

Madge Farias Fachine

Programação por desnutrição precoce:
Estudo em modelo animal de distúrbio alimentar

Recife

2010

Madge Farias Fachine

Programação por desnutrição precoce: Estudo em modelo animal de
distúrbio alimentar.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de Mestre em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento.

Orientadora: Dra. Sandra Lopes de Souza

Co-orientador: Dr. Francisco Bolaños Jimenez

Recife

2010

Fechine, Madge Farias

Programação por desnutrição precoce: estudo em modelo animal de distúrbio alimentar / Madge Farias Fechine. – Recife: O Autor, 2010.

48 folhas: il., fig., tab.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Neuropsiquiatria e Ciências do comportamento, 2010.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Nutrição. 2. Programação. 3. Compulsão alimentar. 4. Desnutrição perinatal. 5. Ratas. I. Título.

612.39
612.39

CDU (2.ed.)
CDD (20.ed.)

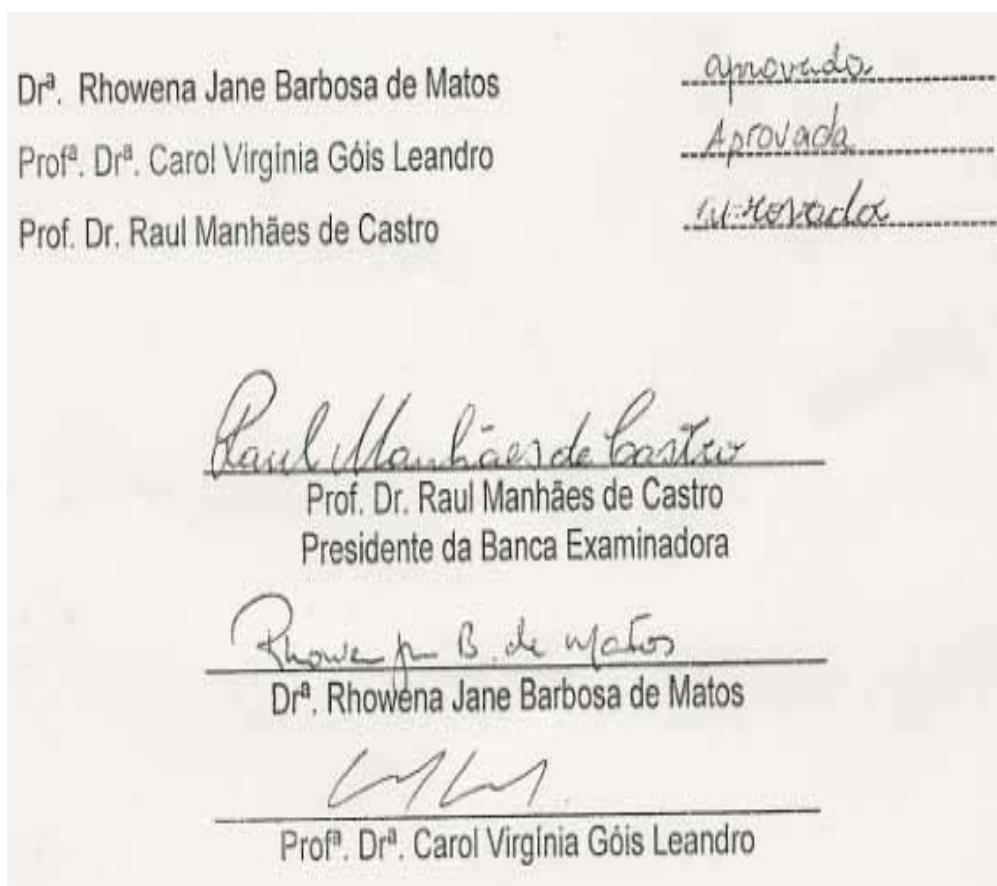
UFPE
CCS2010-109

Madge Farias Fechine

Programação por desnutrição precoce:

Estudo em modelo animal de distúrbio alimentar

Dissertação aprovada em 22 de Fevereiro de 2010.



Recife

2010

A minha família:
longe dos olhos, mas sempre perto do coração.

Agradecimentos

Primeiramente a Deus, por ter proporcionado conhecimento e encontros durante esta minha nova etapa profissional.

A minha família por reconhecer o meu esforço durante todo este tempo que estive buscando meus objetivos.

Especialmente a minha irmã Ingrid, que sempre se preocupou comigo de forma fraterna e acreditou intensamente em meus sonhos.

A minha orientadora, Sandra Lopes, a quem carinhosamente chamo de professora, por ter me guiado neste trabalho. Saiba que te admiro muito e guardei cada palavra a cada encontro.

Ao meu co-orientador, professor Francisco, por sua disponibilidade e atenção, assim como pela sua simpatia.

Ao meu querido professor Raul, pela sua competência humana e profissional, pelo seu altruísmo e seus conselhos de pai. Que Deus sempre te presenteie com a sabedoria.

A todos, sejam professores e alunos de várias patentes, que compõem o grupo Nutrição, Neuropsicofarmacologia e Imunidade (NNI). Espero que sucesso sempre acompanhe a vida de cada um e que Deus abençoe cada escolha.

A todos que estiveram presentes na minha rotina de vida, bastante intensa, no Anexo de Anatomia onde foram realizados meus experimentos. Jamais vou esquecer os “retiros intelectuais”, noites de experimento, estudo, pesquisa bibliográfica e amizade. Todos contribuíram de forma direta e/ou indireta para meu crescimento profissional e pessoal. Lembrarei com muito carinho de todos aqueles momentos, mesmo os mais difíceis.

Agradeço a CAPES pelo apoio financeiro e a todos que compõem o Programa de Pós-graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento, pela receptiva acolhedora dos professores, da secretaria e dos colegas, como também pelo conhecimento durante as aulas.

De forma geral, agradeço bastante a todos que passaram pela minha vida durante estes dois anos de mestrado.

Resumo

A ocorrência de eventos adversos no início da vida favorece adaptações orgânicas e o surgimento de doenças metabólicas na vida adulta. Esses eventos indicam que o organismo foi capaz de se adaptar e programar seu metabolismo para sua sobrevivência. A desnutrição perinatal pode programar o controle do comportamento alimentar e predispor os indivíduos a patologias associadas ao desequilíbrio do balanço energético. Dessa maneira, o presente estudo tem como objetivo analisar a vulnerabilidade ao desenvolvimento de compulsão alimentar na vida adulta em organismos que foram desnutridos durante o período perinatal. Foram utilizadas ratas da linhagem Wistar submetidas à desnutrição protéica durante o período de gestação e lactação. Foi utilizado modelo animal de compulsão alimentar constituído por três ciclos consecutivos de restrição alimentar (40%) e realimentação (com acesso limitado à dieta hipercalórica). Foram formados os grupos: Controle (C) e controle restrito (CR), desnutrido (D) e desnutrido restrito (DR). O protocolo foi aplicado aos 52 dias de vida. Ao final dos três ciclos de restrição/realimentação foi realizado teste alimentar com aferição de ingestão de dieta hipercalórica 1, 2, 4, 6 e 24 horas após sua oferta. Quando os animais desnutridos entraram em contato com a dieta hipercalórica, no primeiro ciclo, apresentaram maior ($p < 0,05$) ingestão de calorias ($22,1 \pm 3,1$) comparada aos controles ($11,9 \pm 3,8$). Os animais com histórico de desnutrição perinatal apresentaram maior percentual de perda de peso corporal nos períodos de restrição do segundo (CR $-10,2 \pm 2,2$; DR $-12,2 \pm 1,4$) e do terceiro (CR $-10,6 \pm 1,5$; DR $-12,2 \pm 1,3$) ciclo R-R. Durante os períodos de realimentação, houve um maior ganho de peso no segundo (CR $17,9 \pm 2,3$; DR $21,2 \pm 3,2$) e no terceiro (CR $15,2 \pm 2,4$; DR $20,6 \pm 3,2$) ciclo R-R. O grupo DR apresentou maior consumo de dieta hipercalórica após 2hs (D: $18,9 \pm 2,7$; DR: $26,2 \pm 5,1$), 4hs (D: $25,4 \pm 2,8$; DR: $33,8 \pm 6,3$), 6hs (D: $30,7 \pm 2,9$; DR: $38,2 \pm 5,3$) e 24hs (D: $56,9 \pm 6,8$; DR: $68,4 \pm 8,4$) após sua oferta. O grupo CR apresentou aumento apenas após 2hs (C: $21,1 \pm 1,8$; CR: $25,8 \pm 4,2$) e 24hs (C: $52,7 \pm 3,5$; CR: $61,3 \pm 6,4$). Partindo da hipótese que a desnutrição perinatal pode ser um fator predisponente ao surgimento de distúrbios alimentares, nossos resultados podem confirmar essa relação particularmente em relação à compulsão alimentar. Com o modelo experimental utilizado podemos demonstrar que a desnutrição perinatal programa o organismo para adaptações mais intensas à utilização e aquisição de energia frente a episódios de restrição alimentar. Quando esses episódios são recorrentes e intermediados por períodos de realimentação poderão conduzir o organismo ao desenvolvimento de um quadro patológico de compulsão alimentar.

Palavras-chave: programação, compulsão alimentar, desnutrição perinatal, ratas.

Abstract

The occurrence of adverse events in early life promotes organic adaptations and the emergence of metabolic diseases in adulthood. These events indicate that the organism was able to adapt and plan your metabolism for survival. The perinatal malnutrition can program the control of feeding behavior and predispose individuals to diseases associated with imbalance of energy balance. Thus, this study aims to analyze the vulnerability to the development of binge eating during adulthood in organisms that were malnourished during the perinatal period. We used Wistar rats subjected to malnutrition during gestation and lactation. We used animal model of binge eating consists of three consecutive cycles of food restriction (40%) and feedback (with limited access to high calorie diet). Groups were formed: control (C) control and restricted (CR), malnutrition (D) and malnourished restricted (DR). The protocol was applied at 52 days of life. After three cycles of restriction / refeeding test was performed with measurement of food intake of high calorie diet 1, 2, 4, 6 and 24 hours after your offer. When the malnourished animals came into contact with the high calorie diet in the first round, had a higher ($p < 0.05$) caloric intake (22.1 ± 3.1) compared to controls (11.9 ± 3.8). Animals with a history of perinatal malnutrition showed a higher percentage of weight loss during periods of the second restriction (CR -10.2 ± 2.2 ; DR -12.2 ± 1.4) and third (CR $-10, 6 \pm 1.5$; DR -12.2 ± 1.3) RR cycle. During periods of feedback, there was a greater weight gain in the second (CR 17.9 ± 2.3 ; DR 21.2 ± 3.2) and third (CR 15.2 ± 2.4 ; DR 20.6 ± 3.2) RR cycle. The DR group had a higher consumption of high calorie diet after 2hs (D: 18.9 ± 2.7 ; DR: 26.2 ± 5.1), 4 hrs (D: 25.4 ± 2.8 , DR: $33.8 \pm 6, 3$), 6hs (D: 30.7 ± 2.9 ; DR: 38.2 ± 5.3) and 24 hours (D: 56.9 ± 6.8 ; DR: 68.4 ± 8.4) after your offer. The CR group showed an increase only after 2hs (C: 21.1 ± 1.8 , CR: 25.8 ± 4.2) and 24 hours (C: 52.7 ± 3.5 , CR: $61.3 \pm 6, 4$). Assuming that perinatal malnutrition may be a predisposing factor to the emergence of eating disorders, our results may confirm this relationship particularly in relation to binge eating. With the experimental model used can show that perinatal nutrition program the body to adjustments more intense the use and purchase of energy forward to episodes of food restriction. When these episodes are recurrent and mediated by periods of feedback can cause the body to the development of a pathological binge eating.

Keywords: programming, binge eating, malnutrition, perinatal, rats.

Lista de figuras

	Página
Tabela 1 - Composição das dietas experimentais com diferentes teores de proteína oferecidas durante o período de gestação e lactação.	20
Figura 1 - Grupos utilizados nos protocolos experimentais de compulsão alimentar.	20
Tabela 2 - Análises Físico-Químicas de Dieta palatável utilizada nos protocolos experimentais de compulsão alimentar.	22
Figura 2 - Esquema do protocolo experimental de compulsão alimentar.	23
Figura 3. Peso corporal e ingestão alimentar de ratos submetidos à desnutrição perinatal.	24
Figura 4. Variações do peso corporal (%) durante o primeiro ciclo de restrição e realimentação.	25
Figura 5. Ingestão alimentar padrão (A) ou hipercalórica (B) durante primeira realimentação do protocolo de compulsão alimentar.	26
Figura 6. Variações do peso corporal (%) durante o segundo ciclo de restrição e realimentação.	27
Figura 7. Ingestão alimentar de dieta padrão (A) ou hipercalórica (B) durante segunda realimentação do protocolo de compulsão alimentar.	28
Figura 8. Variações do peso corporal (%) durante o terceiro ciclo de restrição e realimentação.	29
Figura 9. Ingestão alimentar de dieta padrão (Labina®) durante a terceira realimentação do protocolo de compulsão alimentar.	30
Figura 10- Teste alimentar após os três ciclos de restrição e realimentação em animais controle.	31
Figura 11- Teste alimentar após três ciclos de restrição e realimentação em animais desnutridos.	32
Figura 12- Teste alimentar após três ciclos de restrição e realimentação.	33

