

ATIVIDADE DA PARAOXONASE-1 EM CRIANÇAS DE 5 A 7 ANOS: ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DE FATORES ASSOCIADOS E DO CONSUMO DE ALIMENTOS MARCADORES DE ALIMENTAÇÃO NÃO SAUDÁVEL

TAINÁ DA SILVA SIGALES¹; CAROLINE SILVA MACIEL²; GABRIELA DE LEMOS ULIANO³; DENISE MARQUES MOTA⁴; AUGUSTO SCHNEIDER⁵; SANDRA COSTA VALLE⁶

¹ Faculdade de Nutrição - Universidade Federal de Pelotas –tainasigales@hotmail.com

² Faculdade de Nutrição- Universidade Federal de Pelotas – karol-maciel@hotmail.com

³ PPG Nutrição e Alimentos - Universidade Federal de Pelotas – gabiuiliano@hotmail.com

⁴ Faculdade de Medicina - Universidade Federal de Pelotas - denisemmota@gmail.com

⁵ Faculdade de Nutrição - Universidade Federal de Pelotas – augustoschneider@gmail.com

⁶ Faculdade de Nutrição - Universidade Federal de Pelotas – sandracostavalle@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Uma alimentação inadequada tem sido associada a uma maior prevalência de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), com destaque para as doenças cardiovasculares (DCV) (POF 2008-2009). A lipoproteína de alta densidade (HDL), evita a formação das lesões endoteliais e as DCV, principalmente pela sua capacidade antioxidante e anti-inflamatória. Estas propriedades são conferidas principalmente pela presença da enzima paraoxonase 1 (PON1) nas partículas de HDL (PRECOURTE et al, 2011).

A PON1 é uma enzima cálcio dependente, expressa em humanos sobretudo no fígado, que pode ser detectada no plasma predominantemente ligada as Apo-proteínas A1 e J das partículas de HDL (MOYÁ et al, 2007). Esta enzima atua no metabolismo dos fosfolipídios das lipoproteínas, em especial na lipoproteína de baixa densidade (LDL), prevenindo o dano oxidativo a suas frações lipídicas e os efeitos pró-inflamatórios dos lipoperóxidos na camada íntima dos vasos sanguíneos. Contudo, a expressão, concentração, atividade e os sítios de ligação da PON1 sofrem importante influência de fatores genéticos e ambientais, dentre estes últimos destaca-se a dieta (KIM et al, 2013).

O tipo de gordura presente na alimentação habitual exerce influência significativa sobre a PON1 (LOU BONAFONTE et al, 2015). O consumo predominante de ácido graxo monoinsaturado oleico (18:1 ω 9) causa aumento da atividade e da concentração hepática da enzima. Embora os ácidos graxos saturados mostrem neutralidade sobre a atividade da PON1, sua predominância na alimentação habitual predispõe a um perfil inflamatório pouco favorável para síntese e atividade da enzima (BOSHTAM et al, 2013). Já os ácidos graxos poli-insaturados e transesterificados mostraram um considerável efeito inibidor sobre a ação enzimática. Estudos sobre a relação entre o consumo alimentar na infância e a atividade arilesterase da PON1 são escassos. O objetivo deste estudo foi descrever o comportamento da atividade da paraoxonase 1 sobre o consumo de alguns alimentos marcadores de alimentação não saudáveis em crianças de 5 e 7 anos de idade.

2. METODOLOGIA

Foi realizado um estudo transversal no Ambulatório de Pediatria da Universidade Federal de Pelotas/RS, no período de abril a junho de 2014. A amostra foi constituída por crianças de ambos os gêneros, com idades entre 5 e 7

anos incompletos que procuraram atendimento durante o período do estudo. Foram excluídas crianças que apresentaram doenças hepáticas, paralisia cerebral, displasia óssea ou neoplasias, portadoras de necessidades especiais e alterações genéticas. Inicialmente os responsáveis foram devidamente esclarecidos e após autorizarem a participação da criança foi assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Os dados foram obtidos por entrevista e dosagens bioquímicas. No momento da entrevista foram coletados os dados: gênero, idade, peso, estatura, frequência de consumo alimentar. A entrevista foi conduzida por alunos do Curso de Nutrição da Universidade Federal de Pelotas, previamente treinados. Os dados de peso e estatura foram utilizados para o cálculo do IMC (kg/m^2), e o diagnóstico nutricional baseou-se na classificação percentil do índice IMC-para-idade, tendo como referências as curvas da Organização Mundial da Saúde publicadas em 2007. O consumo de alimentos marcadores de alimentação não saudável, foi avaliado através do formulário de marcadores de consumo alimentar, adotado pelo Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional (SISVAN), proposto pelo Ministério da Saúde do Brasil.

