



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROPSIQUIATRIA E CIÊNCIAS DO
COMPORTAMENTO

Madge Farias Fechine

PODE A COMPULSÃO ALIMENTAR SER PROGRAMADA
POR DESNUTRIÇÃO PERINATAL
OU MANIPULAÇÃO DO SISTEMA SEROTONINÉRGICO?

Orientador: Prof. Dr. Raul Manhães de Castro (Departamento de Nutrição - UFPE)

Co-orientadora: Prof^ª. Dra. Sandra Lopes de Souza (Departamento de Anatomia - UFPE)

Recife

2016

Madge Farias Fechine

**PODE A COMPULSÃO ALIMENTAR SER PROGRAMADA
POR DESNUTRIÇÃO PERINATAL
OU MANIPULAÇÃO DO SISTEMA SEROTONINÉRGICO?**

Tese 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 Doutor em Neurociências.

Orientador: Prof. Dr. Raul Manhães de Castro, professor associado ao Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco.

Co-orientadora: Prof^a. Dra. Sandra Lopes de Souza, professora associada ao Departamento de Anatomia da Universidade Federal de Pernambuco.

Recife

2016

Catálogo na fonte
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

F291p Fachine, Madge Farias.
Pode a compulsão alimentar ser programada por desnutrição perinatal ou manipulação do sistema serotoninérgico? / Madge Farias Fachine. – 2016.
139 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientadores: Raul Manhães de Castro.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento. Recife, 2016.

Inclui referências e apêndices.

1. Desnutrição proteica. 2. Fluoxetina. 3. Hiperfagia. 4. Ratos. 5. Transtorno da compulsão alimentar. I. Castro, Raul Manhães de (Orientador). II. Título.

612.6 CDD (22.ed.)

UFPE (CCS2016-248)

Madge Farias Fechine

PODE A COMPULSÃO ALIMENTAR SER PROGRAMADA
POR DESNUTRIÇÃO PERINATAL
OU MANIPULAÇÃO DO SISTEMA SEROTONINÉRGICO?

Tese aprovada em 31 de maio de 2016.

Prof Adriano Bento dos Santos

Profa Elizabeth do Nascimento

Prof José Antônio dos Santos

Prof José Eulálio Cabral Filho

Prof José Luiz de Brito Alves

Recife

2016

Em especial, eu dedico esta tese à voinha (Maria Aparecida), quem, desde que eu nasci, tem cuidado e rezado por mim. Também, eu ofereço a papai (*in memoriam*) o meu esforço para enfrentar as dificuldades que encontrei durante o desenvolvimento desta tese.

Agradecimentos

Durante o desenvolvimento desta tese eu agradeço:

Primeiro a Deus, por ter me dado paciência e sabedoria necessárias para eu seguir em frente, assim como por colocar pessoas em forma de anjos, pelos encontros e desencontros da vida.

A minha família que mesmo fisicamente ausente desde maio 1999, reconhece em mim uma pessoa de coração aberto e disposto a ajudar o próximo.

Ao meu orientador, professor Raul, quem me impulsionou (de uma forma ou de outra) e contribuiu para que esta tese fosse iniciada e o primeiro artigo desenvolvido. Professor, embora tenhamos nossas divergências, eu quero que o senhor saiba que: Eu acredito que tudo aconteceu por um propósito maior; Eu estou grata por ter proporcionado encontros especiais, pois através deles eu cheguei até pessoas especiais; Eu reconheço que aprendi muito para o desenvolvimento desta tese e para a vida.

A minha co-orientadora, Sandra Lopes (a quem chamo simplesmente de professora), por ter aceitado mais uma vez participar da minha vida profissional e por estar comigo nos momentos difíceis, quando o meu projeto foi modificado.

Ao professor Eulálio (a quem eu considero meu orientador sentimental), quem sempre me recebeu com alegria, pelo entusiasmo de cada descoberta científica que tivemos durante as correções dos artigos, por estar ao meu lado quando eu achava que as coisas estavam complicadas, pela amizade e confiança. Professor, eu vou ter saudades dos nossos encontros científicos, os quais sempre foram permeados de conversas e impregnados de felicidade. Gratidão especial por ter me apresentado ao professor Natal, quem contribuiu com a análise estatística de todos os resultados desta tese.

A todos (que todos se sintam acolhidos e incluídos) que fazem parte do grupo de pesquisa Nutrição, Atividade Física e Plasticidade Fenotípica, ao qual esta tese está vinculada. Gratidão a todos os alunos e professores deste grupo. A todos que fizeram parte de minha vida, de uma forma direta e/ou indireta, no Departamento de Nutrição desta universidade.

Agradeço a CAPES pelo apoio financeiro e a todos que compõem o Programa de Pós-graduação em Neuropsiquiatria e Ciências do Comportamento.

Porque Deus é o que opera em vós tanto
o querer como o efetuar, segundo a sua
boa vontade.

Filipenses 2:13

RESUMO

Objetivo: Investigar os efeitos da desnutrição proteica perinatal ou manipulação do sistema serotoninérgico durante a lactação sob o comportamento alimentar compulsivo após ciclos de Restrição/Realimentação (R/R). **Materiais e métodos:** Foram formados quatro grupos conforme os tratamentos dietéticos e farmacológicos: Controle (17% caseína na vida perinatal) e Desnutrido (8% caseína na vida perinatal); Salina (10mg/Kg) e Fluoxetina (10mg/Kg) foram submetidos a três consecutivos ciclos de Restrição/Realimentação (ciclos R/R). Cada ciclo R/R é composto por uma fase de restrição (4 dias com 40% do consumo individual médio de dieta padrão nos 7 dias antes de iniciar os ciclos R/R) seguida por uma fase realimentação (4 dias com dieta padrão *ad libitum*). Assim, os quatro grupos anteriormente descritos foram subdivididos ou não de acordo com a fase de restrição dos ciclos R/R para formar oito grupos: Grupos não restritos [Controle Naïve (CN) n=6 e 10 ou Desnutrido Naïve (DN) n=7 e 11 e Salina Naïve (SN) n=13/15 ou Fluoxetina Naïve (FN) n=12/13] e Grupos restritos [Controle Restrito (CR) n=6 e 11 ou Desnutrido Restrito (DR) n=7 e 10 e Salina Restrito (SR) n=11/13 ou Fluoxetina Restrito (FR) n=13/14]. Após os três ciclos R/R, todos os animais foram submetidos ao teste alimentar (dieta padrão e palatável por 24hs). Após uma semana, os animais dos grupos [Controle Naïve (CN) n=10 ou Controle Restrito (CR) n=11 e Desnutridos Naïve (DN) n=11 ou Desnutrido Restrito (DR) n=10] foram submetidos a um teste de privação alimentar (24hs sem dieta padrão) e em seguida receberam dieta palatável (2hs) e dieta padrão (22hs). Já todos os animais dos grupos Salina e Fluoxetina, aos 120 dias de vida foram submetidos a outro teste alimentar semelhante ao primeiro teste alimentar (após os ciclos R/R). **Resultados:** Após ciclos R/R os animais Desnutrido Restrito demonstraram hiperfagia por dieta palatável comparados com os animais do grupo Controle Naïve, como também aumentaram o peso corporal sugerindo o desenvolvimento de obesidade. Contudo, estes animais perderam a capacidade para aumentar o consumo de dieta palatável quando estavam com fome, após a privação alimentar. Em relação aos grupos Salina e Fluoxetina não houve diferenças significativas no consumo alimentar (dieta palatável e padrão) nos dois testes alimentares. **Conclusão:** Desnutrição proteica perinatal ou tratamento de fluoxetina no aleitamento não contribuem para o desenvolvimento de compulsão alimentar após três ciclos R/R.

Palavras-chave: Desnutrição proteica. Fluoxetina. Hiperfagia. Ratos. Transtorno da compulsão alimentar.

ABSTRACT

Objective: To investigate the effects of the perinatal protein undernourishment or manipulation of the serotonergic system in breastfeeding on the binge eating behavior after Restriction/Refeeding cycles (R/R cycles). **Materials and methods:** Four groups were formed as dietary and pharmacological treatments: Control (17% casein in perinatal life) and Undernourished (8% casein in perinatal life); Saline (10mg/kg) and Fluoxetine (10mg/kg) were submitted to three consecutive cycles of Restriction/Refeeding cycles (R/R cycles). Each R/R cycle was composed of a restriction phase (4 days with 40% of the mean individual consumption standard diet 7 days before starting cycles R/R) followed by a feedback phase (4 days with a standard diet ad libitum). Thus, the four groups described above were subdivided or not according to the restriction phase of R/R cycles to form eight groups: not restricted Groups [Control Naïve (CN) n=6 and 10 or Undernourished Naïve (UN) n=7 and 11 and Saline Naïve (SN) n=13/15 or Fluoxetine Naïve (FN) n=12/13] and Restricted Groups [Restricted Control (CR) n=6 and 11 or Undernourished Restricted (DR) n=7 and 10 and Saline Restricted (SR) n=11/13 or Fluoxetine Restricted (FR) n=13/14]. After three R/R cycles, all animals were subjected to the feeding test (standard diet and palatable food for 24hrs). After one week, the animals of the groups [Control Naïve (CN) n=10 or Restricted Control (CR) n=11 and Undernourished Naïve (DN) n=11 or Undernourished Restricted (UR) n=10] were subjected to a test food deprivation (24hrs without standard diet) and then received palatable food (2hrs) and standard diet (22hrs). Already all the animals of Saline and Fluoxetine groups at 120 days of age were subjected to a similar feeding test the first test (after R/R cycles). **Results:** After R/R cycles the Restricted Undernourished animals showed hyperphagia by palatable food compared to animals Naïve control group, as well as increased body weight suggesting the development of obesity. However, these animals have lost the ability to increase the intake of palatable food when they were hungry after food deprivation. Regarding Saline and Fluoxetine groups there was not significant differences in food intake (standard diet and palatable food) in both feeding tests. **Conclusion:** Perinatal protein undernourishment or treatment of fluoxetine in breastfeeding do not contribute to the development of binge eating after three R/R cycles.

Keywords: Protein malnutrition. Fluoxetine. Hyperphagia. Rats. Binge-eating disorder.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURAS INCLUCÍDAS NA TESE

53

Figura 1

Esquema do protocolo experimental de compulsão alimentar. Ratas com 45 dias de vida foram submetidas a três ciclos consecutivos de restrição alimentar (40%) e realimentação (R/R ciclos). No período de realimentação, os animais receberam dieta padrão *ad libitum* com oferta de dieta palatável durante duas horas nos dois primeiros dias dos 1º e 2º ciclos. Após os ciclos R/R (25^o dia), os animais foram submetidos ao teste alimentar que consistiu de 24hs de acesso *ad libitum* para dieta padrão (mensurada em 24hs) e dieta palatável (mensurada em 1, 2, 4, 6 e 24hs).

PRIMEIRO ESTUDO

95

Figure 1

Body weights change (%) after each one of the three Restriction/Refeeding (R/R) cycles. (A) First R/R cycle: **p < .01 (UR vs. UN) and ***p < .001 (CR vs. CN); (B) Second R/R cycle: Not significant in any comparison; (C) Third R/R cycle: *p < .05 (UN vs. CN). Restricted groups [Control (CR) and Undernourished (UR)] and Naïve groups [Control (CN) and Undernourished (UN)]. Data are mean±SEM.

Figure 2

Food intake (kcal/100g of body weight) during refeeding in each one of the three R/R cycles. (A) Chow intake: First cycle: ***p < .001 (CR vs. CN and UR vs. UN); Second cycle: ***p < .001 (CR vs. CN and UR vs. UN); Third cycle: ***p < .001 (CR vs. CN and UR vs. UN) and ***p < .001 (UN vs. CN); (B) Palatable food intake: First cycle: Not significant in any comparison; Second cycle: **p < .01 (CR vs. CN) and ***p < .001 (UR vs. UN). Restricted groups [Control (CR) and Undernourished (UR)] and Naïve groups [Control (CN) and Undernourished (UN)]. Data are mean±SEM.