Sumário

	Página
1. Apresentação	10
2. Revisão da Literatura	11
3. Hipótese	17
4. Objetivos	18
4.1 Objetivo Geral	18
4.2 Objetivos Específicos	18
5. Materiais e Métodos	19
5.1 - Animais	19
5.2 - Manipulação Nutricional	19
5.3 - Protocolo de Compulsão Alimentar	21
5.4 - Análise Estatística	23
6. Resultados	24
6.1 - Peso Corporal e Ingestão Alimentar Inicial	24
6.2 - Resultados do Primeiro Ciclo Restrição - Realimentação (R-R)	25
6.2.1 - Peso Corporal	25
6.2.2 - Ingestão Alimentar	26
6.3 - Resultados do Segundo Ciclo Restrição-Realimentação (R-R)	27
6.3.1 - Peso Corporal	27
6.3.2 - Ingestão Alimentar	28
6.4 - Resultados do Terceiro Ciclo Restrição-Realimentação (R-R)	29
6.4.1 - Peso Corporal	29
6.4.2 - Ingestão Alimentar	30
6.5 - Resultados do Teste Alimentar	31
7. Discussão	34
8. Conclusão	38
9. Referências Bibliográficas	39
10. Anexos	47
Anexo A - Parecer do Comitê de Ética em Experimentação Animal(CEAA) da UFPE	47
Anexo B - Análises Físico-Químicas de Dieta Hipercalórica	48

1- Apresentação

Na histórica das civilizações, a procura por alimento tem sido relacionada às necessidades energéticas e ao ritmo de vida nômade. Até então, havia uma necessidade em consumir alimentos em grande quantidade e alto valor calórico, pois era incerta a oportunidade de uma nova refeição. Estes argumentos foram utilizados até o século passado por causa das grandes guerras e dos conflitos políticos em países subdesenvolvidos. É preocupante constatar que atualmente, esta antiga relação entre o homem e o alimento vem sendo incorporada como um hábito alimentar nas sociedades modernas. Assim, produtos sintéticos e industrializados de alta caloria estão sendo adquiridos de forma frenética pela sociedade moderna, que reduziu consideravelmente o gasto energético devido ao conforto que a tecnologia oferece e conseqüentemente promove o sedentarismo. Os alimentos vêm sendo processados e manipulados das mais variadas formas, visando alcançar todas as fronteiras, sejam elas sociais ou culturais. Também, a manipulação de alimentos transgênicos e a síntese de compostos, visando atrair o paladar que estão em moda, fato que nos remete a analisar nossa conduta diante do consumismo desnecessário. Entretanto, a conduta alimentar anteriormente citada acarreta mudanças metabólicas muitas vezes de difícil controle, sendo a obesidade bastante temida e evitada através de regimes rigorosos e mal direcionados. Assim, um conjunto de aspectos que incluem o desejo de possuir a forma corporal socialmente admirada, o consumo de alimento de alta caloria, estresse no ambiente social, exercícios físicos em excesso e até comportamentos estereotipados, tais quais provocar vômitos, favorecem o surgimento de distúrbios alimentares. Os transtornos alimentares compulsivos, do inglês “binge eating disorders”, estão sendo alvo de pesquisas desde meados do século passado, tendo a privação e restrição de alimento durante a 2ª Guerra Mundial uma importância singular para a permanência de compulsão por alimento altamente calórico.

Nesta perspectiva, esta dissertação proveniente do Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento, prescrita de acordo com a “Regulamentação da defesa e normas de apresentação dos Programas de Pós-Graduação do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco” analisara a relação entre desnutrição perinatal e suas repercussões sobre a susceptibilidade para o desenvolvimento de episódios de compulsão alimentar na vida adulta.

2- Revisão de Literatura

A programação metabólica

No final do século passado estudos epidemiológicos correlacionaram o baixo peso corporal ao nascer ao desenvolvimento de doenças crônicas na vida adulta, tais como hipertensão arterial, diabetes tipo II e obesidade (Hales & Barker, 1992). A observação deste fenômeno resultou na “hipótese do fenótipo protetor”, que sugere a adaptação morfofuncional de vários sistemas orgânicos ao ambiente pobre em nutrientes para garantir sua sobrevivência. No entanto, ocorrerá incompatibilidade da maquinaria metabólica do indivíduo quando o ambiente nutricional posterior é abundante desencadeando patologias que constituirão a síndrome metabólica (Hales & Barker, 1992; Barker *et al.*, 1993). O termo “*programação*” é utilizado para indicar tal relação (Lucas, 1991).

Durante períodos iniciais da vida ocorre o desenvolvimento rápido do sistema nervoso, o que caracteriza maior vulnerabilidade a influências ambientais (Morgane *et al.*, 1993; Simmons, 2005; McMillen, *et al.*, 2005). Nessa fase ocorrem os processos de diferenciação neural, sinaptogênese, mielinização e multiplicação glial que podem ser alterados pelo ambiente nutricional (Resnick *et al.*, 1979). A má nutrição, ou mesmo intervenções farmacológicas, em fases críticas para o desenvolvimento orgânico acarretam alterações morfofuncionais e neurais com consequências permanentes (Morgane *et al.*, 1993; Manhães-de-Castro *et al.*, 1993; Manhães-de-Castro *et al.*, 2001; de Moura e Passos, 2005). Em ratos, pode ser observado padrão comportamental modificado, como aumento de atividade exploratória, déficit de aprendizado, maior agressividade e responsividade a drogas (Morgane *et al.*, 1993; Barreto-Medeiros *et al.*, 2004; Manhães de Castro *et al.*, 2001; Lopes de Souza *et al.*, 2008). Em ratos e em humanos, o perfil metabólico é caracterizado por dislipidemias, resistência a insulina, hiperglicemia entre outros (Vickers *et al.*, 2000; Hales & Baker, 1992). Níveis de peptídeos e neurotransmissores também são alterados pela desnutrição, assim podemos identificar redução nas concentrações de serotonina e pro-opiomelanocortina, dois agentes anorexigênicos (Manjarrez *et al.*, 1998; Lopes de Souza *et al.*, 2008). Quando ratas são submetidas à restrição calórica (Vickers *et al.*, 2000) ou protéica (Bellinger *et al.*, 2004) durante a gestação, seus filhotes apresentam retardo no crescimento intra-uterino e baixo peso ao nascer. Após desmame, quando a oferta de alimento é equilibrada ou maior que aquela

durante os períodos de gestação e lactação, ocorrerá crescimento corporal intenso, fenômeno descrito como *catch up* do crescimento (Bellinger *et al.*, 2004). Na vida adulta esses animais apresentarão padrão alimentar hiperfágico (Vickers *et al.*, 2000; Lopes de Souza *et al.*, 2008). A recuperação nutricional não poderá reverter os danos metabólicos advindos dos períodos iniciais da vida (Barreto-Medeiros *et al.*, 2004; Resnick & Morgane, 1984). Conforme exposto, são conhecidas várias ações de manipulações perinatais sobre os sistemas orgânicos com subseqüentes repercussões irreversíveis na vida adulta. No entanto, poucos estudos têm descrito repercussões de manipulações precoces sobre a vulnerabilidade para desenvolvimento de comportamento alimentar desordenado, particularmente episódios de consumo alimentar compulsivo na vida adulta.

O controle do balanço energético

A manutenção do balanço energético é submetido a mecanismos complexos de regulação que compreendem a integração de vários sinalizadores dos níveis de energia provenientes do trato gastrointestinal, do pâncreas, do fígado ou do tecido adiposo (Morton *et al.*, 2006). No hipotálamo, esses sinais são traduzidos em sensação de fome ou de saciedade (Wynne *et al.*, 2005). Cada núcleo hipotalâmico desempenha papéis específicos na manutenção da homeostase energética e do peso corporal (Kalra *et al.*, 1999; Plagemann *et al.*, 2000). Assim, o Núcleo Arqueado (Arc) contém dois grupos de neurônios: aqueles co-produtores da Proteína Relacionada ao Agouti (AGRP) e do Neuropeptídeo Y (NPY); e aqueles que co-produzem a Pro-opiomelanocortina (POMC), e o Transcrito Regulado pela Cocaína e Anfetamina (CART). A estimulação de neurônios AGRP e NPY favorece a ingestão alimentar e reduz o gasto energético, enquanto a estimulação dos neurônios POMC e CART provoca efeito oposto (Morton *et al.*, 2006). Devido sua localização mais periférica e falha na barreira hematoencefálica, o núcleo arqueado interage diretamente com sinais da periferia, como a leptina, a insulina, a ghrelina, esteróides e hormônios tireoidianos (Kalra *et al.*, 1999). As propriedades anoréxicas da leptina e da insulina resultam por um lado, da capacidade de inibição dos neurônios AGRP/NPY e, por outro lado, da estimulação de neurônios POMC/CART.

Histórico de estresse na vida perinatal pode influenciar a homeostase do balanço energético na vida adulta. Considerando que a diferenciação e maturação do hipotálamo iniciam nas três primeiras semanas de vida pós-natal no rato (Dorner *et al.*, 1987; Pozzo-

Miller and Aoki, 1992), a restrição alimentar nessa fase poderá promover má formação hipotalâmica acarretando conseqüências funcionais sobre o controle do balanço energético. A restrição protéica nesse período promove redução permanente na concentração de galanina e neuropeptídeo Y (fatores orexigênicos) nos neurônios do núcleo arqueado do hipotálamo (Plagemann *et al.*, 2000; Yura *et al.*, 2005). Animais submetidos à restrição protéica perinatal apresentaram hiperfagia, retardo no disparo da saciedade e redução dos efeitos anoréxicos da serotonina (Lopes de Souza *et al.*, 2008). Existem evidências para indução de vulnerabilidade ao desenvolvimento de padrão alimentar desordenado na vida adulta, com episódios de compulsão alimentar, por experiências relacionadas ao estresse no período perinatal (Rorty *et al.*, 1994; Grilo and Masheb, 2001). Em ratos, períodos curtos de separação materna diária durante a lactação induziram hiperfagia a alimento palatável na vida adulta (Miller *et al.*, 1969; Iwasaki *et al.*, 2000). Estas modificações são particularmente mais notáveis em fêmeas. Esses modelos podem ser úteis para elucidar os efeitos de estressores na vida precoce sobre o desenvolvimento de padrões alimentares desordenados na vida adulta.

Transtornos alimentares

O estudo dos transtornos alimentares segue um traçado histórico que inicia pela observação dos prisioneiros e vítimas remanescentes das guerras. Estes indivíduos demonstravam comportamento alimentar distorcido, com preferência ou apetite exacerbado por alimentos energeticamente densos. Tal fato foi relacionado ao período de restrição ou privação alimentar durante a guerra (Franklin *et al.*, 1948). Contudo, este comportamento perpetuou-se e foi caracterizado como transtorno alimentar, cuja principal característica foi à associação entre restrição alimentar e episódios de compulsão por alimentos hipercalóricos. Atualmente, o diagnóstico dos transtornos alimentares segue critérios de classificação que incluem a bulimia e anorexia nervosa e transtornos alimentares atípicos. Neste último enquadra-se o “binge eating disorder” (BED) ou simplesmente, “binge eating” (compulsão alimentar) (American Psychiatric Association, 1994). Essas patologias têm em comum a cronicidade e os padrões anormais de consumo alimentar e regulação do peso corporal. Os transtornos alimentares apresentam maior prevalência em adolescentes ou jovens adultos do sexo feminino (American Psychiatric Association, 1994; Hancock *et al.*, 2005). Atualmente é importante fonte de preocupação para saúde pública e comunidade científica, com desconhecida etiologia e difícil diagnóstico limitando as possibilidades de tratamento farmacológico e clínico (American Psychiatric Association, 1994; Fairbur & Harrison, 2003).

De acordo com critérios diagnósticos, a bulimia nervosa caracteriza-se por recorrentes episódios de compulsão alimentar associados a mecanismos compensatórios que visam à perda de peso corporal, como vômitos auto-induzidos, uso excessivo de laxantes, diuréticos ou medicamentos (bulimia nervosa do tipo purgativo). Podem ser associados a jejuns ou exercício físico intenso (bulimia nervosa do tipo não purgativa), sendo os episódios de compulsão alimentar tipicamente relacionado às dietas palatáveis, ricas em gordura e/ou açúcar (American Psychiatric Association, 1994; American Psychiatric Association, 2000; Corwin and Buda-Levin, 2004; Yanovski, 2003). Por outro lado, a anorexia nervosa caracteriza-se por medo excessivo ao ganho de peso corporal, com conseqüente perda de peso intensa e intencional através de dietas rígidas. Esses indivíduos apresentam obsessão pela magreza, com distorção grosseira da imagem corporal e alterações no ciclo menstrual (American Psychiatric Association, 1994; American Psychiatric Association, 2000; Hebebrand *et al.*, 2004). Pacientes portadores de anorexia nervosa apresentam como evolução clínica a caquexia atingindo até 85% de perda do peso corporal normal (American Psychiatric Association, 1994; Hebebrand *et al.*, 2004).

Outras desordens são incluídas no grupo de transtornos alimentares atípicos não específicos. Essas não apresentam sintomas completos que preencham o diagnóstico da bulimia nervosa ou da anorexia nervosa, e muitas vezes são definidos como compulsão alimentar (American Psychiatric Association, 2000). O indivíduo apresenta episódios compulsivos de ingestão alimentar em curto espaço de tempo sem necessariamente serem desencadeados por fome ou necessidade metabólica (American Psychiatric Association, 2000; Waters *et al.*, 2001). Isto ocorre em associação a maior sensibilidade às influências do estresse, seja este físico ou psicológico, agudo ou crônico (Adam & Epel, 2007). O nível de estresse elevado em indivíduos compulsivos é elemento suficiente para preceder a compulsão alimentar (Pike *et al.*, 2006; Striegel-Moore *et al.*, 2007). A compulsão alimentar é freqüentemente acompanhada por sensação de perda do controle e angústia psicológica (American Psychiatric Association, 2000; Brownley *et al.*, 2007; Heatherton & Baumeister, 1991; Latner & Clyne, 2008). O excesso de peso corpóreo e a obesidade são co-morbidades da compulsão alimentar (Brownley *et al.*, 2007; Hudson *et al.*, 2007). Os critérios para diagnóstico da compulsão alimentar são semelhantes aos da Bulimia nervosa, como os episódios de consumo excessivo de alimento com freqüência de duas vezes por semana, porém não ocorrem comportamentos purgativos (uso de laxantes ou vômito) que objetivam livrar o corpo do excesso de calorias (American Psychiatric Association, 1994). Por outro lado, a compulsão está freqüentemente associada a restrições alimentares e condições de

transtornos psicológicos (American Psychiatric Association, 1994; Hancock *et al.*, 2005). Os recorrentes episódios compulsivos são caracterizados por ingestão de grande quantidade de alimento especialmente hiperlipídicos, em curto espaço de tempo (American Psychiatric Association, 1994).

