

PROTOCOLO PILOTO PARA O ESTUDO DE COMPORTAMENTO COMPULSIVO ALIMENTAR EM CAMUNDONGOS C57BL/6 MACHOS

ALINE PETER KRÜGER¹; MARIANA PARRON PAIM²; DIANER NORNBERG;
ANELIZE DE OLIVEIRA CAMPELLO FELIX, CRISTIANI FOLHARINI BORTO-
LATTO³

^{1,2,3} Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – Laboratório de Bioquímica e Neurofarmacologia Molecular (LABIONEM) – aline.peterkruger@hotmail.com, maa_paim@hotmail.com, strelowdianer@gmail.com, anelizecampellofelix@gmail.com, cbortolato@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

As mudanças de comportamento, incluindo o alimentar, são entendidas como resultados de diversos processos de aprendizagem, algumas sendo consequências de uma associação que um indivíduo faz entre estímulos neutros, emoções intensas e situações de estresse (ALVARENGA et al., 2019). Como exemplo de fator estressante tem-se o jejum, em que a restrição gera uma sensação de privação, não apenas biológica, mas também psicológica (ALVARENGA et al., 2019). Embora o comportamento alimentar não possa ser considerado “viciante” em circunstâncias normais, as pessoas podem se tornar “viciadas” nesse comportamento, da mesma forma que algumas pessoas são viciadas em drogas, de modo que caminhos neurais semelhantes são compartilhados nestas situações (NOVELLE & DIÉGUEZ, 2018).

Neste sentido, uma significativa parcela da população sofre com o transtorno da compulsão alimentar periódica (TCAP) que se trata de uma síndrome caracterizada por episódios recorrentes de compulsão alimentar, sem qualquer comportamento de compensação para evitar um possível ganho de peso (AZEVEDO et al., 2004). Emoções negativas e estratégias de regulação emocional mal adaptadas desempenham um papel no início e manutenção da compulsão alimentar no TCAP (DINGEMANS et al., 2017).

A farmacoterapia para o tratamento da TCAP é limitada e, desta forma, há necessidade de desenvolvimento de novos medicamentos efetivos. Para este fim, a pesquisa pré-clínica é de suma importância. Para a realização da triagem de novas moléculas candidatas, são usualmente empregados modelos animais, em especial, os roedores (ratos e camundongos). Porém, ao revisar a literatura científica, os modelos experimentais são amplamente variados, e os artigos já existentes na literatura trazem, muitas vezes, protocolos geralmente longos e de difícil replicabilidade (ROMANO et al., 2020).

Desta forma, o objetivo do presente estudo foi possibilitar a validação de um protocolo de compulsão alimentar de curta duração com a oferta de solução de sacarose em camundongos C57BL/6 machos, analisando, em especial, diferentes tempos de jejum alimentar para a indução de tal comportamento. Adicionalmente, também foi proposta deste estudo incluir um grupo *naïve* para fins de comparação ao grupo controle e àqueles que passam por períodos de jejum alimentar.

2. METODOLOGIA

2.1 Animais e grupos experimentais

O estudo, baseado em achados da literatura (YASOSHIMA et al., 2015), foi realizado com 40 camundongos machos da linhagem C57BL/6, com peso aproximado de 20 – 25g (~ 60 dias). Os animais foram provenientes do Biotério Central

da UFPel. Eles foram divididos em 4 grupos experimentais ($n=10/\text{grupo}$) denominados grupos naïve (N), controle (C), jejum por 16 horas (J16) e jejum por 20 horas (J20).

Os animais inicialmente foram ambientados à sala de experimentação do biotério. Após, eles passaram por um período de triagem para medidas basais e, a seguir, pelo protocolo de treinamento para indução do comportamento alimentar compulsivo (10 dias).

