

PARAOXONASE 1 ASSOCIADA AO EXCESSO DE PESO EM CRIANÇAS PRÉ-PÚBERES

EDUARDA DALLMANN LOPES PEREIRA¹; LAURA VARGAS HOFFMANN²;
DRIELE GARCIA³; AUGUSTO SCHNEIDER⁴; JULIANA DOS SANTOS VAZ⁵;
SANDRA COSTA VALLE⁶

¹UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS – dudaedlp@gmail.com

²UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS - lauravh.nutri@gmail.com

³UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS - drika_neske@yahoo.com.br

⁴UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS - augustoschneider@gmail.com

⁵UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS – juliana.vaz@gmail.com

⁶UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS – sandracostavalle@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A Paraoxonase 1 (PON1) é uma esterase sérica, fundamental para a hidrólise e remoção de substâncias nocivas ao organismo como pesticidas organofosforados, neurotoxinas e lipídios oxidados (VERČIČ, et.al., 2020). O efeito biológico desta enzima inclui ações antioxidante, anti-inflamatória e cardioprotetora, motivando a investigação de resposta enzimática sob condições de estresse oxidativo e aumento do estado pró-inflamatório, como no excesso de peso, na obesidade, diabetes e transtornos neurológicos (FERRÉ, et. al., 2013; JEELANI, et. al., 2020).

Na infância, o excesso de peso e a obesidade tem múltiplos fatores determinantes identificados, sendo que suas prevalências aumentaram muito nas últimas três décadas (KONCSOS, et. al., 2010). O impacto a saúde, em curto e longo prazo, desse aumento tem sido relacionado a presença de dano arterial precoce e a doença cardiovascular. ZAKI et.al observaram em crianças obesas aumento da peroxidação lipídica e maior suscetibilidade a dano na partícula de LDL. Assim, o entendimento do papel protetor desempenhado pelos antioxidantes endógenos, a exemplo da enzima PON1, contra os efeitos deletérios do excesso de peso e da obesidade infantil é de grande interesse clínico em pediatria (FERRÉ, et. al., 2013).

A PON1 é responsável em grande parte pelos efeitos cardioprotetores atribuídos a lipoproteína de alta densidade (HDL) e, ainda, impede o dano oxidativo aos fosfolipídios das lipoproteínas, em especial na lipoproteína de baixa densidade (LDL), (VERČIČ, et.al., 2020). Contudo, a atividade desta enzima sofre influência de fatores genéticos, ambientais e biológicos (SCHRADER; RIMBACH, 2011).

Uma redução da atividade enzimática na infância foi associada a presença de síndrome metabólica, obesidade, diabetes, dislipidemia, doenças neurodegenerativas e transtornos neurológicos (JEELANI, et. al., 2020; PASÇA, et.al., 2010). Na infância um dos possíveis mecanismos envolvidos nessa resposta enzimática é, também, a manutenção da elevada formação de espécies reativas de oxigênio e da inflamação de baixo grau. Mas, deve-se considerar que mesmo na infância a enzima sofre influência de polimorfismos genéticos, da dieta e do tempo de exposição a substâncias nocivas (SIGALEZ, 2018).

Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi investigar a associação da atividade arilesterase da PON1 a fatores sociodemográficos e clínicos em crianças atendidas no Sistema Único de Saúde, Pelotas-RS.

2. METODOLOGIA

Foi realizado estudo transversal, no Ambulatório de Pediatria da Universidade Federal de Pelotas/RS (UFPEL), no período de abril a junho de 2014. A amostra foi constituída por crianças de ambos os sexos, com idade entre 5 e 7 anos (fase pré-púbere), que procuraram atendimento durante o período do estudo. Foram excluídas aquelas que apresentaram doenças hepáticas, paralisia cerebral, displasia óssea ou neoplasias, portadoras de necessidades especiais e alterações genéticas. Inicialmente, os responsáveis e as crianças foram devidamente esclarecidos e após assentimento oral da criança e a autorização dos responsáveis a participação foi assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Os dados sociodemográficos e história clínica foram obtidos por entrevista, O desenvolvimento puberal considerou a escala de Tanner, para meninos e meninas, o peso e a estatura medidos em balança com antropômetro acoplado, seguindo as orientações do SISVAN e a coleta de sangue realizada em laboratório de análises clínicas, sendo o soro obtido armazenado a -20C° .