Na entrevista foi entregue a solicitação para coleta de sangue. As dosagens bioquímicas de colesterol total (CT), HDL e LDL foram realizadas após jejum de 12h, em laboratório de análises bioquímicas com certificação de qualidade nos serviços. O soro coletado foi mantido a -20°C. A atividade arilesterase da PON1 foi medida a partir da velocidade de formação de fenol através do aumento da absorbância a 270nm, temperatura de 25°C, em espectrofotômetro. As amostras foram diluídas 1:3 em 20mM de Tampão Tris/HCl, pH 8,0, contendo 1mM de CaCl₂. À solução reagente constituída de tampão Tris/HCl, pH 8,0, contendo 1 mm de CaCl₂, foram adicionados 4mM de fenilacetato. A reação foi determinada após 20 segundos de retenção e a absorbância foi medida por 60 segundos. Uma unidade de atividade arilesterase da PON1 foi considerada igual a 1uM de fenol/minuto e expressa em kU/L, com base no coeficiente de extinção de fenol. Amostras em branco contendo água foram utilizadas para corrigir a hidrólise não enzimática. Os dados foram digitados na planilha eletrônica Excel® e transferidos para análise no software GraphPad 5,. Os resultados foram expressos como frequência absoluta, média ± desvio padrão. A normalidade dos dados foi testada com o teste *Shapiro-Wilk*. A comparação entre variáveis foi realizada com o teste *t de Student* ou ANOVA de uma via e associação foi testada por meio do teste de Qui-quadrado. O nível de significância adotado foi de 5%. O protocolo de pesquisa foi submetido e aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa da instituição sob número: (504.362/2013).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na amostra de 73 crianças, a média de atividade da PON1 foi de $91,5 \pm 27,1$. As crianças com excesso de peso e as com níveis de HDL $\geq 45 \text{ mg/dL}$ mostraram maior atividade da PON1, quando comparadas aquelas de peso adequado e menores níveis de HDL (Tabela 1, $p < 0,05$). Estudos com crianças obesas mostraram uma redução da atividade da PON1 nas amostras avaliadas, no entanto, incluíram uma ampla faixa etária (RUPÉREZ et al, 2013; KONCOS et al, 2011). Por outro lado, alguns trabalhos já observaram maiores níveis de atividade da PON1 em crianças com excesso de peso ou obesas com faixa etária similar a utilizada neste estudo (GARCÉS et al, 2007; ULIANO et al, 2016). É possível que a natureza complexa da obesidade seja um fator de confusão, implicado em resultados conflitantes sobre a relação entre a atividade da PON1 em crianças, naquelas em diferentes fases do desenvolvimento. Quanto ao HDL a

maioria dos estudos mostram que maiores níveis desta lipoproteína se relacionam a uma maior atividade da PON1 (AGIRIBASLI et al, 2014; RUPÉREZ et al, 2013).

Tabela 1. Análise da influência de fatores demográficos, antropométricos, bioquímicos e de consumo sobre a atividade da paraoxonase-1 de crianças entre 5 e 7 anos, atendidas em nível ambulatorial RS-Brasil, 2014

		N	PON-1 (kU/L)		Valor p
			Média	dp	
Todos		73	91.5	27.1	
Sexo	Feminino	37	93.6	29.9	0.516 ^t
	Masculino	36	89.4	24.2	
Idade (anos)	5	27	87.8	20.7	0.601 ^a
	6	28	95.3	29.3	
	7	18	91.4	32.5	
Cor da pele	Branca	65	92.3	28.1	0.499 ^t
	Não Branca	8	85.4	17.7	
Peso ao nascer (kg)	< 2,5	9	95.7	35.0	0.829 ^a
	2,5 - 3,5	46	92.3	26.5	
	> 3,5	15	88.7	27.2	
Fumo no domicílio	Sim	16	91.3	29.1	0.965 ^t
	Não	57	91.6	26.8	
Tempo frente a tela (h/dia)	≤ 2	34	90.0	23.9	0.571 ^t
	> 2	38	93.7	29.9	
Estado nutricional	Peso adequado	43	85.7	26.3	0.027 ^t
	Excesso de peso	30	99.9	26.6	
Colesterol-HDL (mg/dL)	< 45	27	82.7	27.9	0.033 ^t
	≥ 45	46	96.7	25.6	
Alimentos não saudáveis					
Macarrão instantâneo/salgadinhos	Consumiu	19	88.1	29.5	0.523 ^t
	NC	54	92.8	26.4	
Doces e guloseimas	Consumiu	26	87.8	28.4	0.386 ^t
	NC	47	93.6	26.5	
Bebidas adoçadas	Consumiu	47	90.9	28.4	0.798 ^t
	NC	26	92.7	25.2	

*NC: não consumiu. ^tTeste t de Student. ^aANOVA.

