



ARTIGO ORIGINAL

# Influence of nutritional factors and the *PON1 C(-107)T* polymorphism on paraoxonase-1 activity in childhood<sup>☆</sup>



Tainá S. Sigales <sup>a</sup>, Gabriela Uliano <sup>b</sup>, Ludmila Muniz <sup>a</sup>, Carlos Barros <sup>a</sup>, Augusto Schneider <sup>a</sup> e Sandra C. Valle <sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Faculdade de Nutrição, Pelotas, RS, Brasil

<sup>b</sup> Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Hospital Universitário, Pelotas, RS, Brasil

Recebido em 29 de setembro de 2018; aceito em 11 de fevereiro de 2019

## KEYWORDS

Paraoxonase-1;  
Child nutrition;  
Nutritional status;  
Gene frequency;  
Disease prevention;  
Food quality

## Abstract

**Objective:** The cardioprotective enzyme paraoxonase-1 (PON1) suffers an important influence from genetic polymorphisms and nutritional factors. The aim of this study was to investigate the influence of diet, nutritional status, and the *C(-107)T* polymorphism on PON1 arylesterase activity in children.

**Methods:** This was a cross-sectional study with 97 children, aged between 5 and 8 years, of both genders, from a pediatric outpatient clinic in southern Brazil. A sociodemographic, behavioral, and food consumption questionnaire was applied, and anthropometric measurements and laboratory blood samples were taken. PON1 arylesterase activity was measured by phenol extinction (U/mL), and DNA extraction and analysis of the *PON1 C(-107)T* polymorphism were performed. The Hardy–Weinberg equilibrium was tested with the chi-squared test and linear regression was used to estimate PON1 activity according to four adjustment models, with an acceptable error of 5%.

**Results:** In the sample, the male gender accounted for 50.5%, 39.2% were 6 years of age, 54.5% had normal weight, and 51.5% had PON1 activity below the median (90.0, 15–30 U/mL). Genotype frequency was 54.6% (53/97), 31.0% (30/97), and 14.4% (14/97), respectively, for CT, CC, and TT, consistent with the Hardy–Weinberg equilibrium ( $p = 0.22$ ). In the regression analysis, the model that included sociodemographic variables as well as frequency of consumption of fruits, vegetables, legumes, dairy products, and beans estimated a variability of 14.8% in PON1 activity combined with the *PON1 C(-107)T* polymorphism.

DOI se refere ao artigo:

<https://doi.org/10.1016/j.jpmed.2019.02.004>

<sup>☆</sup> Como citar este artigo: Sigales TS, Uliano G, Muniz L, Barros C, Schneider A, Valle SC. Influence of nutritional factors and the *PON1 C(-107)T* polymorphism on paraoxonase-1 activity in childhood. J Pediatr (Rio J). 2020;96:495–502.

\* Autor para correspondência.

E-mail: [sandracostavalle@gmail.com](mailto:sandracostavalle@gmail.com) (S.C. Valle).

**PALAVRAS-CHAVE**

Paraoxonase-1;  
 Nutrição infantil;  
 Estado nutricional;  
 Frequência gênica;  
 Prevenção de doença;  
 Qualidade dos  
 alimentos

**Conclusions:** During childhood, a good-quality diet with greater inclusion of healthy foods was important to predict the activity of the cardioprotective enzyme PON1 combined with the *C(-107)T* polymorphism of the PON1 gene.

Published by Elsevier Editora Ltda. on behalf of Sociedade Brasileira de Pediatria. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

### Influência de fatores nutricionais e do polimorfismo *PON1 C(-107)T* sobre a atividade da Paraoxonase 1 na infância

#### Resumo

**Objetivo:** A enzima cardioprotetora Paraoxonase 1 (PON1) sofre importante influência de polimorfismos genéticos e fatores nutricionais. O objetivo deste estudo foi investigar a influência da alimentação, do estado nutricional e do polimorfismo *C(-107)T* sobre a atividade arilesterase da PON1 em crianças.

**Métodos:** Estudo transversal com 97 crianças entre 5 e 8 anos, de ambos os sexos, de um ambulatório de pediatria no sul do Brasil. Realizou-se questionário sociodemográfico, de comportamento e de consumo alimentar, medidas antropométricas e coleta de sangue em laboratório. A atividade arilesterase da PON1 foi mensurada pela extinção de fenol (U/mL), realizada extração do DNA e análise do polimorfismo *PON1 C(-107)T*. O equilíbrio de Hardy-Weinberg foi testado com qui-quadrado e usada regressão linear para estimar a atividade da PON1 segundo quatro modelos de ajuste, erro aceitável de 5%.

**Resultados:** Na amostra o sexo masculino representou 50,5%, 39,2% tinham 6 anos, 54,5% eram eutróficos e 51,5% tinha atividade da PON1 inferior à mediana (90,0;15-30 U/ml). A frequência dos genótipos foi 54,6% (53/97), 31,0% (30/97) e 14,4% (14/97), respectivamente, para CT, CC e TT, estiveram em equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $p=0,22$ ). Na análise de regressão o modelo que incluiu variáveis sociodemográficas, de frequência do consumo de frutas, verduras, legumes, laticínios e feijões estimou uma variabilidade de 14,8% na atividade da PON1 combinada ao polimorfismo *PON1 C(-107)T*.

