

PARAOXONASE 1 EM CRIANÇAS E O EFEITO DO CONSUMO DE ALIMENTOS RICOS EM GORDURA SOBRE A ATIVIDADE ENZIMÁTICA

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

A enzima Paraoxonase 1 (PON1) é uma esterase cálcio dependente, responsável em grande parte pelos efeitos cardioprotetores atribuídos a lipoproteína de alta densidade (HDL) (KIM et al., 2013). A capacidade antioxidante da enzima impede a oxidação lipídica, em especial dos fosfolípidios presentes na lipoproteína de baixa densidade (LDL), atenuando os efeitos pró-inflamatórios dos lipídeos oxidados. Devido a sua eficácia nesse processo são conferidas a PON1 propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (THOMÁS-MOYÀ et al., 2008). Contudo a atividade da enzima mostra-se modulada por fatores ambientais, hormonais, nutricionais e dietéticos.

Em relação aos fatores dietéticos, estudos mostram que o consumo de dietas ricas em gorduras inibe a atividade da PON1 (THOMÁS-MOYÀ et al., 2008). Contudo, os efeitos dependem do tipo de ácidos graxos predominantemente consumidos. Uma alimentação rica em ácidos graxos saturados está associada a um perfil inflamatório e menos favorável, porém sem alteração da PON1. Contudo, os ácidos graxos poli-insaturados diminuem a atividade da enzima. Já a substituição de gorduras saturadas da dieta por ácidos graxos *trans* diminui moderadamente a PON1 (DE ROOS et al., 2002). Por outro lado, os ácidos graxos monoinsaturados mostram efeito protetor a danos oxidativos e preservação da atividade enzimática da PON1 (BOSHTAM et al., 2013).

O efeito protetor das gorduras monoinsaturadas tem sido associado positivamente à atividade da PON1 em humanos e animais. Estudos *in vitro* sugerem que tanto gorduras saturadas quanto monoinsaturadas estão vinculadas a um sítio específico na enzima, evitando sua inativação por dano oxidativo. Um estudo de coorte confirmou os efeitos da ingestão de ácidos saturados e monoinsaturados sobre a atividade arilesterase da PON1. Neste caso, os pesquisadores verificaram associação positiva entre gorduras saturadas (ácido mirístico) e monoinsaturadas (ácido gadoleico) com a atividade da enzima. Constatou-se também que na presença de gorduras poli-insaturadas há uma tendência a redução da atividade enzimática (KIM et al., 2013).

A população pediátrica é altamente vulnerável ao consumo de alimentos ricos em gorduras e ácidos graxos poli-insaturados ômega-6. Estes nutrientes estão presentes em grande quantidade em biscoitos, salgadinhos e embutidos consumidos com elevada frequência por crianças. No entanto, ainda que vários estudos abordem a associação entre a atividade da PON1 e fatores dietéticos, estes dados são escassos em crianças. O objetivo do presente estudo foi investigar o efeito da

frequência do consumo de salgadinhos, embutidos e frituras sobre a atividade da PON1 em crianças entre 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 frituras, embutidos e salgadinhos industrializados 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 -20C° . A atividade arilesterase da PON1 foi medida a partir da velocidade de formação de fenol através do aumento da absorbância a 270nm, temperatura de 25C° , 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 BioEstat 5.3, *software* livre. Os resultados foram expressos como frequência absoluta e relativa, média \pm desvio padrão. A normalidade dos dados foi testada com o teste *Shapiro-Wilk*. A comparação entre duas variáveis foi realizada com o teste *t de Student*. O nível de significância adotado foi de 5%. O protocolo de pesquisa foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na amostra de 24 crianças prevaleceu o gênero feminino 66,7% (n=16), com idade média de $6\pm 0,6$ anos. O diagnóstico nutricional com base no IMC por idade permitiu identificar 58,3% (n=10) de excesso de peso na amostra. Na Tabela 1 observa-se que a concentração de CT estava acima do desejável para a idade (≤ 150

mg/dL). Contudo, os maiores valores CT foram acompanhados de uma maior concentração de HDL, a qual ficou 10mg/dL acima do valor recomendado para crianças (≥ 45 mg/dL). O LDL situou-se na faixa desejável (XAVIER et al., 2013). A atividade da PON1 ficou um pouco abaixo da verificada em outros estudos. Na coorte mexicana CHAMACOS, os autores observaram que a média da atividade da PON1 nas crianças aos 5 anos de idade foi de $84,0 \pm 22,3$ U/L, aumentando para $121,5 \pm 30,3$ U/L aos 7 anos (HUEN et al., 2009).