Figure 3

Feeding Test. Palatable food intake (kcal/100g of body weight) across the time: At 2h [**p < .01 (CN vs. UN) and ***p < .001 (UR vs. UN)], 4h [*p < .05 (CN vs. UN) and ***p < .001 (UR vs. UN)] and 6h [**p < .01 (UR vs. UN)].

Restricted groups [Control (CR) and Undernourished (UR)] and Naïve groups [Control (CN) and Undernourished (UN)]. Data are mean±SEM.

SEGUNDO ESTUDO

111

Figure 1

Body weight changes (%) in the first R/R cycle: $*p < .05$ (UR vs. UN), $*p < .05$ (UR vs. CN) and $***p < .001$ (CR vs. CN). Restricted groups [Control (CR) and Undernourished (UR)] and Naïve groups [Control (CN) and Undernourished (UN)]. Data are mean±SEM.

Figure 2

Effect of the R/R cycles on food intake (kcal/100g of body weight): (A) Chow intake in the first, second and third refeeding phases: $***p < .001$ (CR vs. CN, UR vs. UN and UR vs. CN); (B) Palatable food intake in the first refeeding [$***p < .001$ (UR vs. UN)] and in the second refeeding [$***p < .001$ (UR vs. UN and UR vs. CN)]. Restricted groups [Control (CR) and Undernourished (UR)] and Naïve groups [Control (CN) and Undernourished (UN)]. Data are mean±SEM.

Figure 3

Feeding test. Palatable food intake (kcal/100g of body weight) at 2h [$*p < .05$ (UR vs. UN)], 4h [$***p < .001$ (UR vs. UN)] and 6h [$**p < .01$ (UR vs. UN)]. Restricted groups [Control (CR) and Undernourished (UR)] and Naïve groups [Control (CN) and Undernourished (UN)]. Data are mean±SEM.

Figure 4

After feeding test: (A) Body weights changes (%) seven days after feeding test: $*p < .05$ (UR vs. UN); $**p < .005$ (CR vs. CN) and $***p < .001$ (UR vs. CN); After 24h of the food deprivation: (B) Palatable food intake (kcal/100g of body weight): ANOVA did not reveal a main effect among the groups. Restricted groups [Control (CR) and Undernourished (UR)] and Naïve groups [Control (CN) and Undernourished (UN)]. Data are mean±SEM.

TERCEIRO ESTUDO

127

Figure 1

Body weight changes (%) in the R/R cycles: First R/R cycle: $*p < .05$ (FR vs. SN) and $**p < .01$ (FR vs. FN). Restricted groups [Saline (SR) and Fluoxetine

(FR)] and Naïve groups [Saline (SN) and Fluoxetine (FN)]. Data are mean±SEM.

Figure 2

Food intake (kcal/100g of body weight) in the R/R cycles: (A) Chow intake in each one of three refeeding phases: $***p < .001$ (SR vs. SN, FR vs. FN and FR vs. SN); (B) Palatable food intake: First refeeding [$***p < .001$ (SR vs. SN)]; Second refeeding [$**p < .01$ (FR vs. FN)] and $***p < .001$ (SR vs. SN)]. Restricted groups [Saline (SR) and Fluoxetine (FR)] and Naïve groups [Saline (SN) and Fluoxetine (FN)]. Data are mean±SEM.

Figure 3

Palatable food intake (kcal/100g of body weight) in the feeding test: ANOVA did not show a main effect on palatable food intake among the groups. Restricted groups [Saline (SR) and Fluoxetine (FR)] and Naïve groups [Saline (SN) and Fluoxetine (FN)]. Data are mean±SEM.

Figure 4

Body weight gain changes (%) 1 week after the feeding test (after R/R cycles): $*p < .05$ (FR vs. SN). Restricted groups [Saline (SR) and Fluoxetine (FR)] and Naïve groups [Saline (SN) and Fluoxetine (FN)]. Data are mean±SEM.

Figure 5

Feeding test at adulthood: ANOVA did not show a main effect on palatable food intake among the groups. Restricted groups [Saline (SR) and Fluoxetine (FR)] and Naïve groups [Saline (SN) and Fluoxetine (FN)]. Data are mean±SEM.

LISTA DE TABELAS

TABELAS INCLUCÍDAS NA TESE 53

Table 1

Composição da dieta palatável (dieta nutella em pellet).

PRIMEIRO ESTUDO 96

Tabela 1

Compositions of experimental diets. A normal protein diet containing 17g protein/100g of food (control group) or a low-protein diet containing 8g protein/100g of food (undernourished group) offered during gestation and lactation periods (g/Kg diet).

Tabela 2

Restriction/Refeeding cycles (R/R cycles) of the binge eating schedule and experimental groups.

SUMÁRIO

1	APRESENTAÇÃO.....	15
2	INTRODUÇÃO.....	18
2.1	Plasticidade fenotípica.....	18
2.2	Compulsão alimentar.....	21
2.2.1	Modelos experimentais de compulsão alimentar em ratos.....	29
2.3	Relação da plasticidade fenotípica e a gênese da compulsão alimentar.....	35
2.4	Papel da nutrição no desenvolvimento da compulsão alimentar.....	38
2.5	Papel da serotonina no desenvolvimento da compulsão alimentar.....	42
3	HIPÓTESE.....	46
4	OBJETIVO GERAL.....	47
4.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	48
4.1.1	Primeiro estudo.....	48
4.1.2	Segundo estudo.....	48
4.1.3	Terceiro estudo.....	48
5	MATERIAIS E MÉTODOS.....	49
5.1	Métodos gerais.....	49
5.1.1	Animais.....	49
5.1.2	Formação dos grupos segundo a dieta materna.....	49
5.1.3	Formação dos grupos segundo a manipulação farmacológica.....	49
5.1.4	Estudo experimental - Modelo de compulsão alimentar.....	50
5.1.5	Formação dos grupos segundo o modelo de compulsão alimentar.....	51
5.1.6	Teste de privação alimentar durante 24hs.....	52
5.1.7	Teste alimentar aos 120 dias devida.....	52
5.1.8	Análise estatística.....	54
6	RESULTADOS.....	55
6.1	Primeiro estudo (APÊNDICE A).....	56
6.2	Segundo estudo (APÊNDICE B).....	57
6.3	Terceiro estudo (APÊNDICE C).....	58
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	59
	REFERÊNCIAS.....	60
	APÊNDICE.....	92
	APÊNDICE A - Primeiro estudo.....	93
	APÊNDICE B - Segundo estudo.....	101

APÊNDICE C - Terceiro estudo.....	118
APÊNDICE D - Análises Físico-Químicas da dieta palatável utilizada nos modelos experimentais de compulsão alimentar.....	135
APÊNDICE E - Pareceres dos Comitês de Ética em Experimentação Animal (CEAA) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).....	137

1 APRESENTAÇÃO

Estudos epidemiológicos têm identificado que doenças metabólicas crônicas na vida adulta podem ter origem no início da vida. Esta vulnerabilidade precoce para desenvolver doenças na vida adulta, pode ocorrer mediante alterações precoces, sejam no ambiente nutricional ou através de intervenção farmacológica, condições estas que podem facilitar a programação do metabolismo energético do organismo. Em animais, tem sido demonstrado que a desnutrição proteica na vida perinatal e a administração farmacológica de fluoxetina no período de aleitamento são capazes de induzir esta programação. Desta forma, adquire-se a capacidade de adaptação às condições oferecidas pelo ambiente materno a fim de garantir a sobrevivência no ambiente pós-natal. Todavia, caso haja uma incompatibilidade entre o ambiente materno e o pós-natal, poderá surgir, na vida adulta, doenças crônicas características da síndrome metabólica, tais como diabetes, hipertensão arterial e obesidade.

Conforme evidenciado em alguns estudos, animais adultos cujo metabolismo foi programado por desnutrição proteica perinatal ou manipulação do sistema serotoninérgico no aleitamento apresentam prejuízo no comportamento alimentar, caracterizados por hiperfagia e retardo na saciedade. No entanto, há poucos estudos que consolidem a contribuição dos efeitos pregressos, da desnutrição ou manipulação serotoninérgica, para o desenvolvimento de transtornos alimentares. A busca pela etiologia dos transtornos alimentares tem um curso bastante recente, uma vez que em meados do século passado foram iniciados os primeiros estudos. Para a ciência, o avanço na utilização de modelos animais tem sido crucial para investigar a causa destes transtornos em humanos. Em alguns destes modelos, ciclos de restrição calórica sendo intercalados por períodos de realimentação, visam mimetizar as famosas dietas redutoras de peso corporal utilizadas com frequência, principalmente pelas mulheres. Estes períodos cíclicos de restrição calórica além de poder desencadear o comportamento alimentar compulsivo, também contribuem para as variações de peso corporal que podem contribuir para a evolução da obesidade, que é considerada uma comorbidade dos transtornos alimentares. Ainda nestes modelos, promover o acesso à dieta palatável tem sido importante para estimular episódios compulsivos, que podem estar presentes em indivíduos com e sem transtornos alimentares.

Evidentemente, a importância em descobrir a origem dos transtornos alimentares justifica o crescente uso de modelos animais de compulsão alimentar. Havendo assim, uma necessidade em aprofundar pesquisas que investiguem, em modelo animal, os aspectos comportamentais que estão implicados na compulsão alimentar. Para tanto, os experimentos e

a confecção das da dieta palatável foram realizados no Laboratório de Fisiologia da Nutrição Dra. Naide Teodósio do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, tendo como orientadores o Prof. Dr. Raul Manhães de Castro e a Profa. Dra. Sandra Lopes de Souza.

Nesta tese, pretende-se investigar os efeitos da desnutrição proteica perinatal ou da manipulação do sistema serotoninérgico na lactação sob o desenvolvimento de compulsão alimentar na vida adulta. Sendo lançada a hipótese de que experiência de stress no início da vida programa compulsão alimentar em ratas. Como objetivo, pretende-se investigar, em ratas submetidas à desnutrição proteica perinatal ou manipulação do sistema serotoninérgico no período de lactação, a predisposição para o desenvolvimento de compulsão alimentar por dieta palatável. Ademais, pretende-se investigar se o comportamento alimentar compulsivo, uma vez adquirido após os três ciclos de Restrição/Realimentação, pode persistir em longo prazo. Esta tese resultou em três artigos originais com os respectivos títulos: Primeiro artigo “Can Early Protein Restriction Induce the Development of Binge Eating?”; Segundo artigo “Effect of perinatal undernutrition followed by caloric restriction on binge eating behavior and related morbidities.”; Terceiro artigo “Absence of binge eating behavior in adulthood rats under fluoxetine treatment in the breastfeeding period.”. O primeiro artigo foi aceito pela revista Behavioural Processes (Print). O segundo artigo foi enviado para a revista Physiology & Behavior. O terceiro artigo será enviado para revista com qualis A1 ou A2 no comitê de Medicina II da CAPES. Neste primeiro artigo investigamos o desenvolvimento de compulsão alimentar em ratas desnutridas no período perinatal, mediante a exposição a três ciclos de Restrição/Realimentação, os quais compõem um modelo animal de compulsão alimentar. Utilizamos também este modelo nos artigos seguintes para que sejam investigados outros mecanismos relacionados aos transtornos de compulsão alimentar, como por exemplo, o desenvolvimento de obesidade e comportamento compulsivo após privação alimentar aguda. No mais, através deste nosso modelo exploramos os efeitos dos três ciclos de Restrição/Realimentação para promover, em longo prazo, compulsão alimentar em ratas submetidas à manipulação do sistema serotoninérgico no aleitamento.

Os resultados desta tese pretendem contribuir para melhor entender a origem dos transtornos alimentares, levando em consideração a importância de eventos adversos no início da vida, sobretudo a desnutrição proteica na gestação e lactação, bem como a manipulação do sistema serotoninérgico no aleitamento. Esta tese contempla outros mecanismos que podem estar envolvidos do desenvolvimento de compulsão alimentar. Através da utilização de um modelo animal de compulsão alimentar foi possível investigar os aspectos fisiológicos da

compulsão alimentar, assim como a subsequente vulnerabilidade para desenvolver obesidade ou a persistência do comportamento alimentar compulsivo.