Modelos animais de compulsão alimentar

Desde o século passado, a ciência procura investigar, em experimentação animal, características inerentes aos transtornos alimentares (Apfelbaum & Mandenoff, 1981; Montgomery, 1991). Vale salientar, que devido à presença de componentes subjetivos da compulsão alimentar nos humanos, como por exemplo, os sentimentos de angústia e de perda de controle (Engel *et al.*, 2007; Stein *et al.*, 2007), há dificuldade na reprodução em animais dos estudos acerca dos episódios compulsivos (Corwin & Buda-Levin, 2004). No entanto, vários modelos experimentais têm apresentado importantes informações a cerca dos aspectos neurobiológicos que compõem esse transtorno do comportamento alimentar. Dessa forma, foram desenvolvidos modelos relacionados à anorexia nervosa (Dixon *et al.*, 2003), bulimia nervosa (Hagan and Moss, 1997) e compulsão alimentar (Boggiano *et al.*, 2005; Hagan *et al.*, 2003). Os modelos animais de compulsão alimentar utilizam fatores que predisõem o surgimento da compulsão alimentar no humano, tais como restrição alimentar, estresse agudo e oferta de dietas palatáveis (Boggiano and Chandler, 2006). Em roedores, a restrição calórica crônica é capaz de alterar o comportamento e a resposta neural diante do alimento (Carr e Kutchukhidze, 2000; Carroll e Meisch, 1980; Mamczarz *et al.*, 2005), promovendo aumento na ingestão alimentar (Cottone *et al.*, 2008b; Hagan *et al.*, 2003). Em humanos, os episódios de restrição alimentar repetitivos, ou restrição crônica, aumentam o risco de compulsão alimentar na população não-clínica. Além disso, a restrição prolonga o período de compulsão alimentar em indivíduos com diagnóstico de bulimia nervosa e transtorno alimentar compulsivo (Agras & Telch, 1998; Stice & Agras, 1998; Stice *et al.*, 2001). O papel da restrição alimentar crônica no desenvolvimento de compulsão alimentar em roedores foi descrito em 1997 por Hagan e Moss. Após doze ciclos consecutivos de restrição alimentar e realimentação, ratas jovens (60-75 dias de vida) apresentaram elevada ingestão alimentar com padrão alimentar compulsivo e preferência por dieta palatável (Hagan & Moss, 1997). Em outro estudo posterior, foi observado aumento de ingestão calórica em 42% após restrição alimentar (Hagan *et al.*, 2003). Em animais, a restrição alimentar mimetiza um

comportamento humano bastante freqüente na população ocidental, a realização de dietas para perder peso com objetivo de obtenção da forma corporal desejada, fato que está bastante relacionado ao estresse (American Psychiatric Association, 1994). Além da restrição alimentar, o estresse é importante fator na etiologia dos transtornos alimentares (Crowther *et al.*, 2001; Grilo *et al.*, 2001; Polivy & Herman, 1985). Alguns estudos com modelos animais utilizam o estresse por choque nas patas associado à restrição alimentar para o desenvolvimento de compulsão alimentar (Boggiano *et al.*, 2005; Chandler-Laney *et al.*, 2007).

A utilização de alimento palatável (elevados teores de açúcar ou gordura) nos modelos animais de compulsão alimentar (Rogers & Hill, 1989; Waters *et al.*, 2001), se fundamenta no maior consumo de alimentos doces por indivíduos com compulsão alimentar comparado a indivíduos obesos não compulsivos ou indivíduos com peso normal (Davis *et al.*, 2007). Em modelos animais com associação de restrição alimentar e acesso a soluções açucaradas (10% ou 25% sacarose), o consumo de calorias é 50% proveniente dessas soluções, sendo 21% da ingestão realizada na primeira hora de exposição (Avena *et al.*, 2008; Colantuoni *et al.*, 2002). Interessantemente, o excessivo e prolongado acesso a alimentos palatáveis na compulsão alimentar coincide com a neurobiologia dos vícios por substâncias de abuso (Avena *et al.*, 2008; Avena *et al.*, 2007; Colantuoni *et al.*, 2002; Rada *et al.*, 2005).

Cada modelo animal de compulsão alimentar tem pontos fortes e fracos relativos à validade e sua utilização. Sabemos que a aplicabilidade, para a condição humana, das pesquisas com modelos animais não é completa. A esse respeito, Smith (1989) declarou: "modelos animais de síndromes clínicas complexas, irão fornecer, na melhor das hipóteses, uma resposta parcial às questões suscitadas pela psicopatologia desses pacientes. Em nosso estado atual de desconhecimento, no entanto, as respostas parciais são melhores que a ausência delas".

No presente estudo, avaliamos em ratas jovens, a desnutrição perinatal como potencial fator predisponente ao desenvolvimento de episódios de compulsão alimentar. Nossos resultados indicam maior vulnerabilidade de organismos com histórico de desnutrição perinatal quando submetidos aos fatores associados com o surgimento de compulsão alimentar, como a restrição alimentar e o consumo de dieta palatável.

3 - Hipótese

A desnutrição perinatal induz diferentes intensidades às respostas adaptativas de consumo alimentar a ciclos de restrição e realimentação e consumo de dieta palatável, fatores desencadeantes de padrão alimentar compulsivo.

4- Objetivos

4.1 – Objetivo Geral

Analisar a susceptibilidade para desenvolvimento de padrão alimentar compulsivo em resposta a restrição alimentar e dieta palatável em ratas jovens com histórico de desnutrição perinatal.

4.2 – Objetivos Específicos

Em ratas jovens nutridas ou desnutridas durante o período perinatal:

- Mensurar o peso corporal diariamente;
- Traçar o perfil de oscilações do peso corporal durante os ciclos de restrição e realimentação;
- Traçar o perfil de oscilações da ingestão alimentar durante os ciclos de restrição e realimentação;
- Mensurar a ingestão alimentar após 1h, 2h, 6h, e 24h durante o teste alimentar no último dia dos ciclos de restrição e realimentação.

5 - Materiais e Métodos

5.1 – Animais

Foram utilizadas ratas albinas da linhagem Wistar provenientes do biotério do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais permaneceram com ciclo claro/escuro de 12 horas (luz acesa às 18 horas) com livre acesso a água e dieta padrão do biotério. Após período de 15 dias de adaptação ao ciclo invertido, foram acasalados ratos machos com fêmeas virgens (proporção 1:2) com idade entre 90 e 120 dias. O acasalamento iniciou-se no período estro, fase mais fértil da fêmea, e a prenhez foi diagnosticada com visualização de espermatozóides do esfregaço vaginal. Em seguida, as fêmeas foram acomodadas em caixas individuais e observadas rotineiramente para registro do dia do nascimento da prole. Um dia após o nascimento, considerado como o primeiro dia de vida da prole, as ninhadas foram ajustadas para quatro filhotes fêmeas e quatro filhotes machos, total de oito filhotes pesando entre 6-7g cada. Para participar do protocolo experimental selecionaram-se aleatoriamente apenas duas fêmeas de cada ninhada. Após o desmame, aos 21 dias de vida, 2-3 ratas ficaram juntas em caixas de polipropileno com acesso livre a ração padrão do biotério (Labina® - Purina do Brasil) e água.

5.2 - Manipulação nutricional

Durante o período de gestação e lactação as ratas consumiram dietas isocalóricas com diferentes teores de proteína constituindo, assim, dois grupos experimentais. O consumo de dieta com 20% ou 8% de proteína (Tabela 1) caracterizou os grupos Controle (C) e Desnutrido (D) respectivamente. Após o desmame (21 dias de vida) os filhotes de todas as ninhadas receberam dieta padrão do biotério (Labina®, Purina do Brasil) com concentração normal de proteína. Durante o período de adolescência, aos 52 dias de vida, ratas foram inseridas ao protocolo de compulsão alimentar sendo submetidas a ciclos consecutivos de restrição alimentar e realimentação (Figura 1).

Tabela 1 - Composição das dietas experimentais com diferentes teores de proteína oferecidas durante o período de gestação e lactação.

<i>Constituintes</i>	<i>Dieta hipoproteica (8%)</i>	<i>Dieta Normoproteica (17%)</i>
g %	100.00	100.0
Proteínas	8.10	17.30
Carboidratos	75.10	65.90
Lipídios	7.00	7.00
Fibras	5.00	5.00
Vitaminas	1.00	1.00
Minerais	3.50	3.50
Metionina	0.30	0.30
% Kcal	362.48	363.44

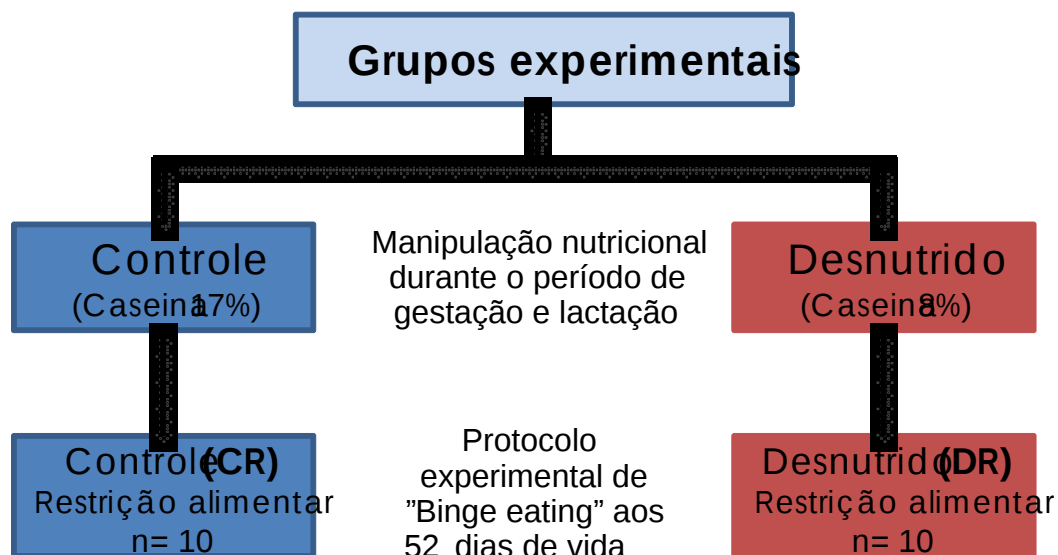


Figura 1 - Grupos utilizados nos protocolos experimentais de compulsão alimentar.

5.3 - Protocolo experimental de compulsão alimentar

Para nosso estudo, objetivando a importância da restrição alimentar como um co-fator relevante para desencadear compulsão alimentar, utilizaremos uma modificação do modelo animal desenvolvido por Cifani *et al.*, 2009 o qual se baseia nos estudos de Hagan *et al.*, 2002. No modelo animal de compulsão alimentar de Hagan *et al.*, 2002, após um período de restrição alimentar, seguido de um período de realimentação (com acesso à dieta hipercalórica) e um último momento caracterizado por estresse agudo como choque agudo nas patas (0.6 mA), formando um total de três ciclos (restrição/realimentação-estresse), ratas demonstram compulsão alimentar pela dieta hipercalórica. O modelo de Cifani *et al.*, 2009, também evidenciou que três ciclos subsequentes de restrição/realimentação (com acesso à dieta hiperpalatável) seguidos por estresse alimentar é suficiente para desencadear a compulsão alimentar. A escolha no presente estudo de fêmeas com idade de 52 dias foi direcionada pela maior incidência de anorexia e bulimia nervosa em mulheres durante períodos precoces da vida como a adolescência e início da vida adulta (Bushnell *et al.*, 1990; Hudson *et al.*, 2007; Hoek and van Hoeken, 2003; Hoek *et al.*, 2003; Johnson *et al.*, 2002; Mitchell and Crow, 2006).

Ratas, do grupo controle e do grupo desnutrido, foram transferidas para caixas individuais aos 45 dias de vida para período de sete dias de adaptação ao isolamento. As caixas mantiveram as mesmas características daquela de origem das ratas. Durante esse período foi realizada a mensuração do consumo alimentar diário e do peso corporal.

Os animais dos grupos Controle (C) e Desnutrido (D) foram submetidos a períodos de restrição e realimentação em três ciclos sucessivos. Assim obtivemos os subgrupos:

Controle Restrito (CR) - Animais cujas mães foram alimentadas durante a gestação e lactação com dieta normoprotéica (caseína 17%) e na adolescência foram submetidos à restrição alimentar ao participarem do protocolo de compulsão alimentar (Figura 2).

Desnutrido Restrito (DR) - Animais cujas mães foram alimentadas durante a gestação e lactação com dieta hipoprotéica (caseína 8%) e na adolescência também foram submetidas à restrição alimentar ao participarem do protocolo de compulsão alimentar (Figura 2).

Componentes do protocolo experimental de compulsão alimentar:

A restrição: O período de restrição alimentar foi de quatro dias em cada ciclo. A quantidade de alimento disponível ao animal durante este período foi obtida pela quantidade percentual de dieta Labina® consumida *ad libitum* pelo animal durante o período de adaptação. Assim, a quantidade de alimento oferecida ao animal durante o período de

restrição corresponde a 40% em gramas do que ele consumiu nos últimos cinco dias da adaptação. O alimento foi disponível sempre no mesmo horário do ciclo escuro, às 07:00hs.

A realimentação: Assim como na restrição, o período de realimentação foi de quatro dias em cada ciclo. Nestes, os animais tiveram acesso livre a dieta padrão do biotério. No entanto, foram realizados estímulos pontuais com dieta hipercalórica nas duas primeiras horas dos dois primeiros dias do 1^o e do 2^o ciclo como será descrito a seguir.

