

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E ALIMENTOS



Dissertação

Análise do efeito da cerveja artesanal no perfil lipídico sérico e estresse oxidativo hepático em ratos Wistar

Aluno: Diego de Almeida Souza

Orientador: Paulo Cavalheiro Schenkel

Pelotas, 2021

Diego de Almeida Souza

Análise do efeito da cerveja artesanal no perfil lipídico sérico e estresse oxidativo hepático em ratos Wistar

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Nutrição e Alimentos.

Orientador: Paulo Cavalheiro Shenkel

Pelotas, 2021

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de
BibliotecasCatalogação na Publicação

S719a Souza, Diego de Almeida

Análise do efeito da cerveja artesanal no perfil lipídico sérico e estresse oxidativo hepático em ratos Wistar / Diego de Almeida Souza ; Paulo Cavalheiro Schenkel, orientador. – Pelotas, 2021.

39 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, 2021.

1. Antioxidantes. 2. Lipídios. 3. Cerveja. I. Schenkel, Paulo Cavalheiro, orient. II. Título.

CDD : 641.1

Elaborada por Maria Inez Figueiredo Figs Machado CRB:
10/1612

Diego de Almeida Souza

Análise do efeito da cerveja artesanal no perfil lipídico sérico e estresse oxidativo hepático em ratos Wistar

Dissertação aprovada, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Nutrição e Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 22/07/2021

Banca Examinadora:

Prof. Dr: Paulo Cavalheiro Shenkel (Orientador) Doutor em Ciências Biológicas: Fisiologia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profª Drª: Simone Pieniz Doutora em Microbiologia Agrícola e do Meio Ambiente pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr: Patrick Türk Doutor em Ciências Biológicas: Fisiologia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr: Augusto Schneider (Suplente) Doutor em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas

Agradecimentos

Agradeço a Deus pelas oportunidades concedidas.

À minha querida mãe, aonde quer que esteja, que sempre me mostrou o poder da educação na vida e me incentivou a buscar melhores condições por meio dos estudos, mesmo quando tudo parecia inviável. Ao meu pai por me apoiar e incentivar a seguir estudando.

Ao meu namorado Jhone, que permaneceu ao meu lado em todos os momentos nessa trajetória acadêmica, sejam bons ou ruins.

E um agradecimento especial a todos os professores que fizeram parte dessa etapa, principalmente meu orientador, o professor Paulo Schenkel, que compreendeu os momentos difíceis que passei e não desistiu de me ajudar.

A todos minha eterna gratidão.

RESUMO

SOUZA, Diego de Almeida. **Análise do efeito da cerveja artesanal no perfil lipídico sérico e estresse oxidativo hepático em ratos wistar.** Orientadora: Ludmila Correa Muniz. 2020. 96f. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS, 2020.

Sabe-se que a cerveja é uma das bebidas alcoólicas mais apreciadas e consumidas no mundo. Fazem parte de sua composição água potável, malte de cevada, lúpulo e leveduras. Após a junção de todos os ingredientes, obtém-se um produto final alcoólico oriundo do processo de fermentação, que após outros processos, resultam na cerveja propriamente dita. Devido as quantidades significativas de vitaminas do complexo B, folatos e, principalmente, compostos fenólicos, estudos evidenciam que assim como o vinho, a cerveja possui capacidade antioxidante se for consumida com moderação. Os compostos antioxidantes presentes na cerveja atuam contra o estresse oxidativo, desequilíbrio entre a produção das espécies reativas de oxigênio (ERO) e sua remoção por meio de sistemas enzimáticos ou não enzimáticos. As ERO são moléculas capazes de danificar a estrutura celular, podendo estar associados a patogênese de certas doenças indesejadas, como por exemplo câncer e doenças cardiovasculares. Além da ação antioxidante, a cerveja possui ação hipolipemiante, impedindo a oxidação do colesterol de baixa densidade (LDL), que é um fator de risco para a aterogênese e que está diretamente relacionada ao início da lesão e progressão de doenças ateroscleróticas. Por esse motivo, o presente estudo teve por objetivo analisar a relação entre o consumo de cerveja artesanal e o perfil lipídico de ratos Wistar. A cerveja artesanal do tipo American Indian Pale Ale foi administrada por gavagem durante 4 semanas. Após, foi determinado os níveis séricos e o estresse oxidativo hepático. Os parâmetros analisados não diferiram significativamente entre os grupos. Salientamos que a composição das cervejas e a forma como têm sido administradas varia muito entre os estudos, o que dificulta a comparação entre esses. Estudos mais amplos são necessários para se aprofundar os conhecimentos mecanísticos e comprovar os efeitos benéficos das cervejas sobre o metabolismo lipídico e o estresse oxidativo.

Palavras-chave: Lipídeos; oxidação; lipoproteínas; antioxidantes.

ABSTRACT

SOUZA, Diego de Almeida. **Analysis of the effect of craft beer on serum lipid profile and hepatic oxidative stress in wistar rats**. Advisor: Ludmila Correa Muniz. 2020. 96f. Dissertation (Masters in Nutrition and Food) – Postgraduate Program in Nutrition and Food, Federal University of Pelotas, Pelotas/RS, 2020

It is known that beer is one of the most appreciated and consumed alcoholic beverages in the world. Drinking water, barley malt, hops and yeast are part of its composition. After joining all the ingredients, an alcoholic end product is obtained from the fermentation process, which after other processes, result in the beer itself. Due to the significant amounts of B vitamins, folates and, mainly, phenolic compounds, studies show that, like wine, beer has antioxidant capacity if consumed in moderation. The antioxidant compounds present in beer act against oxidative stress, an imbalance between the production of reactive oxygen species (ROS) and their removal through enzymatic or non-enzymatic systems. ROS are molecules capable of damaging the cell structure and may be associated with the pathogenesis of certain unwanted diseases, such as cancer and cardiovascular diseases. In addition to its antioxidant action, beer has a lipid-lowering action, preventing the oxidation of low-density cholesterol (LDL), which is a risk factor for atherogenesis and directly related to the onset of injury and progression of atherosclerotic diseases. For this reason, this study aims to analyze the relationship between the consumption of craft beer and the lipid profile of Wistar rats. The American Indian Pale Ale craft beer will be administered by gavage for 4 weeks. Afterwards, serum levels and hepatic oxidative stress will be determined. It is expected that this project will show that this type of beer in the administered way can prevent LDL oxidation, being a positive factor in preventing serum lipid imbalance and hepatic oxidative stress.

Keywords: Lipids; oxidation; lipoproteins; antioxidants.

