

ATIVIDADE DA PARAOXONASE-1 EM CRIANÇAS DE 5 A 7 ANOS: ANÁLISE DA INFLUENCIA 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 – gabiuliano@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 CaCl_2 . À solução reagente constituída de tampão Tris/HCl, pH 8,0, contendo 1 mm de CaCl_2 , 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 \pm 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 ≥ 45 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

| | | | PON-1 (kU/L) | | Valor p | |
|----------------------------------|-----------------|---|--------------|------|---------|--------------------|
| | | | Média | dp | | |
| Todos | | N | 73 | 91.5 | 27.1 | |
| Sexo | Femino | | 37 | 93.6 | 29.9 | 0.516 [†] |
| | Masculino | | 36 | 89.4 | 24.2 | |
| Idade (anos) | 5 | | 27 | 87.8 | 20.7 | 0.601 ^α |
| | 6 | | 28 | 95.3 | 29.3 | |
| | 7 | | 18 | 91.4 | 32.5 | |
| Cor da pele | Branca | | 65 | 92.3 | 28.1 | 0.499 [†] |
| | Não Branca | | 8 | 85.4 | 17.7 | |
| Peso ao nascer (kg) | < 2,5 | | 9 | 95.7 | 35.0 | 0.829 ^α |
| | 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 [†] |
| | Não | | 57 | 91.6 | 26.8 | |
| Tempo frente a tela (h/dia) | ≤ 2 | | 34 | 90.0 | 23.9 | 0.571 [†] |
| | > 2 | | 38 | 93.7 | 29.9 | |
| Estado nutricional | Peso adequado | | 43 | 85.7 | 26.3 | 0.027 [†] |
| | Excesso de peso | | 30 | 99.9 | 26.6 | |
| Colesterol-HDL (mg/dL) | < 45 | | 27 | 82.7 | 27.9 | 0.033 [†] |
| | ≥ 45 | | 46 | 96.7 | 25.6 | |
| Alimentos não saudáveis | | | | | | |
| Macarrão instantâneo/salgadinhos | Consumiu | | 19 | 88.1 | 29.5 | 0.523 [†] |
| | NC | | 54 | 92.8 | 26.4 | |
| Doces e guloseimas | Consumiu | | 26 | 87.8 | 28.4 | 0.386 [†] |
| | NC | | 47 | 93.6 | 26.5 | |
| Bebidas adoçadas | Consumiu | | 47 | 90.9 | 28.4 | 0.798 [†] |
| | NC | | 26 | 92.7 | 25.2 | |

*NC: não consumiu. [†]Teste t de Student. ^αANOVA.

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 cardiologic**, 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 cohort based 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. Paraonase 1 Response to a High-Fat Diet: Gender Differences in the Factors Involved. **Molecular Medicine** v.13, n.3 – 4, p. 203 - 209, 2007.

PRÉCOURT, L.P.; AMRE, D.; DENIS, M.C.; LAVOIE, J.C.; DELVIN, E.; SEIDMAN, E.; LEVY, 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. Paraonase 1 activities and genetic variation 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.