2 INTRODUÇÃO

2.1 Plasticidade fenotípica

Em períodos iniciais da vida, o sistema nervoso central encontra-se mais vulnerável às influências danosas do ambiente e pode apresentar comprometimento permanente na estrutura e função (DOBBING, 1965). Esta permissividade do sistema nervoso central aos danos ambientais, durante os períodos críticos de desenvolvimento, é factível devido ao seu pulsante desenvolvimento, incluindo a diferenciação neural, sinaptogênese, mielinização e multiplicação glial (RESNICK & MORGANE, 1984). Várias pesquisas científicas iniciaram estudos epidemiológicos para demonstrar que as doenças crônicas e metabólicas na idade adulta poderiam ser oriundas de alterações em períodos iniciais da vida, como exemplo, na vida intrauterina (GLUCKMAN & HANSON, 2004; HALES & BARKER, 1992, 2001; RAVELLI et al., 1976). Não obstante, o retardo no crescimento intrauterino corresponde a um fenótipo de baixo peso ao nascimento, condição que poderá estar vinculada à intolerância à glicose na vida adulta (HALES et al., 1991). Além do mais, o retardo na trajetória de crescimento na primeira infância, poderia também estar relacionado com o desenvolvimento de doenças crônicas na vida adulta, como hipertensão arterial, diabetes tipo II e obesidade (HALES & BARKER, 1992).

Um dos primeiros estudos epidemiológicos documentados sobre a origem fetal das doenças na vida adulta corresponde à fome holandesa. Entre novembro de 1944 até abril de 1945, os aliados alemães bloquearam a distribuição de alimento para a Holanda, além do mais, por conta do inverno extremo os alimentos da zona rural dificilmente poderiam chegar até a zona urbana. No auge da fome, foi interrompido o fornecimento suplementar de alimento aos quais as mulheres grávidas e lactantes tinham direito, mas a situação rapidamente melhorou após a liberação dos Países Baixos em maio de 1945 (BURGER et al., 1948). No entanto, em meio a esta situação, os bebês que nasceram das mães que foram desnutridas em diferentes períodos da gestação, foram sujeitos de estudos subsequentes até atingirem a vida adulta. No estudo de David Barker em 1989, a temática da fome holandesa foi utilizada para basear a hipótese da origem fetal das doenças na vida adulta através da associação entre o baixo peso ao nascer e o aparecimento de doenças cardiovasculares e metabólicas na vida adulta (BARKER et al., 1989), sendo também posteriormente identificado transtorno depressivo (THOMPSON et al., 2001). Outro estudo epidemiológico tem considerado que a fome Biafra também impactou a saúde da população em 1967-1970, durante a guerra civil da Nigéria (HULT et al., 2010). Durante este período, os indivíduos que haviam sido submetidos à desnutrição intrauterina apresentaram hipertensão e diabetes do tipo II com a idade de 40 anos em

comparação com os indivíduos que não tinham sido expostos à fome Biafra (HULT et al., 2010).

De acordo com a “*Thrifty phenotype hypothesis*” (hipótese do fenótipo poupador), devido a um precário aporte nutricional na vida intrauterina, ocorre uma adaptação do metabolismo orgânico para uma maior capacidade de estoque energético (HALES & BARKER, 1992). Desta forma, caso ocorra uma maior oferta de nutrientes na vida pós-natal, o organismo estaria susceptível às doenças crônicas na vida adulta, pois não estaria metabolicamente preparado para utilizar a energia recebida (HALES & BARKER, 1992). Contudo, através das adaptações adquiridas durante os períodos críticos de desenvolvimento, neste caso na vida intrauterina, o organismo estaria programado para sobreviver em condição ambiental compatível ao ambiente intrauterino (LUCAS, 1991). Desta forma, o organismo tem sido “programado metabolicamente” para sobreviver em circunstâncias desfavoráveis (LUCAS, 1991). Em vários estudos experimentais e clínicos subsequentes, observou-se que os danos provenientes ao aporte nutricional ou intervenção farmacológica podem promover mudanças morfofuncionais, reversíveis ou não, com efeitos diversos e persistentes sobre o sistema nervoso (BORBA et al., 2000; MANHÃES-DE-CASTRO et al., 2001; MORGANE et al., 1993). A programação metabólica na vida intrauterina representa uma resposta adaptativa importante para prever a condição do ambiente pós-natal (GLUCKMAN et al., 2005). Através desta resposta adaptativa preditiva do organismo está preparado para adequar-se a um ambiente pós-natal hostil (GLUCKMAN et al., 2005). Todavia, esta resposta aos estímulos ambientais está relacionada à plasticidade que é inerente ao desenvolvimento nos períodos iniciais da vida (WEST-EBERHARD, 2005). Esta plasticidade corresponde a uma condição, na qual um evento ambiental é capaz de influenciar modificações no genótipo, alterando a estrutura e função orgânica durante os períodos iniciais da vida (WEST-EBERHARD, 2005). O genoma está vulnerável à desregulação ao longo da vida, mas é durante o desenvolvimento embrionário que ele está mais vulnerável aos fatores ambientais, uma vez que neste período ocorre rápida divisão celular e remodelação epigenética (DOLINOY et al., 2006; FOLEY et al., 2009). Por sua vez, a remodelação epigenética pode ocorrer tanto durante o início quanto ao final do desenvolvimento, justamente em resposta a eventos ambientais que regulam o desenvolvimento e função do organismo, aumentando assim o risco para psicopatologia (BAGOT & MEANEY, 2010).

Em contrapartida, evidências epidemiológicas também ressaltam a importância do ambiente pós-natal, especificamente em relação ao impacto da trajetória do crescimento da infância à maturidade, para aumentar o risco de doenças cardiovasculares na vida adulta

(WELLS, 2011). Nesta perspectiva, tomando como base a premissa anteriormente postulada (HALES & BARKER, 1992), a capacidade metabólica, intrínseca aos órgãos que modificam sua estrutura e função para adaptação ao ambiente pós-natal, contribui para um fenótipo de baixo peso ao nascer (WELLS, 2011). A expressão fenotípica pode ser atribuída às alterações genéticas e influências do ambiente objetivando adaptar o organismo a uma condição fenotípica de proteção e sobrevivência (GLUCKMAN & HANSON, 2007; GLUCKMAN, HANSON & BEEDLE, 2007; HALES & BARKER, 1992; LUCAS, 1991). A vulnerabilidade relacionada à plasticidade fenotípica em períodos iniciais da vida permite que o organismo se molde a um ambiente dinâmico e garanta sua sobrevivência (GLUCKMAN & HANSON, 2007; GLUCKMAN, HANSON & BEEDLE, 2007). Contudo, em curto prazo, todas estas adaptações fenotípicas ajudam à sobrevivência, mas em longo-prazo, tornam o organismo vulnerável ao aparecimento de distúrbios metabólicos (HALES & BARKER, 1992).

Evidenciou-se que desnutrição proteica durante o período perinatal, promove alterações consistentes na fisiologia, estrutura e função de vários órgãos. Dentre os quais, considera-se alterações da morfologia cardíaca (TOSCANO et al., 2008) e muscular (DA SILVA ARAGÃO et al., 2014), assim como no metabolismo muscular (DA SILVA ARAGÃO et al., 2014), na atividade locomotora e na ontogênese de reflexos (BARROS et al., 2006), no comportamento alimentar (BARRETO-MEDEIROS et al., 2002; OROZCO-SOLIS et al., 2009, 2011), na regulação do ciclo circadiano (NASCIMENTO et al., 2013; OROZCO-SOLIS et al., 2010) e nos sensores nutricionais (OROZCO-SOLIS et al., 2010). Tanto a falta como o aumento quantitativo ou qualitativo do aporte nutricional durante períodos críticos do desenvolvimento é capaz de induzir alterações permanentes na estrutura e função dos sistemas fisiológicos (OZANNE & HALES, 2004). Como também, promover adaptações fisiológicas e metabólicas, através do maior investimento do organismo em estruturas vitais, como o cérebro e o coração, em detrimento de outros órgãos, como o pâncreas e o músculo esquelético (HALES & BARKER, 2001).

Além do mais, outras pesquisas indicam que os danos nos mecanismos que regulam o metabolismo não podem ser revertidos por recuperação nutricional na vida pós-natal (BARRETO-MEDEIROS et al., 2004; RESNICK & MORGANE, 1984). Por sua vez, o fenótipo, durante os períodos críticos, encontra-se mais vulnerável às influências ambientais ou nutricionais, estando susceptível a modificações e doenças metabólicas na vida adulta (GLUCKMAN & HANSON, 2007; GLUCKMAN, HANSON & BEEDLE, 2007; HALES & BARKER, 1992; MORGANE et al., 1993). Em se tratando do aparecimento de psicopatologias, danos ambientais no início do desenvolvimento que afetam o sistema neuronal, podem estar

relacionados aos transtornos alimentares (FAVARO et al., 2006; SUVISAARI & MANTERE, 2013) que têm como característica a compulsão alimentar que é foco deste estudo de tese.

2.2 Compulsão alimentar

Em meados do século passado, as observações clínicas do psiquiatra Albert Stunkard foram relevantes para a identificação do transtorno de compulsão alimentar (do inglês “*Binge Eating Disorder*” - BED) (STUNKARD, 1959). Inicialmente, sugeriu-se que o ato de comer em excesso fosse decorrente de uma falha na sinalização da saciedade, assim o indivíduo poderia comer sem que houvesse uma inibição da fome (STUNKARD, 1959). Contudo, em seu consultório apareceu um paciente obeso que relatou que o fato de comer o tempo todo não seria explicado por falha na saciedade, mas denominou sua própria condição alimentar como uma “compulsão alimentar” (STUNKARD, 1959). A partir desta premissa, o consumo excessivo foi considerado como uma “compulsão alimentar” (do inglês “*Binge Eating*” - BE) (STUNKARD, 1959). Assim, em 1959, foram identificados dois transtornos alimentares, a síndrome do comer noturno (do inglês “*Night Eating Syndrome*” - NES) e o que foi denominado de compulsão alimentar do inglês “*Binge Eating Syndrome*” (STUNKARD, 1959). Desta forma, sugeriu-se que os padrões alimentares e comportamentais da obesidade poderiam estar limitados a estes dois transtornos (STUNKARD, 1959). Posteriormente, a compulsão alimentar foi relacionada aos comportamentos compensatórios, como vômitos e abuso de laxantes, os quais não estão presentes nos obesos, mas sim em pessoas com bulimia nervosa (STUNKARD & PENICK, 1979). Também, através de pesquisas clínicas, a compulsão e a purgação (particularmente o vômito) foram identificadas em pessoas diagnosticadas com anorexia nervosa e bulimia nervosa (com peso corporal normal) (CASPER et al., 1980). No início da década de 90, através dos estudos de Spitzer e colaboradores, foram avaliados os aspectos do transtorno de compulsão alimentar em mais de 3.500 pessoas em 12 localidades diferentes, o que contribuiu para determinar a utilidade diagnóstica deste transtorno para ser incluído na 4ª edição do *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (APA, 2013).

No entanto, foi no ano de 1992 que o transtorno de compulsão alimentar foi delineado, uma vez que até então a compulsão alimentar não tinha sido oficialmente reconhecida como um transtorno (STUNKARD & WADDEN, 1992). Sendo para tanto feito um estudo no qual foi identificado um grupo distinto de pessoas obesas, as quais tinham início precoce de um quadro grave e distorcido do comportamento alimentar (STUNKARD & WADDEN, 1992). Além disto, apresentavam negligência da imagem corporal, como um aspecto psicopatológico, bem maior do que pessoas obesas que não eram compulsivas (STUNKARD & WADDEN,

1992). Por sua vez, a compulsão alimentar corresponde à principal característica dos transtornos de compulsão alimentar, que é uma subcategoria de outras formas não especificadas de transtornos alimentares (do inglês “*Eating Disorder Not Otherwise Specified*” - EDNOS) (APA, 2013). Os episódios compulsivos se dão por ataques recorrentes, discretos e intermitentes (WILSON & FAIRBURN, 1993), nos quais é consumida, em curto espaço de tempo (cerca de 2hs), uma grande quantidade de alimento que poderia ser consumida pela maioria das pessoas sem compulsão, por um período de tempo e circunstâncias semelhantes (APA, 2013). Ademais, ocorrem sem que haja necessidade metabólica, fome ou estratégias compensatórias para perder peso (comportamento purgativo com vômito auto induzido, excesso de exercícios e restrição alimentar) como na bulimia (APA, 2013; BROWNLEY et al., 2007; WATERS, HILL & WALLER, 2001), sendo por isto, frequentemente associados à obesidade (APA, 2013). Os indivíduos possuem uma sensação intensa de desejo (uma vontade quase irresistível de comer) e perda de controle diante do alimento, mas após os episódios sentem-se culpados, desgostosos com eles mesmos e deprimidos (APA, 2013; TELCH & AGRAS, 1996).

