

ATIVIDADE DA PARAOXONASE 1 EM CRIANÇAS: ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DO ESTADO NUTRICIONAL E DO CONSUMO DE FRUTAS, VERDURAS E LEGUMES

CAROLINE SILVA MACIEL¹; TAINÁ DA SILVA SIGALES²; GABRIELA DE LEMOS ULIANO³; ELIZABETE HELBIG⁴; AUGUSTO SCHNEIDER⁵; SANDRA COSTA VALLE⁶

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

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

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

⁴ Faculdade de Nutrição - Universidade Federal de Pelotas – helbignt@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 Paraoxonase 1 (PON1) é uma importante enzima antiaterogênica, com ação antioxidante e anti-inflamatória, produzida no fígado e liberada na circulação sanguínea associada às lipoproteínas de alta densidade (HDL). A PON1 previne e atenua o dano endotelial e relaciona-se à proteção contra a aterosclerose e doenças cardiovasculares (DCV). A atividade da enzima é modulada por fatores ambientais, hormonais, nutricionais e dietéticos. Em relação à dieta, destacam-se como estimuladores da atividade da PON1 o consumo frequente de frutas, legumes e verduras (FL&V) ricos em substâncias antioxidantes.

Panagiotakos et al. (2003) identificaram que os indivíduos que consumiam FL&V por mais de 3 dias por semana tinham 70% menor risco de DCV. Além disso, verificaram que o aumento de uma porção de fruta por dia reduziu o risco de DCV em 10%. Em outro estudo Jarvik et al. (2002) encontraram que a atividade da PON1 mostrou associação positiva ao aumento da ingestão dietética das vitaminas C e E. No entanto, o baixo consumo de FL&V encontra-se entre os cinco principais fatores de risco associados à ocorrência de doenças crônicas não transmissíveis (PALMA et al., 2009).

Em crianças a má qualidade da alimentação já é aceita como sendo o principal contribuinte para o desenvolvimento precoce de DCV, também nesta população destaca-se uma alimentação pobre em FL&V (MENDES; CATÃO, 2010). Agravando esse contexto, a prevalência de dislipidemias com redução dos níveis de HDL e aumento da lipoproteína de baixa densidade (LDL) aumentou muito na população pediátrica. Estudos mostram que as lesões endoteliais, na presença de fatores de risco, estão presentes desde os primeiros anos de vida. Por outro lado, uma alta concentração de HDL protege contra o surgimento e o avanço das lesões endoteliais, esse efeito protetor deve ser atribuído a atividade da enzima PON1 (SCHRADER; RIMBACH, 2011).

Em crianças ainda são escassos os trabalhos sobre a PON1 e a influência de fatores dietéticos e nutricionais sobre sua atividade. O objetivo deste estudo foi investigar a atividade da PON1, bem como, sua relação ao consumo de FL&V em crianças de 5 a 8 anos de idade.

2. METODOLOGIA

Foi realizado um estudo transversal no Ambulatório de Pediatria da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL)/RS, no período de abril a junho de 2014. A

amostra foi constituída por crianças de ambos os gêneros, com idades entre 5 e 8 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 e frequência de consumo alimentar. A entrevista foi conduzida por alunos do Curso de Nutrição da UFPel, previamente treinados. Na entrevista foi entregue a solicitação para coleta de sangue. As dosagens bioquímicas de HDL e LDL foram realizadas após jejum de 12h, em laboratório de análises bioquímicas com certificação de qualidade nos serviços.

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-idade, tendo como referências as curvas da Organização Mundial da Saúde de 2007. O consumo de FL&V foi avaliado através do formulário de marcadores de consumo alimentar, adotado pelo Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional proposto pelo Ministério da Saúde do Brasil.

Do soro coletado em laboratório duas alíquotas foram separadas e estocadas a -20C° para análise da atividade da PON1 no soro e na fração HDL. A fração HDL foi obtida por precipitação com tungstênio utilizando-se kit comercial LabTest[®]. O sobrenadante contendo a fração HDL foi retirado para medida da atividade da PON1.

A atividade arilesterase da PON1 foi medida a partir da velocidade de formação de fenol através do aumento da absorbância a 270 nm, 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 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 analisados no BioEstat 5.3. 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

Verificou-se na fração HDL que a atividade arilesterase da PON1 foi de, aproximadamente, 44,2% em relação ao valor sérico da enzima (Tabela 1). A atividade da PON1 ligada ao HDL deveria ser responsável por 85% da atividade total (LEVIEV et al., 2001). Na busca de respostas a essa observação, a influência do reagente foi testada e não alterou a atividade enzimática. Contudo, a dosagem da PON1 no HDL precipitado com tungstênio é uma abordagem inicial e requer maior número de observações, assim como a aplicação de outras técnicas de obtenção da fração HDL para sua confirmação.