A variável de desfecho foi a atividade arilesterase da PON1. 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 de soro 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. Amostras em branco contendo água foram utilizadas para corrigir a hidrólise não enzimática. 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.

A variável de exposição foi o excesso de peso. Assim, o peso (kg) e a estatura (m) aferidos foram utilizados para o cálculo do escore z (ez) de IMC (kg/m^2)/idade, no programa Anthroplus® sendo categorizado em: sem excesso de peso (≤ 1 ez) e com excesso de peso (> 1 ez).

As covariáveis foram sexo (masculino ou feminino); idade (categorizada em 5, 6 e 7 anos); cor da pele autorreferida (categorizada em branca/não branca); número de pessoas no domicílio (≤ 3 ; 4 e ≥ 5); histórico familiar de obesidade (sim/não); presença de doenças (sim/não); fumantes próximos (sim/não).

Os dados foram digitados em Excel® e transferidos para análise no software livre Jamovi®. Foram excluídos outliers, aqueles que não sabiam informar ou ignoraram a pergunta. A distribuição da variável de desfecho foi avaliada por Shapiro-Wilk mostrando distribuição simétrica. A comparação entre duas categorias foi realizada por meio do teste t de Student e entre três ou mais categorias foi realizada por meio da ANOVA de uma via. Os resultados foram expressos como frequências absoluta e relativa, média e intervalo de confiança de

95% (IC95%_{inferior - superior}). A regressão linear foi utilizada para investigar a influência do excesso de peso bruto e ajustado pelas covariáveis sobre a atividade da PON1. Para isso, foi realizado um teste global de significância e, quando o valor do teste F foi significativo, uma segunda etapa foi realizada com os testes de significância individuais. A idade e a presença de “histórico familiar de obesidade” mantiveram-se significativas no modelo final de regressão. O valor de R² ajustado foi utilizado para prever a variabilidade da atividade da PON1. O nível de significância estatística foi $p < 0,05$. O protocolo de pesquisa foi submetido e aprovado ao Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina sob número 504.362/2013.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram incluídas no estudo 100 crianças, dentre as quais 51% eram do sexo feminino e ficaram proporcionalmente distribuídas entre as categorias de idade do estudo (5, 6 e 7 anos, 32%, 38% e 30%, respectivamente). A maior parte se autodeclarou de cor da pele branca (88%) e tinha histórico familiar de obesidade (62%). Cinquenta por cento da amostra vivia com quatro ou mais pessoas no domicílio, mas a maioria delas não convivia com fumantes próximos (69%). Foi observado que 45% da amostra apresentava excesso de peso, segundo o ez de IMC/I.

A atividade da PON1 foi significativamente maior no grupo de crianças com excesso de peso, quando comparada a do grupo sem excesso de peso (96,9 IC95% 90,6-103,0 kU/L vs 85,9 IC95% 79,1-92,6 kU/L).

Segundo a análise de regressão linear ajustada 10% (R² ajustado) da atividade da enzima são explicados pela presença de excesso de peso, idade e histórico familiar de obesidade. No entanto, os efeitos sobre a enzima são diferentes, as duas primeiras covariáveis associam-se ao aumento da enzima, já a presença de obesidade associada a uma redução da enzima.