A compulsão alimentar possui características que são designadas como objetivas e subjetivas considerando a sintomatologia. Assim, quando o consumo alimentar é considerado excessivo em relação a uma situação habitual e está vinculado a um discreto período de tempo, a compulsão possui sintomas caracterizados como objetivos (quantidade de alimento consumido e tempo de consumo deste alimento) (APA, 2013). Em contrapartida, quando o consumo não é considerado excessivo, mas grande em quantidade para um indivíduo porque há associação com a sensação de perda de controle diante do alimento, a compulsão possui sintomas caracterizados como subjetivos (sensação de não poder parar de comer ou controlar o consumo de algum tipo de alimento e sentimento de culpa após o consumo alimentar) (APA, 2013). A subjetividade do comportamento alimentar compulsivo, independentemente dos sintomas objetivos, está associado com a psicopatologia do transtorno (PRATT et al., 1998). Uma vez que, alguns indivíduos que apresentam os sintomas subjetivos, além dos objetivos, não necessariamente consomem uma grande quantidade com associação à sensação de perda de controle, mas sentem que consumiram em excesso em relação ao habitual (FAIRBURN et al., 1986). No mais, a compulsão alimentar está associada a três ou mais sintomas, tais quais: (1) comer mais rápido do que o normal, (2) comer até estar completamente desconfortável, (3) a ingestão de grandes quantidades de alimentos quando não se está com fome, (4) comer sozinho por causa do constrangimento causado por comer grande quantidade de alimento, (5) sentir-se angustiado, culpado e depressivo depois da alimentação, (6) a frequência de um

episódio compulsivo é de pelo menos 1 dia por semana durante 3 meses (APA, 2013; HUDSON et al., 2007).

Os recorrentes episódios de compulsão alimentar são critério diagnóstico da bulimia nervosa e de quase metade dos pacientes com anorexia nervosa (POLIVY & HERMAN, 1985; WARDLE & BEINART, 1981), assim como também em 15% a 50% dos obesos que participam dos programas de controle de peso (MARCUS, WING & LAMPARSKI, 1985). Estes episódios estão relacionados à evolução da obesidade (HUDSON et al., 2007; STUNKARD, 1959; YANOVSKI, 1993), pois estão presentes em pessoas com obesidade (STUNKARD, 1959) e também com obesidade mórbida, a quais aguardam cirurgia bariátrica (HSU et al., 2002). Além disto, estão frequentemente relacionados com comorbidades psiquiátricas, especialmente os transtornos de humor e ansiedade (PAULI-POTT et al., 2013). É preocupante, mas é o desejo e a grande expectativa em se obter um padrão corporal divulgado pela sociedade que responde à alta incidência dos transtornos alimentares (HERMAN, OLMSTED & POLIVY, 1983). Os transtornos alimentares vêm sendo evidenciado em todo o mundo, inclusive em países em desenvolvimento e com economia emergente, como Brasil e China (CHEN & JACKSON, 2008; DE SOUZA FERREIRA & DA VEIGA, 2008). De acordo com as estatísticas, sugere-se que a compulsão alimentar acometa aproximadamente 6% da população não clínica, como também em 2% dos portadores de bulimia nervosa (HUDSON et al., 2007). Nos EUA, aproximadamente 4,5% da população (3,5% das mulheres e 2% dos homens), ou seja, 14 milhões de pessoas apresentam compulsão alimentar em algum momento da vida (HUDSON et al., 2007). Dentre estes, aproximadamente 35% estão com sobrepeso ou são obesos e 76,5% possuem comorbidades psiquiátricas, tais como ansiedade (59,5%) e transtornos do humor (44%) (HUDSON et al., 2007). Também, entre os portadores de transtornos alimentares há o comprometimento das funções desempenhadas no lar, no trabalho ou na vida pessoal e social, sendo estas complicações presentes em 78% dos pacientes com bulimia nervosa e 62,6% dos portadores de transtorno de compulsão alimentar (HUDSON et al., 2007). Além do mais, durante a adolescência e o início da vida adulta, a persistência de compulsão alimentar ocasiona piora da função psicossocial, como por exemplo, no que diz respeito à satisfação com o corpo e sintomas relacionados à depressão (GOLDSCHMIDT et al., 2014).

Com relação à prevalência de gênero, estima-se que dentre os indivíduos com transtornos alimentares, 90% corresponda à população feminina (CONNORS & JOHNSON, 1987), sendo 76% adultas e 85% adolescentes (HUDSON et al., 2007). Também, esta psicopatologia atinge as crianças, visto que cerca de 7,1% dos meninos e 13,4% das meninas nos EUA apresentam distorção do comportamento alimentar (exibem comportamentos de

transtornos alimentares) (NEUMARK-SZTAINER & HANNAN, 2000). A etiologia dos transtornos alimentares está vinculada ao sexo feminino justamente pela maior insatisfação corporal, magreza, restrição calórica, e os aspectos emocionais entre as mulheres (BARRY et al., 2002; TANOFSKY et al., 1997). A maior prevalência de transtorno alimentar relacionada à compulsão em mulheres é especialmente surpreendente, considerando que o estradiol tem sido mostrado para reduzir o tamanho da refeição (ECKEL, 2011) e está associado com redução da frequência de compulsão (KLUMP et al., 2008). Ademais, tem sido demonstrado que hormônios ovarianos também podem modular o comportamento alimentar compulsivo, visto que a frequência de compulsão alimentar varia de acordo com o ciclo menstrual, sendo mais frequente durante a fase lútea e a menstruação (LESTER, KEEL & LIPSON, 2003).

Embora a compulsão alimentar atinja pessoas de ambos os sexos, as mulheres são mais propensas a serem diagnosticadas com bulimia nervosa ou transtorno de compulsão alimentar, enquanto que os homens em uma forma subclínica de compulsão (HUDSON et al., 2007). Esta forma de compulsão, também conhecida como transtorno de compulsão alimentar parcial, pode ser considerada quando os episódios repetidos de compulsão ocorrem sem um número suficiente para inclusão de outros critérios (por exemplo, frequência dos episódios) que devem cumprir o limite para diagnósticos (CROW et al., 2002). Todavia, em outro estudo tem sido considerada por episódios de compulsão alimentar que ocorrem pelo menos duas vezes por semana durante pelo menos três meses na ausência de outros critérios para o transtorno de compulsão alimentar (HUDSON et al., 2007).

Durante um episódio compulsivo, a sensação de perda de controle, assim como o desejo (ou ânsia), considera alimentos que são compostos por alto teor de calorias (gordura e/ou açúcar), ou seja, alimentos palatáveis que são descritos na literatura como “alimentos proibidos” (APA, 2013; KALES, 1990). Estes alimentos estão presentes em 69% dos episódios de compulsão entre os indivíduos que possuem bulimia nervosa (KALES, 1990). Além do mais, tanto em pessoas com bulimia nervosa como com transtorno de compulsão alimentar consomem maior percentagem de gordura em refeições com episódios compulsivos do que em refeições sem episódios compulsivos (ALPERS & TUSCHEN-CAFFIER, 2004; YANOVSKI et al., 1992). Também, pessoas obesas que possuem compulsão alimentar preferem alimentos doces (54%), salgadinhos (46%), biscoitos (20%), doces (17%), sorvete (14%) e sanduíches (14%) (MARCUS, WING & HOPKINS, 1988). Em ratos, ao ser utilizado um modelo de limitado acesso a alimento com alto teor de gordura o comportamento compulsivo é evidenciado, visto que nos episódios compulsivos os seres humanos consomem alimentos

“proibidos” (como, por exemplo, alto teor de gordura) em lanches e sobremesas (APA, 2013; GUERTIN, 1999; KALES, 1990).

Um critério importante a ser considerado é que os episódios compulsivos se dão por ataques recorrentes, discretos e intermitentes (WILSON & FAIRBURN, 1993). Assim, em roedores, modelos que utilizam o acesso intermitente tem relevância para o padrão de compulsão alimentar em humanos no qual “alimentos proibidos” são evitados e, em seguida, consumidos em excesso durante os episódios de compulsão (GUERTIN, 1999; KALES, 1990). Contudo, o acesso intermitente pode envolver o eixo de stress e provocar o consumo excessivo em virtude da incerteza associada com a oportunidade de consumir o “alimento proibido” (CORWIN, 2011). O fator stress tem sido implicado no aparecimento e manutenção da obesidade (SOMINSKY & SPENCER, 2014), associado à compulsão alimentar (AZARBAD et al., 2010; SULKOWSKI et al., 2011) e à etiologia do transtorno de compulsão alimentar (MOORE & CUNNINGHAM, 2012; SERLACHIUS et al., 2007). Submetidas a stress, mulheres obesas com transtorno de compulsão alimentar mostram aumento da fome, desejo de comer compulsivamente e altas taxas de consumo de alimentos altamente palatáveis em comparação com mulheres obesas sem transtorno de compulsão alimentar (GLUCK et al., 2004; SCHULZ & LAESSLE, 2012). Assim, sendo coerente a associação entre stress, fome e consumo alimentar nos transtornos de compulsão alimentar (GLUCK et al., 2004; SCHULZ & LAESSLE, 2012). Em outro estudo, indivíduos obesos com transtorno de compulsão alimentar apresentaram, via resposta ao stress, associação positiva entre o aumento do cortisol, do desejo de comer compulsivamente e da ânsia por doces, em comparação com pessoas obesas ou com peso corporal normal, ambas sem transtorno de compulsão alimentar (ROSENBERG et al., 2013).

Um ponto relevante no padrão do comportamento compulsivo é a estreita relação neurobiológica dos episódios intermitentes, que culminam em excesso de consumo alimentar, com o uso de substâncias de abuso também tem sido considerada nas últimas décadas. Pois, alguns estudos têm indicado que similares mecanismos neurais e áreas encefálicas estão envolvidos nesta relação entre o uso de substâncias de abuso e o consumo alimentar excessivo (AVENA, RADA & HOEBEL, 2009; BALODIS, GRILO & POTENZA, 2015; GOLD & AVENA, 2013). Por exemplo, quando se tem encontrado evidências clínicas entre pessoas que procuram tratamento para dependência de álcool e cocaína, com a presença de altas taxas de episódios de compulsão alimentar (JOHNSON et al., 1995). No entanto, o contrário também é evidenciado, uma vez pessoas que procuram tratamento para transtornos alimentares relacionados à compulsão alimentar também apresentam altas taxas de abuso de substâncias,

particularmente álcool e cocaína (BREWERTON et al., 1995; BULIK et al., 2002). Através de estudos experimentais, o acesso repetido e intermitente a alimentos palatáveis (ricos em açúcar, gordura ou ambos) favoreceu o desenvolvimento do comportamento de “bingeing”, assim como a disfunção de sinais comportamentais e neuroquímicos envolvidos nos circuitos do stress, como também da recompensa (AVENA & HOEBEL, 2003; BELLO et al., 2003; CORWIN & WOJNICKI, 2009; COTTONE et al., 2008; HOEBEL et al., 2009; MISIONI DI BONAVENTURA et al., 2014; WOJNICKI, JOHNSON & CORWIN, 2008). Por sua vez, “bingeing” está relacionado ao comportamento compulsivo, que neste contexto está relacionado ao ato de comer, também envolvendo um consumo crescente e que atinge uma elevada proporção de alimento consumido (de uma só vez) geralmente após a privação alimentar (BERNER et al., 2008). Entretanto, vários estudos têm demonstrado que comer compulsivamente alimentos palatáveis pode ocorrer na ausência de privação alimentar (AVENA, LONG & HOEBEL, 2005; BERNER et al., 2008; CORWIN & BUDA-LEVIN, 2004; CORWIN et al., 1998; DIMITRIOU, RICE & CORWIN, 2000).

