

ANÁLISE CORRELACIONAL ENTRE O COMPORTAMENTO DO TIPO COMPULSIVO ALIMENTAR E A ATIVIDADE DAS ENZIMAS MONOAMINA OXIDASES EM CAMUNDONGOS C57BL/6 FÊMEAS

MARIANA PARRON PAIM¹; LARISSA SANDER MAGALHÃES²; DIANER
NORNBERG STRELOW²; TÁCIA KATIANE HALL²; CÉSAR AUGUSTO BRÜNING²;
CRISTIANI FOLHARINI BORTOLATTO³

^{1,2,3} Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – Laboratório de Bioquímica e Neurofarmacologia
Molecular (LABIONEM) – maa_paim@hotmail.com; larissasama@hotmail.com;
dianer_strelow@hotmail.com; taciahall26@gmail.com;
cabruning@yahoo.com.br; cbortolatto@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O transtorno compulsivo alimentar periódico (TCAP) se estabelece quando o paciente apresenta episódios compulsivos, alimentando-se em uma quantidade maior que as outras pessoas em um curto período. Isso leva a sentimentos de angústia, juntamente com a perda de controle emocional. De acordo com o Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais (2014), o diagnóstico requer que esses episódios persistam por, pelo menos, 3 meses. Sendo o transtorno alimentar mais prevalente do mundo, o TCAP impacta mais as mulheres. Além disso, 79% dos pacientes que recebem o diagnóstico desse transtorno também são diagnosticados com outros tipos de transtornos mentais como comorbidade, como a depressão e o abuso de álcool (IQBAL, A. REHMAN A 2022).

Para estudos pré-clínicos é necessário a indução do comportamento do tipo compulsivo alimentar nos animais para avaliação da neurobiologia do transtorno e ou para futuros tratamentos. Uma forma de induzir o comportamento compulsivo é a forma rebote de alto consumo calórico e de alimento palatável através de restrição alimentar ou com jejuns prolongados (NAKAOKA H, et al 2015; YASOSHIMA Y, SHIMURA T. 2015). Esse modelo torna-se interessante para mimetizar o TCAP que se origina de dietas extremamente restritas e da má relação com o alimento (DE YOUNG KP, et al 2014). Em decorrência disso, ocorre uma desordem na via dopaminérgica, visto que a ingestão de alimentos palatáveis ativa receptores intestinais, que via nervo vago, estimulam o hipotálamo e a via de recompensa neural, aumentando níveis dopaminérgicos, igualmente como ocorre com drogas de abuso (MIRANDA-OLIVOS R, et al 2022). Há evidências também que a serotonina é, fisiologicamente, inibidora da via de recompensa, se a serotonina está com níveis basais reduzidos, atrapalharia o controle na via mesolímbica (CUNNINGHAM, K. ANASTASIO, N. 2014).

Por isso, o objetivo do atual trabalho foi induzir o comportamento compulsivo alimentar em camundongos fêmeas C57BL/6 e analisar, de forma *ex vivo*, a influência do TCAP nas enzimas monoamina oxidases (MAO) em estruturas cerebrais.

2.METODOLOGIA

Camundongos C57BL/6 fêmeas com aproximadamente 60 dias (20 - 25g) (n = 8-11/grupo), foram obtidos do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL). Os animais passaram por uma triagem de 4 dias em gaiolas isoladas permanecendo sob condições padrão para o bem-estar animal. A ingestão de ração, água e peso corporal foi avaliado diariamente, o que permitiu a divisão igualitária em quatro grupos: naive (N), controle (C), jejum por 16h (J16) e jejum por 20h (J20). Todos

os procedimentos foram aprovados pelo Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPel (nº. 010497/2022-46).

