

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos
Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção



Dissertação

Estudo da compulsão alimentar associada ao comportamento do tipo depressivo em camundongos C57BL/6 fêmeas: padronização de um protocolo experimental envolvendo estresse e acesso intermitente à sacarose

Mariana Parron Paim

Pelotas, 2023

Mariana Parron Paim

Estudo da compulsão alimentar associada ao comportamento do tipo depressivo em camundongos C57BL/6 fêmeas: padronização de um protocolo experimental envolvendo estresse e acesso intermitente à sacarose

Dissertação apresentada no Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (Bioquímica e Bioprospecção).

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cristiani Folharini Bortolatto

Coorientador: Prof. Dr. César Augusto Brüning

Pelotas, 2023

P142e Paim, Mariana Parron

Estudo da compulsão alimentar associada ao comportamento do tipo depressivo em camundongos c57bl/6 fêmeas : padronização de um protocolo experimental envolvendo estresse e acesso intermitente à sacarose / Mariana Parron Paim ; Cristiani Folharini Bortolatto, orientadora ; César Augusto Brüning, coorientador. — Pelotas, 2023.

113 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Bioquímica e Bioprospecção, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, 2023.

1. Compulsão alimentar. 2. Depressão. 3. Via de recompensa. 4. Protocolo. 5. Sacarose. I. Bortolatto, Cristiani Folharini, orient. II. Brüning, César Augusto, coorient. III. Título.

CDD : 616.8528

Mariana Parron Paim

Estudo da compulsão alimentar associada ao comportamento do tipo depressivo em camundongos C57BL/6 fêmeas: padronização de um protocolo experimental envolvendo estresse e acesso intermitente à sacarose

Dissertação aprovada, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências (Bioquímica e Bioprospecção), Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas.

Data de defesa: 05 de maio de 2023.

Banca examinadora:

Cristiani Folharini Bortolatto

.....
Prof^a. Dr^a. Cristiani Folharini Bortolatto (Orientadora)

Doutora em Ciências Biológicas (Bioquímica Toxicológica) pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

Francieli Moro Stefanello

.....
Prof^a. Dr^a. Francieli Moro Stefanello

Doutora em Ciências Biológicas (Bioquímica) pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

Deniz

.....
Prof^a. Dr^a. Bruna Ferrary Deniz

Doutora em Neurociências pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

Dedico este trabalho a todos que sofrem diariamente
com qualquer doença mental, em especial
àqueles com algum transtorno alimentar. Que
todas as pessoas possam encontrar paz,
diariamente, para continuar vivendo sem ser
necessária a luta invencível contra a comida.

Agradecimentos

Agradeço a minha base: meus pais, avó e a minha irmã, que puderam me oferecer uma vida inteira voltada a educação. Eu pude aprender a valorizar os estudos, a ter um olhar crítico ao mundo e me apaixonar pela pesquisa através de vocês. E, para conseguir ir atrás dos meus sonhos eu me desprendi, saí de casa e - como sempre - demonstrava que essa era uma ação indolor para mim. Não foi. Desde 2015 longe de casa, a cada dia que passa, os quilômetros parecem só aumentar. Mas obrigada por terem me dado asas para voar, mas colo para voltar. Agradeço também as amizades que fiz desde então, minha estadia em Pelotas não seria a mesma, obrigada Lu, Paola e Isaías pelas distrações e pelo colo amigo. Mas, acima de tudo, agradeço ao Thiago por, junto comigo, ter formado nossa pequena família pelotense. Você é a única pessoa que sabe as coisas pelas quais passei nesses últimos anos, minhas dificuldades, minhas inúmeras vontades de desistir, minhas dores físicas e mentais. Você não deixou de estar ao meu lado um minuto. Muito obrigada. Não conseguiria sem você e nossos pequenos – Flocos, Sova e Manteiga. Obrigada as amizades que acabei por cativar na minha entrada ao laboratório, agradeço não só ao conhecimento que acabamos por dividir, mas sim pela amizade que surgiu. Agradeço a minha dupla de mestrado Larissa, que entrou comigo nessa e confiou em mim de olhos fechados, que dividiu comigo sonhos e medos. Obrigada a Dianer e Tacia, que foram surpresas especiais para mim, nutro um carinho incondicional por vocês. A Letícia que além de ter iniciado comigo como minha IC acabou por se tornar uma grande amiga e uma das que sempre me ajuda nos dias difíceis, não poderia deixar de agradecer a Tais que foi uma surpresa para mim, que a cada dia que passa aprendo mais com ela e diariamente me conquista com a pessoa incrível que é, e claro, agradeço pela Andriéli, que foi um grande presente pra mim, minha companheira de experimentos, de risadas e, muitas vezes de choro, obrigada por me mostrar que ainda existem pessoas puras no mundo. O mundo acadêmico não é recompensador, é fácil desistir se não tiver uma base sólida e vocês se tornaram minha base aqui dentro. Por fim, mas muito importante, gostaria de agradecer imensamente minha orientadora Cristiani e meu coorientador César, os dois desdobrarem-se para que nos tornemos alguém melhor. Obrigada Cris por todos os ensinamentos, por todo o tempo gasto comigo a fim de me passar conhecimento e de