Durante o período de triagem, todos os camundongos receberam água e ração peletizada *ad libitum*. Foram contabilizados os valores basais de consumo alimentar e hídrico bem como a variação de peso corporal destes animais para a adequada distribuição dos animais em seus grupos experimentais, *i.e.*, de forma que a média dos parâmetros analisados fossem semelhantes entre os grupos, antes do início da fase de indução de compulsão alimentar.

Durante os 10 dias seguintes, cada grupo de animais esteve sob uma condição experimental. O grupo naïve, ou seja, aquele que não sofreu nenhuma intervenção experimental, continuou recebendo água e ração *ad libitum*. Já o grupo controle recebeu água, ração e solução de sacarose 10% *ad libitum*. O grupo J16 teve acesso à água, ração e solução de sacarose 10% por 8h (8:00-17:00h), permanecendo o restante do tempo sob jejum alimentar com água disponível. Por fim, o grupo J20 recebeu água, ração e solução de sacarose 10% por apenas 4h (8:00-13:00h), permanecendo o restante do tempo em jejum alimentar (*ad libitum*).

2.2 Análises estatísticas

A análise estatística foi realizada pelo software GraphPad Prism 8.0.2 através de análise de variância ANOVA de uma via seguida pelo teste *post hoc* de Tukey para dados da triagem. Para o protocolo de treinamento, utilizou-se a análise de variância ANOVA de duas vias seguida de teste *post hoc* de Sidak. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 estão mostrados os resultados do consumo basal de ração ($F_{(3,36)}=0,2323$; $p < 0,8733$) (Fig.1A), água ($F_{(3,36)}=0,08294$; $p < 0,9689$) (Fig. 1B) e a variação do peso corporal ($F_{(3,36)}=0,3273$; $p < 0,8056$) (Fig.1C) durante a triagem. Esses dados mostram que os animais foram distribuídos igualmente entre os grupos, não havendo diferença significativa da ingesta e variação de peso corporal. Sendo assim, nenhuma dessas características influenciaram os animais no protocolo.

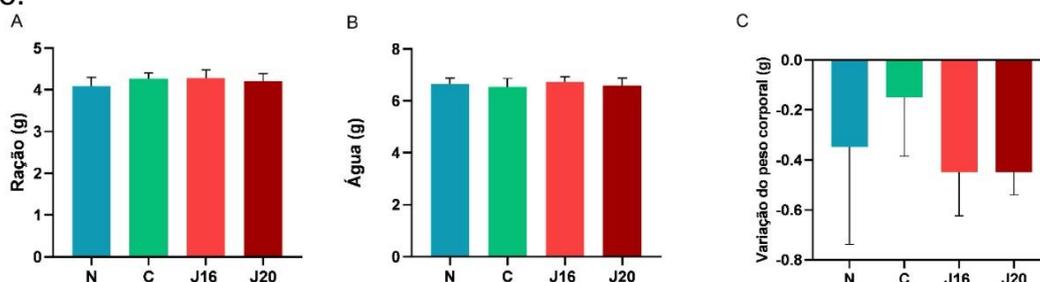


Figura 1. Consumo basal de ração, água e variação do peso corporal de camundongos durante a triagem. (A) Ingesta de ração; (B) Consumo de água; (C) variação do peso corporal. Os valores estão expressos como média \pm E.P.M ($n = 10$). ANOVA de uma via/Tukey.

Os resultados referentes ao período de treinamento para indução do comportamento alimentar compulsivo estão ilustrados na Figura 2. Conforme demonstrado na Fig. 2A, observou-se que o grupo controle manteve um consumo linear de sacarose ao longo dos dias, enquanto o grupo J20, a partir do 4º dia, aumentou significativamente o consumo de sacarose, havendo a partir de então diferenças significativas entre os grupos ($F_{(9, 168)}=6,117$; $p < 0,0001$). Para este grupo (J20), ressalta-se que o consumo desta solução foi aumentando de forma gradual. Paralelamente, conforme indicado pela Fig. 2C, pode ser constatado que o grupo J16 também foi capaz de induzir incrementos significativos no consumo de sacarose (a partir do dia 3) ($F_{(9, 168)}=6,158$; $p < 0,0001$). Porém este aumento sofreu uma espécie de platô de consumo entre os dias 6 e 10.

