

CARACTERIZAÇÃO DE UM MODELO PRÉ-CLÍNICO PARA O ESTUDO DA COMORBIDADE PSIQUIÁTRICA COMPULSÃO ALIMENTAR ASSOCIADA A DEPRESSÃO EM CAMUNDONGOS C57BL/6 MACHOS

MARIANA PARRON PAIM¹; LETÍCIA DEVANTIER KRÜGER²; LARISSA SANDER MAGALHÃES²; DIANER NORNBURG STRELOW²; CÉSAR AUGUSTO BRÜNING²; CRISTIANI FOLHARINI BORTOLATTO³

¹ Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – Laboratório de Bioquímica e Neurofarmacologia Molecular (LABIONEM) – maa_paim@hotmail.com;

² Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – Laboratório de Bioquímica e Neurofarmacologia Molecular (LABIONEM) - leticiadevantier@hotmail.com; larissasama@hotmail.com; dianer_strelow@hotmail.com; cabruning@yahoo.com.br

³ Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – Laboratório de Bioquímica e Neurofarmacologia Molecular (LABIONEM) - cbortolatto@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O Transtorno de Compulsão Alimentar Periódica (TCAP) é o transtorno alimentar mais recorrente, atingindo de 2 a 5% da população mundial. Entre as pessoas com sobrepeso ou obesidade, essa taxa aumenta em até 30% (KESSLER et al, 2016; KUCHARSKA et al, 2017). De acordo com o Manual Diagnóstico e Estatístico dos Transtornos Mentais (DSM-V), uma pessoa com episódios compulsivos regularmente estabelecidos apresenta uma ingestão alimentar muito rápida em comparação com as outras pessoas, mesmo sem fome. Após o ato de comer exagerado, sentimentos de culpa, vergonha e desgosto aparecem (DSM-V 2014). O consumo exacerbado pode ser intensificados por eventos de estresse, ansiedade e depressão. Esses eventos foram muito evidenciados durante a pandemia, período em que muitas pessoas que passaram pelo isolamento social durante a pandemia relataram ter tido hábitos alimentares mais insalubres, como consumir alimentos de conforto, aumentando os casos de TCAP (CECCHEITTO, et al. 2021).

O manejo para a remissão da doença é baseado em terapia comportamental cognitiva, terapia de base familiar e farmacoterapia. Essa última é, geralmente, feita com antidepressivos (KLEIN, et al. 2021). Entretanto, são conhecidos os efeitos adversos e a limitada eficácia dos fármacos atualmente disponíveis no mercado. Além disso, objetivou-se a realização de testes adicionais ao protocolo piloto afim de analisar a associação do comportamento alimentar com o comportamento do tipo depressivo.

2. METODOLOGIA

Foram utilizados camundongos C57BL/6 machos com peso médio de 20-25g mantidos em caixas separadas. Os animais, aprovados para uso de acordo com código para cadastro, tinham aproximadamente 60 dias e foram provenientes do Biotério Central da UFPel. Eles foram divididos uniformemente em relação ao peso e ao consumo alimentar em quatro grupos, sendo eles: naïve (N), controle (C), jejum 16h (J16) e jejum 20h (J20).

Todos os grupos receberam água *ad libitum*. Os animais que estavam no grupo naïve tiveram acesso ilimitado à ração. Já o grupo controle, além de ração ilimitada, também teve acesso à solução de sacarose 10% *ad libitum*. O grupo J16 teve restrição total à ração e solução de sacarose entre 16h00-8h00 (16h totais), possuindo, portanto, uma janela alimentar de 8 horas por dia. O J20 ficou sem ração e sacarose 10% das 12h00 até 08h00 do dia seguinte (20h totais), o que resulta em uma janela alimentar diária de 4h. Com base em estudos e achados na literatura, optou-se por um protocolo de duração curta (10 dias) para a indução do comportamento alimentar compulsivo (YASOSHIMA; SHIMURA, 2015), que foi precedido por um período de adaptação e acompanhamento de medidas basais

(peso e consumo) para melhor distribuição dos animais entre os grupos experimentais.

Após o período de treinamento para o estabelecimento da compulsão alimentar, foram realizados, no 11º dia, o teste alimentar e os demais testes comportamentais bem como a eutanásia para a retirada de tecidos. O teste alimentar consiste em oferecer ração, água e sacarose 10% para todos os grupos, inclusive o grupo N, e monitorar o consumo na primeira e quarta hora.