O estímulo com dieta palatável: Este estímulo faz-se necessário no protocolo de compulsão alimentar, pois estimula a voracidade através da ingestão de elementos na dieta que estimulam o controle hedônico. Durante os três ciclos de restrição-realimentação, o 1^o e 2^o períodos de realimentação diferiram do 3^o período de realimentação devido à oferta de dieta hipercalórica (Cifani *et al.*, 2009), sendo a dieta Labina® *ad libitum*. O estímulo com uma dieta hipercalórica ocorreu apenas durante as duas primeiras horas dos dois primeiros dias dos 1^o e 2^o períodos de realimentação. A dieta hipercalórica foi composta por 52% de creme de chocolate (Nutella - Ferrero (5.33 kcal/g; 56%, 31%, e 7% de carboidrato, Gordura e proteína, respectivamente), 33% Labina® (Purina do Brasil) triturada e 15% de água filtrada. A análise centesimal da dieta encontra-se na tabela 2.

Tabela 2 - Análises Físico-Químicas de Dieta Hipercalórica utilizada nos protocolos experimentais de compulsão alimentar.

CONSTITUINTES	Composição (peso/100g)
Proteína	10,76
Gordura	17,83
Carboidratos	49,08
Umidade	19,22
Cinzas	3,11
TOTAL	100
VET	399,83 Kcal/100g

As análises foram realizadas segundo método Adolfo-Lutz (2005) no laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos da Universidade Federal de Pernambuco.

Após o quarto dia da última realimentação (correspondendo ao 25^o dia do protocolo de compulsão alimentar) logo ao término dos três ciclos de restrição-realimentação, ocorreu o teste alimentar.

O teste alimentar: Este teste foi realizado no final dos ciclos de restrição realimentação, no 25^o dia do ciclo restrição-realimentação, consistiu de livre acesso à dieta hipercalórica por vinte quatro horas. Nesse período foi obtida a quantidade de alimento ingerido em períodos distintos após a oferta da dieta: 1h, 2h, 4h, 6h e 24h.

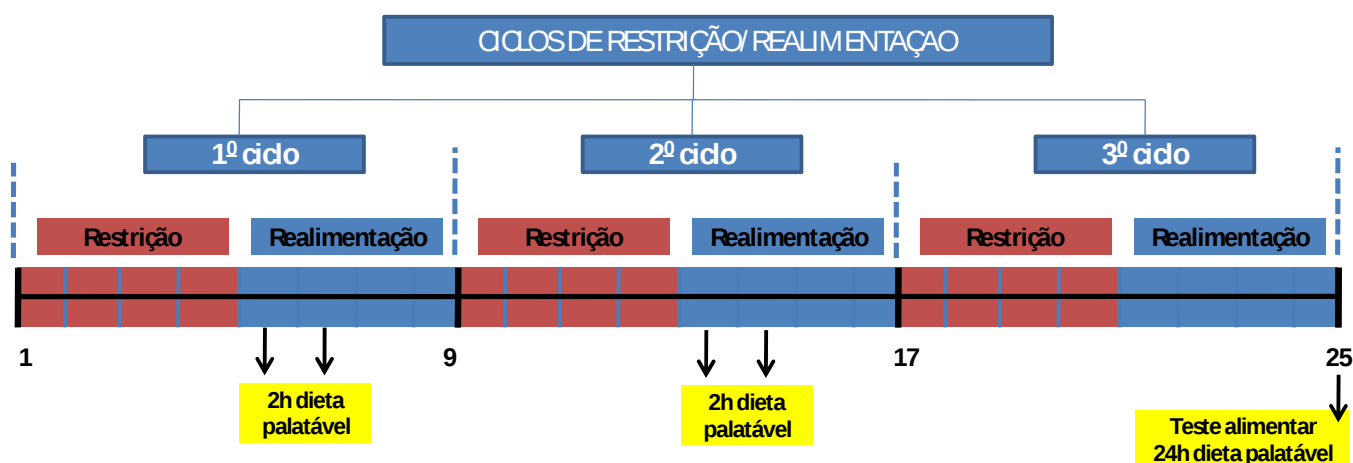


Figura 2 - Esquema do protocolo experimental de compulsão alimentar. Ratas com 45 dias de vida foram submetidas a três ciclos de restrição (40%) e realimentação consecutivos. No período de realimentação, os animais receberam dieta padrão *ad. libitum* com oferta de dieta hipercalórica durante duas horas nos dois primeiros dias dos ciclos 1 e 2. No 25^o dia, os animais foram submetidos ao teste alimentar que consistiu de oferta *ad libitum* de dieta padrão e dieta hipercalórica durante 24 horas, com medições da quantidade consumida às 1h, 2h, 4h, 6h e 24h.

5.4 - Análise Estatística

Durante a análise estatística dos resultados, utilizamos o software GraphPad Prism na versão 5. Antes de iniciar o protocolo de compulsão alimentar, os dados correspondentes à ingestão alimentar e o peso corporal foram analisados pelo Teste t student. Durante o protocolo de compulsão alimentar, todos os dados foram incluídos no teste de normalidade e comparados com One-way ANOVA seguido do teste de Bonferroni. Considerou-se o valor $P < 0.05$ para diferença entre os grupos. Todos os dados foram apresentados como média $\pm$ desvio padrão.

6 - Resultados

6.1 - Peso corporal e Ingestão alimentar inicial

Aos 52 dias de vida, no início do protocolo experimental, o peso corporal (g) dos animais desnutridos foi menor ($143,1 \pm 11,2$; $p < 0,05$) comparado aos animais controle ($176,9 \pm 16,2$). Não houve diferença na ingestão alimentar entre os grupos (Figura 3).

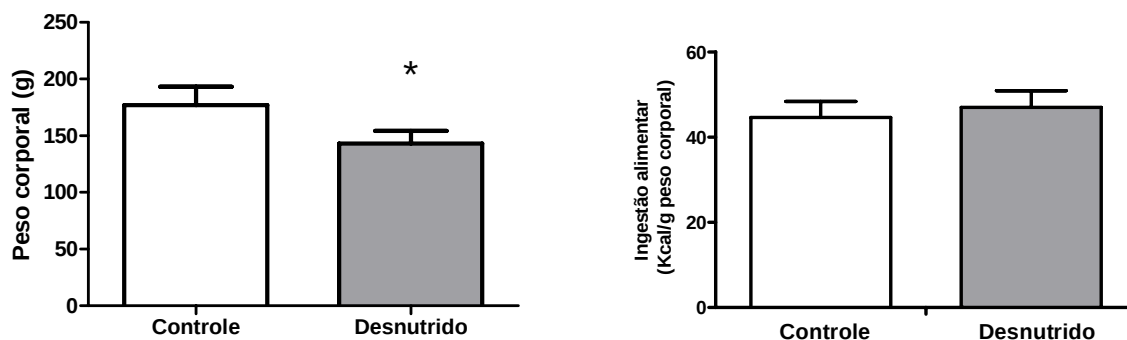


Figura 3. Peso corporal e ingestão alimentar de ratos submetidos à desnutrição perinatal. Ratas foram submetidas a dietas com diferente teor de proteína durante o período de gestação e lactação formando os grupos desnutrido (D) - caseína 8% e controle (C) - caseína 17%. Aos 52 dias de vida os animais foram submetidos ao protocolo de compulsão alimentar. Os dados acima correspondem ao peso e ingestão um dia antes do início do protocolo experimental. * $p < 0,05$ Test t.

6.2 - Resultados do 1^o ciclo de restrição/realimentação

6.2.1 - Peso corporal

Não foi observada diferença na perda ou ganho de peso entre os animais controle e desnutridos no primeiro ciclo de restrição-realimentação (Figura 4).

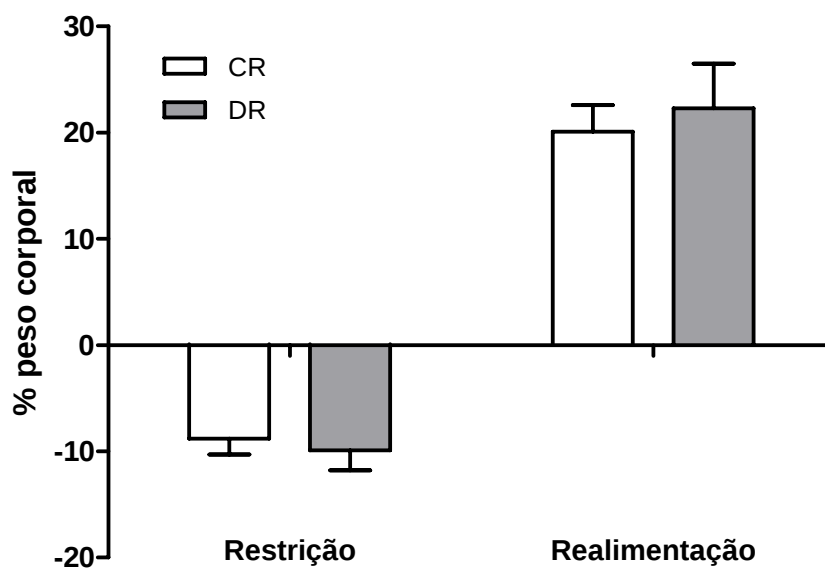


Figura 4. Variações do peso corporal (%) durante o primeiro ciclo de restrição e realimentação. Ratas foram submetidas a dietas com diferente teor de proteína durante o período de gestação e lactação formando os grupos desnutrido (D) - caseína 8% e controle (C) - caseína 17%. Aos 52 dias de vida os animais foram submetidos ao protocolo de compulsão alimentar. Os dados acima correspondem à perda de peso durante o período de restrição ou ganho durante o período de realimentação no primeiro ciclo.

6.2.2 - Ingestão alimentar

No primeiro ciclo de realimentação, os animais desnutridos apresentaram maior ($52,9 \pm 10,7$; $p < 0,05$) ingestão (Kcal/g do peso corporal) de dieta padrão (Labina®), comparados aos animais controle ($43,8 \pm 4,8$), apenas no quarto dia de realimentação (Figura 5A). A dieta hipercalórica foi oferecida no primeiro ciclo apenas nos dois primeiros dias de realimentação. O consumo dessa dieta foi maior para os animais desnutridos ($22,1 \pm 3,1$; $p < 0,05$) no primeiro dia comparado aos animais controle ($11,9 \pm 3,8$) (Figura 5B).

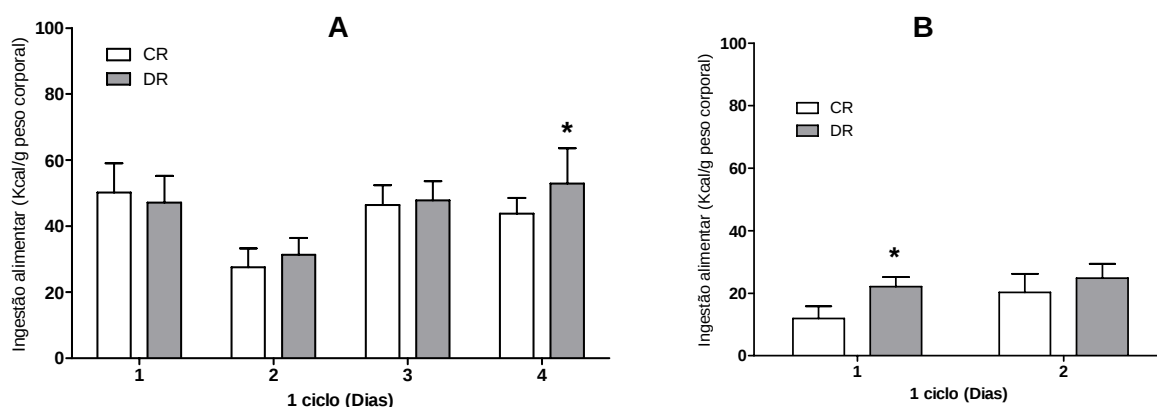


Figura 5. Ingestão alimentar padrão (A) ou hipercalórica (B) durante primeira realimentação do protocolo de compulsão alimentar. Ratas foram submetidas a dietas com diferente teor de proteína durante o período de gestação e lactação formando os grupos desnutrido (D) - caseína 8% e controle (C) - caseína 17%. Aos 52 dias de vida os animais foram submetidos a três ciclos sucessivos de restrição e realimentação, originando os grupos desnutrido restrito (DR) e controle restrito (CR). Os dados correspondem à quantidade de calorias consumida em relação ao peso corporal durante os quatro dias de realimentação. * $p < 0,05$ One-way ANOVA seguido do teste de Bonferroni.

6.3 - Resultados do 2^o ciclo de restrição-realimentação

6.3.1 - Peso corporal

No segundo ciclo de restrição-realimentação, os animais desnutridos, comparado aos animais controle, apresentaram maior perda (CR $-10,2 \pm 2,2$; DR $-12,2 \pm 1,4$; $p < 0,05$) e maior ganho (CR $17,9 \pm 2,3$; DR $21,2 \pm 3,2$; $p < 0,05$) de peso corporal (Figura 6).