Ao se analisar o consumo de ração, parâmetro para o qual o grupo naive está incluso, verificou-se que não houve diferenças significativas entre grupo controle e naive, e que ambos mantiveram um consumo linear ao longo dos dias. Já o grupo J20 apresentou um aumento significativo a partir do dia 2, que foi sendo incrementado gradualmente ao longo dos demais dias de treinamento ($F_{(18, 258)}=4,828$; $p < 0,0001$) (Fig. 2B). O grupo J16 também apresentou diferenças significativas a partir do dia 2 em relação ao consumo de ração, porém com um perfil aparentemente diferente do J20 (entre os dias 6-10) ($F_{(18, 257)}=7,405$; $p < 0,0001$)

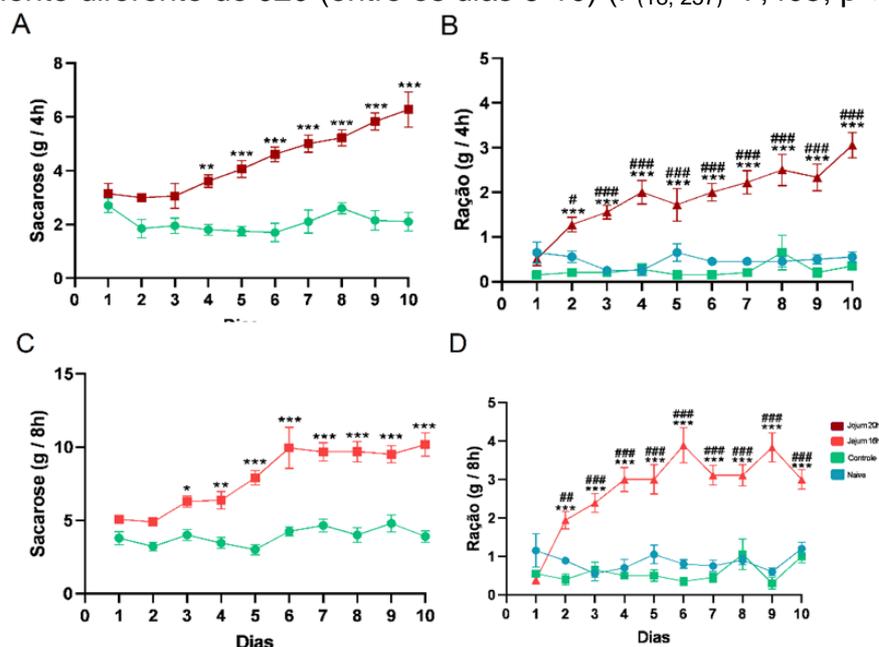


Figura 2. Consumo de solução de sacarose 10% e de ração ao longo do período de treinamento para a indução de compulsão alimentar em camundongos. (A) Comparação entre o consumo de sacarose pelo grupo controle e J20; (B) Comparação entre o consumo de ração pelos grupos controle, naive e J20; (C) Comparação entre o consumo de sacarose entre os grupos controle e J16; (D) Comparação entre o consumo de ração entre os grupos controle, naive e J16. Os valores estão expressos como média \pm E.P.M ($n = 10$). ANOVA de duas vias/Sidak. Asteriscos denotam diferenças de J16 ou J20 em relação ao grupo controle e sustentados em relação ao grupo naive.

A Figura 3 mostra os resultados da variação de peso corporal ($F_{(3, 36)}=48,58$; $p < 0,0001$) e consumo calórico total ($F_{(27, 326)}=7,118$; $p < 0,0001$) durante o período de treinamento para a indução de compulsão alimentar em camundongos. Em relação à variação de peso corporal (Fig. 3A), houve diferença significativa entre os grupos naive e J16, J20 e controle; J20 e naive; e J16 e J20.