Os demais testes comportamentais foram: teste do labirinto em cruz elevada (TLCE) (HANDLEY e MITHANI, 1984), teste de suspensão pela cauda (TSC) (STERU, et al. 1985) e teste de tomada de risco (TTR) feito no aparato claro/escuro (CRAWLEY e GOODWIN, 1980).

A análise estatística foi realizada pelo software GraphPad Prism 8.0.2 e para a comparação múltipla entre os grupos foi utilizada a análise de variância ANOVA de uma via seguida pelo teste *post hoc* de Tukey. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM) e um $p<0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do teste alimentar como mostrado na figura 1 demonstram que os grupos J16 e J20 apresentaram um aumento significativo no consumo de solução de sacarose em relação ao grupo controle, tanto na primeira hora do teste quanto na quarta hora ($F_{(3, 34)} = 20,12$ e $F_{(3, 34)} = 17,37$ respectivamente, ambos com $p<0,0001$) (Fig. 1A). Este elevado consumo de solução nos grupos jejuns quando comparado ao controle demonstra o comportamento alimentar compulsivo estabelecido nos animais. Além disso, também observou-se que o grupo naïve (N) ingeriu maior volume de sacarose quando comparado ao grupo controle (C) ($F_{(3, 34)} = 20,12$; $p<0,0001$). Sobre este achado, acreditamos que o aumento na ingestão observado no grupo naïve seja devido ao fator “novidade” (e não compulsão alimentar), levando-se em conta que estes animais nunca haviam tido contato prévio com a solução hiperpalatável.

Analizando o consumo de ração peletizada (Fig. 1B), foi observado um aumento significativo em grupos expostos ao jejum (J16 e J20) em relação ao controle na primeira hora de teste alimentar e nas quatro horas totais, sendo o consumo alimentar mais pronunciado no grupo J20 ($F_{(3, 34)} = 17,42$ e $F_{(3, 34)} = 40,97$; ambos com $p<0,0001$).

Ao ser contabilizado o somatório de ingestão calórica (Fig. 1C), foram detectadas diferenças significativas entre os grupos expostos ao jejum (J16 e J20) e o grupo controle, com efeitos mais proeminentes no grupo J20 ($F_{(3, 34)} = 22,37$; $F_{(3, 34)} = 44,09$; sendo ambos $p<0,0001$). Ainda, no dia do teste alimentar foi verificado que o grupo naïve ao ser exposto pela primeira vez à solução de sacarose teve o consumo de calorias mais direcionado a essa solução, com consumo usual de ração reduzido em relação às medidas basais durante o protocolo de treinamento (dados não mostrados).

Em conjunto, os dados obtidos do teste de ingestão alimentar demonstram que o estresse crônico de restrição alimentar durante 10 dias (treinamento) é eficiente para induzir o comportamento de compulsão alimentar em ambos os protocolos de jejum, mas com maior eficiência em J20.

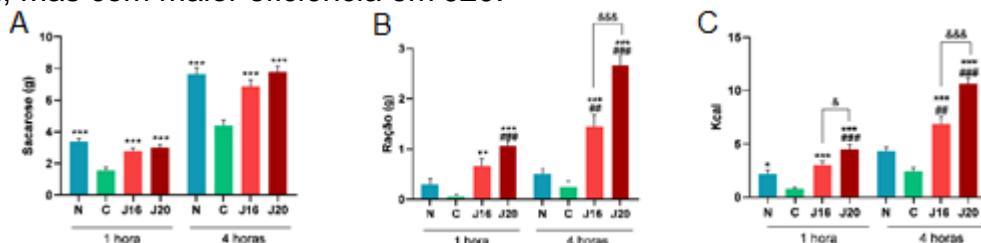


Figura 1. Efeito dos períodos de jejum por 16 e 20h no teste do teste alimentar realizado com solução de sacarose 10% e ração peletizada para roedores. (A) Consumo de solução de sacarose no teste alimentar, (B) Consumo de ração, (C) Consumo total de calorias. Os valores estão expressos como média \pm E.P.M ($n = 9-10$). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ em comparação ao grupo controle. # $p < 0,01$ e ## $p < 0,001$ em comparação ao grupo naive. & $p < 0,05$; && $p < 0,001$ ao comparar grupos J16 e J20 entre si. ANOVA de uma via/Tukey.