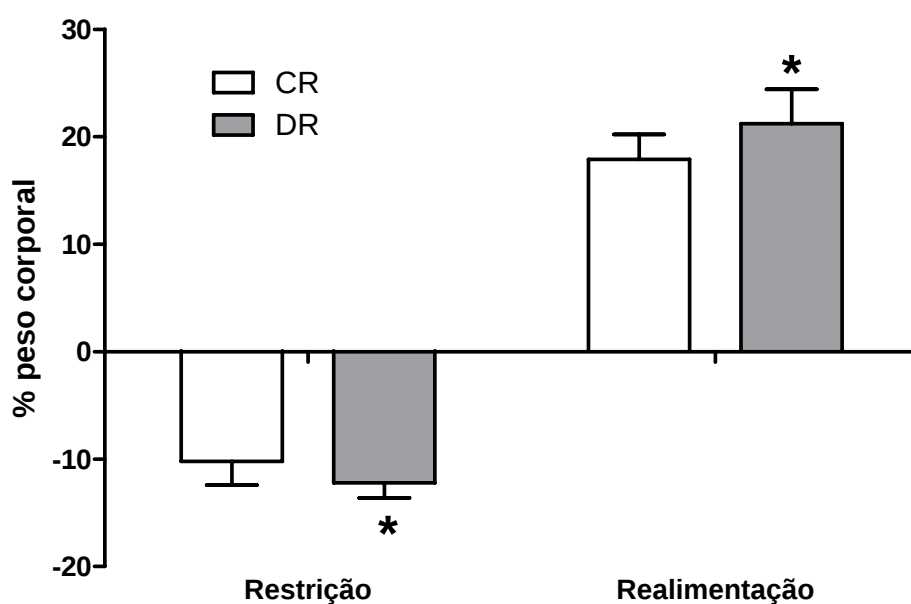


Figura 6. Variações do peso corporal (%) durante o segundo ciclo de restrição e realimentação. Ratas foram submetidas a dietas com diferente teor de proteína durante o período de gestação e lactação formando os grupos desnutrido (D) - caseína 8% e controle (C) - caseína 17%. Aos 52 dias de vida os animais foram submetidos ao protocolo de compulsão alimentar, originando os grupos desnutrido restrito (DR) e controle restrito (CR). Os dados acima correspondem à perda de peso durante o período de restrição ou ganho durante o período de realimentação no segundo ciclo. * $p < 0,05$ One-way ANOVA seguido do teste de Bonferroni.

6.3.2 - Ingestão alimentar

Não houve diferenças na ingestão alimentar de dieta Labina® no segundo ciclo de realimentação entre os animais controles e desnutridos (Figura 7A). Neste mesmo ciclo, os animais desnutridos apresentaram maior ($35,5 \pm 3,8$; $p < 0,05$) ingestão de dieta hipercalórica comparado aos animais controle ($29,5 \pm 2$) (Figura 7 B).

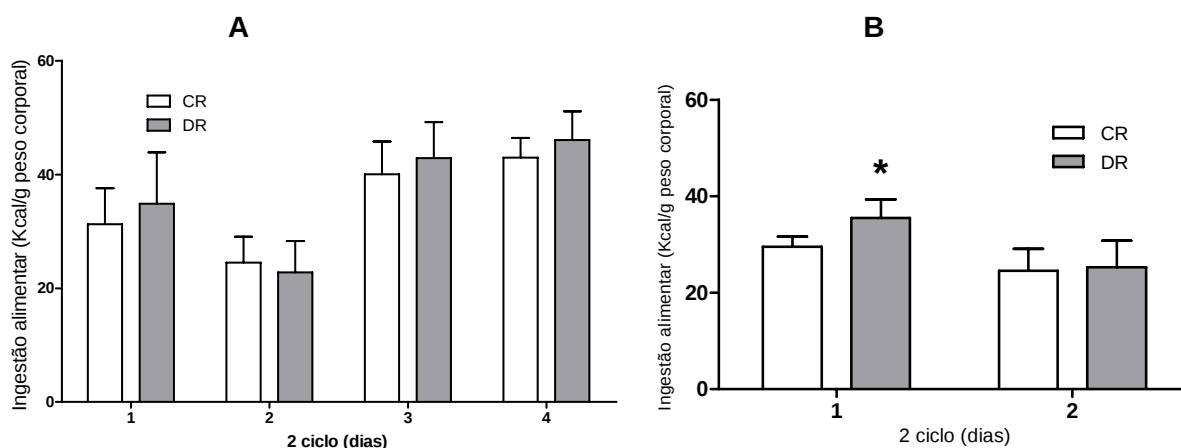


Figura 7. Ingestão alimentar de dieta padrão (A) ou hipercalórica (B) durante segunda realimentação do protocolo de compulsão alimentar. Ratas foram submetidas a dietas com diferente teor de proteína durante o período de gestação e lactação formando os grupos desnutrido (D) - caseína 8% e controle (C) - caseína 17%. Aos 52 dias de vida os animais foram submetidos a três ciclos sucessivos de restrição e realimentação, originando os grupos desnutrido restrito (DR) e controle restrito (CR). Os dados correspondem à quantidade de calorias consumida em relação ao peso corporal durante os quatro dias de realimentação. * $p < 0,05$ One-way ANOVA seguido do teste de Bonferroni.

6.4 - Resultados do 3^o ciclo de restrição-realimentação

6.4.1 - Peso corporal

Os animais desnutridos, comparado aos animais controle apresentaram maior perda (CR $-10,6 \pm 1,5$; DR $-12,2 \pm 1,3$; $p < 0,05$) e maior ganho (CR $15,2 \pm 2,4$; DR $20,6 \pm 3,2$; $p < 0,05$) de peso corporal no terceiro ciclo de restrição-realimentação (Figura 8).

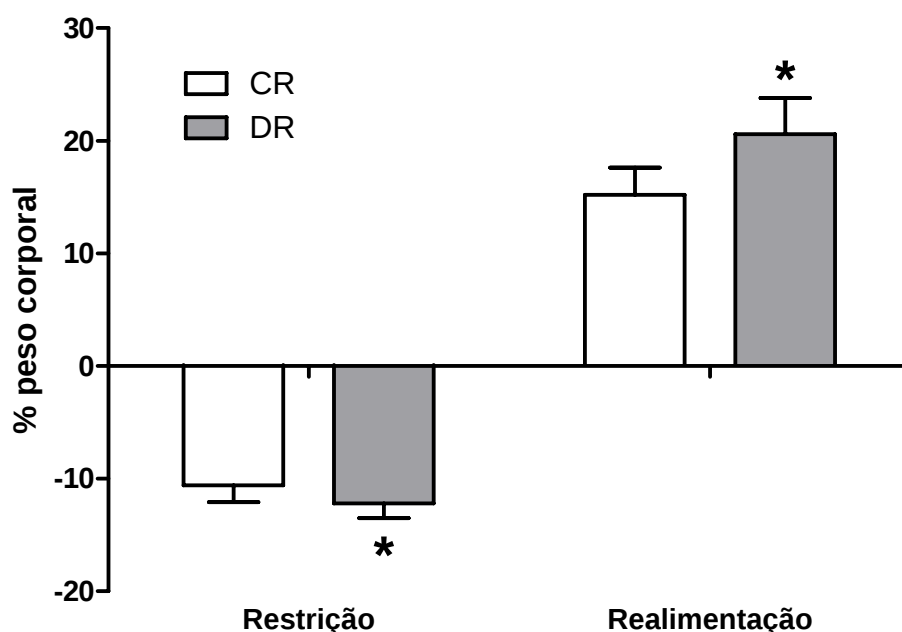


Figura 8. Variações do peso corporal (%) durante o terceiro ciclo de restrição e realimentação. Ratas foram submetidas a dietas com diferente teor de proteína durante o período de gestação e lactação formando os grupos desnutrido (D) - caseína 8% e controle (C) - caseína 17%. Aos 52 dias de vida os animais foram submetidos ao protocolo de compulsão alimentar, originando os grupos desnutrido restrito (DR) e controle restrito (CR). Os dados acima correspondem à perda de peso durante o período de restrição ou ganho durante o período de realimentação no terceiro ciclo. * $p < 0,05$ One-way ANOVA seguido do teste de Bonferroni.

6.4.2 - Ingestão alimentar

No terceiro ciclo de realimentação, não houve diferenças entre os animais controles e desnutridos na ingestão alimentar de dieta padrão (Figura 9).

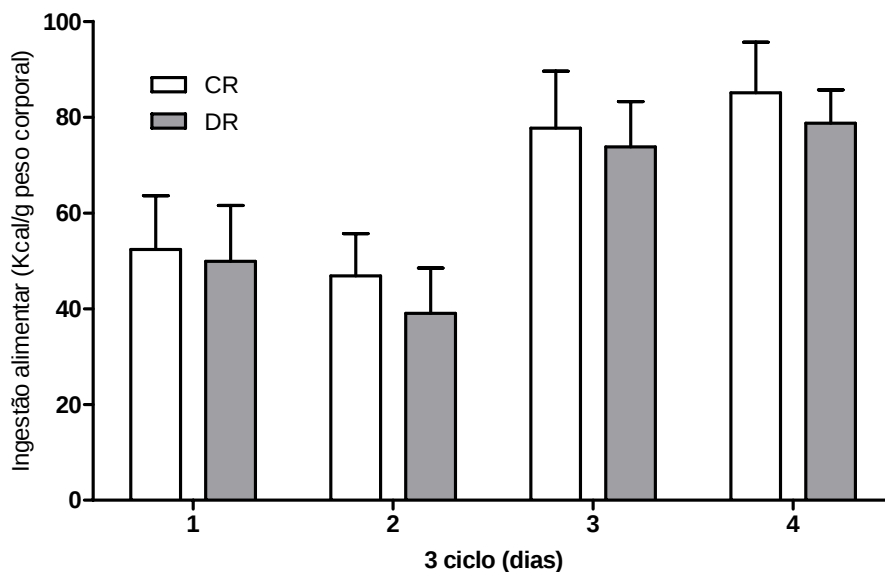


Figura 9. Ingestão alimentar de dieta padrão (Labina®) durante a terceira realimentação do protocolo de compulsão alimentar. Ratas foram submetidas a dietas com diferente teor de proteína durante o período de gestação e lactação formando os grupos desnutrido (D) - caseína 8% e controle (C) - caseína 17%. Aos 52 dias de vida os animais foram submetidos a três ciclos sucessivos de restrição e realimentação, originando os grupos desnutrido restrito (DR) e controle restrito (CR). Os dados correspondem à quantidade de calorias consumida em relação ao peso corporal durante os quatro dias de realimentação. * $p < 0,05$ One-way ANOVA seguido do teste de Bonferroni.

6.5 - Resultados do teste alimentar

Durante o teste alimentar, no final dos três ciclos de restrição-realimentação, os animais controle restrito (CR), os quais foram submetidos à restrição durante os três ciclos restrição-realimentação, apresentaram aumento de ingestão alimentar comparado aos animais controle não restritos (C) após 2hs (C $21,1 \pm 1,8$; CR $25,8 \pm 4,2$; $p < 0,05$) e 24hs (C $52,7 \pm 3,5$; CR $61,3 \pm 6,4$; $p < 0,05$) após a oferta de dieta hipercalórica (Figura 10).

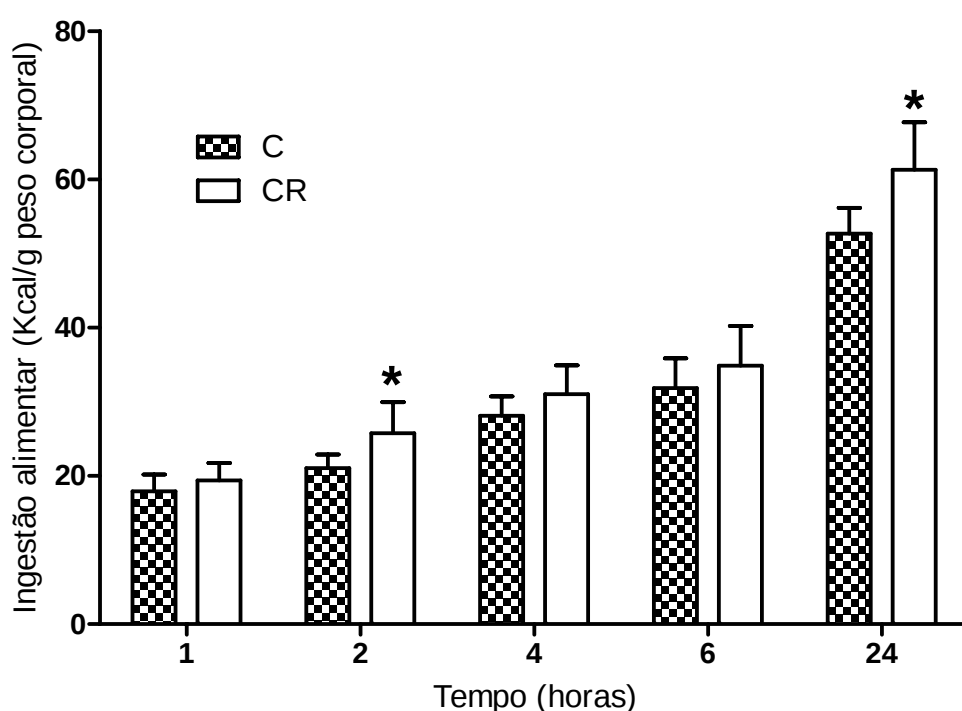


Figura 10- Teste alimentar após os três ciclos de restrição e realimentação em animais controle. Ratas foram submetidas à dieta controle (C) - caseína 17% durante o período de gestação e lactação. Aos 52 dias de vida os animais foram submetidos a três ciclos sucessivo de restrição e realimentação, originando os grupos controle restrito (CR) e controle não restrito (C). Os dados correspondem à quantidade de calorias consumida em relação ao peso corporal após 1, 2, 4, 6, e 24 horas de oferta de dieta hipercalórica. * $p < 0,05$ One-way ANOVA seguido do teste de Bonferroni.

Os animais desnutridos restrito (DR), os quais foram submetidos à restrição durante os três ciclos restrição-realimentação, apresentaram aumento de ingestão alimentar comparado aos animais desnutridos não restritos (D) após 2hs (D $18,9 \pm 2,7$; DR $26,2 \pm 5,1$; $p < 0,05$), 4hs (D $25,4 \pm 2,8$; DR $33,8 \pm 6,3$; $p < 0,05$), 6hs (D $30,7 \pm 2,9$; DR $38,2 \pm 5,3$; $p < 0,05$) e 24hs (D $56,9 \pm 6,8$; DR $68,4 \pm 8,4$; $p < 0,05$) após oferta de dieta hipercalórica (Figura 11).