CONFLITO DE INTERESSES

O presente estudo não foi financiado por nenhuma empresa ou instituição que caracterizasse qualquer tipo de viés tendencioso. Sendo assim, este estudo não apresenta nenhum conflito de interesses.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Resultados do estresse oxidativo em tecido hepático.....	32
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Resultados dos níveis séricos de triglicédeos, colesterol total e HDL.....	31
Tabela 2- Resultados relativos a função renal (creatinina e ureia).....	31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ERO	Espécie Reativa de Oxigênio
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
VLDL	Lipoproteína de Muita Baixa Densidade
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
DCNT	Doença Crônica não Transmissível
CREAL	Centro de Reprodução e experimentação de Animais de Laboratório
ICBS	Instituto de Ciências Básicas de Saúde
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
SOD	Superóxido Dismutase
CAT	Catalase
GPx	Glutathione Peroxidase
TBARS	Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

SUMÁRIO

1. Introdução.....	14
2. Revisão Bibliográfica.....	17
2.1. Cerveja.....	17
2.2. Perfil lipídico sérico.....	19
2.3. Estresse oxidativo.....	21
3. Justificativa.....	23
4. Objetivos.....	25
5. Materiais e Métodos.....	26
6.1. Animais.....	26
6.2. Cálculo amostral.....	26
6.3. Procedimento experimental.....	27
6.3.1. Produção e administração da cerveja.....	27
6.3.2. Eutanásia e coleta de sangue e fígado.....	27
6.3.2.1. Preparo de sangue e homogeneizados.....	28
6.3.2.2. Parâmetros bioquímicos séricos.....	28
6.3.2.3. Dosagem de proteínas.....	28
6.3.2.4. Determinação dos níveis de H ₂ O ₂ e radicais livres totais.....	29
6.3.2.5. Avaliação do dano oxidativo por lipoperoxidação.....	29
6.3.2.6. Determinação da atividade das enzimas antioxidantes.....	29
6.3.2.6.1. Superóxidodismutase.....	29
6.3.2.6.2. Catalase.....	30

6.3.2.6.3. Glutathione Peroxidase.....	30
7. Resultados.....	31
8. Discussão.....	33
9. Conclusão.....	36
10. Referências bibliográficas.....	37

1. Introdução

A cerveja foi trazida para o Brasil juntamente com a família real portuguesa, e estima-se que a primeira cerveja brasileira foi fabricada em 1836. Esta bebida pode ser dividida em duas: de alta fermentação (Ale) e as de baixa fermentação (Lager). As cervejas de alta fermentação possuem geralmente cor clara, teor alcoólico entre 4% e 8% e, fermentação média de 2 a 5 dias. No entanto, ela também pode ser escura, dependendo da matéria prima que é utilizada na sua produção. Já as cervejas de baixa fermentação, tipo mais consumido, têm teor alcoólico entre 4% e 5%, sabor suave, cor clara e processo de fermentação que dura em média 5 dias (BRUNELLI et al, 2014).

A indústria da cerveja está em constante crescimento, chamando a atenção de consumidores e empresários que veem nesse nicho de mercado uma boa oportunidade para possíveis investimentos. Já a produção de cerveja artesanal, é realizada de forma a agregar maior qualidade quando comparadas as cervejas convencionais produzidas por grandes empresas do ramo cervejeiro e, portanto, são comercializadas com maior valor. Tal disparidade no valor da venda dificulta de certa forma sua concorrência com as cervejas convencionais. (GIORGI, 2015).

Nos dias atuais, a lei que trata sobre fiscalização, produção, inspeção, registro, classificação e padronização de bebidas é a Lei nº8918 de 1994, regulamentada pelo decreto nº 2.314. Essa lei estabelece o padrão que as empresas produtoras de cerveja devem seguir e também esclarece que parte do malte da produção cervejeira pode ser substituído por cereais maltados ou não. A identidade da cerveja também possui características bem estabelecidas. Sua cor, por exemplo, deve ser oriunda das substâncias presentes no malte da cevada, sendo permitido o uso de corante caramelo ou outros corantes naturais para corrigir ou intensificar a cor da cerveja, de acordo com o que está previsto na legislação específica para padronização do produto (LOPES; MORALES; MONTAGNOLLI, 2017).

O mostro deve ser fermentado com levedura cervejeira e a água potável pode ser tratada com substâncias químicas. A legislação também determina as

seguintes proibições; adicionar álcool, saponinas ou outras substâncias que adicionem espuma ao produto; substituir o lúpulo e seus derivados por outros componentes; adicionar água fora da utilização de aromatizantes, flavorizantes e corantes artificiais; efetuar a estabilização ou a conservação biológica por meio de processos químicos; utilizar edulcorantes artificiais e estabilizantes químicos não autorizados expressamente (LOPES; MORALES; MONTAGNOLLI, 2017).

Quanto ao valor nutricional, a cerveja possui micro e macro nutrientes essenciais para o metabolismo, como, por exemplo, aminoácidos, carboidratos e sais minerais. Dentre eles destacam-se o selênio, zinco, magnésio, fósforo e vitaminas do complexo B. Também é importante destacar a quantidade significativa de compostos fenólicos provenientes do malte e do lúpulo. Estes compostos caracterizam-se como estruturas químicas presentes em diversos alimentos de origem vegetal que podem exercer efeitos preventivos em distúrbios fisiológicos do corpo humano devido a sua ação antioxidante. Logo, pode ser considerada como fonte alternativa e moderada destes compostos químicos (SILVA; LEITE; PAULA, 2016).

Porém, se o consumo de cerveja em altas dosagens for crônico, pode propiciar maior risco de desenvolver doenças como cirrose hepática. Essa nada mais é do que um processo patológico de cicatrização do fígado que, consiste na substituição dos hepatócitos por tecido conjuntivo fibroso. Neste contexto a lesão causada pelo álcool faz com que o fígado perca sua capacidade metabólica. Além de cirrose outras doenças também estão relacionadas com o alcoolismo, como o infarto agudo do miocárdio, anorexia alcoólica, trombose e câncer (KFOURI et al, 2018)

Por outro lado se for consumida com moderação, a cerveja pode auxiliar na prevenção de cânceres e reduzir as chances do desenvolvimento de doenças cardíacas, uma vez que sua capacidade de estabilizar espécies reativas de oxigênio (ERO) impede a oxidação do DNA celular (ROSA; AFONSO, 2012). No mesmo sentido, há relatos que a ingestão do antioxidante xanthohumol, encontrado no lúpulo e consumido por meio da cerveja, reduz a inflamação, o

estresse oxidativo, melhorando o processo de cicatrização (CAMELO et al, 2014).

Feistauer (2016) mostrou previamente que alguns compostos presentes no lúpulo possuem efeitos bioativos importantes. De fato, o lúpulo, considerado uma erva com propriedades medicinais, tem sido usado como antibiótico e anti-inflamatório (ALMEIDA, 2017). Ademais, certos compostos presentes no lúpulo foram descritos como citotóxicos contra algumas linhagens de cânceres além de auxiliarem efeitos bactericidas, anti-inflamatórios, antioxidativos e antiangiogênicos, antimelanogênicos, antiosteoporótico e anticarcinogênicos (ALMEIDA, 2017).

Estudos já demonstraram que a cerveja pode influenciar positivamente o perfil lipídico do organismo, por meio de mecanismos que elevam os níveis de HDL circulante, assim como sua influência no estresse oxidativo hepático, combatendo os radicais livres liberados no processo de regeneração celular. Mas ainda é necessário que mais estudos sejam feitos e que estes possam trazer mais conhecimento sobre o assunto.