A forma de acesso aos alimentos pode influenciar o consumo, o qual está vinculado a tipos específicos de alimentos, reconhecidos como “proibidos” ou palatáveis. Tendo inclusive alguns estudos indicado que estes alimentos são capazes de produzir efeitos semelhantes aos das drogas de abuso, tais como cocaína e morfina (AVENA & HOEBEL, 2003; AVENA, LONG & HOEBEL, 2005; COLANTUONI et al., 2001, 2002; DE VRIES & SHIPPENBERG, 2002; DIMITRIOU, RICE & CORWIN, 2000; EVERITT & WOLF, 2002). Em contrapartida, em estudo comportamental, a privação alimentar foi citada como um elemento incentivador não apenas do consumo de alimentos, mas também da autoadministração de drogas (CARROLL, 1985). O aumento excessivo no consumo destes alimentos também tem sido correlacionado com o “vício por alimento”, termo este que foi introduzido na literatura há décadas (RANDOLPH, 1956). Recentemente um estudo encontrou que 94% dos adultos com transtorno de compulsão alimentar se descreveram como “viciados em alimentos” ou “comedores compulsivos” e encontraram critérios para transtorno de dependência de substâncias na DSM-V (APA, 2013; CASSIN & VON RANSON, 2007). Também, há vários estudos que discutem sobre a aplicabilidade dos critérios de dependência de substâncias da DSM-V para o transtorno de compulsão alimentar, comer excessivo, bulimia nervosa e obesidade (ALBAYRAK et al., 2012; BARRY et al., 2009; DAVIS, 2013; GEARHARDT, CORBIN & BROWNE, 2009; PELCHAT, 2009; UMBERG et al., 2012). Um dos critérios para diagnosticar o vício envolve uma etapa inicial que é representada pelo comportamento compulsivo, o qual representa a transição entre o uso e o abuso de substâncias (AHMED & KOOB, 1998). Em si, o vício é

caracterizado por um padrão compulsivo, comportamentos incontroláveis, que ocorrem na maior parte das vezes em detrimento de outras atividades, sendo intensificado com ciclos repetidos (ROBINSON & BERRIDGE, 1993; WISE, 1998).

Esta relação do comportamento alimentar com o consumo de drogas, juntamente com a participação do componente neural, colaborou para a investigação das bases neurobiológicas que participam do vício por alimento (AVENA & HOEBEL, 2003; COLANTUONI et al., 2002; DIMITRIOU, RICE & CORWIN, 2000; HOEBEL et al., 1999; PELCHAT, 2002). A compulsão alimentar tem associação com a ânsia (WHITE & GRILO, 2011), cujos padrões de ativação de estruturas neuronais mantêm relações com alimentos (NAQVI & BECHARA, 2009; TANG et al., 2012). A ânsia consiste em um forte desejo ou vontade de comer específicos alimentos, sendo suas experiências um primordial exemplo das semelhanças entre comer e o uso de substâncias (DAVIS & CARTER, 2009). Por exemplo, através de autorrelato foram encontrados altos escores na mensuração da ânsia por alimento em pacientes com bulimia nervosa, transtorno de compulsão alimentar e obesidade (ABILÉS et al., 2010; VAN DEN EYNDE et al., 2012). De forma similar, através da Escala Yale de Vício Alimentar, do inglês “*Yale Food Addiction Scale*” (YFAS) o vício por alimento está também relacionado a um maior desejo por alimentos (DAVIS et al., 2013; MEULE & KÜBLER, 2012). Nas sociedades ocidentais, as pessoas geralmente anseiam alimentos que são ricos em açúcar ou gordura (ou ambos) e, portanto, altamente palatável. Assim, o alimento que mais frequentemente promove ânsia é chocolate, seguido por pizza, alimentos salgados, sorvetes e outros doces e sobremesas (WEINGARTEN & ELSTON, 1991), mas deve-se notar que há também diferenças culturais nos tipos de alimentos que causam ânsia (KOMATSU, 2008). Estes mesmos tipos de alimentos são mais susceptíveis de ser consumido como um vício de forma semelhante como na avaliação da YFAS (MEULE, HECKEL & KÜBLER, 2012).

A YFAS foi desenvolvida com objetivo de padronizar medidas para a avaliação de vício alimentar e contém 25 itens que mensuram a presença de sintomas de vício alimentar com base nos critérios do DSM-IV para dependência de substâncias (com sete sintomas) (APA, 2013; GEARHARDT, CORBIN & BROWNELL, 2009; MEULE & GEARHARDT, 2014). De acordo com a avaliação da YFAS, o mais comum sintoma de vício por alimento consiste na ânsia ou forte e persistente desejo por consumir alimentos específicos ou, insucesso nos esforços para reduzir ou controlar o consumo alimentar (FLINT et al., 2014). Os critérios de diagnóstico do DSM-V para dependência de substâncias podem ser traduzidos para o comportamento alimentar, pois muitos indivíduos com obesidade e/ou transtorno de compulsão alimentar cumprem esses critérios com base na mensuração de autorrelato, tal como na YFAS

(APA, 2013). Ademais, as taxas de prevalência de diagnósticos para vício por alimento de acordo com a YFAS variam aproximadamente entre 5% a 10% em amostras não clínicas (GEARHARDT, CORBIN & BROWNELL, 2009; MEULE, HECKEL & KÜBLER, 2012), 15%-25% em amostras de obesos (BURMEISTER et al., 2013; EICHEN et al., 2013; LENT et al., 2014) e 30%-50% em pacientes bariátricos com obesidade mórbida ou indivíduos obesos com transtorno de compulsão alimentar (GEARHARDT et al., 2012; MEULE, HECKEL & KÜBLER, 2012). De acordo com o DSM-V há uma relação entre as características objetivas e subjetivas dos episódios compulsivos por alimento e o vício ou dependência de substâncias (APA, 2013). Atestando, assim, a compatibilidade entre os critérios para o diagnóstico dos episódios compulsivos com os relacionados ao uso moderado de substâncias. De acordo com estas premissas, é possível argumentar que tanto a bulimia nervosa quanto o transtorno de compulsão alimentar, por incluírem ao menos três dos doze critérios do vício, poderiam ser classificadas também como doenças ou transtornos do uso de substâncias/vícios (APA, 2013; GEARHARDT, CORBIN & BROWNELL, 2009). Através da DSM-V foram unidos os critérios diagnósticos para abuso de substâncias e dependência, aumentando assim, o número de sintomas para os transtornos por uso de substâncias, do inglês “*Substance Use Disorders*” (SUDS) (APA, 2013; MEULE & GEARHARDT, 2014).

Considerando os critérios do transtorno do uso de substâncias podemos fazer um paralelo com alguns critérios equivalentes do vício por alimento. Assim, o consumo de grande quantidade de alimento além do consumido normalmente pode ser agregado ao critério de vício, quando o consumo vai além do pretendido, sendo este comportamento mantido por um período mais longo do que se pretende (1-2 vezes por semana durante 3-6 meses) (APA, 2013; CORWIN & BABBS, 2012; MEULE & GEARHARDT, 2014). Havendo assim, a manutenção do comportamento compulsivo apesar das consequências negativas, tais como vômito (problemas associados à cavidade oral e dentes), comer até sentir-se desconfortavelmente cheio, ter sentimento de desgosto, vergonha ou angústia devido aos episódios compulsivos. No tocante ao vício há interferência na execução de atividades, com falha em cumprir deveres e funções, como também manutenção do comportamento viciante apesar das consequências negativas (APA, 2013; CORWIN & BABBS, 2012; MEULE & GEARHARDT, 2014). Em relação aos sintomas subjetivos, a sensação de perda de controle pode corresponder de forma semelhante ao critério do vício, quando os esforços para reduzir ou controlar o consumo alimentar não são bem sucedidos (APA, 2013; CORWIN & BABBS, 2012). Neste contexto, a perda de controle compõe uma experiência associada com a incapacidade de controlar a quantidade de alimento, independentemente do tamanho da refeição (HERPERTZ-DAHLMANN, 2015). No mais,

nesta tese serão considerados alguns dos principais modelos experimentais para uma melhor compreensão dos aspectos comportamentais relacionados aos transtornos alimentares.

2.2.1 Modelos experimentais de compulsão alimentar em ratos

Em animais, a compulsão alimentar é caracterizada por padrões de comportamento semelhantes aos observados em humanos. Nos últimos anos, pesquisadores têm desenvolvido modelos de compulsão alimentar em ratos para estudar os mecanismos comportamentais da compulsão (AVENA et al., 2008; CIFANI et al., 2009; CORWIN & BUDA-LEVIN, 2004; COTTONE et al., 2008; HAGAN et al., 2002). Em modelos animais, a compulsão alimentar é caracterizada pelo consumo de grandes quantidades de alimento, sendo esta quantidade superior ao que seria consumido em circunstâncias semelhantes, em um breve período de tempo (2hs) (CORWIN & BUDA-LEVIN, 2004). Embora os modelos apenas identifiquem ou mimetizem os aspectos fisiológicos dos transtornos alimentares, eles podem permitir uma melhor compreensão destes como também de outros transtornos psiquiátricos (KAS & ADAN, 2011; TARANTINO, SULLIVAN & MELTZER-BRODY, 2011). No entanto, as diferenças entre a compulsão em animais e humanos incluem o fato de que características subjetivas dos transtornos alimentares, tais como, sentimentos subjetivos de angústia ou perda de controle não são facilmente avaliadas em animais (CORWIN & BUDA-LEVIN, 2004). Considerando que em modelo de compulsão alimentar, ratas aumentaram o consumo de dieta palatável em condições de saciedade (HAGAN et al., 2002), podemos supor que outros mecanismos possam estar envolvidos para promover desajustes metabólicos e neuroquímicos que vão justificar os aspectos comportamentais dos transtornos alimentares. Os diversos modelos animais de compulsão alimentar exploram elementos precursores que conduzem à compulsão alimentar em humanos, como por exemplo, a dieta, o consumo de alimentos saborosos e o stress, que em animais provocam comportamentos relativos à compulsão alimentar (BOGGIANO et al., 2005; CHANDLER-LANEY et al., 2007; CORWIN & BUDA-LEVIN, 2004; HAGAN et al., 2002, 2003). Além disso, outros modelos de compulsão alimentar usam restrição de alimento para imitar restrição dietética frequentemente utilizadas por indivíduos com anorexia nervosa (AN), bulimia nervosa (BN) e transtorno de compulsão alimentar (BED). Lanches frequente compostos por alimentos palatáveis como os doces são mais comuns em indivíduos com transtorno de compulsão alimentar do que em obesos não compulsivos ou indivíduos controle com peso normal (DAVIS et al., 2007). O stress ambiental, como discussões diárias tem sido associado à compulsão alimentar em humanos (SMYTH et al., 2007; STRIEGEL-MOORE et al., 2007).

A busca pela base biológica dos transtornos alimentares tem um início recente, visto que vários modelos comportamentais de compulsão alimentar contribuem interessantemente para a validação clínica dos transtornos alimentares (BOGGIANO & CHANDLER, 2006; CORWIN & BUDA-LEVIN, 2004). Assim, dentre estes modelos, alguns consideram que a partir de um acesso limitado (por exemplo, 2-h/dia) a um alimento palatável com elevado teor em gordura ou açúcar, a compulsão alimentar pode ser incentivada em animais saciados (BERNER et al., 2008; DIMITRIOU, RICE & CORWIN, 2000). Outros modelos utilizam períodos cíclicos de privação alimentar por dia durante 12-h e em seguida, eles recebem 12-h acesso a uma solução de açúcar e dieta padrão a fim de estimular o comportamento compulsivo diante do alimento palatável (AVENA, RADA & HOEBEL, 2008). Outro parâmetro a ser considerado para desencadear a compulsão alimentar é o stress através de choques nas patas (BOGGIANO et al., 2005). Outro fator importante é a restrição alimentar que pode contribuir, em longo prazo, para a compulsão por alimento palatável através de ciclos de restrição alimentar em animais (HAGAN & MOSS, 1997), em voluntários submetidos à semi-fome em laboratório (POLIVY, 1996) ou mesmo vítimas de guerra (KEYS, et al., 1950).