**Conclusões:** Na infância uma alimentação de boa qualidade, com maior participação de alimentos saudáveis foi importante para predizer a atividade da enzima cardioprotetora PON1 combinada ao polimorfismo *C(-107)T* do gene da *PON1*.

Publicado por Elsevier Editora Ltda. em nome de Sociedade Brasileira de Pediatria. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

## Introdução

A PON1 é uma enzima de 43kDa expressa em humanos, sobretudo no fígado, detectada no plasma ligada às Apo-proteínas A<sub>1</sub> e J das partículas da lipoproteína de alta densidade (HDL).<sup>1</sup> A enzima impede o dano oxidativo aos fosfolípidios das lipoproteínas, em especial na lipoproteína de baixa densidade (LDL).<sup>1,2</sup> Dessa maneira a PON1 previne o efeito pró-inflamatório dos lipoperóxidos na camada íntima dos vasos sanguíneos e sua maior atividade repercute em redução do risco de doença cardiovascular (DCV).<sup>2,3</sup> Essa enzima hidrolisa um amplo espectro de substratos, mas sua atividade arilesterase (fenilacetato) é especialmente importante para redução do dano endotelial e DCV.<sup>1-3</sup> A PON1 sofre importante influência de polimorfismos genéticos e fatores nutricionais.<sup>1,3,4</sup>

O gene da *PON1* se localiza no cromossomo humano 7, exibe 9 éxons e codifica uma proteína com 354 aminoácidos.<sup>1,5</sup> Mais de 200 polimorfismos foram descritos nesse gene.<sup>1,3</sup> No entanto, o polimorfismo caracterizado na região promotora *PON1 C(-107)T* exerce efeito significativo na enzima, é um forte preditor de sua atividade

arilesterase.<sup>5,6</sup> O alelo *-107C* proporciona níveis de PON1 até duas vezes mais elevados do que aqueles observados com o alelo *-107T*.<sup>5,6</sup> Há evidências de que esse polimorfismo no promotor do gene *PON1* se localiza no ponto de ligação do fator de transcrição *Sp1*.<sup>5,6</sup> Portanto, a presença do alelo C resulta em maior expressão do gene *PON1* e maior atividade sérica da enzima.<sup>5,6</sup>

Dentre os fatores nutricionais, os ácidos graxos monoinsaturados e as vitaminas antioxidantes, a exemplo das vitaminas C e E, aparecem como responsáveis pelo aumento da atividade da PON1.<sup>7-10</sup> Da mesma forma um maior consumo de frutas, verduras e legumes se associou a uma atividade mais elevada da enzima.<sup>9,10</sup> Por outro lado, estudos indicam que o excesso de peso repercute em menor atividade da PON1, inclusive na infância.<sup>11-13</sup> A infância é um período vulnerável da vida, contudo na atualidade as crianças estão expostas a múltiplos fatores de risco cardiovasculares e metabólicos.<sup>14</sup> Sabe-se que a alimentação das crianças brasileiras é pobre em frutas, legumes e verduras e rica em bebidas açucaradas, biscoitos recheados, hambúrgueres, salgados e embutidos.<sup>15</sup> Além disso, o expressivo aumento da prevalência do excesso de peso a

partir dos 5 anos correlaciona-se diretamente ao incremento de morbidades associadas na população infantil.<sup>15,16</sup> Essa alimentação de má qualidade e o excesso de peso predis põem ao acúmulo de espécies reativas de oxigênio, ao dano oxidativo as membranas biológicas e ao início de doenças, em particular DCV.<sup>11,12,16</sup>

Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi investigar a influência da alimentação, do estado nutricional e do polimorfismo genético *C(-107)T* sobre a atividade arilesterase da enzima antiaterogênica PON1 na infância.

## Métodos

### Amostra

Estudo transversal feito com crianças entre 5 e 8 anos incompletos, de ambos os sexos, atendidas no Ambulatório de Pediatria da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), na cidade de Pelotas – RS. O protocolo de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da UFPEL (504.362/2013).

Crianças diagnosticadas com doenças hepáticas, paralisia cerebral, displasia óssea ou neoplasias, aquelas portadoras de necessidades especiais (físicas ou motoras) e alterações genéticas, como síndrome de Down e talassemia, foram excluídas do estudo. Os responsáveis das crianças elegíveis foram devidamente esclarecidos e convidados, os que autorizaram a participação no estudo assinaram um Termo de Consentimento Livre Esclarecido – TCLE. O assentimento da criança foi questionado oralmente antes do início das avaliações e respeitada sua decisão.

Foram entrevistadas 227 crianças, dessas 193 atenderam aos critérios de inclusão, houve cinco recusas (2,6%). Noventa e uma crianças (49,7%) não completaram o protocolo do estudo, caracterizaram-se como perdas. Destaca-se como causa dessas perdas o não comparecimento ao laboratório para coleta de sangue (40,0%). No fim, o estudo contou com a participação de 97 crianças.

### Dados sociodemográficos, antropometria e coleta de sangue

Os responsáveis responderam a um questionário sociodemográfico, de comportamento e de consumo alimentar das crianças, foram feitas medidas antropométricas e foi a coleta de sangue em laboratório de análises clínicas.