2. Revisão bibliográfica

2.1. Cerveja

O consumo de bebidas alcoólicas é uma prática que acompanha o ser humano desde a antiguidade. Dentre as bebidas alcoólicas mais populares destaca-se a cerveja, bebida obtida por meio de fermentação alcoólica do mostro cervejeiro oriundo do malte e água, por mecanismos de ação da levedura, com a adição do lúpulo (ROSA; AFONSO, 2012). A cerveja foi trazida para o Brasil juntamente com a família real portuguesa, e estima-se que a primeira cerveja brasileira foi fabricada em 1836. Atualmente o brasileiro consome em média 62,6 litros de cerveja ao ano (SILVA, 2016).

Esta bebida pode ser dividida em dois grupos, (Ale) que são as cervejas de alta fermentação ou (Lager) que são as de baixa fermentação. As cervejas de alta fermentação possuem no geral cor clara, porém podem ter cor escura, isso dependerá da matéria prima que será utilizada para sua produção, e seu teor alcoólico varia entre 4% e 8%, com fermentação de 2 a 5 dias, em média. Já as cervejas de baixa fermentação têm teor alcoólico entre 4% e 5%, sabor suave e cor clara, seu processo de fermentação dura em média 5 dias e é o tipo mais consumido e comum (BRUNELLI et al, 2014).

A indústria da cerveja está em constante crescimento, chamando a atenção de consumidores e também empresários, que veem nesse nicho de mercado uma boa oportunidade para possíveis investimentos na área. A produção de cerveja artesanal é realizada de forma a agregar maior qualidade quando comparadas as cervejas convencionais produzidas por grandes empresas do ramo cervejeiro. Portanto, as cervejas artesanais possuem valor mais elevado o que dificulta de certa forma sua concorrência com as cervejas convencionais. Sendo assim relacionar as cervejas artesanais com as convencionais pode ser um equívoco (GIORGI, 2015).

Nos dias atuais, a lei que trata sobre fiscalização, produção, inspeção, registro, classificação e padronização de bebidas é a Lei nº8918 de 1994, regulamentada pelo decreto nº 2.314. Essa lei estabelece o padrão que as empresas produtoras de cerveja devem seguir e também esclarece que parte do malte da produção cervejeira pode ser substituído por cereais maltados ou não. A identidade da cerveja também possui características bem estabelecidas. Sua cor, por exemplo, deve ser oriunda das substâncias presentes no malte da cevada, sendo permitido o uso de corante caramelo ou outros corantes naturais para corrigir ou intensificar a cor da cerveja, de acordo com o que está previsto na legislação específica para padronização do produto (LOPES; MORALES; MONTAGNOLLI, 2017).

O mostro deve ser fermentado com levedura cervejeira e a água potável pode ser tratada com substâncias químicas. A legislação também estabelece que é proibido adicionar álcool, saponinas ou outras substâncias que adicionem espuma ao produto, substituir o lúpulo e seus derivados por outros componentes, adição de água fora das fábricas ou plantas engarrafadoras habilitadas, utilização de aromatizantes, flavorizantes e corantes artificiais na elaboração da cerveja, efetuar a estabilização ou a conservação biológica por meio de processos químicos, utilizar edulcorantes artificiais e estabilizantes químicos não autorizados expressamente (LOPES; MORALES; MONTAGNOLLI, 2017).

Quanto ao valor nutricional, a cerveja possui diversos micro e macro nutrientes, essenciais para o metabolismo, como aminoácidos, carboidratos, sais minerais, dentre eles destaca-se o selênio, zinco, magnésio, fósforo e vitaminas do complexo B. Também é importante destacar a quantidade significativa de compostos fenólicos, provenientes do malte e do lúpulo. Estes compostos caracterizam-se como estruturas químicas presentes em diversos alimentos de origem vegetal que podem exercer efeitos preventivos em distúrbios fisiológicos do corpo humano, devido a sua ação antioxidante. Logo, pode ser considerada como fonte alternativa e moderada destes compostos químicos (SILVA; LEITE; PAULA, 2016).

Porém, se o consumo de cerveja for crônico e em doses altas, uma série de doenças podem surgir, como a cirrose hepática, que nada mais é do que um mecanismo fisiológico de cicatrização do fígado, e consiste na substituição do hepatócito por tecido conjuntivo fibroso. O organismo reage dessa forma devido a lesão causada pelo álcool, fazendo com que o fígado perca sua capacidade metabólica. Outras doenças tão graves quanto à cirrose podem acontecer, como o infarto agudo do miocárdio, anorexia alcoólica, trombose e câncer. Entretanto, se a cerveja for consumida com moderação, pode auxiliar na prevenção do câncer e reduzir as chances do desenvolvimento de doenças cardíacas, uma vez que, sua capacidade de estabilizar espécies reativas de oxigênio (ERO) impede a oxidação do DNA celular (ROSA; AFONSO, 2012).

2.2. Perfil lipídico sérico

Os principais lipídios encontrados no plasma humano são o colesterol, ésteres do colesterol, triglicerídeos, fosfolipídios e ácidos graxos não-esterificados. Esses são substâncias que não se dissolvem em água e são transportados na forma de lipoproteínas. Eles são divididos em cinco classes, de acordo com a sua densidade: quilomícrons, lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL), lipoproteínas de densidade intermediária (IDL) e lipoproteínas de alta densidade (HDL) (FORTI e DIAMENT, 2006).

A função principal das lipoproteínas plasmáticas é transportar os triglicerídeos e colesterol dos locais de origem, no intestino (origem exógena) e no fígado (origem endógena), para os locais de armazenamento e utilização. Os triglicerídeos e o colesterol entram no plasma na forma de partículas de lipoproteínas ricas em triglicerídeos (quilomícrons e VLDL) e sofrem mudanças intravasculares através da enzima lipase lipoprotéica, que hidrolisa os triglicerídeos e os diglicerídeos em ácidos graxos e monoglicerídeos (LIMA; COUTO, 2006).

Por esse motivo, é de extrema importância à ingestão de alimentos que tenham em sua composição química ácidos graxos de boa qualidade, de preferência, gorduras insaturadas. Este tipo de lipídeo, se consumido com moderação, traz benefícios para a saúde humana e são encontrados em alimentos de origem vegetal e animal. São de origem vegetal alimentos como, abacate, azeite de oliva, castanhas, nozes, amêndoas, linhaça dentre outros, e nos alimentos de origem animal podemos citar o peixe, principalmente atum, salmão e truta (LOTTENBERG, 2009).