Há algumas décadas atrás se inicia a investigação e classificação dos modelos animais de transtornos alimentares, sendo os estudos pré-clínicos frequentemente utilizados para o entendimento da fisiopatologia humana dos transtornos (SMITH, 1989). Um estudo bastante relevante é o clássico modelo de Minnesota que reproduziu, em humanos, períodos de Restrição/Realimentação visando mimetizar as consequências da restrição alimentar sob os prisioneiros de guerra (FRANKLIN, FELDMAN & ODBERT, 1948; KEYS et al., 1950). Neste modelo, 32 homens (saúáveis e com peso corporal normal) foram submetidos a 24 semanas de restrição alimentar (quando diminuíram 25% do seu peso corporal) e depois 12 semanas de limitada realimentação (dieta com 20% de gordura) visando recuperação do peso (KEYS et al., 1950). Em uma reanálise dos experimentos feitos em Minnesota, constatou-se que a supressão da termogênese durante a restrição alimentar é decorrente, em parte, da depleção dos estoques de gordura (DULLOO & JACQUET, 1998; DULLOO, JACQUET & GIRARDIER, 1996). Com a recuperação nutricional, a supressão da termogênese permanece como forma de conservar energia e assim repor os estoques de gordura perdidos na restrição (DULLOO & JACQUET, 1998; DULLOO, JACQUET & GIRARDIER, 1996). Em humanos, períodos prolongados de Restrição/Realimentação (KEYS et al., 1950; DULLOO, JACQUET & GIRARDIER, 1996) e seu efeito sobre os componentes metabólicos em animais (EVANS, GREENWOOD & GASTON, 2005) favorecem uma eficiência na capacidade de estocar gordura independentemente da idade (DULLOO & GIRARDIER, 1993; EVANS et al., 2005).

Inicialmente descrito por Hagan & Moss (1991), o protocolo de Restrição/Realimentação se trata de expor o animal a repetidos episódios de restrição alimentar acompanhados por perda de peso e subsequente período de realimentação em que os animais são autorizados a regressar aos seus pesos normais do corpo. Interessantemente, o acesso intermitente pode envolver o eixo de estresse e provocar o consumo excessivo, em virtude da incerteza associada com a oportunidade de consumir novamente o alimento palatável (CORWIN, 2011). Em roedores, modelos que utilizam o acesso intermitente tem relevância para o padrão compulsivo em humanos no qual “alimentos proibidos” são evitados e, em seguida, consumidos em excesso durante os episódios de compulsão (GUERTIN, 1999; KALES, 1990). Assim, os modelos de compulsão alimentar em animais exploram as circunstâncias precursoras que levam à compulsão alimentar em humanos, como por exemplo, fazer regimes, exposição a alimentos palatáveis e líquidos açucarados ou mesmo o stress, visando induzir comportamento alimentar compulsivo (BOGGIANO et al., 2005; CHANDLER-LANEY et al., 2007; CORWIN & BUDA-LEVIN, 2004; HAGAN, et al., 2002, 2003).

Em se tratando dos estudos em animais, vários modelos experimentais de compulsão alimentar têm sido propostos para demonstrar comportamento alimentar compulsivo e modificações neuroquímicas (CORWIN & BUDA-LEVIN, 2004). Nesta revisão, serão abordadas as cinco principais classes de modelos de compulsão alimentar em ratos, tais quais: 1) Ciclos de Restrição-Realimentação e Stress; 2) Propensão ou resistência para compulsão alimentar; 3) Acesso limitado à dieta palatável; 4) Leve restrição alimentar e o ciclo claro/escuro; 5) Acesso limitado à dieta palatável, restrição alimentar e o ciclo claro/escuro.

1) Ciclos de Restrição-Realimentação e Stress [Restriction-Refeeding (R–R)/Stress cycling].

Neste modelo, o efeito de períodos cíclicos de restrição calórica, intercalados por realimentação, juntamente com o fator stress, têm sido documentado através dos estudos de Hagan e colaboradores. Atualmente, uma das integrantes do grupo de Hagan é a pesquisadora Boggiano, quem lidera as pesquisas que utilizam estes dois fatores, a restrição alimentar e o stress para desencadear compulsão alimentar em ratas. Assim, através de ciclos de Restrição/Realimentação (R/R) seguidos por Stress (caracterizados por choque nas patas), o animal é capaz de desencadear um comportamento compulsivo similar ao evidenciado em humanos (APA, 2013; HARRINGTON et al., 2006). Após o stress que é caracterizado por choque nas patas, aos animais é disponibilizada uma dieta palatável (cookies) por 48hs, quando é mensurado o consumo em determinados horários (2, 4 e 24hs) para que possa ser

correspondente à definição de compulsão alimentar, cujo consumo ocorre em cerca de 2hs (APA, 2013). As ratas submetidas aos ciclos R/R juntamente com o stress consumiram significativamente mais dieta palatável em um período de 2 e 24hs do que as ratas sem restrição e stress (HAGAN et al., 2002, 2003).

Com base no modelo original de Hagan et al., 2002 outros estudos fizeram modificações no tamanho dos componentes dos ciclos (mais dias de restrição alimentar e/ou realimentação), no tipo de dieta palatável, stress (“picklis” na ponta da calda) e/ou espécies de roedores, para mimetizar compulsão (CIFANI et al., 2009; CONSOLI et al., 2009; HANCOCK, MENARD & OLMSTEAD, 2005; PANKEVICH et al., 2010). Estas manipulações em roedores podem modelar o comer compulsivo como consequência do stress em humanos (APA, 2013; HARRINGTON et al., 2006). Desta forma, pesquisas mostraram responsividade reduzida no stress fisiológico associado com o consumo opcional de gordura e açúcar ofertado de forma contínua (PECORARO et al., 2004) ou intermitente (KINZIG, HARGRAVE & HONORS, 2008). Embora a oferta intermitente de alimento palatável contribua para a compulsão alimentar, a abstinência destes alimentos ao envolver o eixo do stress pode contribuir para o consumo excessivo após a abstinência (COTTONE et al., 2009). Demais estudos envolvem outros tipos de stressores, tais como choque nas patas (HAGAN et al., 2002, 2003), exposição a alimentos palatáveis sem a oportunidade de consumi-los (CIFANI et al., 2009), natação forçada (CONSOLI et al., 2009) e reduzido cuidado materno no início da vida (HANCOCK, MENARD & OLMSTEAD, 2005), sendo estas condições importantes para influenciar substancialmente o consumo de alimentos palatáveis.

2) Propensão ou resistência para compulsão alimentar (Binge Eating Resistant (BER)/Binge Eating Prone (BEP) rat model).

Neste modelo, a propensão ou a resistência para compulsão alimentar foi considerada em um modelo que identificou as ratas mais propensas ao desenvolvimento da compulsão alimentar, do inglês *Binge Eating-Prone* (BEP) ou as mais resistentes ao desenvolvimento de compulsão alimentar, do inglês *Binge Eating-Resistant* (BER). Boggiano e colaboradores desenvolveram este modelo no qual a compulsão alimentar foi evidenciada em discretos ataques de consumo na dieta palatável (BOGGIANO et al., 2007; OSWALD et al., 2011). Através do modelo de R/R+S descrito anteriormente por Boggiano et al., observou-se que dentro do grupo experimental composto por ratas submetidas à restrição alimentar e stress, algumas apresentavam menor ou maior consumo. Em virtude desta observação houve a necessidade de desenvolver o modelo BEP/BER (BOGGIANO et al., 2007). Neste modelo, o consumo de dieta padrão foi homogêneo quando a dieta palatável (Oreo cookies) foi ofertada durante 24hs, mas

aproximadamente 1/3 das ratas (BEP) consumiram significativamente mais dieta palatável do que as ratas (BER) durante as primeiras 4 e 24hs (BOGGIANO et al., 2007). No mais, após o stress ambos os grupos BEP e BER diminuem o consumo total, mas a diminuição do consumo do BEP é devido à redução do consumo de dieta padrão enquanto BER do consumo de dieta palatável (BOGGIANO et al., 2007).

3) Acesso limitado à dieta palatável (Limited access to a dietary fat option or limited access to highly palatable food).

Neste modelo, Corwin e colaboradores consideram o acesso intermitente e limitado à dieta palatável como sendo o componente principal para desencadear compulsão alimentar (CORWIN et al., 1998; DIMITRIOU, RICE & CORWIN, 2000; WOJNICKI, JOHNSON & CORWIN, 2008; WOJNICKI, STINE & CORWIN, 2007). O fato destes modelos não utilizarem restrição calórica, justifica o fato de que humanos com transtorno de compulsão alimentar apresentam compulsão na ausência de fome (APA, 2013). Assim, o modelo Corwin que não inclui restrição alimentar para induzir compulsão é composto por acesso limitado e intermitente à dieta palatável (gordura vegetal hidrogenada) para conduzir o consumo alimentar (CORWIN et al., 1998; DIMITRIOU, RICE & CORWIN, 2000; WOJNICKI, JOHNSON & CORWIN, 2008; WOJNICKI, STINE & CORWIN, 2007). Este modelo de acesso limitado dura quatro semanas e é baseado no livre acesso à dieta padrão e água enquanto o consumo de dieta palatável (sacarose/gordura/dieta mista sacarose + gordura) é limitado (CORWIN & BUDA-LEVIN, 2004). Entre binges (acesso à dieta palatável por 2hs), o consumo de dieta padrão foi reduzido como uma forma de compensar o consumo excessivo de dieta palatável, o que ocasiona flutuação do peso corporal (CORWIN & BUDA-LEVIN, 2004). Neste modelo um grupo de animais tem acesso limitado e opcional à dieta palatável por um breve período de tempo (2hs) durante todos os dias (D), e o segundo grupo tem um breve acesso de forma intermitente (INT) e em dias específicos na semana (segunda, quarta e sexta). Não obstante, neste modelo de acesso limitado (2hs) o consumo justamente é aumentado em 2hs (CORWIN et al., 1998; DIMITRIOU, RICE & CORWIN, 2000; THOMAS et al., 2002). Nestes modelos de compulsão alimentar induzida por dieta, do inglês Dietary-Induced Binge Eating (DIBE), os padrões de consumo alimentar compulsivos dependem do tipo de alimento palatável ofertado (CORWIN, 2006; CORWIN & BUDA-LEVIN, 2004; CORWIN et al., 1998; DIMITRIOU, RICE & CORWIN, 2000; WOJNICKI, STINE & CORWIN, 2007). Quando o acesso limitado (1 ou 2hs) à gordura ocorre durante três vezes na semana (segunda, quarta e sexta), o consumo de gordura aumentou (CORWIN et al., 1998; DIMITRIOU, RICE & CORWIN, 2000) ou manteve-se estável a longo de 4-8 semanas (DAVIS et al., 2007; KINZIG, HARGRAVE &

HONORS, 2008). Nesses experimentos, a compulsão é frequentemente distinguida não com um consumo em escala ao longo do tempo, mas é operacionalmente definida por um elevado consumo durante o acesso limitado (2hs) em contraste para o acesso diário à dieta palatável (DIMITRIOU, RICE & CORWIN, 2000).

4) Leve restrição alimentar e o ciclo claro/escuro (Mild Food Restriction and the Light:Dark Cycle).

Neste modelo, Hoebel e seus colegas desenvolveram um protocolo experimental que utiliza, diariamente (30 dias), uma leve restrição alimentar (12hs) seguida por acesso à dieta padrão e dieta palatável (soluções aquosas de 10% ou 25% de açúcar) simultaneamente disponível durante 12hs (AVENA et al., 2006; AVENA, RADA & HOEBEL, 2008; AVENA, 2009; AVENA & HOEBEL, 2003). Nestes modelos de compulsão alimentar induzida por dieta ao utilizar soluções de açúcar (por exemplo, glicose ou açúcar) há um aumento gradual no consumo durante o episódio compulsivo ao longo do tempo (AVENA et al., 2004; AVENA, LONG & HOEBEL, 2005; AVENA et al., 2006; BELLO et al., 2003). Estes ratos são comparados com grupos controle (*ad. libitum* acesso à solução de açúcar e dieta padrão; dieta padrão *ad. libitum*; ou acesso diário e intermitente à dieta padrão (12hs acesso à dieta padrão seguido por 12hs de privação alimentar). Os ratos mantidos em acesso diário e intermitente à solução de açúcar e dieta palatável experimentam uma situação que se assemelha à dependência de drogas (AVENA, LONG & HOEBEL, 2005).