As duas primeiras categorias de variáveis do questionário foram renda familiar (em R\$ convertidos a salários mínimos vigentes), idade da mãe (anos completos), escolaridade materna (anos completos de estudo), número de pessoas no domicílio e tempo (em horas) frente a telas (computador, celular, tablet, videogames, televisão). A cor da pele foi observada e classificada como branca ou não branca.

O peso e altura foram coletados com balança plataforma digital (Welmy®), com capacidade de 150 kg e precisão de 100 g e estadiômetro acoplado com capacidade de 200 cm e precisão de 0,5 cm. Para avaliar o estado nutricional usou-se o Índice de Massa Corporal (IMC) para idade em escore-z, segundo recomendação da Organização Mundial da Saúde de 2007,<sup>17</sup> por meio do programa AnthroPlus. Crianças com

IMC-para-idade > + 1DP foram classificadas com excesso de peso. A circunferência da cintura foi aferida na linha da cintura, no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca. O referencial de comparação foi o proposto por Freedman et al.<sup>18</sup>

Após jejum de 12 horas amostras de 5 mL de sangue foram coletadas, alíquotadas e congeladas a -80°C para análises posteriores.

### Determinação da atividade arilesterase da PON1

A atividade arilesterase da PON1 foi medida em amostras de soro com o uso de fenilacetato como substrato. A atividade enzimática foi calculada a partir da velocidade de formação de fenol através do aumento da absorbância a 270 nm, temperatura de 25 °C, em espectrofotômetro (FEMTO®). As amostras foram diluídas 1:3 em 20 mM de Tampão Tris/HCl (Sigma Chemical Co, St. Louis, USA), pH 8,0, com 1 mM de CaCl<sub>2</sub> (Vetec Chemical Co, RJ, Br). A solução reagente foi composta pelo tampão, ao qual foi adicionado 1 mM de fenilacetato (Sigma Chemical Co, St. Louis, USA). A reação foi determinada após 20 segundos de retenção e a absorbância medida por 80 segundos. Considerou-se uma unidade de atividade arilesterase da PON1 igual a 1 μM de fenol/minuto e essa foi expressa em U/mL, com base no coeficiente de extinção de fenol.<sup>16</sup> As análises foram em duplicata e amostras em branco com água deionizada foram usadas para corrigir a hidrólise não enzimática.

### Extração do DNA e análise do polimorfismo PON1 C(-107)T

O DNA foi extraído das amostras de sangue que contêm EDTA de acordo com procedimento padrão descrito previamente por Kanai et al.<sup>19</sup> e quantificado em espectrofotômetro. As amostras de DNA foram diluídas para concentração de 50 ng/mL. A genotipagem dos indivíduos para o polimorfismo PON1 C(-107)T foi feita através da técnica de *restriction fragment length polymorphism* (RFLP) de acordo com o validado por Campo et al.<sup>20</sup>

Brevemente, um fragmento de 240pb da região do promotor do gene da PON1 foi amplificado por PCR em 35 ciclos (5 min a 94°C, seguido por 45s a 94°C (desnaturação), 45s a 67°C (anelamento) e 45s a 72°C (extensão), seguido de 5 min a 72°C). Para tal foram usados os *primers*: *forward* 5'AGCTAGCTGCGGACCCGGCGGGGAG-GaG3' e *reverse* 5'GGCTGCAGCCCTACCACAACCC3'. A letra minúscula no *primer forward* indica um erro de pareamento proposital introduzido no amplicon para gerar um sítio de restrição para a enzima *BsrBI*, pois não há sítio de restrição específico que corte a sequência original do DNA. A digestão foi feita através da incubação da amostra de PCR com 3 UI da enzima *BsrBI* (New England Bio Labs, Cambridge, UK) por duas horas a 37°C. Após a digestão os fragmentos de DNA foram separados por eletroforese em gel de agarose (Kasvi, Paraná, BR) de 3%, corados com SYBR Safe (Applied Biosystems). O alelo C foi identificado pela presença dos fragmentos de 28 e 212 pb, enquanto o alelo T resultou em um fragmento de 240 pb não digerido.

## Índice de Qualidade da Alimentação

O Índice de Qualidade da Alimentação (IQA) foi elaborado com referência no Índice de Alimentação do Escolar (Ales).<sup>21,22</sup> Porém, a questão sobre o local das refeições foi colocada no lugar da original que investigava consumo de peixe. O IQA baseou-se: 1) na identificação de componentes comportamentais das crianças, especificamente do hábito de fazer desjejum e de fazer as refeições à mesa; 2) na frequência do consumo alimentar.

A cada frequência específica foi atribuída uma pontuação positiva ou negativa (material suplementar). Para os alimentos de alta qualidade nutricional, como fruta, verdura, legume, feijão e leite, foi acrescido um ponto quando consumidos diariamente. No caso de consumo menor do que sete vezes por semana (duas a quatro vezes, a depender do alimento), foi subtraído um ponto. Já para alimentos de baixa qualidade nutricional, como doce, biscoito, refrigerante, salgadinho, fritura, maionese, macarrão instantâneo e hambúrguer, foi acrescido um ponto quando não consumidos ou consumidos raramente. Além disso, foi subtraído um ponto para a frequência diária desses alimentos. A pontuação máxima do IQA correspondeu a 15 pontos. A distribuição das

pontuações totais em tercís originou três categorias de qualidade da alimentação: baixa ( $\leq 3$  escore- p25), média (4 a 6 escores-p50) e boa ( $\geq 7$  escores-p75).