Alterações no metabolismo dos lipídeos podem causar consequências graves ao organismo. Na maioria das vezes, essas alterações ocorrem de forma silenciosa, impossibilitando o indivíduo de perceber tal condição, como é o caso, por exemplo, da dislipidemia. A dislipidemia é caracterizada por um distúrbio nos níveis de lipídios no sangue. As alterações fisiopatológicas envolvidas na sua gênese promovem o acúmulo da Lipoproteína de Baixa Densidade (LDL-CL) e da Lipoproteína de Muito Baixa Densidade (VLDL-CL) nos compartimentos plasmáticos, resultando em hipercolesterolemia, que é precursor da aterosclerose. O diagnóstico precoce e a redução dos níveis séricos desses componentes, quando elevados, têm contribuído para sensível queda da incidência e da mortalidade por doença cardiovascular (XAVIER, 2013).

A gordura insaturada é considerada benéfica para a saúde, devido a seu potencial em elevar os níveis de HDL no sangue. O HDL é responsável por tirar o colesterol da circulação sanguínea, reduzindo as chances de acúmulo de ateromas dentro dos vasos e artérias, e assim evitando a obstrução do fluxo de sangue circulante. Sob esse ponto de vista, o consumo de lipídeos de boa qualidade ajuda a prevenir doenças crônicas, responsáveis por grande número de óbitos como a aterosclerose (ALFONSO; ARIZA, 2008).

A aterosclerose é uma doença crônica caracterizada pela inflamação das paredes das artérias de médio e grande calibre, e conseqüentemente, pode comprometer os vasos de pequeno calibre devido a sua obstrução, impedindo a passagem de sangue nestes pequenos vasos. Esta patologia acomete mais precisamente a túnica íntima, que é a camada mais interna que compõe estrutura

vascular dos vasos sanguíneos, e está constantemente em contato com o sangue (MARTELLI, 2014). Este processo inflamatório é resultado do acúmulo de lipoproteínas oxidadas na parede arterial. Baixos níveis de HDL favorecem tal situação, dificultando os mecanismos fisiológicos de reparação dessa situação. A aterosclerose tem etiologia multifatorial, porém, o equilíbrio no metabolismo lipídico pode ser um grande aliado na prevenção desta doença, e buscar alternativas que possam modular positivamente os níveis de HDL deve ser algo a ser pensado e estudado (SCHMIDT, 2015).

2.3. Estresse oxidativo

A geração de radicais livres constitui um processo contínuo e fisiológico, cumprindo funções biológicas relevantes. Durante os processos metabólicos, esses radicais atuam como mediadores para a transferência de elétrons nas várias reações bioquímicas. Sua produção, em proporções adequadas, possibilita a geração de ATP (energia), por meio da cadeia transportadora de elétrons; fertilização do óvulo; ativação de genes; e participação de mecanismos de defesa durante o processo de infecção. Porém, a produção excessiva pode conduzir a danos oxidativos (MARTELLI ; NUNES, 2017).

A produção contínua de radicais livres durante os processos metabólicos culminou no desenvolvimento de mecanismos de defesa antioxidante. Estes têm o objetivo de limitar os níveis intracelulares de tais espécies reativas e controlar a ocorrência de danos decorrentes (VASCONCELLOS et al, 2014).

A instalação do processo de estresse oxidativo decorre da existência de um desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes, em favor da geração excessiva de radicais livres ou em detrimento da velocidade de remoção desses. Tal processo conduz à oxidação de biomoléculas com consequente perda de suas funções biológicas e/ou desequilíbrio homeostático, cuja manifestação é o dano oxidativo potencial contra células e tecidos. O sistema de defesa antioxidante tem a função de inibir e/ou reduzir os danos causados pela

ação deletéria dos radicais livres ou das espécies reativas não-radicaais (MARTELLI ; NUNES, 2017).

Por meio da alimentação é possível obter a quantidade de antioxidantes essenciais, pois os micronutrientes presentes nos alimentos agem de forma benéfica no organismo. Proporcionando um equilíbrio entre os agentes oxidantes e antioxidantes. Os micronutrientes adquiridos através da alimentação irão agir não somente na manutenção do bem estar, mas também na bioquímica do corpo, auxiliando os processos metabólicos e contribuindo, por exemplo, com o mecanismo que equilibra os agentes anti e pró oxidantes.

Tais ações podem ser alcançadas por meio de diferentes mecanismos de ação: impedindo a formação dos radicais livres ou espécies não-radicaais (sistemas de prevenção), impedindo a ação desses (sistemas varredores) ou, ainda, favorecendo o reparo e a reconstituição das estruturas biológicas lesadas (sistemas de reparo). Usualmente, esse sistema é dividido em enzimático e não-enzimático. No último caso, é constituído por grande variedade de substâncias antioxidantes, que podem ter origem endógena ou dietética. Os antioxidantes são definidos como qualquer substância que, presente em menores concentrações que as do substrato oxidável, seja capaz de atrasar ou inibir a oxidação deste de maneira eficaz. Tais substâncias podem agir diretamente, neutralizando a ação dos radicais livres e espécies não-radicaais, ou indiretamente, participando dos sistemas enzimáticos com tal capacidade (LEAO et al, 2017).

Por meio da nutrição o organismo é capaz de fortalecer os mecanismos de defesa, pois os micronutrientes realizam a reparação necessária através de processos bioquímicos. A alimentação é um fator determinante na prevenção e promoção de saúde, sendo um pré-requisito básico para uma vida mais saudável. É com o auxílio da alimentação que o organismo irá combater as enfermidades que podem acomete-lo, utilizando os nutrientes como base na manutenção da sua defesa. Ou seja, o organismo precisa de uma alimentação de qualidade, para que o nutriente oferecido possa ser aproveitado e contribua para a qualidade de vida do indivíduo.

3. Justificativa

Nas últimas décadas foi possível observar uma modificação no perfil epidemiológico das principais enfermidades que acometiam a população brasileira. As doenças infecciosas como tuberculose, AIDS, poliomielite, tétano, caxumba, dentre outras, tiveram a devida atenção devido a sua gravidade, e por meio da ciência juntamente com as políticas públicas de prevenção foi possível diminuir os números alarmantes dessas patologias. Em contrapartida, outra gama de doenças mostrou ascensão nessas últimas décadas, e essas doenças estariam relacionadas diretamente com o estilo de vida da população (DUNCAN et al, 2012).

Devido a este cenário, hoje em dia, um assunto que está sendo muito discutido e divulgado pelas principais entidades de saúde e pela mídia, são as doenças crônicas não transmissíveis (DCNT). Estas doenças acometem diversos sistemas do corpo humano, prejudicando seu funcionamento, e podem ser desencadeadas por vários fatores. A ausência de exercícios físicos, hábitos alimentares inadequados, tabagismo, etilismo e até mesmo a genética são fatores que podem pré-dispor o indivíduo a desenvolver estas enfermidades (ROHDE, 2018).

Com o avanço da tecnologia, a sociedade sofreu transformações em muitos aspectos, como a forma de se locomover, produzir, comunicar, e, também, de se alimentar. A partir da metade do século XVIII, com os avanços que a revolução industrial proporcionou para os métodos de produção, a indústria alimentícia também acompanhou essa transição, tornando os meios para produzir alimentos, mecanizados, elevando o volume do que era produzido devido a mecanização do sistema produtivo (RAIMUNDO; BATALHA; TORKOMIAN, 2017). Após a segunda guerra mundial, em 1945, os produtos alimentícios passaram a ser uma realidade, tanto nos campos de treinamento militar, como no dia-a-dia da sociedade civil.