proporcionar mais vontade de ir atrás dos meus sonhos. Obrigada por acreditar em mim e me apoiar sempre. Obrigada a banca avaliadora, pela disponibilidade em avaliar este trabalho e contribuir com nosso estudo. Sou um grão de areia perto de cada um quem me rodeia, mas me torno alguém graças a elas. À UFPel e ao PPGBBio pela oportunidade e a todo corpo docente pelo aprendizado. Ao Biotério Central da UFPel pela produção e fornecimento dos animais. À CAPES pelo financiamento.

*O inferno não são os outros, pequena Halla.
Eles são o paraíso, porque um homem sozinho é apenas um animal.
A humanidade começa nos que te rodeiam, e não exatamente em ti.
Ser-se pessoa implica a tua mãe, as nossas pessoas,
um desconhecido ou a sua expectativa.
Sem ninguém no presente nem no futuro,
o indivíduo pensa tão sem razão quanto pensam os peixes [...] não tens de estar sozinha.
Só sentir. Sentir, sim.
Estar, não. Até não te sentires sozinha.
(A desumanização – Valter Hugo Mãe, 2014 1ª ed).*

Resumo

PAIM, Mariana Parron. **Estudo da compulsão alimentar associada ao comportamento do tipo depressivo em camundongos C57BL/6 fêmeas: padronização de um protocolo experimental envolvendo estresse e acesso intermitente à sacarose.** Orientadora: Cristiani Folharini Bortolatto. 2023. 120f Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção – Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2023.

O transtorno de compulsão alimentar periódico é o distúrbio alimentar mais recorrente mundialmente, apresentando múltiplos mecanismos fisiológicos e neurais, como a disfunção do sistema monoaminérgico e do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA). Esse transtorno tem um impacto negativo à vida dos indivíduos acometidos e está geralmente acompanhado de outros transtornos psiquiátricos, como a depressão. A terapêutica atual, muitas vezes, não apresenta melhora significativa dos sintomas, se tornando relevante a busca por entender a complexa neuropatologia do transtorno compulsivo alimentar. Os objetivos deste estudo foram: I) fundamentar um protocolo experimental sólido a fim de mimetizar em animais o comportamento do tipo compulsivo alimentar e fenótipo do tipo depressivo através de acesso intermitente à solução de sacarose e jejum alimentar e II) investigar as possíveis alterações bioquímicas relacionadas com foco no sistema monoaminérgico e eixo HHA. Para isso, camundongos C57BL/6 fêmeas foram divididos em 4 grupos contendo medidas basais similares de peso corporal e ingesta: (I) Naive – com acesso contínuo à ração padrão; (II) Controle – com acesso contínuo à solução de sacarose 10% e ração padrão; (III) J16 – jejum por 16h seguido de acesso à solução de sacarose 10% e ração padrão por 8h; e (IV) J20 – jejum por 20h seguido de acesso à solução de sacarose 10% e ração padrão por 4h. Os animais passaram por uma indução sob tais condições por 10 dias. Após a indução para geração do comportamento do tipo compulsivo (11º dia), os animais foram submetidos ao teste de alimentação, teste de campo aberto (TCA), teste do labirinto em cruz elevado (TLCE), teste de suspensão pela cauda (TSC) e, no dia posterior (12º dia), ao teste de risco no claro/escuro (TRCE), seguido pela eutanásia. Foram retiradas estruturas cerebrais, hipocampo, córtex pré-frontal e hipotálamo, para analisar atividade das monoaminas oxidases (MAO) A e B, além do plasma para medição de corticosterona. O comportamento do tipo compulsivo alimentar e depressivo foi observado nos dois grupos jejuns, além disso esses grupos apresentaram aumento da corticosterona sanguínea, aumento da MAO-A hipocampal e diminuição da MAO-B no córtex pré-frontal e hipotálamo. Mas foi apenas no grupo J20 que os animais apresentaram comportamento de abstinência e do tipo impulsivo, nos aparatos TRCE e TLCE. Ademais, foi observado que os animais que receberam sacarose de forma contínua tiveram diminuição da locomoção no TCA e aumento da MAO-A no córtex pré-frontal. Em conclusão, nossos dados sugerem que embora o J16 possa induzir o comportamento comórbido em camundongos C57BL/6 fêmeas, o J20 foi o mais legítimo para gerar o comportamento do tipo compulsivo alimentar associado ao fenótipo do tipo depressivo, com características de abstinência pelo alimento palatável. Portanto, este protocolo poderá ser futuramente empregado para a avaliação de candidatos para o tratamento da compulsão alimentar associada à depressão.