## Análises estatísticas

Os dados foram digitados no Microsoft Excel 2013 e analisados no programa STATA versão 12.0 (Stata Corp., College Station, USA). A normalidade dos dados foi testada a partir do teste de Shapiro-Wilk, as variáveis são apresentadas como frequência absoluta e relativa, média e desvio-padrão (DP), mediana e intervalo interquartil (IIQ)- p25-75. Os testes U de Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis foram usados para comparar os escores entre duas ou três categorias de variáveis. O qui-quadrado foi usado para testar o equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW), com as frequências observadas e as esperadas. Na análise não ajustada foi usada a regressão linear simples para estimar a atividade da PON1 de acordo com o genótipo. As análises ajustadas foram feitas por meio de regressão linear múltipla com quatro modelos diferentes: Modelo 1 = incluiu variáveis sociodemográficas de escolaridade materna, renda familiar, número de pessoas no domicílio, cor da pele e sexo; Modelo 2 = incluiu as

**Tabela 1** Escore do Índice de Qualidade da Alimentação conforme as características sociodemográficas, comportamentais, antropométricas e do nível de atividade arilesterase da PON1 de crianças entre 5 e 8 anos incompletos (n = 97), Pelotas-RS

	% (n)	Média	dp
<b>Sexo<sup>a</sup></b>			
Feminino	49,49 (48)	5,04	4,79
Masculino	50,51 (49)	5,10	4,64
<b>Idade<sup>b</sup></b>			
5 anos	34,02 (33)	4,84	3,04
6 anos	39,18 (38)	5,44	4,43
7 anos	26,80 (26)	4,80	4,68
<b>Cor da pele<sup>a</sup></b>			
Branca	87,63 (85)	5,00	4,78
Não branca	12,37 (12)	5,58	4,1
<b>Renda familiar<sup>a</sup></b>			
$\leq 2$ salários mínimos	84,54 (82)	5,02	4,54
$> 2$ salários mínimos	15,36 (15)	5,33	5,55
<b>Tempo frente a tela<sup>a</sup></b>			
$\leq 2$ horas	49,48 (40)	5,75	4,48
$> 2$ horas	50,52 (49)	4,75	4,81
<b>Circunferência da cintura<sup>a</sup></b>			
Adequada	64,95 (63)	4,95	4,89
Elevada	33,05 (33)	5,27	4,37
<b>Classificação do índice de massa corporal<sup>a</sup></b>			
Eutrofia	54,64 (53)	5,15	4,72
Excesso de peso	45,36 (44)	4,97	4,71
<b>Paraoxonase1<sup>a</sup></b>			
$< 90$ U/mL	51,55 (50)	5,06	4,95
$\geq 90$ U/mL	48,45 (47)	5,08	4,44

n, número de indivíduos; dp, desvio-padrão.

<sup>a</sup> Teste de Mann-Whitney.

<sup>b</sup> Teste de Kruskal-Wallis.

frequências absolutas de consumo alimentar dos alimentos de alta qualidade nutricional, ao ajuste do modelo 1; Modelo 3 = incluiu as frequências de consumo alimentar dos alimentos de baixa qualidade nutricional, ao ajuste do modelo 2; Modelo 4 = incluiu o escore z do IMC ao ajuste do modelo 3. Examinou-se a mudança no coeficiente de determinação ( $R^2$ ) ajustado, o nível de significância adotado foi de  $p < 0,05$ .

## Resultados

As características da amostra e o escore do IQA são apresentados na [tabela 1](#). O sexo masculino representou 50,5% ( $n = 49$ ), 39,2% ( $n = 38$ ) tinham idade igual a 6 anos, a maioria 87,6% ( $n = 85$ ) era de pele branca, a renda familiar foi de 2 ou menos salários mínimos e 50,5% ( $n = 49$ ) permaneciam mais de duas horas/dia em atividade sedentária. A circunferência da cintura ficou abaixo do percentil de risco para 65,0% ( $n = 63$ ) da amostra e 55,0% ( $n = 53$ ) se encontravam eutróficos. A atividade arilesterase da PON1 correspondeu à mediana de 90,0 (15-30) U/mL e 51,5% ( $n = 50$ ) das crianças tinham PON1 inferior a esse valor. Quanto ao IQA, a pontuação mediana foi de 5,0 (3,0-7,0) pontos e não houve diferença significativa entre as pontuações segundo as características da amostra.

