

## ATIVIDADE DA PAROXONASE-1 E SUA ASSOCIAÇÃO COM ESTADO NUTRICIONAL, FATORES BIOQUÍMICOS E DIETÉTICOS EM CRIANÇAS.

GABRIELA DE LEMOS ULIANO<sup>1</sup>; MARIANA CAVALHEIRO COSTA<sup>2</sup>; LUDMILA MUNIZ<sup>3</sup>; PAULO CAVALHEIRO SCHENKEL<sup>4</sup>; AUGUSTO SCHNEIDER<sup>5</sup>; SANDRA COSTA VALLE<sup>6</sup>

<sup>1</sup>PPG Nutrição e Alimentos - Universidade Federal de Pelotas – gabiuliano@hotmail.com

<sup>2</sup>Faculdade de Nutrição - Universidade Federal de Pelotas – marianaccosta1@gmail.com

<sup>3</sup>Faculdade de Nutrição - Universidade Federal de Pelotas – ludmuniz@yahoo.com.br

<sup>4</sup>Instituto de Biologia - Universidade Federal de Pelotas – pcschenkel@yahoo.com.br

<sup>5</sup>Faculdade de Nutrição - Universidade Federal de Pelotas – augustoschneider@gmail.com

<sup>6</sup>Faculdade de Nutrição - Universidade Federal de Pelotas – sandracostavalle@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV) têm como características a presença da aterosclerose e a elevada associação a fatores de risco, como obesidade e dislipidemias, e esse processo de disfunção endotelial tem início já na fase de vida intrauterina (NAPOLI et al., 2012). A obesidade infantil está geralmente ligada a uma alimentação não saudável, e a relação entre estes fatores pode explicar a alta prevalência de dislipidemia nesta população (SBP, 2012). Está comprovado que uma alta concentração de lipoproteína de alta densidade (HDL) protege contra o surgimento das lesões endoteliais, com efeito antioxidante, anti-inflamatório e antiaterogênico. Uma das enzimas que contribui significativamente com as propriedades atribuídas ao HDL é a paraoxonase-1 (PON1) (SCHRADER; RIMBACH, 2011).

A atividade sérica da PON1 varia entre indivíduos, sendo influenciada por diversos parâmetros. Os principais são fatores genéticos, que contribuem com 16,2% da variação da atividade enzimática (KIM et al., 2012). Além disso, fatores nutricionais, estilo de vida, idade, uso de fármacos, estado de saúde e estresse oxidativo também atuam modulando a atividade da enzima (SCHRADER; RIMBACH, 2011).

Dados sobre a atividade da PON1 em crianças são limitados. Sabe-se que a atividade da enzima aumenta conforme o avanço da idade, alcançando um platô em torno dos 7 anos, quando observam-se níveis semelhantes aos de adultos (HUEN et al., 2009). Já dados sobre a relação entre PON1 e obesidade infantil são divergentes (KRZYTEK-KORPACKA et al., 2013; KONCSOS et al., 2010; RUPÉREZ et al., 2013).

Ainda que a má qualidade da alimentação seja amplamente aceita como principal contribuinte para o desenvolvimento da obesidade em crianças, e que a dieta seja alvo de pesquisas na proteção contra DCV, não há registro de estudo que tenha associado a qualidade da alimentação infantil à atividade da PON1. O presente estudo objetiva investigar a atividade da PON1 e sua associação a fatores bioquímicos e nutricionais em crianças atendidas em um ambulatório de pediatria da cidade de Pelotas, RS.

### 2. METODOLOGIA

Estudo transversal, realizado no ambulatório de Pediatria da FAMED/UFPEL, Pelotas/RS, entre dezembro de 2013 e junho de 2014. O protocolo de pesquisa foi

aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa, sob número 504.362/2013, e os responsáveis que permitiram a participação da criança assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Para avaliação antropométrica foi calculado o Índice de Massa Corporal (IMC) utilizando peso (kg), altura (cm) e idade em meses, segundo recomendação da Organização Mundial da Saúde de 2007. Os dados relativos à alimentação foram obtidos através de questionário adotado pelo Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional, que investiga marcadores do consumo alimentar nos 7 dias anteriores. O consumo foi considerado baixo se  $\leq 3$  dias na última semana e elevado se  $\geq 4$  dias.