No TSC (Fig. 2), nota-se que houve uma menor latência para o primeiro episódio de imobilidade nos animais J20 em relação ao grupo naive ($F_{(3, 30)} = 3,270$; $p=0,0347$) (Fig. 2A). Para o tempo total de imobilidade (Fig. 2B), foi observado um aumento nos grupos J16 e J20 em relação ao grupo controle bem como no grupo J16 quando comparado ao grupo naive ($F_{(3, 31)} = 5,794$; $p=0,0029$).

Dessa forma, sugere-se a associação entre o comportamento compulsivo alimentar e o comportamento do tipo depressivo em camundongos.

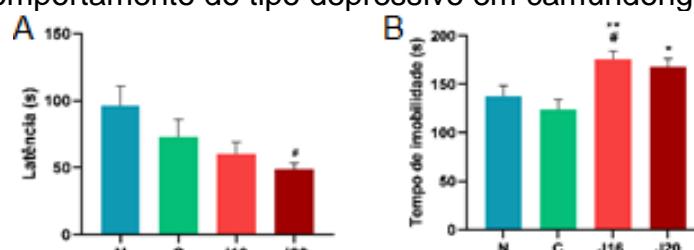


Figura 2. Efeito dos períodos de jejum por 16 e 20h no teste de suspensão da cauda (TSC) para análise do comportamento do tipo depressivo em roedores. (A) Latência para o primeiro episódio de imobilidade, (B) Tempo de imobilidade. Os valores estão expressos como média \pm E.P.M ($n = 9-10$). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ em comparação ao grupo controle e # $p < 0,05$ em comparação ao grupo naive. ANOVA de uma via/Tukey.

Como demonstrado na figura 3, no TLCE apenas o grupo J20 apresentou um aumento significativo no tempo destinado ao braço aberto ($F_{(3, 33)} = 4,998$; $p=0,0057$) (Fig. 3A), tempo reduzido nos braços fechados ($F_{(3, 34)} = 3,356$; $p=0,0300$) (Fig. 3B), maior número de entradas nos braços abertos ($F_{(3, 33)} = 4,020$; $p=0,0153$) (Fig. 3C), diminuição das entradas nos braços fechados ($F_{(3, 34)} = 4,611$; $p=0,0082$) (Fig. 3D), e menor números de espreitadas ($F_{(3, 35)} = 3,425$; $p=0,0276$) (Fig. 3E), tudo corroborando para indícios de uma maior excitabilidade e uma menor diminuição da percepção do medo, características do vício (neste caso, do comportamento alimentar compulsivo).

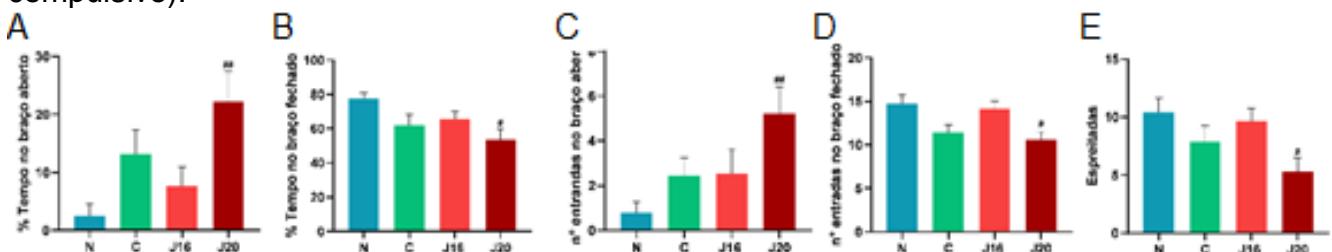


Figura 3. Efeito do teste do labirinto em cruz elevada. (A) % tempo gasto nos braços abertos, (B) % de tempo gasto nos braços fechados, (C) nº de entradas nos braços abertos. (D) nº de entradas nos braços fechados. (E) nº de espreitadas. Os valores estão expressos como média \pm E.P.M ($n = 9-10$). # $p < 0,05$ e ## $p < 0,01$ em comparação ao grupo naive. ANOVA de uma via/Tukey.