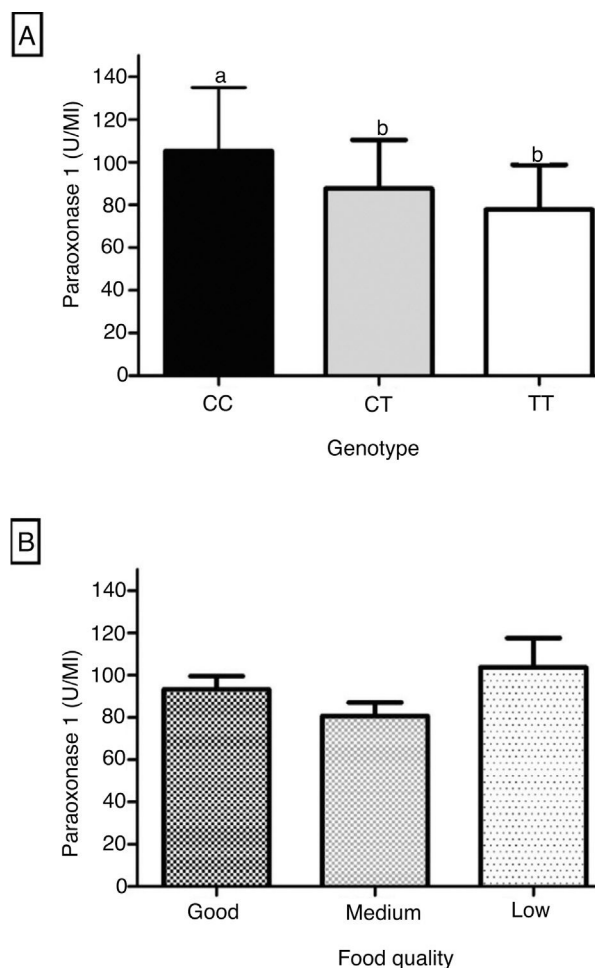
A frequência dos genótipos para o polimorfismo *PON1 C(-107)T* foi de 54,6% (53/97) para o genótipo CT, 31,0% (30/97) para o genótipo CC e 14,4% (14/97) para o genótipo TT. A distribuição dos genótipos mostrou que a população está em equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $p = 0,22$ ). A frequência alélica foi de 58,0% para o alelo C e 42,0% para o alelo T.

A [figura 1](#) mostra a influência do genótipo e da qualidade da alimentação sobre a PON1. A atividade arilesterase foi significativamente mais elevada no genótipo CC comparada à dos genótipos CT e TT ([fig. 1A](#)). A PON1 mostrou nível intermediário de atividade no genótipo heterozigoto, porém não houve diferença significativa comparada à do genótipo TT ([fig. 1A](#)). A enzima não mostrou diferença significativa entre as três categorias de qualidade da alimentação, conforme a distribuição das pontuações do IQA em tercís ([fig. 1B](#)).

A análise bruta e ajustada da associação entre a atividade da PON1 e o polimorfismo *PON1 C(-107)T* são apresentados na [tabela 2](#). Na análise bruta as associações foram altamente significativas. Quando a análise foi ajustada para as variáveis sociodemográficas, de consumo alimentar e de estado nutricional, a associação entre a enzima e o polimorfismo manteve-se significativa. No ajuste do modelo 1 a inclusão das variáveis sociodemográficas resultou num coeficiente de determinação ajustado foi de 11,6%. Já no ajuste do modelo 2 a inclusão da frequência do consumo de alimentos saudáveis explicou uma variabilidade de 14,8% na atividade da PON1. A porcentagem de variação da PON1 atribuída aos fatores genéticos e nutricionais é mostrada na ([fig. 2](#)).

## Discussão

Neste estudo mostrou-se que fatores nutricionais, a exemplo da dieta e IMC, combinados ao polimorfismo *PON1C(-107)T*, são precursores da atividade arilesterase da PON1 na infância. Além disso, foram significativos para explicar uma variação de 14,8% na enzima. O genótipo CC e os alimentos saudáveis,



**Figura 1** Atividade arilesterase da PON1, de acordo com o genótipo do polimorfismo *PON1 C(-107)T* (A) e de acordo com o IQA (B) de crianças entre 5 e 8 anos incompletos ( $n = 97$ ), Pelotas-RS. Os dados são apresentados como média  $\pm$  dp, letras diferentes indicam  $p < 0,05$ , Anova de uma via.

de boa qualidade nutricional foram os fatores que destacadamente influenciaram a uma maior atividade enzimática.

O índice de qualidade de alimentação de escolares é um instrumento prático e adequado à realidade brasileira para monitorar a alimentação de crianças.<sup>21,22</sup> Uma alimentação de média e boa qualidade conforme verificada no atual estudo não significa adequação do ponto de vista nutricional. Isso foi evidenciado pela baixa pontuação atingida nos tercís mais elevados de distribuição do IQA. Molina et al.<sup>22</sup> avaliaram a qualidade da alimentação de 1282 escolares e verificaram pontuações similares às que definiram a alimentação das crianças deste estudo. Além disso, Molina et al.<sup>22</sup> encontraram que a maioria dos escolares consumia uma alimentação de baixa qualidade.

Estudos sugerem uma modulação dietética da enzima e atribuem aos antioxidantes, a exemplo de vitaminas e compostos fenólicos, efeito protetor a sua estrutura e função.<sup>3,4,9</sup> Neste estudo a presença de alimentos de boa qualidade nutricional combinada ao polimorfismo *PON1C(-107)T* alterou de forma positiva a atividade da PON1.