Após jejum de 12 horas, as amostras de sangue foram coletadas em um laboratório de análises clínicas e os níveis séricos de colesterol total, HDL, LDL e triglicerídeos foram dosados por método colorimétrico enzimático. As crianças que apresentaram um valor de lipídeo sérico alterado foram consideradas dislipidêmicas (XAVIER et al., 2013).

A análise da atividade arilesterase da PON1 foi medida a partir da velocidade de formação de fenol, através do aumento da absorvância a 270nm, temperatura de 25°C, em espectrofotômetro, marca FEMTO<sup>®</sup>. As amostras foram diluídas 1:3 em 20 mm de Tampão Tris/HCl, pH 8,0 com 1 mm de CaCl<sub>2</sub>. À solução reagente de tampão foram adicionados 4 mm de fenilacetato. A reação foi determinada após 20 segundos de retenção e a absorvância medida por 60 segundos.

As análises estatísticas foram realizadas com o software BioEstat 5.0 e o nível de significância adotado foi de 5%. A normalidade nos dados foi testada com o teste *Shapiro-Wilk*. Foram realizados cálculos de porcentagem, mediana, média e desvio padrão. A diferença entre as médias foi comparada com o teste *t de Student*. A correlação entre PON1, IMC, dados bioquímicos e de consumo foi obtida por meio do cálculo do coeficiente de *Spearman*.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A amostra constitui-se de 44 crianças, 28 (63,6%) meninas e 16 (36,4%) meninos. A maioria era branca (93,2%), renda familiar de 1 a 3 salários mínimos, com idade média de  $5,9 \pm 0,8$  anos. A mediana de IMC foi de  $16,7 \text{ kg/m}^2$ , sendo que 20 crianças (45,5%) apresentaram excesso de peso ( $\text{IMC} \geq p85$ ). A média da atividade sérica da PON1 foi  $94,8 \pm 28,8 \text{ U/L}$ , não sendo observada diferença entre gêneros ou faixa etária. Na coorte mexicana CHAMACOS, os autores observaram que a média da atividade da PON1 nas crianças aos 5 anos foi de  $84,0 \pm 22,3 \text{ U/L}$ , aumentando para  $121,5 \pm 30,3 \text{ U/L}$  aos 7 anos. Além disso, os autores também não verificaram diferença entre os gêneros (HUEN et al., 2009).

Quanto ao estado nutricional, a atividade da enzima foi significativamente maior ( $p < 0,05$ ) entre as crianças de 5 anos eutróficas ( $110,5 \pm 30,6 \text{ U/L}$ ) do que entre aquelas com excesso de peso ( $79,6 \pm 24,4 \text{ U/L}$ ), porém essa diferença não foi observada entre as crianças de 6 e 7 anos. Alguns autores sugerem que há uma redução da atividade da enzima em crianças obesas quando comparadas àquelas com peso normal (KRZYSZEK-KORPACKA et al., 2013; KONCSOS et al., 2010).

Os dados referentes ao consumo alimentar estão apresentados na Tabela 1. Dados de consumo de salada crua e de vegetais cozidos foram agrupados na categoria “vegetais”, bem como dados do consumo de alimentos fritos, hambúrguer e embutidos que foram agrupados na categoria “fritura e embutidos”.

**Tabela 1.** Atividade sérica da PON1 de acordo com a frequência de consumo alimentar em crianças de 5 a 8 anos de idade, Pelotas, 2014.

Consumo alimentar	n (%)	PON1(média± dp)	p
<b>Frutas</b>			
≥ 4 dias/semana	29 (65,9)	95,8±30,0	0,36
≤ 3 dias/semana	15 (34,1)	92,7±27,1	
<b>Vegetais</b>			
≥ 4 dias/semana	19 (43,2)	101,6±30,4	0,08
≤ 3 dias/semana	25 (56,8)	89,5±26,9	
<b>Fritura e embutidos</b>			
≥ 4 dias/semana	9 (20,5)	90,9±20,3	0,33
≤ 3 dias/semana	35 (79,5)	95,7±30,7	
<b>Bolachas e salgadinhos</b>			
≥ 4 dias/semana	18 (40,9)	97,3±34,6	0,31
≤ 3 dias/semana	26 (59,1)	93,0±24,5	