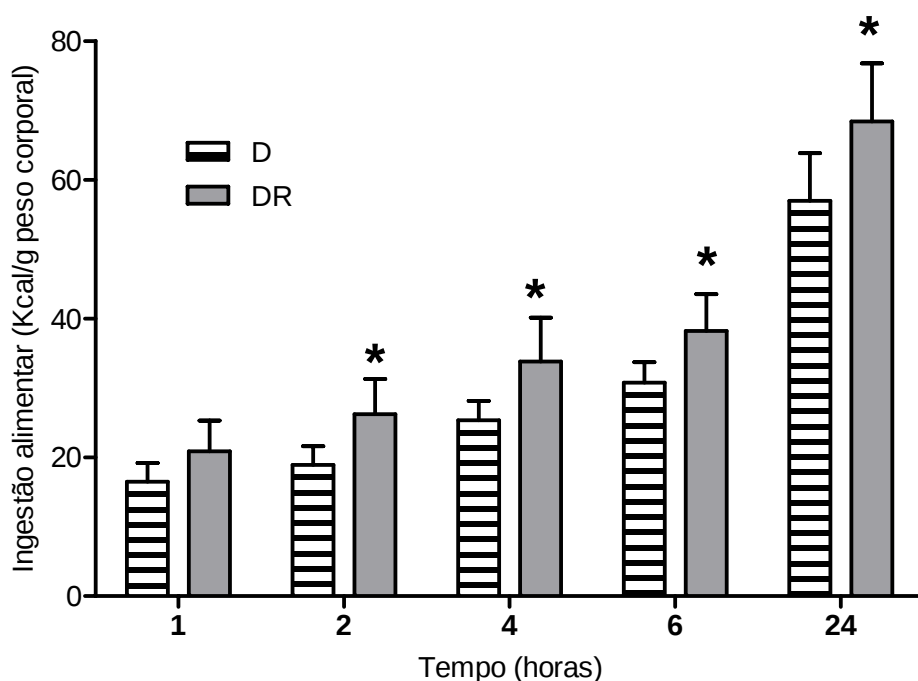


Figura 11- Teste alimentar após três ciclos de restrição e realimentação em animais desnutridos. Ratas foram submetidas à dieta hipoprotéica, portanto desnutridas (D) - caseína 8%, durante o período de gestação e lactação. Aos 52 dias de vida os animais foram submetidos a três ciclos sucessivos de restrição e realimentação, originando os grupos desnutrido restrito (DR) e desnutrido não restrito (D). Os dados correspondem à quantidade de calorias consumida em relação ao peso corporal após 1, 2, 4, 6, e 24 horas de oferta de dieta hiperpalatável. * $p < 0,05$ One-way ANOVA seguido do teste de Bonferroni.

No teste alimentar, após a conclusão dos três ciclos restrição-realimentação, os animais do grupo desnutrido restrito (DR) apresentou maior ($68,4 \pm 8,4$; $p < 0,05$) ingestão alimentar comparado ao grupo controle restrito (CR) ($61,3 \pm 6,4$) após 24hs de oferta de dieta hipercalórica.

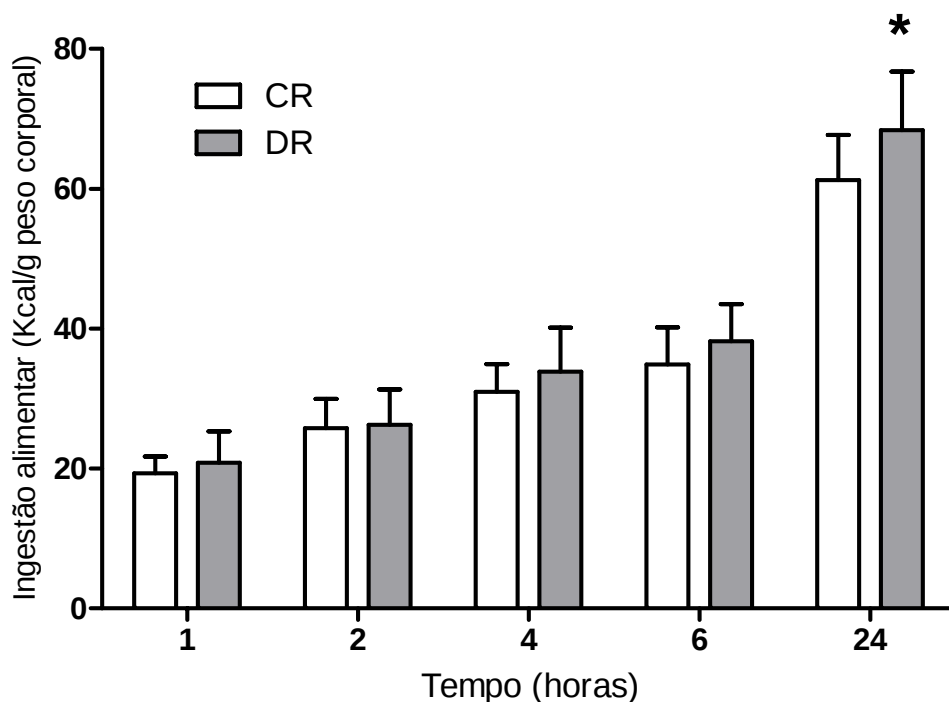


Figura 12- Teste alimentar após três ciclos de restrição e realimentação. Ratas foram submetidas a dietas com diferente teor de proteína durante o período de gestação e lactação formando os grupos desnutrido (D) - caseína 8% e controle (C) - caseína 17%. Aos 52 dias de vida os animais foram submetidos a três ciclos sucessivos de restrição e realimentação, originando os grupos desnutrido restrito (DR) e controle restrito (CR). Os dados correspondem à quantidade de calorias consumida em relação ao peso corporal durante os quatro dias de realimentação. * $p < 0,05$ One-way ANOVA seguido do teste de Bonferroni.

7 - Discussão

Os resultados do presente estudo confirmam a hipótese lançada inicialmente, apontando relação entre desnutrição perinatal e maior vulnerabilidade a fatores desencadeantes de padrão alimentar compulsivo, como restrição alimentar e consumo de dieta palatável. A desnutrição perinatal promoveu maiores oscilações do peso corporal em resposta a ciclos de restrição e realimentação utilizados no presente estudo. Ao considerarmos essas variações como alterações dos estoques energéticos, podemos sugerir que esses animais desenvolvem resposta adaptativa mais intensa quando a oferta de energia é variável. Esses animais também apresentaram picos de hiperfagia por dieta palatável nos dois primeiros ciclos do protocolo. Ao final dos três ciclos de restrição-realimentação, durante o teste alimentar com oferta de dieta hipercalórica por longo período (24h), a desnutrição perinatal promoveu intenso e persistente consumo alimentar. As extrapolações desses achados poderão contribuir para o entendimento da vulnerabilidade que alguns organismos apresentam a fatores como restrição alimentar e consumo de dieta palatável, fatores envolvidos no desenvolvimento de comportamento alimentar compulsivo.

O modelo animal utilizado no presente estudo, com restrição alimentar de 40%, foi efetivo na promoção de padrão alimentar compulsivo. Em outros estudos, resposta semelhante foi observada com percentual de restrição alimentar de 50% (Artiga *et al.*, 2007) ou de 66% (Boggiano and Chandler, 2006; Cifani *et al.*, 2009; Hagan *et al.*, 2002; Hagan *et al.*, 2003). A privação alimentar é um fenômeno comum entre os transtornos alimentares, imprescindível para desencadear compulsão alimentar em casos de bulimia nervosa (Hetherington *et al.*, 1994). Sabendo-se que a restrição alimentar predispõe à compulsão alimentar (Howard and Porzelius, 1999), os modelos experimentais em animais são desenvolvidos manipulando a quantidade de alimento disponível por dia (66% da ingestão diária) (Hagan *et al.*, 2003) ou também controlando o tempo de contato com o alimento (2h por dia) (Inoue *et al.*, 2004).

A desnutrição perinatal predispõe maior sensibilidade a restrição alimentar, promovendo aumento de consumo de dieta padrão ou palatável já no primeiro ciclo de restrição-realimentação, com efeito, apenas sobre dieta palatável nos outros ciclos subseqüentes. Em outro estudo, com animais sem histórico de desnutrição, observou-se aumento no consumo apenas no primeiro dia de oferta de dieta palatável (Cottone *et al.*, 2008 b). Ao contrário de períodos curtos de restrição (poucas horas), a cronicidade exerce importante estímulo sobre o apetite (Stewart & Samoluk, 1997). A desnutrição perinatal

responde de maneira mais intensa a restrição alimentar como observado, confirmando a importância do período perinatal para estabelecimento de padrões do controle do comportamento alimentar. Animais desnutridos durante o período perinatal apresentam aumento nos níveis de peptídeos orexigênicos (NPY, AgRP) que estimulam a ingestão alimentar, bem como retardo no aparecimento da saciedade (Orozco-Sólis *et al.*, 2009). A desnutrição perinatal, também é capaz de provocar hiperleptinemia, hiperfagia e obesidade na vida adulta (Vickers *et al.*, 2000). Outro evento adverso durante períodos iniciais da vida, como a separação materna por algumas horas, também foi capaz de promover, em ratas jovens, hiperfagia em resposta à restrição alimentar em modelo de compulsão alimentar (Iwasaki *et al.*, 2000).

O consumo de dieta padrão, quando oferecida concomitantemente a dieta palatável, foi reduzido independente do grupo experimental. Este suposto efeito hipofágico antecipado pela dieta padrão no presente estudo foi semelhante ao encontrado em outro modelo de compulsão experimental cuja restrição alimentar foi realizada por redução do tempo (2 horas/dia) de contato com o alimento (Cottone *et al.*, 2008a). Esse comportamento pode representar um mecanismo compensatório para o excesso de calorias, ou ao ganho de peso, promovido por consumo de dieta palatável que apresenta elevado teor calórico (Booth, 1972; Snowdon, 1969; Treit and Spetch, 1986). Esse efeito pode corresponder ao ajuste dos mecanismos que envolvem a homeostase energética (Archer *et al.*, 2005; Corwin, 2004; Levin and Dunn-Meynell, 2002).

A restrição alimentar no presente estudo foi efetiva na promoção de aumento no consumo alimentar durante 2h e 24h do teste alimentar. Contudo, a desnutrição perinatal induziu episódios recidivos e subseqüentes de compulsão alimentar após 2h, 4h, 6h, e 24h da oferta de dieta hipercalórica. Esses achados diferem de outros estudos, cujo aumento no consumo de dieta palatável ocorre apenas nas primeiras 2 horas (Cifani *et al.*, 2009) ou 4 horas após oferta de dieta hipercalórica (Artiga *et al.*, 2007; Chandler-Laney *et al.*, 2007; Boggiano and Chandler, 2006; Hagan *et al.*, 2002). Porém esses estudos investigam o padrão compulsivo em animais sem agressões durante o período perinatal. Tal fato nos leva a sugerir que a desnutrição perinatal induz maior vulnerabilidade a fatores como restrição alimentar e consumo de dieta palatável, favoráveis ao desenvolvimento de padrão alimentar compulsivo. Explorando os mecanismos subjacentes a esse fenômeno comportamental, poderíamos associar a maior vulnerabilidade de organismos com desnutrição perinatal a compulsão alimentar associando a seu perfil de controle do balanço energético. A desnutrição perinatal está associada a modificações permanentes em mecanismos de controle do balanço

energético, como aumento nos níveis de peptídeos orexigênicos (Neuropeptídeo Y) e redução de peptídeos anorexigênicos (Pro-opiomelanocortina) no hipotálamo (Cripps *et al.*, 2009; Lopes de Souza *et al.*, 2008).

Durante períodos sucessivos de restrição-realimentação à mobilização de reservas energéticas se refletem sobre o peso corporal que assume um perfil oscilatório. A perda de peso corporal que ocorre durante a restrição é recompensada durante a realimentação, mimetizando o efeito ‘yo-yo’ de muitas dietas utilizadas para emagrecimento. Observamos, no presente estudo que a desnutrição perinatal não altera apenas o padrão alimentar em ratos, mas também os ajustes de peso corporal durante ciclos de restrição/realimentação. Nesses animais podemos sugerir um processo adaptativo mais intenso na utilização das reservas energéticas. Variação semelhante no peso corporal durante ciclos de restrição-realimentação foi anteriormente observada em animais cujo período neonatal foi marcado por períodos intermitentes de separação materna (Ryu *et al.*, 2008). É provável que este fenômeno esteja relacionado a uma adaptação metabólica, uma vez que animais sem experiência de separação materna parecem reduzir o seu padrão metabólico (Ryu *et al.*, 2008), com conseqüente necessidade de diminuir o consumo de energia (Graham *et al.*, 1990; Sea *et al.*, 2000). A importância de um prévio contato com dieta palatável para desencadear a compulsão alimentar, foi anteriormente descrita em alguns estudos (Colantuoni *et al.*, 2001; Corwin *et al.*, 1998; Dimitriou *et al.*, 2000). O acesso intermitente a uma combinação de dietas palatáveis acarretou aumento de peso em animais (Berner *et al.*, 2008). O acesso anterior a uma dieta de alta caloria em momento alternado promoveu diminuição no consumo de dieta padrão, objetivando uma regulação na homeostase energética juntamente com diminuição no consumo energético e no ganho de peso (Cottone *et al.*, 2009). Porém, sugerimos que os animais desnutridos não possuem uma perfeita homeostase energética, pois embora eles tenham diminuído o consumo de dieta padrão em 24 horas, ao contato com dieta hipercalórica por 2 horas, eles não mantiveram estável o controle de seu peso. Não obstante, os fatores relacionados à regulação do balanço energético e da ingestão alimentar estão comprometidos pela restrição alimentar crônica, cujos efeitos não são revertidos após a recuperação do peso corpóreo (Kinzig *et al.*, 2009). A desnutrição não apenas promoveu recuperação do peso corporal nos dois últimos ciclos, como encontrado em outros estudos (Hagan *et al.*, 2002; Boggiano and Chandler, 2006; Artiga *et al.*, 2007; Cifani *et al.*, 2009), mas promoveu variações acentuadas na adaptação dos estoques energéticos.