**Tabela 2** Análise bruta e ajustada da associação entre atividade arilesterase da PON1 e o polimorfismo *PON1 C(-107)T* em crianças entre 5 e 8 anos incompletos (n = 97), Pelotas-RS

	B (EP)		$\beta$	p	R <sup>2</sup> ajustado	PON1-VE
<b>Análise bruta</b>						
TT	82,95	(6,53)	REF	0,003	10,00	REF
CT	3,41	(7,41)	0,06			86,36
CC	22,27	(7,99)	0,39			105,22
<b>Análise ajustada</b>						
<i>Modelo 1<sup>a</sup></i>						
TT	77,37	(16,28)	REF	0,011	11,60	REF
CT	6,59	(7,54)	0,12			83,96
CC	27,75	(8,23)	0,48			105,12
<i>Modelo 2<sup>b</sup></i>						
TT	71,19	(18,87)	REF	0,011	14,80	REF
CT	10,25	(7,89)	0,19			81,44
CC	30,32	(8,27)	0,53			101,51
<i>Modelo 3<sup>c</sup></i>						
TT	69,31	(19,88)	REF	0,048	11,90	REF
CT	10,71	(8,17)	0,20			80,02
CC	31,41	(8,64)	0,55			100,72
<i>Modelo 4<sup>d</sup></i>						
TT	68,76	(19,77)	REF	0,041	13,00	REF
CT	7,73	(8,40)	0,15			76,49
CC	29,71	(8,68)	0,52			98,47

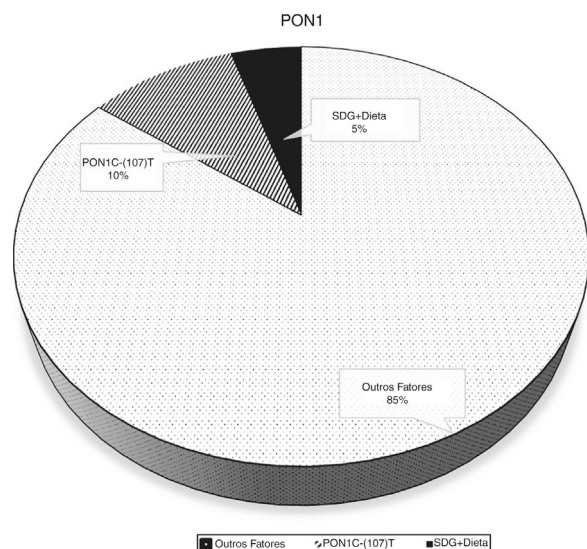
B, constante de regressão; EP, erro padrão; PON1 VE, valor estimado da Paraoxonase;  $\beta$ , coeficiente de regressão; R<sup>2</sup>, coeficiente de determinação.

<sup>a</sup> Ajustado para escolaridade materna, renda, número de pessoas no domicílio e cor.

<sup>b</sup> Ajustado para o Modelo 1 + frequência do consumo alimentar de frutas, legumes, verduras, laticínios e feijões.

<sup>c</sup> Ajustado para o Modelo 2 + frequência do consumo alimentar de frituras, embutidos, salgadinhos, biscoitos doces e refrigerantes.

<sup>d</sup> Ajustado para o Modelo 3 + escore z do IMC.



**Figura 2** Variabilidade da atividade arilesterase da PON1 explicada pelo polimorfismo *PON1 C(-107)T*, fatores sociodemográficos e nutricionais em crianças entre 5 e 8 anos incompletos (n = 97), Pelotas-RS.

Esse resultado pode ser atribuído a uma maior participação das frutas, legumes e verduras na dieta de uma parcela das crianças.<sup>3,4,9</sup> Em particular, um estudo de intervenção mostrou que o consumo de seis porções diárias de frutas, verduras e legumes impactou no aumento de 7% na atividade arilesterase da PON1.<sup>9</sup> Jarvik et al.<sup>10</sup> mostraram que a atividade da PON1 correlacionou-se positiva e significativamente com o maior consumo alimentar de vitaminas antioxidantes, em especial das vitaminas C e E.

Diversas pesquisas investigam a relação entre a enzima e o estado nutricional em diferentes fases do ciclo vital.<sup>11-13,16,23-25</sup> No entanto, poucas referiram aumento da enzima associada ao IMC conforme observado no atual estudo.<sup>13,24,25</sup> As divergências quanto ao efeito do IMC sobre a enzima podem decorrer da idade dos indivíduos selecionados, uma vez que muitas amostras misturam crianças e adolescentes. A obesidade nessas duas fases da vida cursa com diferenças que vão desde o tempo de exposição ao aumento do tecido adiposo, do nível das citocinas pró-inflamatórias até o status hormonal.<sup>11,23-25</sup> Um maior tempo de exposição ao excesso de peso e um aumento do estado inflamatório, ainda que esse seja de baixo grau, podem refletir num efeito inibitório sobre a enzima.<sup>25,26</sup> Porém, na

infância o aumento de peso e de formação de espécies reativas de oxigênio poderiam ser compensados pela elevação da enzima.<sup>13</sup> Convém registrar que a natureza complexa da obesidade limita as especulações, pois além dos aspectos citados ainda há influências do estilo de vida e da atividade física.<sup>16,27</sup> Em particular, Koncsos et al.<sup>27</sup> ao avaliar 151 crianças constataram que após uma mudança no estilo de vida houve aumento da PON1.