Em outro modelo desenvolvido pelo grupo de Hoebel, os animais que tiveram acesso diário (2hs) à dieta palatável (mistura de doce e gordura) por três dias na semana (segunda, quarta e sexta), comeram cerca de 50% mais do que os animais com acesso *ad. libitum* (à dieta padrão ou palatável) (BERNER et al., 2008). Assim, em contraste aos modelos de Corwin e Boggiano (R/R+S), nesse modelo, os ratos recebem dieta palatável durante um período de privação alimentar. Este modelo tem relevância para a etiologia da compulsão alimentar em humanos, uma vez que episódios compulsivos são intercalados por períodos de privação alimentar (APA, 2013).

5) Acesso limitado à dieta palatável, restrição alimentar e o ciclo claro/escuro (Limited Access, Food Restriction, and the Light:Dark Cycle).

Para simular compulsão alimentar em ratos, Bello e colaboradores (2009) utilizam acesso à dieta palatável (açúcar + gordura vegetal) por 2hs, iniciando dentro do ciclo escuro durante dois dias (não contínuos) na semana. Os ratos permanecem com dieta padrão *ad. libitum*, mas são privados por 22hs antes do acesso à dieta palatável. Assim, juntamente com o acesso intermitente e limitado à dieta palatável, este modelo usa a privação alimentar, assim

como considera o fato de que os ratos normalmente comem durante a fase escura do ciclo claro/escuro. Ao contrário dos modelos de compulsão alimentar (induzida por acesso à dieta palatável) anteriormente descritos, nos quais a dieta palatável é ofertada diariamente por tempo limitado ou de forma intermitente (BELLO et al., 2003; COTTONE et al., 2008; DIMITRIOU, RICE & CORWIN, 2000; HAGAN & MOSS, 1997).

Em se tratando de todos os cinco modelos citados, percebe-se que cada um de uma maneira específica utiliza o acesso intermitente à dieta palatável. No modelo de Boggiano et al., após ciclos de Restrição/Realimentação, a compulsão é avaliada em resposta ao stress agudo (choque nas patas) sob condições de saciedade. Isto porque o animal encontra-se com o peso corporal recuperado após a realimentação (na ausência de privação alimentar) que antecede o teste alimentar quando a dieta palatável (cookies) e dieta padrão são oferecidas durante 24-48hs.

2.3 Relação da plasticidade fenotípica e a gênese da compulsão alimentar

Ao longo das últimas três décadas deram-se início aos estudos epidemiológicos acerca da origem de doenças crônicas prevalentes na idade adulta. A etiologia destas doenças teria sua explicação em períodos iniciais da vida, como no caso, na vida intrauterina. Em vários estudos, esta correlação foi demonstrada através do retardo no crescimento fetal, o qual foi justificado por doenças metabólicas e obesidade (SYMONDS et al., 2003; WHITAKER & DIETZ, 1998). Neste contexto, considera-se que a desnutrição possa corresponder a um stress materno, o qual favorece o comprometimento da função cognitiva e emocional na infância, como também psicopatologia na idade adulta (TALGE, NEAL & GLOVER, 2007). Não obstante, o stress, juntamente com os regimes, tem sido considerado um gatilho para os transtornos alimentares, especialmente para o transtorno de compulsão alimentar e bulimia (FREEMAN & GIL, 2004; WARDLE et al., 2000).

A susceptibilidade às doenças crônicas na vida adulta tem sido atribuída a uma disfunção, em longo prazo, do eixo HPA (HEIM & NEMEROFF, 2002; SECKL, 2008; WÜST et al., 2005). Não obstante, o estresse durante a gravidez é susceptível para aumentar a exposição do feto aos glicorticóides (GLOVER, O'CONNOR & O'DONNELL, 2010), o que pode retardar o crescimento do feto (MICALI, SIMONOFF & TREASURE, 2007) e favorecer na idade adulta, obesidade e ansiedade (DANESE et al., 2007). Em animais, a função do eixo HPA pode ser comprometida pela restrição nutricional no útero, o que pode afetar a responsividade ao estresse na vida adulta (BLOOMFIELD et al., 2003; VIEAU et al., 2007). Através destes resultados, observa-se que uma condição pregressa, como por exemplo, um

insuficiente aporte nutricional durante o início da vida pode acarretar no aparecimento de doenças psiquiátricas (FRANZEK et al., 2008). Desta forma, sendo documentada a importância do ambiente externo para contribuir para a evolução destas doenças. Fatores ambientais, incluindo desnutrição e stress, podem afetar a regulação da transcrição de gênica (BOUCHARD-MERCIER et al., 2011; DE NADAL, AMMERER & POSAS, 2011) através de mecanismos epigenéticos, os quais alteram o risco, em longo prazo, para o desenvolvimento dos transtornos alimentares, incluindo compulsão alimentar (CAMPBELL, BENTON & WERK, 2011). Investigações epigenéticas em relação aos transtornos alimentares são de grande interesse, pois têm o potencial para tratar uma série de questões importantes. Por exemplo, um fator de risco no período perinatal, como a nutrição materna, poder ser associado, em longo prazo, com mudanças no epigenoma que alteram o risco para transtornos alimentares (ROSEBOOM et al., 2011).

Restrição alimentar bem como o acesso à dieta palatável tem demonstrado aumentar o risco para compulsão alimentar na população não clínica, bem como para prolongar a compulsão alimentar em indivíduos com bulimia nervosa e transtorno de compulsão alimentar (AGRAS & TELCH, 1998; APA, 2013; STICE et al., 2001). Ingredientes, tais como açúcares refinados, gorduras saturadas e com altos níveis de sódio compõem os alimentos descritos como de alta caloria ou palatáveis (COCORES & GOLD, 2009). Alimentos altamente palatáveis são considerados como um dos principais fatores para desencadear compulsão alimentar na obesidade e nos transtornos alimentares (CORWIN, 2006; YACH, STUCKLER & BROWNELL, 2006). Na população em geral, dieta palatável é também considerada um forte predisponente para aumentar o consumo alimentar induzido pelo stress (RUTLEDGE & LINDEN, 1998; WARDLE et al., 2000).

Modelos animais demonstram que o stress evoca compulsão alimentar apenas em animais que foram submetidos a ciclos de restrição alimentar seguidos de realimentação (ARTIGA et al., 2007; BOGGIANO et al., 2005; CHANDLER-LANEY et al., 2007; HAGAN et al., 2002). Estes estudos são considerados relevantes para observar as alterações fisiológicas que podem ser evidenciadas através dos efeitos sinérgicos da restrição alimentar e stress dentro dos modelos animais de compulsão alimentar. Assim, as ratas com história de restrição alimentar apresentam aumento no consumo de dieta palatável (Oreo cookies) em um discreto período de tempo (2hs) após stress agudo (choque nas patas) em condições de saciedade (HAGAN et al., 2002, 2003). Nestes modelos, este aumento no consumo durante um período limitado de tempo (2hs) reflete comportamentos observados nos seres humanos que comem de forma compulsiva alimento palatável sem que haja fome ou necessidade metabólica (APA,

2013; WATERS, HILL & WALLER, 2001). Os comportamentos decorrentes tanto da restrição alimentar, como do stress observados nestes modelos animais, podem simular a compulsão alimentar que ocorre nos indivíduos com bulimia nervosa, transtorno da compulsão alimentar e anorexia nervosa do tipo purgante (APA, 2013; FREEMAN & GIL, 2004; STICE et al., 2002).

A capacidade da dieta palatável para incentivar compulsão em condições de saciedade representa um efeito hedônico sob o comportamento alimentar que está envolvido por regulação de opióides no sistema nervoso central (LEVINE & BILLINGTON, 2004). Também, a atuação da dieta palatável é importante porque contribui para incentivar mecanismos hedônicos da compulsão alimentar (AVENA, RADA & HOEBEL, 2008) e favorecer o ganho de peso (BROWNLEY et al., 2007). Através da restrição alimentar, camundongos exibem elevados níveis de hormônios orexígenos no hipotálamo e apresentaram compulsão alimentar por dieta palatável (gordura) (PANKEVICH et al., 2010). Episódios compulsivos foram observados no clássico estudo de Minnesota, cujos voluntários foram submetidos à semi-fome para mimetizar as condições pelas quais foram submetidos os prisioneiros da 2ª Guerra Mundial (KEYS et al., 1950). Assim, através de restrição alimentar os voluntários perderam 25% do seu peso e após realimentação (para recuperação do peso corporal) foi possível observar um comportamento alimentar distorcido por dieta de alta caloria, semelhante à compulsão alimentar (KEYS et al., 1950). Interessantemente, este efeito persistiu mesmo após décadas nos ex-prisioneiros da 2ª Guerra Mundial (POLIVY et al., 1994). No mais, a restrição alimentar pode impactar, em longo prazo, a regulação hormonal e do comportamento alimentar (PANKEVICH et al., 2010), podendo juntamente com o consumo de dieta palatável contribuir para desencadear compulsão alimentar (BOGGIANO et al., 2005; CHANDLER-LANEY et al., 2007; HAGAN et al., 2002, 2003). Em humanos, o consumo, como também o estímulo sensorial ou visual da dieta palatável é um precipitante para a compulsão alimentar (ROGERS & HILL, 1989; WATERS, HILL & WALLER, 2001). Estando seu consumo frequente contribuindo para o excesso de peso e obesidade (BROWNLEY et al., 2007) que são comorbidades dos transtornos alimentares (HUDSON et al., 2007). O grande consumo de alimentos palatáveis é caracterizado por episódios de rápido, excessivo e compulsivo consumo em um curto espaço de tempo (APA, 2013; AVENA, RADA & HOEBEL, 2008; CORWIN, 2006; COTTONE et al., 2012).

De acordo com modelos experimentais sugere-se que o consumo de alimento palatável de forma repetida seja capaz de produzir mudanças nos circuitos de recompensa no encéfalo (STICE et al., 2013). Inclusive, sabe-se que há uma relação neural e comportamental entre consumo de alimento e drogas, o que abre espaço para investigações acerca das propriedades viciantes dos alimentos (AVENA & HOEBEL, 2003; COLANTUONI et al., 2002;

DIMITRIOU, RICE & CORWIN, 2000; HOEBEL et al., 1999). No mais, a exposição intermitente e prolongada às soluções de açúcar, em modelos de compulsão alimentar, demonstra padrões de consumo e mudanças na neurobiologia compatíveis com o uso de substâncias de abuso (AVENA, RADA & HOEBEL, 2008; AVENA et al., 2006; COLANTUONI et al., 2002).

Através de estudos comportamentais, esta tese utiliza uma adaptação de modelos de compulsão alimentar que utilizam ciclos de Restrição/Realimentação + Stress (ARTIGA et al., 2007; BOGGIANO et al., 2005; CIFANI et al., 2009; HAGAN et al., 2002). Assim, sendo possível investigar as alterações do comportamento alimentar compatíveis ou não com o desenvolvimento de compulsão alimentar, em ratas submetidas à restrição proteica perinatal ou manipulação farmacológica do sistema serotoninérgico na lactação, após serem expostos a três ciclos de Restrição/Realimentação. Quando sugerimos que estes contextos interagem para caracterizar alguns mecanismos subjacentes dos transtornos alimentares, lançamos a hipótese da desnutrição proteica perinatal ou manipulação farmacológica do sistema serotoninérgico na lactação podem induzir compulsão alimentar mediante prejuízo da função neural por programação no período perinatal.