Devido a sua praticidade, esses produtos ganharam popularidade, e passaram a fazer parte do cardápio cotidiano das pessoas. Diversos estudos apontam que o consumo excessivo desses produtos alimentícios são uma das principais causas para o desenvolvimento das DCNT, pois tais produtos são enriquecidos principalmente com açúcar, sódio, gordura saturada e trans, que em excesso, podem acarretar doenças como dislipidemia, hipertensão, aterosclerose e diabetes (CANELLA et al, 2018).

Alguns autores apontam que além de atuar como um agente antioxidante, contribuindo contra o estresse oxidativo, a cerveja pode modular os níveis de lipoproteínas de alta densidade (HDL), e assim, contribuir positivamente para a manutenção no metabolismo dos lipídeos séricos. Neste sentido, o presente estudo pretende analisar a relação do consumo de cerveja artesanal com os lipídeos séricos e estresse oxidativo hepático.

4. Objetivos

Objetivo Geral

O objetivo geral deste estudo foi analisar a relação do consumo de cerveja artesanal com o perfil lipídico e estresse oxidativo de ratos Wistar.

Objetivos Específicos

I- Analisar a relação do consumo de cerveja artesanal com os níveis de lipoproteínas de alta densidade (HDL), triglicerídeos e colesterol total.

II- Analisar a relação do consumo de cerveja artesanal com estresse oxidativo hepático.

5. Hipóteses

Hipótese nula (H^0)

O consumo moderado e regular de cerveja não apresenta efeito hipolipemiante.

Hipótese alternativa (H^1)

O consumo moderado e regular de cerveja apresenta efeito hipolipemiante, elevando os níveis da lipoproteína de alta densidade (HDL).

6. Materiais e métodos

6.1. Animais

Foram utilizados ratos machos Wistar, com peso de aproximadamente 200 gramas, 50 dias de idade provenientes do Centro de Reprodução e Experimentação de Animais de Laboratório (CREAL) e mantidos no Biotério Setorial do Departamento de Ciências Morfológicas do Instituto de Ciências Básicas da Saúde (ICBS) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Todos os animais foram mantidos em caixas plásticas, com 17,8 cm de altura e 1100 cm² de área total, gerando uma área aproximada de 220 cm² por animal (no máximo, quatro animais por caixa). Todos os animais foram mantidos sob condição padrão de biotério: ambiente com temperatura controlada(21°C), ciclo claro-escuro de 12 horas e umidade relativa do ar de 70%. Água e ração comercial foram oferecidas *ad libitum*.

6.2. Cálculo Amostral

O programa estatístico G*Power3.1.17 (Schleswig-Holstein, Alemanha) foi utilizado para o cálculo do tamanho amostral. O calculado foi de 12 amostras no total considerando 2 grupos, um teste estatístico de ANOVA Fatorial, um tamanho de efeito de 1,0, uma probabilidade de erro β de 5%, uma probabilidade de erro α de 5% (El-Mas et al., 2011). No entanto, a taxa de mortalidade para a técnica cirúrgica proposta neste projeto, observada em experimentos prévios do nosso grupo, é de aproximadamente 25%. Portanto, foi recomendado acrescentar 3 animais ao n total calculado, totalizando 30 animais (15 por grupo).

6.3. Procedimento Experimental

6.3.1. Produção e administração da cerveja

Foi utilizado, uma cerveja artesanal estilo American Indian Pale Ale, contendo 6,0% de etanol e foi produzida por uma cervejaria artesanal local de Porto Alegre (POA), usando o mesmo lote para as análises. Estas cervejas são produzidas usando lúpulo. Extratos de lúpulo serão feitos com água e lúpulo. Não há dados que indiquem a quantidade de lúpulo utilizada em cervejas artesanais e, por esse motivo, apenas o extrato baseado na cerveja experimental foi analisada. Com intuito de avaliar a resposta terapêutica da cerveja via oral, 30 animais foram separados em grupo Controle (N = 15) e grupo cerveja (N = 15) para receber solução veículo (água) ou cerveja na quantidade de 4mL/kg/dia via oral (gavagem) no volume final de 1mL para um rato de 250g (respeitando o volume máximo de 10mL/kg segundo Resolução Normativa nº33 do CONCEA). A administração foi diária durante 4 semanas. Grau de severidade moderado.

6.3.2. Eutanásia e coleta de sangue e fígado

Passada as quatro semanas da administração da cerveja, os animais foram eutanasiados por decapitação. Para isso os animais foram anestesiados com quetamina (90 mg/Kg, i.p) e xilazina (10 mg/Kg, i.p). Feito isso o sangue troncular foi coletado para determinação de colesterol total, triglicerídeos, HDL e LDL. Também foi coletado o fígado para as análises de estresse oxidativo.

6.3.2.1. Preparo do sangue e homogeneizados

As amostras foram pesadas e homogeneizadas por 30 segundos em Ultra Stirrer (modelo Ultra80) na presença de tampão KCl 1,15% (5mL/g tecido) e de fluoreto de fenil metilsulfonil (PMSF), um inibidor de proteases, na concentração de 100mmol/L em isopropanol (10µL para cada mL de KCl adicionado a amostra). Na sequência, os homogeneizados foram centrifugados por 10 minutos a 1000xg em centrífuga refrigerada a 4°C (Sorvall RC5B–Rotor SM24). O sobrenadante foi coletado e congelado em biofreezer à -80°C para posterior determinação dos parâmetros de estresse oxidativo (Llesuyetal, 1998).

6.3.2.2. Parâmetros Bioquímicos Séricos

O sangue troncular coletado, foi centrifugado sob refrigeração (1000xg, 5min., 5°C) e congelado em biofreezer a -80°C para posterior determinação dos parâmetros bioquímicos. As concentrações de colesterol total, triglicerídeos, HDL e LDL foram determinadas utilizando-se kits comerciais (LABTEST, São Paulo, SP), específicos para cada ensaio.

6.3.2.3. Dosagem de proteínas

As proteínas foram quantificadas pelo método descrito por Lowry e colaboradores (1951), que utiliza como padrão uma solução de albumina bovina na concentração de 1mg/mL. A medida foi efetuada em espectrofotômetro a 625nm e os resultados expressos em mg/mL.

6.3.2.4. Determinação dos níveis de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e radicais livres totais

Este ensaio baseia-se na oxidação do vermelho de fenol pelo peróxido de hidrogênio presente na amostra, catalisado pela peroxidase do rabanete, que será lido em espectrofotômetro a 610 nm (Pick, Keisari 1980). Já as concentrações de radicais livres no tecido hepático foram detectados pelo protocolo de Lebel (1992) que utiliza o reagente 2'-7'-diclorofluoresceindiacetate (DCFH-DA) por espectrofotômetro de fluorescência (PerkinElmer).