TABELA 1: Características clínicas e bioquímicas de crianças entre 5 e 6 anos de idade, do ambulatório de pediatria FAMED-UFPEL.

	Média \pm DP
IDADE	6,0 \pm 0,6
IMC (kg/m ²)	16,8 \pm 3,2
CT (mg/dL)	165 \pm 23,7
HDL (mg/dL)	55,4 \pm 14,1
LDL (mg/dL)	95,3 \pm 22,1
PON1 (kU/L)	95,5 \pm 26,7

Na Tabela 2 estão apresentados os dados relativos ao consumo alimentar. A análise mostrou que dentre os alimentos ricos em gorduras, os salgadinhos industrializados foram os alimentos consumidos com maior frequência entre as crianças. Estes alimentos não impactaram em diferença significativa na atividade arilesterase da PON1, mas foi observada redução de 10% no grupo com maior frequência de consumo. Por outro lado, uma maior atividade da PON1 foi encontrada nas crianças que consumiram embutidos e frituras 4 dias ou mais na semana. O efeito das frituras sobre a atividade enzimática foi significativo, com aumento de 1,6 vezes em relação ao grupo com menor frequência de consumo. Embora sejam conflitantes, esses resultados podem refletir um aumento da resposta antioxidante associada a PON1, frente à presença de lipídeos oxidados provenientes das frituras. Porém, a ampliação da amostra contribuirá para a compreensão do resultado observado para frituras.

TABELA 2: Atividade arilesterase da PON1 segundo o consumo de alimentos ricos em gordura, em crianças entre 5 e 6 anos de idade, do ambulatório de pediatria FAMED-UFPEL.

	N	%	PON1 kU/L	<i>p</i>
CONSUMO DE SALGADINHOS				
≤ 3 vezes	10	41,7	101,1 \pm 24,7	
≥ 4 vezes	14	58,3	91,4 \pm 28,1	0,40
CONSUMO DE EMBUTIDOS				
≤ 3 vezes	19	79,2	93,8 \pm 28,3	
≥ 4 vezes	5	20,8	101,8 \pm 20,4	0,40
CONSUMO DE FRITURAS				
≤ 3 vezes	22	91,7	90,7 \pm 21,5	
≥ 4 vezes	2	8,3	147,6 \pm 26,9	0,01

4. CONCLUSÕES

Concluiu-se que a maior frequência de consumo de frituras aumentou a atividade da PON1 em crianças. Esse efeito pode fazer parte de uma resposta inicial da enzima para atenuar a ação de lipídeos oxidados e substâncias pró-oxidantes presentes nas frituras. Contudo, a ampliação do estudo se faz necessária para uma melhor análise da qualidade da alimentação sobre a atividade da PON1 em crianças.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

KIM, DS. et al. Dietary cholesterol increases paraoxonase 1 enzyme activity. **Journal of lipid research**, v.53, n.11, p.2450-2458, 2012.

THOMÀS-MOYÀ, E.; GIANOTTI, M.; PROENZA, AM.; LLADÓ, I. Paraoxonase 1 response to a high-fat diet: gender differences in the factors involved. **Molecular Medicine**, v.13, n.3-4, p.203, 2007.

DE ROOS, N.; SCHOUTEN, E.; SCHEEK, L.; VAN TOL, A.; KATAN, M. Replacement of dietary saturated fat with trans fat reduces serum paraoxonase activity in healthy men and women. **Metabolism**, v.51, n.12, p.1534-37, 2002.

BOSHTAM, M. et al. Serum Paraoxonase 1 Activity Is Associated with Fatty Acid Composition of High Density Lipoprotein. **Disease markers**, v.35, n.4, p.273-280, 2013.

XAVIER, HT et al. V Diretriz brasileira de dislipidemias e Prevenção da aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.101, n.4, p.1-20, 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.