Os dados aqui apresentados referentes ao consumo de alimentos ricos em gordura não diferiram significativamente entre os grupos. Alterações na atividade sérica da PON1 têm sido relatadas de acordo com o consumo de certos nutrientes, sendo as gorduras insaturadas as maiores responsáveis, em curto prazo, pelo aumento da atividade enzimática. Porém, há evidências de que o colesterol dietético está positivamente relacionado à PON1, contribuindo com aproximadamente 5% de sua variação enzimática (KIM et al., 2012). Já a média da atividade da PON1 nas crianças com consumo elevado de vegetais foi 13% maior do que naquelas com baixo consumo, porém essa diferença não foi significativa. Embora estudos que avaliaram a relação entre o consumo de vegetais e a atividade da PON1 tenham mostrado uma associação negativa (KLEEMOLA et al., 2002; RANTALA et al., 2002), as vitaminas C e E foram previamente associadas de maneira positiva com a atividade da enzima (COSTA et al., 2011; SCHRADER; RIMBACH, 2011). Estas observações poderiam ser explicadas por uma melhora na defesa antioxidativa.

Constatou-se dislipidemia em 28 (63,6%) crianças. Os valores da atividade da PON1 mostraram correlação positiva e significativa ( $p < 0,05$ ) com colesterol total ( $rs = 0,38$ ) e LDL ( $rs = 0,36$ ). A média da atividade da PON1 nas crianças com HDL  $\geq 45$  (98,9 U/L) foi 15% maior do que naquelas com HDL baixo (85,9 U/L), porém essa diferença não foi significativa. Outros estudos confirmam estes resultados mostrando correlação positiva e significativa entre a atividade da PON1 com colesterol total, LDL, HDL e APOA-I (RUPÉREZ et al., 2013; KIM et al., 2012).

#### 4. CONCLUSÕES

Conclui-se que a atividade da PON1 sofreu influência de fatores bioquímicos e nutricionais em crianças. O excesso de peso impactou em redução de aproximadamente 40% na atividade da PON1 na menor faixa etária estudada. Além disso, a maior frequência de consumo de vegetais indica aumento da atividade enzimática entre as crianças. A ampliação do tamanho amostral permitirá uma melhor análise dos efeitos inicialmente observados neste estudo.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

NAPOLI, C.; CRUDELE, V.; SORICELLI, A.; AL-OMRAN, M.; VITALE, N.; INFANTE, T., et al. Primary Prevention of Atherosclerosis: A Clinical Challenge for the Reversal of Epigenetic Mechanisms? **Circulation**, v.125, n.19, p.2363-73, 2012.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA. **Obesidade na infância e adolescência: manual de orientação**. Sociedade Brasileira de Pediatria. Departamento Científico de Nutrologia. 2.ed. São Paulo: SBP, 2012. 142p.

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

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

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.

KRZYSTEK-KORPACKA, M.; PATRYN, E.; HOTOWY, K. Paraoxonase-1 Activity in Overweight and Obese Children and Adolescents: Association with Obesity-Related Inflammation and Oxidative Stress. **Advances and Clinical Experimental Medicine**, v.22, n.2, p.229–36, 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.

RUPÉREZ, AI.; LÓPEZ-GUARNIDO, O.; GIL, F.; OLZA, J.; GIL-CAMPOS, M.; LEIS, R., et al. Paraoxonase 1 activities and genetic variation in childhood obesity. **British Journal of Nutrition**, p.1-9, 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.

KLEEMOLA, P.; FREESE, R.; JAUHAINEN, M.; PAHLMAN, R.; ALFTHAN, G.; MUTANEN, M. Dietary determinants of serum paraoxonase activity in healthy humans. **Atherosclerosis**, v.160, p.425–32, 2002.

RANTALA, M.; SILASTE, M.; TUOMINEN, A.; KAIKKONEN, J.; SALONEN, J.; ALFTHAN, G., et al. Dietary modifications and gene polymorphisms alter serum paraoxonase activity in healthy women. **The Journal of Nutrition**, v.132, n.10, p.3012-17, 2002.

COSTA, L.; GIORDANO, G.; FURLONG, C. Pharmacological and dietary modulators of paraoxonase 1 (PON1) activity and expression: the hunt goes on. **Biochemical Pharmacology**, v.81, n.3, p.337-44, 2011.