Palavras-chave: Transtorno compulsivo alimentar periódico. Depressão. Palatabilidade. Jejum. Monoamina oxidase. C57BL/6.

Abstract

Paim, Mariana Parron. **Study of binge eating associated with depressive-like behavior in female C57BL/6 mice: standardization of an experimental protocol involving stress and intermittent access to sucrose.** Advisor: Cristiani Folharini Bortolatto. 2023. 120f. Dissertation (Master of Science) - Biochemistry and Bioprospecting Postgraduate Program - Center for Chemical, Pharmaceutical and Food Sciences, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2023.

Binge eating disorder is the most prevalent eating disorder globally, characterized by multiple physiological and neural mechanisms, including dysfunction of the monoaminergic system and the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis. This disorder has a detrimental impact on individuals' lives and is frequently accompanied by other psychiatric conditions such as depression. Current treatments often fail to yield significant symptom improvement, underscoring the need to comprehend the intricate neuropathology of compulsive eating disorder. The objectives of this study were twofold: I) to establish a robust experimental protocol for replicating compulsive eating behavior and depressive phenotypes in animals through intermittent access to sucrose solution and food fasting, and II) to investigate potential biochemical alterations focusing on the monoaminergic system and the HPA axis. Female C57BL/6 mice were divided into four groups, matched for baseline body weight and food intake: (I) Naive - continuous access to standard chow; (II) Control - continuous access to a 10% sucrose solution and standard chow; (III) J16 - 16-hour fasting followed by 8-hour access to a 10% sucrose solution and standard chow; and (IV) J20 - 20-hour fasting followed by 4-hour access to a 10% sucrose solution and standard chow. The animals underwent induction under these conditions for 10 days. After the induction to generate compulsive-like behavior (11th day), the animals underwent the feeding test, open field test (OFT), elevated plus maze test (EPMT), tail suspension test (TST), and, on the following day (12th day), the light/dark conflict test (LDCT), followed by euthanasia. Brain structures, including the hippocampus, prefrontal cortex, and hypothalamus, were extracted to analyze the activity of monoamine oxidases (MAOs) A and B, and plasma samples were collected to measure corticosterone levels. Both fasting groups exhibited compulsive eating and depressive-like behavior, along with increased blood corticosterone levels, elevated hippocampal MAO-A activity, and decreased MAO-B activity in the prefrontal cortex and hypothalamus. Notably, only the J20 group displayed abstinence and impulsive behavior in the LDCT and EPMT tasks. Additionally, continuous sucrose exposure led to reduced locomotion in the OFT and increased prefrontal cortex MAO-A activity. In conclusion, our findings suggest that while J16 may induce comorbid behavior in female C57BL/6 mice, J20 was the most reliable method for generating binge-eating-like behavior associated with a depressive-like phenotype, characterized by withdrawal from palatable food. Thus, this protocol may have future applications in evaluating potential treatments for binge eating disorder comorbid with depression.

Keywords: Binge eating disorder. Depression. Reward system. Protocol. Sucrose. Fast. C57BL/6.