Ainda, quanto a diferença no consumo calórico entre os grupos (Fig. 3B), observa-se que houve diferença significativa de consumo entre os grupos, com

um perfil similar ao observado para os parâmetros de consumo de ração e de solução de sacarose isolados ($F_{(27, 326)}=7,118$; $p < 0,0001$). Ressalta-se que no último dia, apesar de o grupo J20 ter tido menor tempo disponível para alimentar-se, o consumo calórico entre J16 e J20 foi similar, indicando que provavelmente um jejum alimentar de 20 horas seja o protocolo mais efetivo para a indução do comportamento de compulsão alimentar.

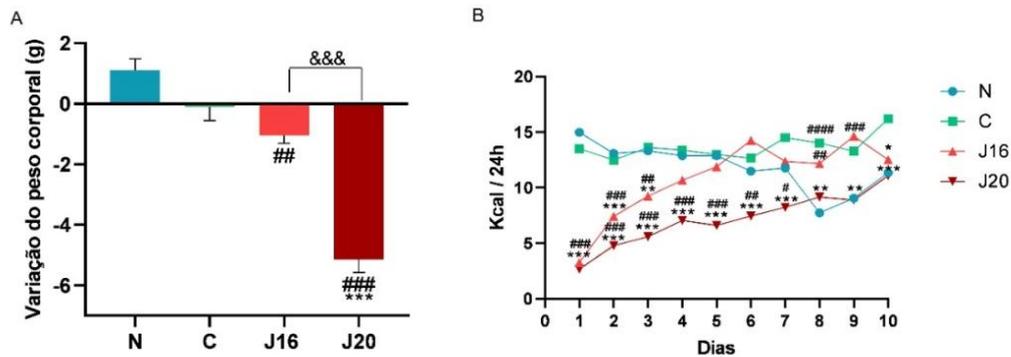


Figura 3. Variação de peso corporal (A) e consumo calórico total (ração + sacarose) (B) durante o período de treinamento para a indução de compulsão alimentar em camundongos. Os valores estão expressos como média \pm E.P.M ($n = 10$). ANOVA de uma via/Tukey (A) e ANOVA de duas vias/Sidak (B).

4. CONCLUSÕES

Diante do exposto, conclui-se que o período de jejum alimentar de 16 horas é capaz de induzir o comportamento compulsivo alimentar em camundongos C57BL/6 machos, o que poderia minimizar o grau de estresse por privação de alimento. Porém, o tempo de jejum alimentar de 20 horas parece produzir uma resposta de compulsão alimentar mais efetiva que o de 16 horas, dada a natureza do aumento gradual de ingesta observado. Estes achados nos auxiliam na escolha de futuros modelos de compulsão alimentar para o estudo de novas terapias em potencial para o tratamento deste transtorno psiquiátrico.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVARENGA, M; et al. **Nutrição Comportamental**. Barueri – São Paulo: Manole, 2019, 2ª edição.
- NOVELLE MG, DIÉGUEZ C. Food Addiction and Binge Eating: Lessons Learned from Animal Models. **Nutrients**; v. 10, n. 1 p.71; 2018.
- DE AZEVEDO, et al. Transtorno da compulsão alimentar periódica. **Arch. Clin. Psychiatry** v. 31, p. 170-172, 2004.
- DINGEMANS A, et al. Emotion Regulation in Binge Eating Disorder: A Review. **Nutrients**. v.9, n.11, p.1274, 2017.
- ROMANO, A; et al. Oleoylethanolamide decreases frustration stress-induced binge-like eating in female rats: a novel potential treatment for binge eating disorder. **Neuropsychopharmacology**. V.45, n.11, p.1931-1941, 2020.
- 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.