O polimorfismo *PON1 C(-107)T* influenciou na PON1, o genótipo CC foi relacionado a uma maior atividade, o TT a uma menor atividade e o CT a um efeito intermediário. Os polimorfismos da região *-107C/T* têm maior efeito sobre a atividade arilesterase da enzima, contribuem com 25% da variabilidade de sua expressão em adultos brancos.<sup>5,6</sup> Esses polimorfismos afetam a expressão da proteína e a concentração enzimática, indivíduos portadores do alelo T podem ter a produção da enzima afetada.<sup>5,6</sup> Deakin et al.<sup>5</sup> destacam um mecanismo molecular no polimorfismo *C(-107)T* do gene da *PON1* que envolve o fator de transcrição *Sp1*. A presença do alelo C na região promotora resulta em maior expressão do gene *PON1* e, conseqüentemente, maior nível de proteína na circulação e aumento na atividade da enzima.<sup>6</sup> Isso condiz com a associação entre o alelo C e maiores concentração e atividade sérica da enzima, indica que o fator de transcrição se liga a essa região do promotor, mas com maior afinidade para a variante *-107C*.<sup>5,6</sup> A variante *-107T* interrompe a sequência de reconhecimento do fator de transcrição *Sp1*, resulta em menor concentração de PON1 para esse genótipo.<sup>5</sup>

O efeito do genótipo CC sobre a atividade da PON1 visto no atual estudo já foi apresentado em outros trabalhos com crianças na mesma faixa etária.<sup>13,28</sup> Em especial, Uliano et al.<sup>13</sup> mostraram que crianças com o genótipo CC para o polimorfismo *PON1 C(-107)T* apresentaram maior atividade sérica da enzima do que as portadoras do genótipo TT. Ainda, Huen et al.<sup>28</sup> constataram que a atividade da PON1 em crianças com genótipo CC foi maior do que naquelas com o genótipo TT. A frequência dos genótipos observada neste estudo está de acordo com a de outras pesquisas.<sup>28-30</sup> Por exemplo, a coorte Chamacos feita com crianças da mesma faixa etária registrou frequência similar a encontrada neste estudo.<sup>28,30</sup>

Os resultados do presente estudo devem ser ponderados frente a seus pontos fortes e suas limitações. Entre os pontos fortes encontra-se a seleção de uma amostra de crianças em fase precoce do desenvolvimento e isenta de doenças crônicas. Ainda, a identificação de um polimorfismo associado a atividade de uma enzima cardioprotetora. Entre as limitações está o método de avaliação dietética, que estima apenas a qualidade da dieta e não estima a quantidade, pode a frequência do consumo ser subestimada. O número de perdas de acompanhamento que implicou uma amostra reduzida, frente à estimada, e limita a validade estatística das probabilidades encontradas. No entanto, as análises ajustadas foram esclarecedoras quanto às influências mais relevantes para prever a variabilidade da enzima na amostra.

Conclui-se que na infância uma alimentação de boa qualidade, com maior participação de alimentos saudáveis, foi importante para prever a atividade da enzima cardioprotetora PON1 combinada ao polimorfismo *C(-107)T* do gene da

*PON1*. Esse resultado estimula a orientação para o alcance das metas de consumo de alimentos como frutas, legumes e verduras na infância, especialmente na perspectiva de prevenir DCV precoce.

## Financiamento

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes).

## Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

## Apêndice A. Material adicional

Pode-se consultar o material adicional para este artigo na sua versão eletrônica disponível em [doi:10.1016/j.jpdp.2019.05.012](https://doi.org/10.1016/j.jpdp.2019.05.012).

## Referências

1. Shunmoogam N, Naidoo P, Chilton R. Paraoxonase (PON)-1: a brief overview on genetics, structure, polymorphisms and clinical relevance. *Vasc Health Risk Manag*. 2018;14:137-43.
2. Mackness B, Durrington P, McElduff P, Yarnell J, Azam N, Watt M, et al. Low paraoxonase activity predicts coronary events in the caerphilly prospective study. *Circulation*. 2003;107:2775-9.
3. Schrader C, Rimbach G. Determinants of paraoxonase 1 status: genes, drugs and nutrition. *Curr Med Chem*. 2011;18:5624-43.
4. Lou-Bonafonte J, Gabás-Rivera C, Navarro MA, Osada J. PON1 and Mediterranean diet. *Nutrients*. 2015;7:4068-92.
5. Deakin S, Leviev I, Brulhart-Meynet C, James RW. Paraoxonase-1 promoter haplotypes and serum paraoxonase: a predominant role for polymorphic position - 107, implicating the Sp1 transcription factor. *Biochem J*. 2003;372:643-9.
6. Suehiro T, Nakamura T, Inoue M, Shiinoki T, Ikeda Y, Kumon Y, et al. A polymorphism upstream from the human paraoxonase (PON1) gene and its association with PON1 expression. *Atherosclerosis*. 2000;150:295-8.
7. Kim DS, Maden SK, Burt AA, Ranchalis JE, Furlong CE, Jarvik GP. Dietary fatty acid intake is associated with paraoxonase 1 activity in a cohort-based analysis of 1548 subjects. *Lipids Health Dis*. 2013;12:183.
8. Ferretti G, Bachetti T. Effect of dietary lipids on paraoxonase-1 activity and gene expression. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2012;22:88-94.
9. Daniels JA, Mulligan C, McCance D, Woodside JV, Patterson C, Young IS, et al. A randomised controlled trial of increasing fruit and vegetable intake and how this influences the carotenoid concentration and activities of PON-1 and LCAT in HDL from subjects with type 2 diabetes. *Cardiovasc Diabetol*. 2014;13:16.
10. Jarvik GP, Tsai NT, McKinstry LA, Wani R, Brophy VH, Richter RJ, et al. Vitamin C and E intake is associated with increased paraoxonase activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22:1329-33.
11. 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 Res*. 2010;67:309-13.
12. Seres I, Bajnok L, Harangi M, Sztanek F, Koncsos P, Paragh G. Alteration of PON1 activity in adult and childhood obesity and its relation to adipokine levels. *Adv Exp Med Biol*. 2010;660:129-42.