Resultados semelhantes foram relatados por outros estudos. Uliano e colaboradores encontraram que crianças com sobrepeso tiveram maior atividade enzimática quando comparadas ao grupo com peso adequado (97,2 kU/L vs 77,6 kU/L). Em contraste, Ferré e colaboradores identificaram uma diminuição na atividade da PON1 no grupo obeso em comparação ao grupo não obeso, com valores de 294 kU/L vs 357,2 kU/L. De maneira semelhante, Koncsos e colaboradores também observaram valores significativamente menores da atividade da PON1 no grupo obeso em relação ao grupo de peso normal, registrando 84,8 kU/L em comparação com 99,4 kU/L. No entanto, ao contrário do nosso estudo, os autores trabalharam com uma amostra de adolescentes obesos, o que pode ter influenciado os resultados devido a questões hormonais típicas dessa faixa etária, levando a modificações na atividade enzimática.

A atividade sérica da PON1 apresenta uma variação, que pode chegar a 40 vezes entre indivíduos. Essa discrepância é, em parte, atribuída a polimorfismos de nucleotídeo único (MACKNESS; SOZMEN, 2021).

A obesidade, reconhecida como uma doença crônica não transmissível, já foi associada à redução da atividade enzimática da paraoxonase. Em nossa amostra, composta por crianças com desenvolvimento típico, os resultados encontrados

instigam a busca de como essa enzima se comportaria em crianças de desenvolvimento atípico, considerando que estudos indicam a PON1 como elemento chave na gênese do TEA (PAŞCA et al., 2006; PAŞCA et al., 2010).

4. CONCLUSÕES

O aumento da atividade arilesterase da PON1 foi associada ao excesso de peso e a idade, porém a presença de obesidade na família influenciou de forma negativa a atividade da enzima em crianças entre 5 e 7 anos. Estudos adicionais que investiguem o efeito da dieta, dos hábitos de vida e polimorfismos genéticos poderão colaborar para uma melhor compreensão das associações observadas neste estudo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FERRÉ, N.; et. al. Impaired paraoxonase-1 status in obese children. Relationships with insulin resistance and metabolic syndrome. **Clin Biochem.** v. 46. n. 18. p. 1830-1836, 2013.
- JEELANIA, H., et. al. Association of Paraoxonase1 enzyme and its genetic single nucleotide polymorphisms with cardio-metabolic and Neurodegenerative diseases. **Gene Reports.** v.20. 2020.
- KONCSOS, P.; et. al. Human paraoxonase-1 activity in childhood obesity and its relation to leptin and adiponectin levels. **Pediatric Research.** v. 67. n. 3. p. 309-313, 2010.
- MACKNESS, M., E SOZMEN, E. Y. A critical review on human sérum Paraoxonase-1 in the literature: truths and misconceptions. **Turkish Journal of Biochemistry.** v. 46. n. 1. p. 3-8. 2021.
- PAŞCA, S.P., et. al. Paraoxonase 1 activities and polymorphisms in autism spectrum disorders. **J Cell Mol Med.** v. 14. n.3. p. 600-607. 2010.
- PAŞCA, S.P., et. al. High levels of homocysteine and low serum paraoxonase 1 arylesterase activity in children with autism. **Life Science.** v.78. n.19. p. 2244-2248. 2006.
- SIGALES, TS.; et. al. Influence of nutritional factors and the PON1 C (-107) T polymorphism on paraoxonase-1 activity in childhood. **J Pediatr (Rio J).** v. 96. n. 4. p. 495-502, 2020.
- SCHRADER, C.; RIMBACH, G. Determinants of Paraoxonase 1 Status: Genes, Drugs and Nutrition. **Current Medicinal Chemistry.** v.18, n.36, p.5624-5643, 2011.
- ULIANO, G., et. al. Association between paraoxonase 1 (PON1) enzyme activity, PON1 C (-107) T polymorphism, nutritional status, and lipid profile in children. **Nutrire.** 41, 20. 2016.
- TALER-VERČIČ, A., GOLIČNIK, M., BAVEC, A. The Structure and Function of Paraoxonase-1 and Its Comparison to Paraoxonase-2 and -3. **Molecules.** v.25. n.24. 2020.
- ZAKI, ME.; et. al. Association of serum paraoxonase enzyme activity and oxidative stress markers with dyslipidemia in obese adolescents. **Indian J Endocrinol Metab.** v. 18. n.3 p. 340-344. 2014.