A partir da utilização deste modelo animal, concluímos que a desnutrição perinatal é um importante fator predisponente para o desenvolvimento de comportamento alimentar

compulsivo desencadeado por restrição alimentar oferta de dieta palatável. Objetivando testar esta hipótese, nossos animais foram submetidos a intermitentes históricos de restrição calórica e breves acessos a dieta hipercalórica durante a realimentação com recuperação do peso corporal. Assim, no teste alimentar ao final de três ciclos restrição calórica-realimentação, a sustentada hiperfagia dos animais desnutridos por dieta hipercalórica foi evidenciada na ausência de fome. Este fato nos permite inserir a importância da desnutrição neonatal para o entendimento dos aspectos comportamentais que predispõem a compulsão alimentar em modelo de distúrbio alimentar.

8 – Conclusão

A desnutrição protéica perinatal modifica os padrões adaptativos de consumo alimentar e de peso corporal em resposta a sucessivos ciclos de restrição/realimentação e consumo de dieta palatável em modelo de compulsão alimentar experimental. Essa modificação sugere maior vulnerabilidade desse organismo ao desenvolvimento de padrão alimentar compulsivo na vida adulta.

9 – Referências Bibliográficas

- ADAM, T. C. & EPEL, E. S. Stress, eating and the reward system. **Physiology and Behavior**, 91, 449–458, 2007.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (4th ed.). Washington, DC: **American Psychiatric Association**, 1994.
- AGRAS, W. & TELCH, C. The effects of caloric deprivation and negative affect on binge eating in obese binge eating disorder women. **Behavior Therapy**, 29, 491–503, 1998.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. Diagnostic and statistical manual of mental disorders fourth edition text revision (DSM IVTR). Washington, DC: **American Psychiatric Association**, 2000.
- APFELBAUM, M. AND MANDENOFF, A. Naltrexone suppresses hyperphagia induced in the rat by a highly palatable diet. **Pharmacol Biochem Behav.**15(1):89-91, 1981.
- ARCHER, Z.A.; RAYNER, D.V.; BARRETT, P.; BALIK, A.; DUNCAN, J.S.; MOAR, K.M.; MERCER, J.G. Hypothalamic energy balance gene responses in the Sprague-Dawley rat to supplementation of high-energy diet with liquid ensure and subsequent transfer to chow. **J Neuroendocrinol**, 17: 711–719, 2005.
- ARTIGA A.I.; VIANA J.B.; MALDONADO C.R.; CHANDLER-LANEY P.C.; OSWALD K.D.; BOGGIANO M.M. Body composition and endocrine status of long-term stress-induced binge-eating rats. **Physiol Behav**, 91:424-431, 2007.
- AVENA, N. M. Examining the addictive-like properties of binge eating using an animal model of sugar dependence. **Experimental and Clinical Psychopharmacology**, 15, 481–491, 2007.
- AVENA, N. M.; RADA, P. & HOEBEL, B. G. Evidence for sugar addiction: behavioral and neurochemical effects of intermittent, excessive sugar intake. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, 32, 20–39, 2008.
- BARKER, D.J.; HALES, C.N.; FALL, C.H.; OSMOND C.; PHIPPS, K.; CLARK P.M. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidaemia (syndrome X): relation to reduced fetal growth. **Diabetologia**, 36:62-7, 1993.
- BARRETO-MEDEIROS, J.M.; FEITOZA, E.G.; MAGALHÃES, K.; CABRAL-FILHO, J.E.; MANHÃES-DE-CASTRO, F.M.; DE-CASTRO, C.M.; MANHÃES-DE-CASTRO, R. Malnutrition during brain growth spurt alters the effect of fluoxetine on aggressive behavior in adult rats. **Nutr Neurosci**, 7(1):49-52, 2004.
- BELLINGER, L.; LILLEY, C. & LANGLEY-EVANS, S.C. Prenatal exposure to a maternal low-protein diet programmes a preference for high-fat foods in the young adult rat. **Br. J. Nutr.**, 92, 513–520, 2004.

BERNER, L.A., AVENA, N.M. AND HOEBEL, B.G. Bingeing, Self restriction, and Increased Body Weight in Rats With Limited Access to a Sweet-fat Diet. **Obesity**, 16, 1998–2002. doi:10.1038/oby.2008.328, 2008.

BOGGIANO, M.M.; CHANDLER, P.C. Binge eating in rats produced by combining dieting with stress. **Curr Protoc Neurosci**. Chapter 9:Unit9.23A, 2006.

BOGGIANO, M. M.; CHANDLER, P. C.; VIANA, J. B.; OSWALD, K. D.; MALDONADO, C.R. & WAUFORD, P. K. Combined dieting and stress evoke exaggerated responses to opioids in binge-eating rats. **Behavioral Neuroscience**, 119, 1207–1214, 2005.

BOOTH, D.A. Conditioned satiety in the rat. **J Comp Physiol Psychol**;81(3):457-71. PubMed PMID: 4649186, 1972.

BROWNLEY, K. A.; BERKMAN, N. D.; SEDWAY, J. A.; LOHR, K. N. & BULIK, C. M. Binge eating disorder treatment: a systematic review of randomized controlled trials. **International Journal of Eating Disorders**, 40, 337–348, 2007.

BUSHNELL, J.A.; WELLS, J.E.; HORNBLOW, A.R.; OAKLEY-BROWNE, M.A.; JOYCE, P. Prevalence of three bulimia syndromes in the general population. **Psychol Med**, 20:671–680, 1990.

COLANTUONI, C.; SCHWENKER, J.; MCCARTHY, J.; RADA, P.; LADENHEIM, B.; CADET, J.L.; SCHWARTZ, G.J.; MORAN, T.H.; HOEBEL, B.G. Excessive sugar intake alters binding to dopamine and mu-opioid receptors in the brain. **Neuroreport**, 12:3549–3552, 2001.

CORWIN, R.L. Binge-type eating induced by limited access in rats does not require energy restriction on the previous day. **Appetite**, 42: 139–142, 2004.

COTTONE, P.; SABINO, V.; STEARDO, L. AND ZORRILLA, E.P. Intermittent access to preferred food reduces the reinforcing efficacy of chow in rats. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, 295: R1066–R1076, 2008b.

COTTONE, P.; SABINO, V.; STEARDO, L.; ZORRILLA, E.P. Consummatory, anxiety-related and metabolic adaptations in female rats with alternating access to preferred food. **Psychoneuroendocrinology**, 34,38-39, 2009.

CARROLL, M.E. AND MEISCH, R.A. The effects of feeding conditions on drugreinforced behavior: maintenance at reduced body weight versus availability of food. **Psychopharmacology (Berl)**, 68: 121-124, 1980.

CARR, K.D. AND KUTCHUKHIDZE, N. Chronic food restriction increases fos-like immunoreactivity (FLI) induced in rat forebrain by intraventricular amphetamine. **Brain Res**, 861: 88-96, 2000.

CHANDLER-LANEY, P.C.; CASTAÑEDA, E.; VIANA, J.B.; OSWALD, K.D.; MALDONADO, C.R.; BOGGIANO, M.M. A History of Human-Like Dieting Alters. Serotonergic Control of Feeding and Neurochemical Balance in a Rat Model of Binge-Eating. **Int J Eat Disord**, 40:136–142, 2007.

CIFANI, C.; POLIDORI, C.; MELOTTO, S.; CICCOCIOPO, R.; MASSI, M. A preclinical model fo binge eating elicited yo-yo dieting and stressful exposure to food: effect of sibutramine, fluoxetine, topiramate, and midazolam. **Psychopharmacology**. DOI 10.1007/s00213-008-1442-y, 2009.

COLANTUONI, C.; RADA, P.; MCCARTHY, J.; PATTEN, C.; AVENA, N.M.; CHADEAYNE, A.; HOEBEL, B.G. Evidence that intermittent, excessive sugar intake causes endogenous opioid dependence. **Obes Res**, 10:478–488, 2002.

CORWIN, R.L. AND BUDA-LEVIN, A. Behavioral models of binge-type eating. **Physiol Behav** 82: 123–130, 2004.

CORWIN, R.L.; WOJNICKI, F.H.; FISHER, J.O. *et al.* Limited access to a dietary fat option affects ingestive behavior but not body composition in male rats. **Physiol Behav**; 65:545–553, 1998.

COTTONE, P.; SABINO, V.; STEARDO, L.; ZORRILLA, E.P. Opioid-Dependent Anticipatory Negative Contrast and Binge-Like Eating in Rats with Limited Access to Highly Preferred Food. **Neuropsychopharmacology**: 33, 524–535, 2008a.

COTTONE, P.; SABINO, V.; STEARDO, L. AND ZORRILLA, E.P. Intermittent access to preferred food reduces the reinforcing efficacy of chow in rats. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, 295: R1066–R1076, 2008b.

CRIPPS, R. L.; MARTIN-GRONERT, M.S.; ARCHER, Z.A.; HALES, C.N.; MERCER, J.G. AND OZANNE, S.E. Programming of hypothalamic neuropeptide gene expression in rats by maternal dietary protein content during pregnancy and lactation. **Clinical science**, 117, 85–93, 2009.

CROWTHER, J. H.; SANFTNER, J.; BONIFAZI, D. Z. & SHEPHERD, K. L. The role of dailyhassles in binge eating. **International Journal of Eating Disorders**, 29, 449–454, 2001.

DAVIS, C.; LEVITAN, R. D.; CARTER, J.; KAPLAN, A. S.; REID, C.; CURTIS, C.; ET AL. Personality and eating behaviors: a case-control study of binge eating disorder. **International Journal of Eating Disorders**, 40, 243–250, 2007.

DE MOURA, E.G. AND PASSOS, M.C. Neonatal programming of body weight regulation and energetic metabolism. **Biosci Rep**. 25(3-4):251-69. Review, 2005.

DIMITRIOU, S.G. AND RICE, H.B., CORWIN, R.L. Effects of limited access to a fat option on food intake and body composition in female rats. **Int J Eat Disord**, 28:436–445, 2000.

DIXON, D.P.; ACKERT , A.M.; ECKEL, L.A. Development of, and recovery from, activity-based anorexia in female rats. **Physiol Behav**, 80(2-3):273-9, 2003.

DORNER, G.; PLAGEMANN, A.; REINAGEL, H. Familial diabetes aggregation in type I diabetics: gestational diabetes an apparent risk factor for increased diabetes susceptibility in the offspring. **Exp Clin Endocrinol**; 89:84–90, 1987.

ENGEL, S. G.; BOSECK, J. J.; CROSBY, R. D.; WONDERLICH, S. A.; MITCHELL, J. E.; SMYTH, J.; *et al.* The relationship of momentary anger and impulsivity to bulimic behavior. **Behavior Research and Therapy**, 45, 437–447, 2007.

FAIRBURN, C.G. AND HARRISON, P.J. Eating disorders. **Lancet**. 361(9355):407-16. Review, 2003.

FRANKLIN, J.C.; SCHEILE, B.C.; ET AL. Observations on human behavior in experimental semi-starvation and rehabilitation. **J Clin Psychol**. 4(1):28-45, 1948.

GRAHAM, B.; CHANG, S.; LIN, D.; YAKUBU, F.; HILL, J.O. Effect of weight cycling on susceptibility to dietary obesity. **Am J Physiol**; 259: R1096–R1102, 1990.

GRILO, C. M.; MASHEB, R. M. & WILSON, G. T. Subtyping binge eating disorder. **Journal of Consulting and Clinical Psychology**, 69, 1066–1072, 2001.

GRILO, C.M. AND MASHEB, R.M. Childhood psychological, physical, and sexual maltreatment in outpatients with binge eating disorder: frequency and associations with gender, obesity, and eating-related psychopathology. **Obes Res**, 9:320– 5, 2001.

HAGAN, M.M. & MOSS, D.E. Persistence of binge-eating patterns after a history of restriction with intermittent bouts of refeeding on palatable food in rats: implications for bulimia nervosa. **Int J Eat Disord**, 22:411 –20, 1997.

HAGAN, M.M.; WAUFORD, P.K.; CHANDLER, P.C.; JARRETT, L.A.; RYBAK, R.J.; BLACKBURN, K. A new animal model of binge-eating: Key synergistic role of past caloric restriction and stress. **Physiol Behav**, 77:45–54, 2002.

HAGAN, M.M.; CHANDLER, P.C.; WAUFORD, P.K.; RYBAK, R.J.; OSWALD, K.D. The role of palatable food and hunger as trigger factors in an animal model of stress induced binge-eating. **Int J Eat Disord**, 34:183–197, 2003.

HALES, C.N. & BARKER, D.J. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. **Diabetologia** 35: 595–601, 1992.

HANCOCK, S.D; MENARD, J.L.; OLMSTEAD, M.C. Variations in maternal care influence vulnerability to stress-induced binge eating in female rats. **Physiology & Behavior**; 85:430–9, 2005.

HEATHERTON, T. F. & BAUMEISTER, R. F. Binge eating as escape from self-awareness. **Psychological Bulletin**, 110, 86–108, 1991.

HEBE BRAND, J.; CASPER, R.; TREASURE, J.; SCHWEIGER, U. The need to revise the diagnostic criteria for anorexia nervosa. **J Neural Transm**, 111:827–840, 2004.

HETHERINGTON, M.M.; ALTEMUS, M.; NELSON, M.L.; BERNAT, A.S.; & GOLD, P.W. Eating behavior in bulimia nervosa: Multiple meal analyses. **American Journal of Clinical Nutrition**, 60, 864–874, 1994.

HOEK, H.J.; VAN HOEKEN, D.; KATZMAN, M.A. Epidemiology and cultural aspects of eating disorders: a review. In: Maj, M., Halmi, K.A., Lo´pez-Ibor, J.J., Sartorius, N. (Eds.), **Eating Disorders**. Wiley, Chichester, UK, pp. 75–104, 2003.