Após a triagem e a divisão dos grupos, o grupo naive recebeu água e ração à vontade; o grupo controle recebeu água, ração e solução de sacarose 10% de forma contínua; já o grupo J16 sofreu uma restrição calórica de 16h e uma janela de alimentação de 8h, recebendo a sacarose 10% e ração padrão. De forma similar, o J20 passou por uma restrição calórica de 20h e uma janela de alimentação de 4h, recebendo sacarose 10% e ração. O protocolo de indução durou 10 dias e, no 12º dia os animais foram submetidos à eutanásia, com subsequente extração das estruturas cerebrais para análise das isoformas da enzima MAO.

O software GraphPad Prism (versão 8.2.0) foi usado para análise de dados. Os resultados foram expressos como média mais ou menos erro padrão da média (E.P.M.), sendo analisados por análise de variância unidirecional ou bidirecional (ANOVA) com análises repetidas, com teste *post hoc* de Tukey. Foram considerados significativos valores com probabilidade menor que 0,05 ($p < 0,05$).

3.RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 mostra o consumo de sacarose 10% e ração peletizada. A Figura 1A mostra a comparação do consumo de sacarose do grupo controle e J20, no período da janela alimentar do grupo induzido J20 (4h), ocorrendo um aumento significativo de consumo no J20 já no 4º dia [$F_{(1, 18)} = 90,97$; $p < 0,0001$]. A Figura 1B apresenta os resultados de consumo da ração do grupo naive, controle e J20 durante as 4h [$F_{(2, 26)} = 153,7$; $p < 0,0001$]. O grupo J20 aumentou seu consumo de ração a partir do segundo dia de protocolo, em comparação com o grupo naive e controle.

Para comparação do consumo calórico do grupo J16, foi realizada uma análise semelhante. Na Figura 1C, é possível ver o aumento do consumo de sacarose 10% desse grupo em comparação com o controle a partir do dia 4 [$F_{(1, 18)} = 129,1$; $p < 0,0001$]. Prontamente, na Figura 1D é visível o aumento do consumo da ração padrão para roedores do grupo F16 em relação tanto ao grupo naive quanto ao grupo controle, a partir do 2º dia de protocolo [$F_{(2, 26)} = 169,6$; $p < 0,0001$]. A análise foi realizada durante a janela alimentar do grupo induzido, sendo então 8h/dia.

A Figura 2 mostra os resultados relativos à dosagem da atividade das isoformas da MAO em diferentes estruturas cerebrais (hipotálamo, hipocampo e córtex pré-frontal). Das principais diferenças entre as isoformas é a seletividade para degradação de monoaminas. Nesse sentido, a MAO-A apresenta predominância pela degradação de serotonina e a MAO-B pela dopamina (KOLLA, N. BORTOLATO, M. 2020). Sabendo disso, foi realizado o estudo nos tecidos mencionados acima na dimensão das duas isoformas, exceto no hipotálamo, por ser uma região pequena. Por isso, nesta estrutura, optou-se por analisar apenas a MAO-B, já que essa região é o centro do controle alimentar e da via de recompensa.

Na Figura 2, estão dispostos os resultados da atividade enzimática nas isoformas A e B da enzima. A Figura 2A mostra que apenas o grupo controle apresentou aumento da atividade da enzima MAO-A [$F_{(3, 31)} = 2,665$; $p = 0,0651$], indicando uma possível correlação entre o consumo *ad libitum* de açúcar com ao aumento da degradação de monoaminas, como a serotonina. O consumo crônico de açúcar é conhecido por ser prejudicial à saúde e pode estar relacionado à depressão (REIS, et al 2020); por isso, a inclusão do grupo naive é de extrema importância, aumentando confiabilidade dos dados.