6.3.2.5. Avaliação de dano oxidativo por lipoperoxidação

A lipoperoxidação foi avaliada pela técnica da quimiluminescência (QL). Foi adicionado ao homogeneizado um hidroperóxido orgânico de origem sintética, para avaliação da capacidade de resposta produzida pela amostra. A realização deste tipo de teste consiste no fato de que os hidroperóxidos são espécies químicas bastante instáveis, reagindo com lipídios por um mecanismo radicalar que gera produtos que emitem luz pela amostra em estudo. A QL foi medida em um contador beta (LKB Rack Beta LiquidScintillation Spectrometer-1215; LKB Produkter AB, Brommma, Sweden) como circuito de coincidência desconectado e utilizando o canal de trítio (Gonzalezetal, 1991).

6.3.2.6. Determinação da atividade das enzimas antioxidantes

6.3.2.6.1. Superóxido dismutase (SOD)

Este ensaio baseia-se na capacidade de inibição da auto-oxidação do pirogolol pela SOD presente na amostra. Basicamente, foi utilizada uma solução

tampão (Tris-base na concentração de 50mM; EDTA a 1mM, e HCl para atingir o pH 8,2), pirogalol 24mM (em ácido clorídrico a 10mM) e catalase a 30 μ M. Para que os valores de inibição, dados em porcentagem, sejam transformados em unidade de SOD, foi utilizado um fator de calibração. O resultado foi expresso em unidade de SOD por mg de proteína (Marklund 1985).

6.3.2.6.2. Catalase

De acordo com a técnica de Aebi (1984), ao homogeneizado adiciona-se peróxido de hidrogênio e lê-se imediatamente em espectrofotômetro a 240nm. A atividade da enzima CAT é diretamente proporcional a taxa de decomposição do peróxido de hidrogênio, obedecendo a uma cinética de pseudo-primeira ordem. Os resultados foram expressos em UCAT por mg de proteína.

6.3.2.6.3. Glutathionaperoxidase (GPx)

A enzima GPx catalisa a reação de hidroperóxidos com a GSH. A atividade da GPx foi determinada medindo-se o consumo de NADPH na reação de redução da GSSG à GSH. Foi observada a diminuição de absorvância do NADPH a 340nm. Os resultados foram expressos em n moles por minuto por mg de proteína (Flohe, Gunzler 1984).

7. Resultados

A tabela 1 apresenta os resultados dos níveis séricos de triglicerídeos, colesterol total e HDL. Não foram encontradas diferenças significativas nesses parâmetros entre os grupos experimentais.

Tabela 1. Influência da cerveja sobre os lipídeos séricos

Parâmetros/Grupos	Controle	Cerveja	P
Triglicerídeos (mg/dL)	146,3 ± 26,3	150,9 ± 24,7	0.9001
Colesterol Total (mg/dL)	57,1 ± 2,8	55,0 ± 3,2	0.6291
HDL (mg/dL)	33,7 ± 1,4	32,2 ± 1,4	0.4724

Dados expressos como média ± DPM (n=8/grupo). HDL: lipoproteína de alta densidade

Na tabela 2 estão expostos os resultados relativos a função renal (creatinina e ureia), que não apresentaram diferenças significativas entre os grupos.

Tabela 2. Influência da cerveja sobre os níveis séricos de creatinina e ureia.

Parâmetros/Grupos	Controle	Cerveja	P
Creatinina (mg/dL)	0,86 ± 2,2	0,71 ± 0,1	0.5494
Ureia (mg/dL)	44,7±2,2	44,3±2,7	0.9123

Dados expressos como média ±DPM (n=8/grupo)

Os resultados do estresse oxidativo em tecido hepático estão mostrados na Figura 1. Os níveis de TBARS e das enzimas antioxidantes SOD, CAT e GPx não foi significativamente diferente entre os grupos.

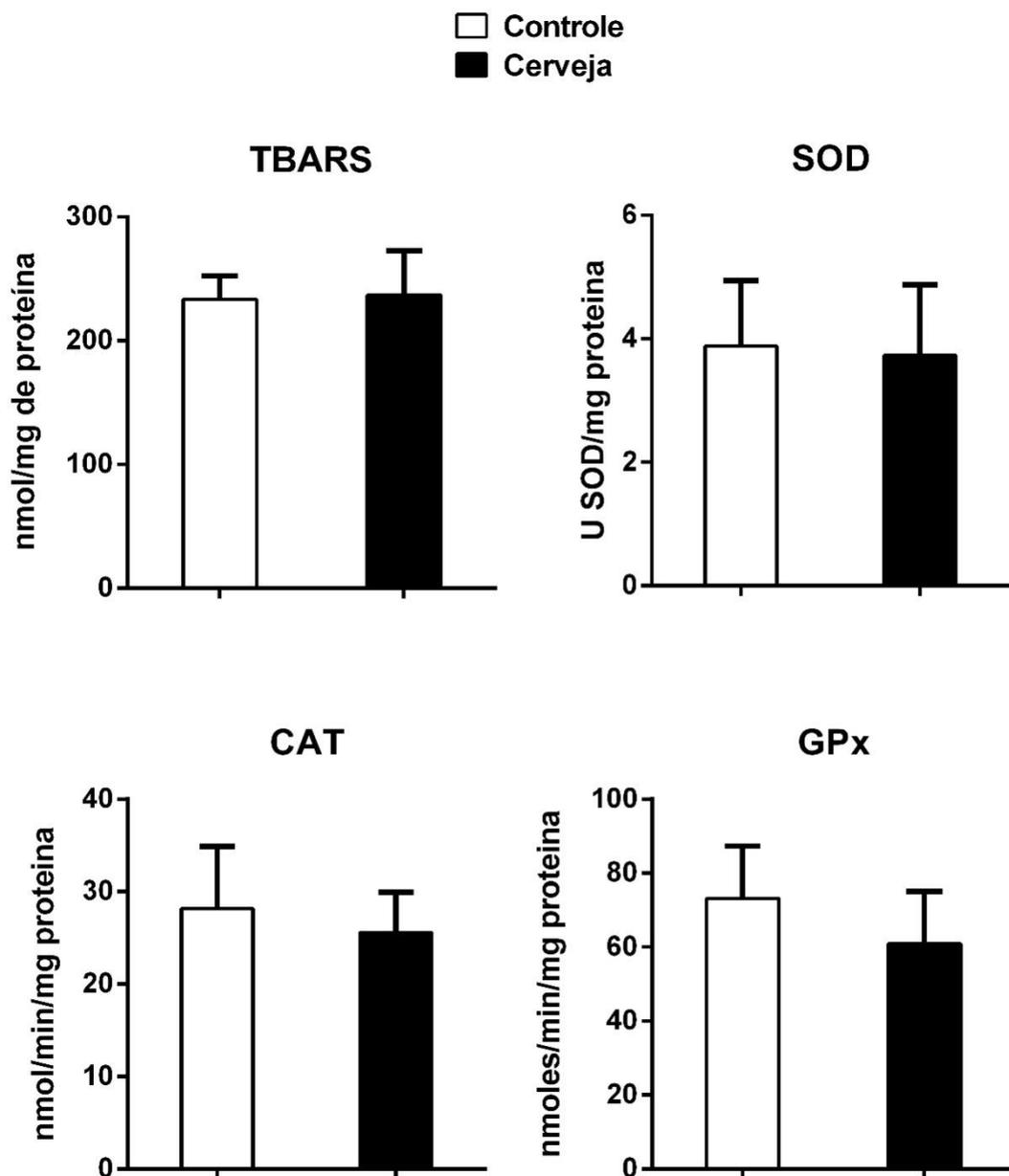


Figura 1. Estresse oxidativo em amostra de tecido hepático. Dados expressos como média \pm DPM (n=8/grupo). Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), enzima antioxidante superóxido dismutase (SOD), enzima antioxidante catalase (CAT) e enzima antioxidante glutathionperoxidase (GPx).

