary Feeding programs; Brazilian children; Critical analysis; nutritional status.