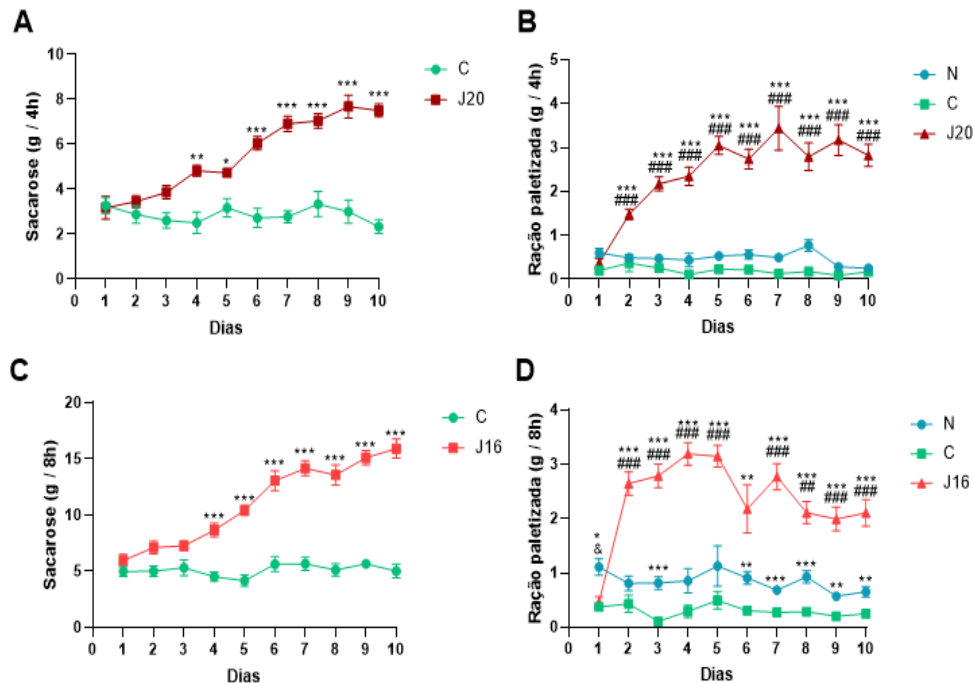


Figura 1. Quantificação da gramatura consumida pelos camundongos durante a indução do comportamento do tipo compulsivo alimentar. (A) Quantidade consumida de sacarose durante 4h/dia; (B) quantidade consumida de ração durante 4h/dia; (C) quantidade consumida de sacarose durante 8h/dia e (D) quantidade de consumo de ração durante 8h/dia. Análise realizada por ANOVA de duas vias e análises múltiplas/teste *post hoc* de Tukey. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ quando comparado com o controle e ### $p < 0,001$ quando comparado com o naive.

Já na análise da MAO-B do córtex pré-frontal (Figura 2B), observou-se uma redução na atividade enzimática no grupo J20. Isso sugere a possibilidade de uma maior concentração de dopamina na fenda sináptica [$F(3, 31) = 4,816$; $p = 0,0072$]. No hipocampo (Figura 2C), região conhecida pelo controle emocional e memória, houve um aumento da atividade da MAO-A nos grupos induzidos – J16 e J20, em relação ao naive [$F(3, 32) = 6,238$; $p = 0,0019$]. Além disso, no hipotálamo houve diminuição da atividade da MAO-B nos grupos J16 e J20, sendo mais significativo no segundo grupo mencionado (Figura 2E) [$F(3, 33) = 7,994$; $p = 0,0004$].