8. Discussão

O principal achado do nosso trabalho foi mostrar que o consumo moderado de cerveja não alterou os níveis de lipídios séricos, da função renal e do estresse oxidativo hepático. Optamos por utilizar ratos Wistar por serem os mamíferos mais estudados em trabalhos de experimentação laboratorial, terem baixo custo, tanto de aquisição como de manutenção, e apresentarem elevada resistência à infecção e ao trauma cirúrgico.

Em relação aos lipídeos séricos estudados (triglicerídeos, colesterol total e HDL), não observamos diferença significativa sobre os grupos experimentais. Nossos resultados corroboram com estudos prévios que relacionaram o consumo de cerveja a não piora ou melhora no perfil lipídico (NAUD et al, 2020). Uma vez que os lipídeos estão relacionados com muitas enfermidades, principalmente às cardiovasculares, tem sido proposto que o consumo moderado e regular de cerveja pode ser um adjuvante na prevenção/tratamento de diversas doenças por regular os lipídeos séricos.

Outros estudos analisaram os possíveis efeitos protetores do consumo moderado de cerveja, sem levar em consideração os fatores relacionados com os hábitos de consumo de álcool (PADRO et al, 2012). Esses concluíram que o efeito protetor da cerveja é similar ao do vinho por aumentar os níveis de HDL, reduzir os níveis de LDL e diminuir a formação de trombos.

Em relação a função renal, no presente estudo os valores de creatinina e ureia séricos não diferiram significativamente entre os grupos. Embora não sejam padrão ouro de análise, esses são parâmetros muito utilizados para análise da função renal pela capacidade dos rins em depurá-los. Portanto, podemos sugerir que no presente estudo o consumo de cerveja não promoveu prejuízo a função renal. Estudos anteriores analisaram a ingestão de vinho em 5.852 participantes (COSTA e CASTILHO, 2010). Eles concluíram que a prevalência de doença renal crônica (DRC) foi menor nos participantes que consumiam menos de um copo de vinho por dia em comparação ao grupo

controle. Ademais, foi mostrado que, entre 1.031 participantes que já tinham DRC, aqueles que consumiram menos de 1 copo de vinho por dia, tiveram menor risco de doença cardiovascular em comparação aos não consumiam (MEZARI, 2013).

Além da influência sobre a função renal, é bem aceito que o consumo de vinho é benéfico para prevenção de diversas doenças por evitar o estresse oxidativo. De fato, o estresse oxidativo tem sido relacionado com o desenvolvimento de muitas injurias como: aterosclerose, diabetes, doenças neurodegenerativas, câncer, etc. Neste contexto, podemos comparar o consumo de cerveja ao de vinho devido as substâncias antioxidantes presentes em ambas as bebidas. Dentre outros compostos identificados, assim como nos vinhos, as cervejas apresentam compostos fenólicos. Ela contém aproximadamente 366-875 mg de polifenóis/L e mais de 50 compostos fenólicos. Desses, cerca de 70% a 80% são originários do malte, enquanto 20% a 30% se originam do lúpulo (NETO et al, 2017).

Os compostos fenólicos são rapidamente absorvidos e constituem a principal classe de antioxidantes naturais presentes nos alimentos de origem vegetal. Eles funcionam como agentes redutores, sequestrando os radicais livres, e, assim, melhoram a capacidade antioxidante do organismo e conferem resistência contra o envelhecimento celular. Tal associação tem sido comprovada em estudos epidemiológicos que sugerem que o consumo de alimentos ricos em compostos fenólicos e a prevenção de muitas doenças associadas ao estresse oxidativo (CAMELO et al, 2014). Somado a isso, os polifenóis encontrados na cerveja possuem atividades anticarcinogênica e anti-inflamatória (CAMELO et al, 2014).

Por outro lado, é sabido que o metabolismo do etanol pode produzir radicais livres e, assim, favorecer o estresse oxidativo (DAVIES et al., 2002). No entanto, esse estímulo pode desencadear uma resposta hormética, em que o organismo aumenta as proteções antioxidantes endógenas visando estabilizar os radicais livres e, conseqüentemente, o estresse oxidativo. No presente estudo não observamos variações significativas na lipoperoxidação e na atividade das

principais enzimas antioxidantes SOD, CAT e GPx no tecido hepático após o tratamento com cerveja por 4 semanas, porém, se a administração da cerveja fosse prolongada, os resultados poderiam ser diferentes. Assim como os níveis de pró-oxidantes e antioxidantes, tem sido mostrado que a maioria das funções hepáticas necessárias à homeostase orgânica, incluindo síntese de albumina e bile, fatores de coagulação, manutenção da glicemia e atividade do ciclo da ureia, permanecem preservadas com o consumo moderado de cerveja (RUIDAVETS et al, 2002) Também é importante salientar que a exposição continuada por 4 semanas pode ter promovido adaptação do sistema redox que se mostrou estabilizado no momento da coleta das amostras. Talvez um estudo para avaliação temporal seja importante visando mapear as variações ao longo do período. Amparados por esses achados prévios, os polifenóis parecem exercer papel chave nos efeitos benéficos à saúde promovidos pela cerveja (CONSTANZO et al., 2011).

Por fim, estudos recentes destacam os efeitos protetores do consumo moderado de álcool sobre a função do sistema circulatório (MEZARI, 2013). Outrossim, ele também diminui o risco de eventos cardiovasculares, incluindo doença cardíaca coronariana, acidente vascular cerebral isquêmico, arteriopatia periférica e insuficiência cardíaca congestiva. Efeitos benéficos do consumo moderado de álcool também foram relatados para o envelhecimento celular, função cognitiva e demência (GHISELLI et al., 2000).

9. Conclusão

De acordo com os parâmetros bioquímicos utilizados, por meio das análises foi possível concluir que os resultados encontrados na presente pesquisa não diferiram significativamente entre os grupos, indicando que, para essas medidas e tempo de administração, o consumo de cerveja não foi prejudicial.