Tabela 2. Análise da associação entre a frequência do consumo de alimentos marcadores de alimentação não saudável e os níveis de atividade da PON1, entre 5 e 7 anos, atendidas em nível ambulatorial, RS-Brasil, 2014 (n 73).

Alimentos	Frequência de consumo na semana anterior	N	PON-1 (kU/L)		Valor p
			< 90	≥ 90	
Macarrão instantâneo/salgadinhos	NC	19	11	8	0.582
	Consumiu ≥ 3 vezes	43	20	23	
Doces e guloseimas	NC	26	14	12	0.318
	Consumiu ≥ 3 vezes	37	15	22	
Bebidas adoçadas	NC	47	22	25	0.570
	Consumiu ≥ 3 vezes	17	6	11	

*NC: não consumiu. Teste de Qui-quadrado

Ao avaliar o consumo *versus* o não consumo de alimentos não saudáveis observou-se valores discretamente mais elevados naquelas crianças que não os consumiam (Tabela 1, $p>0,05$). A partir desta observação testou-se a associação

entre as frequências de consumo destes alimentos e os níveis de atividade da PON1, com base em seus valores medianos. No entanto, verificou-se que as crianças que não consumiram ou as que consumiram três vezes ou mais alimentos marcadores de alimentação não saudável mostraram níveis de PON1 estatisticamente semelhantes (Tabela 2, $p>0,05$). Uma possível limitação deste estudo refere-se ao tamanho amostral.

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que crianças com excesso de peso e com níveis de HDL mais elevados mostraram maior atividade da PON1. A frequência de consumo de alimentos marcadores de alimentação não saudável não influenciou os níveis da PON1 nas crianças avaliadas. A ampliação do estudo permitirá uma melhor análise dos efeitos inicialmente observados neste estudo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGIRBASLI M, TANRIKULU A, ERKUS E, AZIZY M, SEVIM BA, KAYA Z, TASKIN A, AKSOY N, DEMIRBAG R. Serum paraoxonase-1 activity in children: the effects of obesity and insulin resistance. **Acta cardiologica**, v.69, n.6, p. 679-685, 2014
- BOSHTAM, M.; RAZAVI, A.; POURFAEZAM, M.; ANI, M.; NADERI, G.; BASATI, G.; MANSOURIAN, M.; DINANI N.; ASGARY, S.; ABDI, S. Serum Paraoxonase 1 Activity Is Associated with Fatty Acid Composition of High Density Lipoprotein. **Disease Markers**, V.35, n.4, p. 273–280, 2013.
- HUEN, K.; HARLEY, K.; BROOKS, J.; HUBBARD, A.; BRADMAN, A.; ESKENAZI, B., et al. Developmental Changes in PON1 Enzyme Activity in Young Children and Effects of PON1 Polymorphisms. **Environmental Health Perspectives**, v.117, n.10, 2009.
- KIM, D.; MADEN, S.; BURT, A.; RANCHALIS, J.; FURLONG, C.; JARVIK, G. Dietary fatty acid intake is associated with paraoxonase 1 activity in a cohortbased analysis of 1,548 subjects. **Lipids in Health and Disease**, v.12,n.12, p.183, 2013.
- KONCSOS, P.; SERES, I.; HARANGI, M.; ILLYÉS, I.; JÓZSA, L.; GÖNCZI, F., et al. Human paraoxonase-1 activity in childhood obesity and its relation to leptin and adiponectin levels. **Pediatric research**, v.67, n.3, p.309-13, 2010
- LOU-BONAFONTE JM, GABÁS-RIVERA C, NAVARRO MA, ET AL. PON1 and Mediterranean diet. **Nutrients**.v.7 n.40, p.68–92, 2015
- MOYÀ, E.; GIANOTTI, M.; PROENZA, A.; LLADÓ, I. Paraoxonase 1 Response to a High-Fat Diet: Gender Differences in the Factors Involved. **Molecular Medicine** v.13, n.3 – 4, p. 2 0 3 - 2 0 9, 2007.
- PRÉCOURT, L.P.; AMRE, D.; DENIS, M.C.; LAVOIE, J.C.; DELVIN, E.; SEIDMAN, E.; LEVYA, E. The three-gene paraoxonase family: Physiologic roles, actions and regulation. **Atherosclerosis**, v.214 p.20-36, 2011
- RUPÉREZ, A. I.; LÓPEZ-GUARNIDO, O.; GIL, F.; OLZA, J.; GIL-CAMPOS, M.; LEIS, R., et al. Paraoxosase 1 activities and genetic varation in childhood obesity. **British Journal of Nutrition**, p.1 -9, 2013.
- ULIANO, G. Association between paraoxonase 1 (PON1) enzyme activity, PON1 C(-107)T polymorphism, nutritional status, and lipid profile in children. **Nutrire** 41:20, 2016.