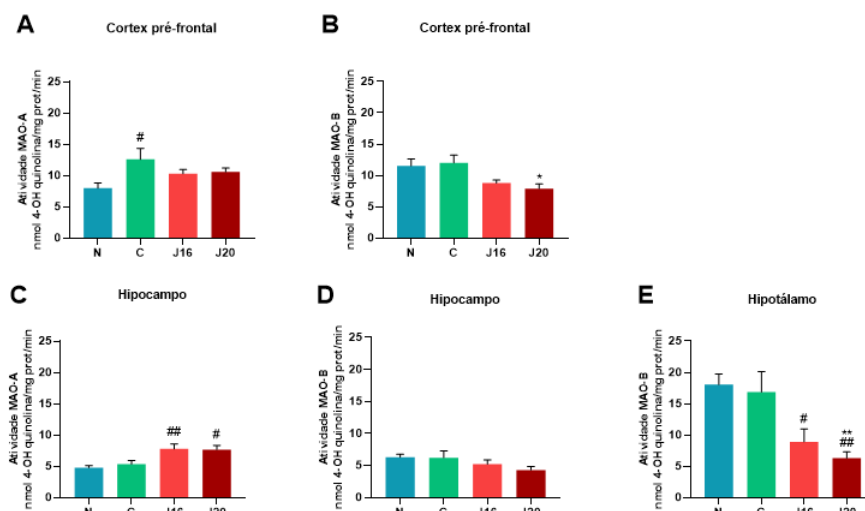


Figura 2 - Atividade da enzima MAO A e B em três estruturas cerebrais. (A) atividade da MAO-A no córtex pré-frontal; (B) atividade da MAO-B no córtex pré-frontal; (C) atividade da MAO-A no hipocampo; (D) atividade da MAO-B no hipocampo; (E) atividade da MAO-B no hipotálamo. Os valores são expressos como E.P.M. (n=8-11 camundongos/grupo). One-Way ANOVA/Tukey. *p<0,05 e **p<0,01 quando comparado ao grupo controle e #p<0,05 ##p<0,01 quando comparado ao grupo naive.

4.CONCLUSÃO

Em suma, o presente protocolo utilizando ambos os períodos de jejum (J16 e J20) foram eficazes na indução de comportamento de compulsão alimentar em camundongos fêmeas C57BL/6. Ao ser estudada a neurobiologia do transtorno pela via monoaminérgica, especificadamente por intermédio da diminuição ou aumento da atividade da enzima MAO, é sugerido um possível aumento de dopamina, o que ocorre em regiões da via de recompensa e do impulso, e uma possível diminuição de serotonina, neurotransmissor conhecido por inibir tal região.

5.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- American Psychiatric Association (APA). **Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais: DSM-5**. 5 Porto Alegre: Artmed, 2014.
- CUNNINGHAM, K. A.; ANASTASIO, N. C. Serotonin at the nexus of impulsivity and cue reactivity in cocaine addiction. **Neuropharmacology**, v. 76, p. 460-478, 2014.
- DE YOUNG KP, LAVENDER JM, CROSBY RD, WONDERLICH SA, et al. Bidirectional associations between binge eating and restriction in anorexia nervosa. An ecological momentary assessment study. **Appetite**, v. 83, p.69-74, 2014.
- IQBAL A, REHMAN A. Binge Eating Disorder. In: **StatPearls [Internet]**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023. PMID: 31869164
- KOLLA, N. J., & BORTOLATO, M. The role of monoamine oxidase A in the neurobiology of aggressive, antisocial, and violent behavior: A tale of mice and men. In **Progress in Neurobiology**, v. 194. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2020.101875>
- MIRANDA-OLIVOS R, AGÜERA Z, GRANERO R, VERGEER RR. Food addiction and lifetime alcohol and illicit drugs use in specific eating disorders. **J Behav Addict**, v. 11, n. 1, p. 102-115. 2022.
- NAKAOKA H, MOGI M, KAN-NO H, TSUKUDA K, et al. Angiotensin II type 2 receptor signaling affects dopamine levels in the brain and prevents binge eating disorder. **J Renin Angiotensin Aldosterone Syst**, v.16, n.4, p.749-57. 2015.
- REIS, D. J., ILARDI, S. S., NAMEKATA, M. S., WING, E. K., et al. The depressogenic potential of added dietary sugars. **Medical Hypotheses**, v. 134, 2020.
- YASOSHIMA Y, SHIMURA T. A mouse model for binge-like sucrose overconsumption: Contribution of enhanced motivation for sweetener consumption. **Physiol Behav**, v.138, p.154-64. 2015.