A amostra foi composta por 24 crianças, 66,7% (n=16) do gênero feminino, com maioria de idade entre 6 e 7 anos incompletos (54,2%, n=13), níveis adequados de HDL (70,8%, n=17) e LDL (58,3%, n=14) (Tabela 1). Na amostra integral a atividade sérica da PON1 (95±26,7 kU/L) foi semelhante à média encontrada em outros estudos com crianças (SUMEGOVÁ et al., 2007; KONCSOS et al., 2010). A idade e os níveis de HDL e LDL não refletiram em alteração significativa da atividade enzimática. Já entre os gêneros foi observada diferença significativa (p<0,05) com médias superiores entre os meninos (Tabela 1). Esses resultados diferem de outros trabalhos que mostraram valores mais elevados no gênero feminino (SUMEGOVÁ et al., 2007). No entanto, no atual estudo os dois maiores valores de PON1 incidiram no gênero masculino. Assim, a ampliação da amostra contribuirá para a compreensão do resultado observado para gênero.

TABELA 1. Análise da atividade arilesterase da PON1 estratificada por gênero, idade e níveis de HDL e LDL, de crianças entre 5 e 6 anos de idade.

	N	%	PON1 (kU/L)	p
ATIVIDADE FRAÇÃO HDL	24	100	42,2±17,2	
ATIVIDADE SÉRICA GERAL	24	100	95,5±26,7	
GÊNERO				
Feminino	16	66,7	88,6±23,7	
Masculino	8	33,3	113,2±24,5	0,01
IDADE				
≥ 5 - ≤ 6	11	45,8	102,0±29,0	
≥ 6 - ≤ 7	13	54,2	90,0±24,3	0,28
HDL				
≥ 45 mg/dL	17	70,8	97,3±29,2	
< 45 mg/dL	7	29,7	91,1±20,7	0,61
LDL				
< 100 mg/dL	14	58,3	90,2±24,6	
≥ 100 mg/dL	10	41,7	102,9±29	0,25

A análise do efeito de fatores nutricionais e dietéticos revelou um aumento da enzima em crianças com sobrepeso, mas essa diferença não foi significativa (Tabela 2). Novamente, o número de observações limitou o resultado. Em relação ao consumo de FL&V, a atividade da PON1 foi 10% mais elevada (p>0,05) no grupo que apresentou maior consumo de legumes e verduras. Já o inverso foi observado para as frutas, porém deve-se considerar que nem todas as frutas consumidas regionalmente apresentam teor elevado de vitaminas antioxidantes e compostos fenólicos.

TABELA 2. Análise da atividade arilesterase da PON1, segundo o estado nutricional e o consumo de FL&V, em crianças entre 5 e 6 anos de idade.

	N	%	PON1 (kU/L)	p
DIAGNÓTICO NUTRICIONAL				
Eutrófico	14	58,3	95,9±20,4	
Sobrepeso	2	8,3	128,1±54,5	0,10*
Obesidade	8	33,4	86,6±27,3	0,37*
CONSUMO DE FRUTAS				
≤ 3 vezes	5	20,8	100,1±25,8	
≥ 4 vezes	19	79,2	94,3±27,5	0,67
CONSUMO DE VERDURAS				
≤ 3 vezes	18	75,0	93,1±27,3	
≥ 4 vezes	6	25,0	102,5±25,6	0,46
CONSUMO DE LEGUMES				
≤ 3 vezes	18	75,0	94,1±27,3	
≥ 4 vezes	6	25,0	102,5±25,6	0,46

* Comparado a eutrófico

4. CONCLUSÃO

Concluiu-se que a enzima mostrou um aumento sutil frente a maior frequência de consumo alimentar de legumes e verduras. A ampliação do estudo se faz necessária para uma melhor análise do efeito de FL&V sobre a atividade da PON1 em crianças.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

PANAGIOTAKOS, DB.; PITSAVOS, C.; KOKKINOS, P.; CHRYSOHOOU, C; VAVURANAKIS, M.; et al. Consumption of fruits and vegetables in relation to the risk of developing acute coronary syndromes; the CARDIO2000 case-control study. **Nutr J.** v.8, p.2, 2003.

JARVIK, GP.; TSAI, NT.; MCKINSTRY, LA.; WANI, R.; BROPHY, VH.; et al. Vitamin C and E intake is associated with increased paraoxonase activity. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.** v.22, p.1329-1333, 2002.

PALMA, RFM.; BARBIERI, P.; DAMIÃO, R.; POLETO, J.; CHAIM, R. Fatores associados ao consumo de frutas, verduras e legumes em Nipo-Brasileiros. **Rev. Bras. Epidemiol.** v.12, n.3, p.436-45, 2009.

MENDES, KL.; CATÃO, LP. A avaliação do consumo de frutas, legumes e verduras por adolescentes de Formiga-MG e sua relação com fatores socioeconômicos. **Alim. Nutr.** v.21, n.2, p.291-296, 2010.

SCHRADER, C.; RIMBACH, G. Determinants of Paraoxonase 1 Status: Genes, Drugs and Nutrition. **Current Medicinal Chemistry.** v.18, n.36, p.5624-43, 2011.

LEVIEV, I.; DEAKIN, Sara; JAMES, RW. Decreased stability of the M54 isoform of paraoxonase as a contributory factor to variations in human serum paraoxonase concentrations. **Journal of lipid research,** v. 42, n. 4, p. 528-535, 2001.

SUMEGOVÁ, K.; NAGYOVA, Z.; WACZULIKOVA, I.; ZITNANOVA, I.; DURACKOVA Z. Activity of paraoxonase 1 and lipid profile in healthy children. **Physiological Research,** v.56, n.3, p.351-7, 2007.

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.