Por fim, no teste de tomada de risco, feito em uma caixa de claro/escuro, foi colocado uma bolacha no lado aversivo (iluminado) para analisar o comportamento de arriscar-se relacionado ao compulsivo alimentar dos camundongos. Nesse teste, apenas o J20 apresentou maior tempo significativo no lado aversivo ($F_{(3, 35)} = 5,506$; $p=0,0033$) (Fig. 4C), menor tempo no lado escuro ($F_{(3, 35)} = 8,426$; $p=0,0002$) (Fig. 4B), e um menor tempo de latência para iniciar a comer o biscoito colocado do lado

claro, como mostra a figura 4 A ($F_{(3, 35)} = 6,922$; $p=0,0009$). Além disso, o J20 ficou um tempo maior comendo o biscoito em comparação a todos os outros grupos ($F_{(3, 54)} = 4,304$; $p=0,0086$) (Fig. 4D). Foram analisados os cruzamentos entre o lado claro e escuro para averiguar o deslocamento dos animais (atividade locomotora), e não houve alteração significativa.

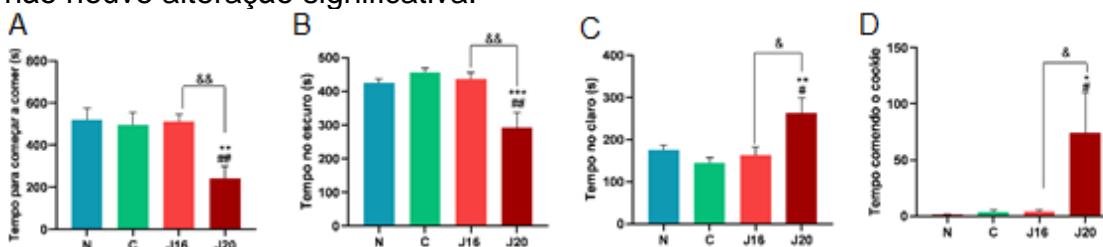


Figura 4. Efeito do teste de tomada de risco. (A) Tempo para o início da alimentação, (B) Tempo gasto no lado escuro, (C) Tempo gasto no lado claro. (D) Tempo gasto comendo o biscoito. Os Valores estão expressos como média \pm E.P.M ($n = 9-10$). * $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$ em comparação ao grupo controle. # $p < 0,05$ e ## $p < 0,01$ em comparação ao grupo naive. & $p<0,05$ e && $p<0,01$ ao comparar J16 e J20. ANOVA de uma via/ Tukey.

4. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados apresentados, pode-se concluir que ambos os períodos de jejum testados (16h - J16, ou 20h - J20) produzem comportamento compulsivo alimentar. Porém, o protocolo baseado no jejum por 20h é o que apresenta maior evidência para reproduzir comportamento compulsivo e permitir a associação esse comportamento com maior impacto negativo a outros transtornos mentais como depressão e ansiedade. Como perspectivas futuras, o grupo J20 será utilizado para mapeamento do funcionamento de novos compostos como forma de elucidar melhores alternativas para fins terapêuticos para a TCAP.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- KESSLER, R.M; HUTSON, P.H; HERMAN, B.K; POTENZA, M.N. The neurobiological basis of binge-eating disorder. **Neurosci. Biobehav. Rev.** Estados Unidos, v. 63, p. 223-238, 2016.
- KUCHARSKA, K. KOSTECKA, B. TYLEC, A. BONDER, E. WILKOS, E. Binge eating disorder – Etiopathogenesis, disease and treatment. **Adv. Psychiatry. Neurol.** v. 26, n. 3, p. 154–164, 2017.
- Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais: **DSM-5**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014
- CECCHETTO, C. AIELLO, M. GENTILI, C. IONTA, S.OSIMO, S.A. Increased emotional eating during COVID-19 associated with lockdown, psychological and social distress. **Appetite**. Itália, v.160, p. 1-9. 2021.
- KLEIN, D.A. SYLVESTER, J.E. SCHVEY, N.A. Eating disorders in primary care: diagnosis and management. **American Academy of Pediatrics**, v. 103, n. 1, p. 22-32, 2021.
- YASOSHIMA, Y. SHIMURA, T. A mouse model for binge-like sucrose overconsumption: Contribution of enhanced motivation for sweetener consumption. **Physiol. Behav.** Japão, v. 138, p. 154-164, 2015.
- HANDLEY, S.L. MITHANI, S. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of 'fear'-motivated behaviour. **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol**, v.327, n.1, p.1-5. 1984.
- STERU, L. CHERMAT, R. THIERRY, B. SIMON, P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology**. Berl, v. 85, p. 367-70, 1985.
- Crawley, J. e Goodwin, F. K. Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. **Pharmacol Biochem Behav**, v.13, n.2, p.167-170. 1980.