13. Uliano G, Muniz L, Barros C, Schneider A, Valle S. Association between paraoxonase 1 (PON1) enzyme activity PON1 C(-107)T polymorphism, nutritional status, and lipid profile in children. *Nutrire*. 2016;41:20.
14. Vos MB, Kaar JL, Welsh JA. Added sugars and cardiovascular disease risk in children: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2017;135:e1017–34.
15. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF 2008–2009): antropometria e estado nutricional de crianças adolescentes e adultos no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE; 2010.
16. Eren E, Abuhandan M, Solmaz A, Taşkın A. Serum paraoxonase/arylesterase activity and oxidative stress status in children with metabolic syndrome. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2014;6:163–8.
17. de Onis M, Onyango W, Borghi E, Siyam A, Nishida C, Siekmann J. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. *Bull World Health Organ*. 2007;85:660–7.
18. Freedman DS, Serdula MK, Srinivasan SR, Berenson GS. Relation of circumferences and skinfold thicknesses to lipid and insulin concentrations in children and adolescents: the Bogalusa Heart Study. *Am J Clin Nutr*. 1999;69:308–17.
19. Kanai N, Fuji T, Saito K, Yokoyama T. Rapid and simple method for preparation of genomic DNA from easily obtainable clotted blood. *J Clin Pathol*. 1994;47:1043–4.
20. Campo S, Sardo MA, Trimarchi G, Bonaiuto M, Fontana L, Castaldo M, et al. Association between serum paraoxonase (PON1) gene promoter T(-107)C polymorphism PON1 activity and HDL levels in healthy Sicilian octogenarians. *Exp Gerontol*. 2004;39:1089–94.
21. Momm N, Höfelmann DA. Qualidade da dieta e fatores associados em crianças matriculadas em uma escolar municipal de Itajaí, Santa Catarina. *CadSaúdeColet*. 2014;22:32–9.
22. Molina B, López M, Faria P, Cadei V, Zandonade E. Preditores socioeconômicos da qualidade da alimentação de crianças. *Rev Saude Pública*. 2010;44:732–85.
23. Garcés C, López-Simón L, Rubio R, Benavente M, Cano B, Viturro E, et al. Análisis de la actividad paraoxonasa (PON1) y de los polimorfismos PON1 192 y PON1 55 en la población prepupal del Estudio Cuatro Provincias. *Clin Investig Arterioscler*. 2007;19:287–92.
24. Gonzalez V, Huen K, Venkat S, Pratt K, Xiang P, Harley KG, et al. Cholinesterase and paraoxonase (PON1) enzyme activities in Mexican-American mothers and children from an agricultural community. *J Expo Sci Environ Epidemiol*. 2012;22:641–8.
25. Krzystek-Korpacka M, Patryn E, Hotowy K, Czapińska E, Majda J, Kustrzeba-Wójcicka I, et al. Paraoxonase (PON)-1 activity in overweight and obese children and adolescents: association with obesity-related inflammation and oxidative stress. *Adv Clin Exp Med*. 2013;22:229–36.
26. Zaki M, El-Bassyouni H, Kamal S, El-Gammal M, Youness E. Association of serum paraoxonase enzyme activity and oxidative stress markers with dislipidemia in obese adolescents. *IJEM*. 2014;18:340–4.
27. Koncsos P, Seres I, Harangi M, Páll D, Józsa L, Bajnok L, et al. Favorable effect of short-term lifestyle intervention on human Paraoxonase-1 activity and adipokine levels in childhood obesity. *J Am Coll Nutr*. 2011;30:333–9.
28. Huen K, Harley K, Bradman A, Eskenazi B, Holland N. Longitudinal changes in PON1 enzymatic activities in Mexican-American mothers and children with different genotypes and haplotypes. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2010;244:181–9.
29. Grubiša I, Otašević P, Dimković D, Nedeljković I, Toljić B, Vučinić N. Genetic polymorphisms of paraoxonase 1 and susceptibility to atherogenesis. *Srp Arh Celok Lek*. 2013;141:629–33.
30. Huen K, Yousefi P, Street K, Eskenazi B, Holland N. PON1 as a model for integration of genetic, epigenetic, and expression data on candidate susceptibility genes. *Environ Epigenet*. 2015;1:1–11.