Salientamos que a composição das cervejas e a forma como têm sido administradas varia muito entre os estudos, o que dificulta a comparação entre esses. Estudos mais amplos são necessários para se aprofundar os conhecimentos mecanísticos e comprovar os efeitos benéficos das cervejas sobre o metabolismo lipídico e o estresse oxidativo. O presente estudo pode servir de base para futuras pesquisas relacionadas ao tema.

10. Referências bibliográficas

ALFONSO, Jhon Edwin Feliciano; ARIZA, Iván Darío Sierra. Elevando el colesterol HDL: ¿cuál es la mejor estrategia?. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 54, n. 4, p. 369-376, 2008.

BASTOS, Valéria Delgado. Etanol, álcool química e biorrefinarias. **Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social**, Brasília, v. 1, n. 1, p. 5-38, 2007.

BLANCH, G. Chiva et al. Effects of alcohol and polyphenols from beer on atherosclerotic biomarkers in high cardiovascular risk men: a randomized feeding trial. **Elsevier**, Barcelona, v. 25, n. 1, p. 36-45, 2015.

BRUNELLI, Luciana Trevisan; MANSANO, Alexandre Rodrigues; VENTURINI FILHO, Waldemar Gastoni. Caracterização físico-química de cervejas elaboradas com mel. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 17, n. 1, p. 19-27, 2014.

BUEGE, John A.; AUST, Steven D. [30] Microsomal lipid peroxidation. In: **Methods in enzymology**. Academic Press, 1978. p. 302-310.

CAMPOS; Wagner de et al. Atividade Física, Consumo de Lipídios e Fatores de Risco para Aterosclerose em Adolescentes. **Sociedade Brasileira de Cardiologia**, Curitiba, 2009.

CANELLA, Daniela Silva et al. Consumo de hortaliças e sua relação com os alimentos ultraprocessados no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 1, n. 1, p. 50-52, 2018.

DA GAMA, Laureline Casagrande; DE BIASI, Luciana Spinato; RUAS, Abrahão. Prevalência de fatores de risco para as doenças cardiovasculares em pacientes da rede sus da ubS progresso da cidade de Erechim. **Revista Perspectiva**, Erechim, v. 36, n. 133, p. 63-72, 2012.

DUNCAN, Bruce Bartholow et al. Doenças Crônicas Não Transmissíveis no Brasil: prioridade para enfrentamento e investigação. **Revista de Saúde Pública**, Porto Alegre, v.46, n. 1, p. 126-134, 2012.

ERNANDES, Fernanda Maria PaganeGuereschi; BOSCOLO, Maurício; CRUZ, Crispin Humberto Garcia. Influência da composição do meio para a produção de etanol por *Zymomonas mobilis*. **Acta Scientiarum. Technology**, Maringá, v. 32, n. 1, p. 21-26, 2010.

FEISTAUER, Lucas BrambillaHilbig. **Propriedades antioxidantes da cerveja artesanal**. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2016.

FORTI, Neusa; DIAMENT, Jayme. Lipoproteínas de alta densidade: aspectos metabólicos, clínicos, epidemiológicos e de intervenção terapêutica. Atualização para os clínicos. **Sociedade Brasileira de Cardiologia**, São Paulo, v. 87, n. 1, p. 672-679, 2006.

GIORGI, Victor de Vargas. Cultos em cerveja: discursos sobre a cerveja artesanal no Brasil. **Sociedade e Cultura**, Goiânia, v. 18, n.1, p. 101-111, 2015.

GOTTLIEB, Maria G.V; BONARDI, Gislaine; MORIGUCHI, Emílio H. Fisiopatologia e aspectos inflamatórios de aterosclerose. **Scientia Médica**, Porto Alegre, v. 15, n. 3, p. 203-207, 2005.

KAC, Gilberto; MELÉNDEZ, Gustavo Velásquez. A transição nutricional e a epidemiologia da obesidade na América Latina. **Caderno de Saúde Pública**, v. 19, n. 1, p. 54-55, 2003.

LIMA, Emerson Silva; COUTO, Ricardo David. Estrutura, metabolismo e funções fisiológicas da proteína de alta densidade. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 42, n. 3, p. 169-178, 2006.

LOPES, Paulo Renato Matos; MORALES, Eduardo Marin; MONTAGNOLLI, Franco Montoro Renato Nallin. Cerveja brasileira: do campo ao copo. **Agronomia Brasileira**, v.1, n.1, p. 2-4, 2017.

MARTELLI, Andreson. Aspectos fisiopatológicos da aterosclerose e a atividade física regular como método não farmacológico no seu controle. **Revista Saúde e Desenvolvimento Humano**, Canoas, v.2, n.1, p, 41-52, 2014.

MASIERO, Gilmar; LOPES, Heloisa. Etanol e biodiesel como recursos energéticos alternativos: perspectivas da América Latina e da Ásia. **Revista Brasileira de Política Internacional**, Brasília, v. 51, n. 2, p. 60-79, 2008.

MEGA, Jéssica Francieli; NEVES, Etney; ANDRADE, Cristiano José de. A produção de cerveja no Brasil. **Ciência Inovação Tecnologia e Oportunidade**, Barra do Bugres, v.1, n.1, p. 34-42, 2011.

MONTEIRO, Carlos Augusto et al. The un decade of nutrition, the nova food classification and the trouble with ultra-processing. **Public Health Nutrition**, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 5-17, 2017.

PADRO, Teresa et al. Moderate beer intake and cardiovascular health in overweight individuals. **Nutrients**, Barcelona, v. 10, n. 9, p. 1-20, 2018.

PITITTO, Bianca de Almeida; MORAES, Ana Carolina Franco de, FERREIRA, Sandra Roberta G. O lado saudável do consumo de bebida alcoólica. **Revista USP**, São Paulo, v.1, n. 96, p. 55-68, 2013.

RAIMUNDO, Livia Maria Borges; BATALHA, Mário Otávio; TORKOMIAN, Ana Lúcia Vitale. Dinâmica tecnológica da Indústria Brasileira de Alimentos e Bebidas (2000-2011). **Gestão e Produção**, São Carlos, v.24, n. 2, p. 423-436, 2017.

ROHDE, Luis Eduardo Paim et al. Diretriz brasileira de insuficiência cardíaca crônica e aguda. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 111, n. 3, p. 436-539, 2018.

ROSA, Natasha Aguiar; AFONSO, Júlio Carlos. A química da cerveja. **Química e Sociedade**, São Paulo, v.37, n. 2, p. 98-105, 2015.

SILVA, Hiury Araújo; LEITE, Maria Alvim; PAULA, Arlete Rodrigues Vieira de. Cerveja e sociedade. **Contextos da Alimentação**, Campinas, v. 28, n. 4, p. 902-906, 2016.

SCHMIDT, Marcia Moura et al. Prevalência, etiologia e características dos pacientes com infarto agudo do miocárdio tipo 2. **Revista Brasileira de Cardiologia Invasiva**, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 119-123, 2015.

XAVIER, Hermes Toros et al. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 101, n. 4, p. 1- 20, 2013.