HOEK, H. W. & VAN HOEKEN, D. Review of the prevalence and incidence of eating disorders. **International Journal of Eating Disorders**, 35, 383–396, 2003.

HOWARD, C.E. AND PORZELIUS, L.K. The role of dieting in binge eating disorder: etiology and treatment implications. **Clin Psychol Rev.** 19(1):25-44. Review, 1999.

HUDSON, J. L.; HIRIPI, E.; POPE, H. G. JR. & KESSLER, R. C. The prevalence and correlates of eating disorders in the National Comorbidity Survey Replication. **Biological Psychiatry**, 61, 348–358, 2007.

INOUE, K.; ZORRILLA, E.P.; TABARIN, A.; VALDEZ, G.R.; IWASAKI, S.; KIRIIKE, N. Reduction of anxiety after restricted feeding in the rat: implication for eating disorders. **Biol Psychiatry**, 55: 1075-1081, 2004.

IWASAKI, S.; INOUE, K.; KIRIIKE, N.; HIKIJI, K. Effect of maternal separation on feeding behavior of rats later in life. **Physiol Behav**; 70:551–6, 2000.

JOHNSON, J. G.; COHEN, P.; KASEN, S. & BROOK, J. S. Eating disorders during adolescence and the risk for physical and mental disorders during early adulthood. **Archives of General Psychiatry**, 59, 545–552, 2002.

KALRA, S.P. ET AL. Interacting appetite-regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight. **Endocrine Reviews**, 20(1): 68-100, 1999.

KINZIG, K.P.; HARGRAVE, S.L. AND TAO, E. E. Central and peripheral effects of chronic food restriction and weight restoration in the rat. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, 296: E282-E290, 2009.

LATNER, J. D. & CLYNE, C. The diagnostic validity of the criteria for binge eating disorder. **International Journal of Eating Disorders**, 41, 1–14, 2008.

LEVIN, B.E. AND DUNN-MEYNELL, A.A. Defense of body weight depends on dietary composition and palatability in rats with diet-induced obesity. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**. 282(1):R46-54, 2002.

LOPES DE SOUZA, S.; OROZCO-SOLIS, R.; GRIT, I.; MANHAES DE CASTRO, R.; BOLANOS-JIMENEZ, F. Perinatal protein restriction reduces the inhibitory action of serotonin on food intake. **Eur J Neurosci**; 27:1400–8, 2008.

LUCAS, A. Programming by early nutrition in man. **Ciba Found Symp**, 156:38– 50, 1991.

MAMCZARZ, J.; BOWKER, J.L.; DUFFY, K.; ZHU, M.; HAGEPANOS, A. AND INGRAM, D.K. Enhancement of amphetamine-induced locomotor response in rats on different regimens of diet restriction and 2-deoxy-D-glucose treatment. **Neuroscience**, 131: 451-464, 2005.

MANHÃES DE CASTRO, R.; CABRAL - FILHO, J.E.; COSTA, J.A.; COSTA, F.B.R.; GALLINDO, M.A.C.; HECKSHER, C.A. Neonatal treatment with naloxone causes permanent hyperalgesy in rats. **Brazilian J. Med. Biol. Res.**; 26, p. 747 – 751, 1993.

MANHÃES DE CASTRO, R; BARRETO MEDEIROS, J.M.; MENDES DA SILVA, C.; FERREIRA, L.P.M.; GUEDES, R.C.A.; CABRAL FILHO, J.E.; COSTA, J.A. Reduction of intraspecific aggression in adult rats by neonatal treatment with a selective serotonin reuptake inhibitor. **Brazilian J. Med. Biol. Res.**; 34, p. 121-124, 2001.

MANJARREZ, G.; CONTRERAS, J.L.; CHAGOYA, G.; HERNÁNDEZ-R, J. Free tryptophan an indicator of brain serotonin synthesis in infants. **Pediatr Neurol.**18(1):57-62, 1998.

MCMILLEN, I.C.; ADAM, C.L.; MUHLHAUSLER, B.S. Early origins of obesity: programming the appetite regulatory system. **J Physiol (Lond)**; 565:9e17, 2005.

MILLER, R.E.; MIRSKY, I.A.; CAUL, W.F.; SAKATA, T. Hyperphagia and polydipsia in socially isolated rhesus monkeys. **Science**, 165:1027 –8, 1969.

MITCHELL, J. E. & CROW, S. Medical complications of anorexia nervosa and bulimia nervosa. **Current Opinions in Psychiatry**, 19, 438–443, 2006.

MONTGOMERY, A. M. J. Animal models of eating disorders. In P. Willner (Ed.), Behavioral models in psychopharmacology: Theoretical, industrial, and clinical perspectives. **Cambridge: Cambridge University Press**, 1991.

RESNICK, O.; MILLER, M.; FORBES, W.; HALL, R.; KEMPER, T.; BRONZINO, J.; MORGANE, P.J. Developmental protein malnutrition: influences on the central nervous system of the rat. **Neurosci Biobehav Rev.** 3(4):233-46, 1979.

MORGANE, P. J.; AUSTIN-LAFRANCE, R. J.; BRONZINO, J.; TONKISS, J.; DIAZ-CINTRA, S.; CINTRA, L.; KEMPER, T.; GALLER, J. R. Prenatal malnutrition and development of the brain. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**; v. 17, p. 91-128, 1993.

MORTON, G.J.; CUMMINGS, D.E.; BASKIN, D.G.; BARSH, G.S. & SCHWARTZ, M.W. Central nervous system control of food intake and body weight. **Nature**, 443, 289–295, 2006.

OROZCO-SÓLIS, R.; LOPES DE SOUZA, S.; MATOS, R.J.B.; GRIT, I.; LE BLOCH, J.; NGUYEN, P.; MANHÃES DE CASTRO, R.; BOLAÑOS-JIMÉNEZ, F. Perinatal undernutrition-induced obesity is independent of the developmental programming of feeding. **Physiology & Behavior**, 96: 481–492, 2009.

PIKE, K.M.; WILFLEY, D.; HILBERT, A.; FAIRBURN, C.G.; DOHM, F.A. & STRIEGEL-MOORE, R.H. Antecedent life events of binge-eating disorder. **Psychiatry Research**, 142, 19–29, 2006.

PLAGEMANN, A.; HARDER, T.; RAKE, A.; MELCHIOR, K.; ROHDE, W.; DORNER. Hypothalamic nuclei are malformed in weanling offspring of low protein malnourished rat dams. **J Nutr.**; 130, p. 2582-90, 2000.

- POLIVY, J. & HERMAN, C. P. Dieting and bingeing. A causal analysis. **American Psychologist**, 40, 193–201, 1985.
- POZZO-MILLER, L.D.E. AND AOKI, A. Postnatal development of the hypothalamic ventro-medial nucleus: neurons and synapses. **Cell Mol Neurobiol**; 12, p. 121-129, 1992.
- RADA, P.; AVENA, N.M.; HOEBEL, B.G. Daily bingeing on sugar repeatedly releases dopamine in the accumbens shell. **Neuroscience**, 134(3):737–744, 2005.
- RESNICK, O. AND MORGANE, P.J. Generational effects of protein malnutrition in the rat. **Brain Res.** Aug; 317 (2): 219-27, 1984.
- ROGERS, P. J. & HILL, A. J. Breakdown of dietary restraint following mere exposure to food stimuli: interrelationships between restraint, hunger, salivation, and food intake. **Addictive Behaviors**, 14, 387–397, 1989.
- RORTY, M.; YAGER, J.; ROSSOTTO, E. Childhood sexual, physical, and psychological abuse in bulimia nervosa. **Am J Psychiatry**, 151:1122–6, 1994.
- RYU, V.; LEE, J-H.; YOO, S.B.; GU, X.F.; MOON, Y.W. AND JAHNG, J.W. Sustained hyperphagia in adolescent rats that experienced neonatal maternal separation. **International Journal of Obesity**; 32, 1355–1362, 2008.
- SEA, M.M.; FONG, W.P.; HUANG, Y.; CHEN, Z.Y. Weight cycling-induced alteration in fatty acid metabolism. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**; 279: R1145–R1155, 2000.
- SMITH, G.P. Animal models of human eating disorders. **Ann NY Acad Sci**, 575:63– 72, 1989.
- SIMMONS, R. Developmental origins of adult metabolic disease: concepts and controversies. **Trends Endocrinol Metab**; 16:390e4, 2005.
- STEIN, R. I.; KENARDY, J.; WISEMAN, C. V.; DOUNCHIS, J. Z.; ARNOW, B. A. & WILFLEY, D. E. What's driving the binge in binge eating disorder? A prospective examination of precursors and consequences. **International Journal of Eating Disorders**, 40, 195–203, 2007.
- SNOWDON, C.T. Motivation, regulation, and the control of meal parameters with oral and intragastric feeding. **J Comp Physiol Psychol**. 69(1):91-100, 1969.
- STEWART, S.H. AND SAMOLUK, S.B. Effects of short-term food deprivation and chronic dietary restraint on the selective processing of appetitive-related cues. **Int J Eat Disord**. 21(2):129-35, 1997.
- STICE, E. & AGRAS, W. S. Predicting onset and cessation of bulimic behaviors during adolescence: a longitudinal grouping analysis. **Behavior Therapy**, 29, 257– 276, 1998.

STICE, E.; AGRAS, W.S.; TELCH, C.F.; HALMI, K.A.; MITCHELL, J.E.; WILSON, T. Subtyping binge eating-disordered women along dieting and negative affect dimensions. **Int J Eat Disord**, 30:11–27, 2001.

STRIEGEL-MOORE, R. H.; DOHM, F. A.; KRAEMER, H. C.; SCHREIBER, G. B.; TAYLOR, C. B. & DANIELS, S. R. Risk factors for binge-eating disorders: an exploratory study. **International Journal of Eating Disorders**, 40, 481–487, 2007.

TREIT, D. AND SPETCH, M.L. Caloric regulation in the rat: control by two factors. **Physiol Behav**. 36(2):311-7, 1986.

VICKERS, M.H.; BREIER, B.H.; CUTFIELD, W.S.; HOFMAN, P.L. & GLUCKMAN, P.D. Fetal origins of hyperphagia, obesity, and hypertension and postnatal amplification by hypercaloric nutrition. American Journal of Physiology. **Endocrinology and Metabolism**. 279, E83– E87, 2000.

WATERS, A.; HILL, A. & WALLER, G. Internal and external antecedents of binge eating episodes in a group of women with bulimia nervosa. **International Journal of Eating Disorders**, 29, 17–22, 2001.

WYNNE, K.; STANLEY, S.; MCGOWAN, B. AND BLOOM, S. Appetite control. **J. Endocrinol**, v.184, n.2, Feb, p.291-318, 2005.

YANOVSKI, S.Z. Binge eating disorder and obesity in 2003: could treating an eating disorder have a positive effect on the obesity epidemic? **Int J Eat Disord**, 34(Suppl): S117–S120, 2003.

YURA, S.; ITOH, H.; SAGAWA, N.; YAMAMOTO, H.; MASUZAKI, H.; NAKAO, K.; *et al.* Role of premature leptin surge in obesity resulting from intrauterine undernutrition. **Cell Metab**; 1:371–8, 2005.

10 – Anexos

Anexo A - Parecer do Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEAA) da UFPE.

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br



Recife, 10 de junho de 2008

Ofício nº 36/08

Da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPE

Para: **Profa. Sandra Lopes de Souza**

Departamento de Anatomia - CCB

Universidade Federal de Pernambuco

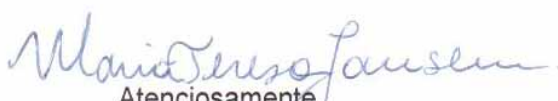
Processo nº 23076.005614/2008-65

Os membros da Comissão de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEEA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado ***“Programação por desnutrição precoce: Estudo em modelo animal de distúrbio alimentar”***.

Concluímos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEEA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 9.605 – art. 32 e Decreto 3.179-art 17, de 21/09/1999, que trata da questão do uso de animais para fins científicos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais realizados.


Atenciosamente,

Anexo B - Análises Físico-Químicas de Dieta Hipercalórica utilizada nos protocolos experimentais de compulsão alimentar.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO
LABORATÓRIO DE EXPERIMENTAÇÃO E ANÁLISE DE ALIMENTOS
NONETE BARBOSA GUERRA

Página 1 de 1

CERTIFICADO DE ENSAIO Nº 1326/09 Data de Emissão: 19/05/2009

SOLICITANTE MADGE F. FECHINE		DATA DE ENTRADA 12.05.09
ENDEREÇO DO SOLICITANTE Rua São Bento, 104 – Varadouro – Olinda – PE		
NATUREZA DO PRODUTO DIETA HIPERPALATÁVEL		Marca -
Outras Informações: -	Lote -	Data de fabricação: 11.05.09 Data de validade: -
AMOSTRA: aproximadamente 260g, coletada pelo solicitante.		

FÍSICO-QUÍMICA

ENSAIOS	RESULTADOS
Umidade e Substâncias Voláteis (g/100g) Método: Adolfo Lutz, 2005	19,22
Proteínas (g/100g) Método: Adolfo Lutz, 2005	10,76
Cinzas (g/100g) Método: Adolfo Lutz, 2005	3,11
Gordura (g/100g) Método: Adolfo Lutz, 2005	17,83
Carboidratos (g/100g) Método: por cálculo, ASCAR, 1985	49,08
VCT (Kcal/100g) Método: por cálculo	399,83
Observações:	-
Conclusão:	-

Informamos que os resultados são referentes à amostra analisada e que a reprodução deste certificado só é permitida na íntegra.

Recife, 19 de maio de 2009


Sebastião Camilo de Melo Filho
Gerente Técnico Setor de Físico-Química


Margarida Angélica da S. Vasconcelos
Coordenadora do LEAAL