2.4 Papel da nutrição no desenvolvimento da compulsão alimentar

Atualmente, na sociedade contemporânea o problema não é a escassez de alimentos, mas sim a abundância de alimentos. Justamente porque a população tem uma gama de oportunidades de acesso à grande quantidade e variedade de alimentos, especialmente os de alta palatabilidade, os quais estão intrinsecamente correlacionados ao desenvolvimento de compulsão alimentar. O ambiente no qual o alimento tem sido apresentado, pode contribuir para desencadear os episódios compulsivos. Assim, adolescentes do sexo feminino que geralmente jantam com a família são menos propensos à compulsão do que os adolescentes do sexo feminino que raramente jantam com a família (HAINES et al., 2010).

Neste contexto, em sociedades onde há abundância em alimentos, as famílias na maioria das vezes não se sentam juntas para fazer as refeições (SISSON et al., 2011), inclusive há pouco tempo para o preparo dos alimentos (JABS & DEVINE 2006). No mais, é crescente o consumo de alimentos, processados industrialmente, que são consumidos fora de casa (GUTHRIE, SHEPPARD & WAKEFIELD, 2002). Assim, além do ambiente influenciar os aspectos cognitivos do apetite (LOWE et al., 2009) pode facilitar e contribuir para o comer em excesso (GUTHRIE, SHEPPARD & WAKEFIELD, 2002). Sendo através dos ambientes alimentares caóticos, dos tipos de alimentos disponíveis e principalmente do contexto em que estes

alimentos são oferecidos, que os modelos de compulsão alimentar em roedores vêm conseguindo respaldo (BOGGIANO et al., 2005, CIFANI et al., 2009; HAGAN et al., 2002, 2003). Um critério importante a ser considerado é que os episódios compulsivos são caracterizados por ataques recorrentes, discretos e intermitentes (WILSON & FAIRBURN, 1993). Em países industrializados, o excesso alimentar é um importante problema, particularmente no consumo de alimentos palatáveis, que acarreta, por exemplo, o aumento de peso corporal e obesidade (GEARHARDT & BROWNELL, 2013).

Estudos epidemiológicos e experimentais correlacionam a desnutrição perinatal com o desenvolvimento de disfunção metabólica na idade adulta, tais como diabetes mellitus, hipertensão e obesidade (BARKER, 2004; HALES & BARKER, 1992). De um modo geral, a desnutrição é um problema mundial que afeta recém-nascidos e crianças durante as fases mais vulneráveis do desenvolvimento encefálico, cujas mudanças na maturação acarretam em alterações do comportamento, das funções cognitivas e distúrbios de aprendizagem e memória (MORGANE, MOKLER & GALLER, 2002). Durante a fase de desenvolvimento, o cérebro é altamente vulnerável a diferentes tipos de condições adversas (MORGANE, MOKLER & GALLER, 2002). Isto porque o sistema nervoso central é considerado um alvo importante do ambiente nutricional na vida precoce, tais como a restrição nutricional por desnutrição proteica perinatal. Conforme demonstrado em alguns estudos, desnutrição proteica materna, durante a gestação e lactação, induz mudanças cruciais no encéfalo dos filhotes, compatíveis com disfunções nas conexões neurais (MORGANE et al., 1993). Os efeitos danosos destes insultos nos períodos iniciais da vida são demonstrados através de diferentes modelos experimentais, tais como estresse pré-natal (VALLÉE et al., 1997), separação materna (LEHMANN et al., 1999), excesso nutricional (ALSIÖ et al., 2010) ou desnutrição (LOPES DE SOUZA et al., 2008).

Com relação ao sistema nervoso central, as consequências da desnutrição em ratos atingem peptídeos e neurotransmissores, uma vez que foi identificada redução nos níveis hipotalâmicos nas concentrações de serotonina e pro-opiomelanocortina (POMC) que são agentes anorexigênicos (MANJARREZ et al., 1998; LOPES DE SOUZA et al., 2008). Este efeito está respaldado pela própria desnutrição proteica perinatal, a qual favorece uma má formação de núcleos hipotalâmicos devido à redução na quantidade de neuropeptídeos que regulam o consumo alimentar e o peso corporal (PLAGEMANN et al., 2000; YURA et al., 2005). Sendo sua diferenciação e maturação neuronal iniciando nas três primeiras semanas de vida pós-natal (POZZO-MILLER & AOKI, 1992), a síntese dos neuropeptídeos hipotalâmicos influencia substancialmente o controle do comportamento alimentar (SCHWARTZ et al.,

2000). Todavia sob condição de restrição proteica perinatal, filhotes também apresentam alterações no comportamento alimentar, como retardo no disparo da saciedade e redução dos efeitos anoréxicos da serotonina (LOPES DE SOUZA et al., 2008). Ademais, filhotes desnutridos durante o período perinatal apresentam hiperfagia na idade adulta (BELLINGER, LILLEY & LANGLEY-EVANS, 2004; BELLINGER, SCULLEY & LANGLEY-EVANS, 2006; VICKERS et al., 2000).

Em se tratando do balanço energético, o hipotálamo também rege os mecanismos neurais da homeostase energética e do controle do peso corporal (KALRA et al., 1999; PLAGEMANN et al., 2000). Sendo a manutenção deste equilíbrio submetido a mecanismos complexos de regulação que compreendem a integração de vários sinalizadores provenientes do trato gastrointestinal, pâncreas, fígado ou tecido adiposo (MORTON et al., 2006). Estes sinais são traduzidos em sensação de fome e saciedade no hipotálamo (WYNNE et al., 2005), cujos núcleos desempenham papéis específicos na manutenção da homeostase energética e do peso corporal (KALRA et al., 1999; PLAGEMANN et al., 2000). Não obstante, estes estudos investigam as mudanças no ambiente pós-natal importantes para programar o desenvolvimento de doenças na idade adulta, sendo de forma permanente, observadas alterações fisiológicas e consequentemente o desenvolvimento de doenças metabólicas (SIMMONS, 2009). Tais alterações fenotípicas estão associadas à disfunção de vários tecidos e órgãos, assim como ao comprometimento do comportamento alimentar (BELLINGER & LANGLEY-EVANS, 2005; VICKERS et al., 2000), com redução da expressão gênica decorrente dos efeitos da desnutrição perinatal sob o epigenoma (COUPÉ et al., 2010; LILLYCROP & BURDGE, 2011; PLAGEMANN et al., 2009). Além do mais, alguns eventos adversos na vida precoce como restrição nutricional, obesidade materna, desnutrição ou excesso nutricional na vida neonatal, produzem no filhote adulto alterações fisiopatológicas importantes (PLAGEMANN et al., 2009; SAMUELSSON et al., 2008). Interessantemente, a restrição nutricional materna na lactação modifica a atividade do eixo HPA, o que indica que o período pós-natal é sensível aos efeitos da programação perinatal independentemente da condição nutricional intrauterina (LÉONHARDT et al., 2003). Desta forma, as alterações nutricionais no início da vida podem conduzir a um maior risco para o desenvolvimento de doenças metabólicas e cardiovasculares na idade adulta (FERNANDEZ-TWINN & OZANNE, 2010). A desnutrição materna no período perinatal tem sido considerada por vários estudos (PLAGEMANN et al., 2009; SAMUELSSON et al., 2008) como facilitadora da programação do metabolismo fetal, o qual desenvolve um fenótipo de baixo peso, hiperfágico e obeso no período pós-natal (OZANNE, 2001; VICKERS et al., 2000; YURA et al., 2005).

Assim, estes estudos (OZANNE, 2001; PLAGEMANN et al., 2009; VICKERS et al., 2000; SAMUELSSON et al., 2008; YURA et al., 2005) concentram suas contribuições nos mecanismos epigenéticos para a manifestação de doenças, que surge como consequência da programação de desenvolvimento ainda em período precoce da vida. Durante o desenvolvimento, a regulação epigenética sofre alterações dinâmicas, pois o epigenoma exibe uma natureza lábil, o que lhe permite responder e adaptar-se às pressões do ambiente, incluindo a modificação nutricional (JANG & SERRA, 2014). Intervenções nutricionais na gestação e lactação (como desnutrição ou obesidade materna) podem favorecer nos filhotes ao desenvolvimento de distúrbios metabólicos que, em parte, são mediados por processos epigenéticos como, por exemplo, a metilação do DNA e modificações de histonas (MARTINEZ et al., 2012). Assim, as influências epigenéticas durante o desenvolvimento orgânico, como por exemplo, nos períodos precoces da vida, podem atuar em modificações fenotípicas na idade adulta objetivando adaptações no ambiente nutricional na idade adulta. Visto que alteração no ambiente nutricional início da vida pode modificar a preferência alimentar dos filhotes (TRABULSI & MENNELLA, 2012). Neste contexto, tem sido desenvolvido por vários pesquisadores, assim como pelo grupo de pesquisa ao qual esta tese está vinculada, um modelo experimental em desnutrição materna em que ratas são submetidas durante o período perinatal (gestação e lactação) à desnutrição proteica perinatal (8% de teor de proteína) (BELLINGER & LANGLEY-EVANS, 2005; BELLINGER, LILLEY & LANGLEY-EVANS, 2004; BELLINGER, SCULLEY & LANGLEY-EVANS, 2006; LOPES DE SOUZA et al., 2008, OROZCO-SOLIS et al., 2010; PLAGEMANN et al., 2000). Não obstante, a exposição materna à dieta com baixo teor de proteína durante o período pré-natal pode programar a preferência para alimentos ricos em gordura em filhotes adultos jovens (BELLINGER, LILLEY & LANGLEY-EVANS, 2004). No mais, este ambiente nutricional na vida pós-natal pode promover desafios no comportamento alimentar compatíveis para o desenvolvimento de compulsão em ratas submetidas à desnutrição perinatal ou manipulação do sistema serotoninérgico na lactação.

2.5 Papel da serotonina no desenvolvimento da compulsão alimentar

Estudos têm proposto que a etiologia dos transtornos alimentares pode também encontrar respostas em bases biológicas e neurais. Desde décadas atrás, a etiologia dos transtornos alimentares vem sendo investigada e considerada desconhecida (STROBER et al., 2001). Embora haja uma pressão cultural e social que os influencie (STROBER et al., 2001), sabe-se que há uma base biológica e genética para desencadear os transtornos (BULIK, 2004).

Por conseguinte, várias pesquisas apontam uma variedade de neurotransmissores que podem estar relacionados aos transtornos alimentares (BARBARICH, KAYE & JIMERSON, 2003; CASPER, SULLIVAN & TECOTT, 2008; KAYE, FUDGE & PAULUS, 2009), assim como a existência de áreas encefálicas que possuem semelhança quanto à sensibilidade ao estímulo por alimento e drogas (KALIVAS & VOLKOW, 2005; KOOB & LE MOAL, 2005). Em se tratando dos sistemas de neurotransmissores que estão implicados nos transtornos alimentares, um dos principais é o monoaminérgico que compreende, particularmente, a dopamina (DA) e a serotonina (5-HT) (AVENA, RADA & HOEBEL, 2009; KAYE, 2008; NATHAN & BULLMORE, 2009). Implicada na patologia da compulsão alimentar, a dopamina (BELLO & HAJNAL, 2010) envia projeções do mesencéfalo para várias regiões do cérebro, por exemplo, para o córtex pré-frontal onde os sinais da dopamina têm sido associados com memória e aprendizado baseado no sistema de recompensa (HYMAN, MALENKA & NESTLER, 2006). Neste contexto, a recompensa por alimento (VOLKOW, WANG & BALER, 2011) está correlacionada com a resposta aos sinais provenientes dos alimentos palatáveis que estimulam e alteram a atividade do córtex pré-frontal em indivíduos com bulimia nervosa (UHER et al., 2004).

Considerando estes aspectos, Bart Hoebel e colaboradores demonstram de forma pioneira a participação dos circuitos neurais do sistema de recompensa no estudo da compulsão alimentar, através da regulação do consumo de alimento e sua relação com o consumo de drogas. Nos modelos de Hoebel são investigadas as alterações neurais decorrentes da compulsão alimentar através do acesso compulsivo à dieta palatável, conforme descrito no capítulo referente aos modelos experimentais. Sendo evidentes as alterações no sistema dopaminérgico devido à compulsão por açúcar e drogas de abuso, os estudos de Hoebel e colaboradores são importantes em modelos de vício por alimento açucarado (AVENA & HOEBEL, 2003; AVENA, RADA & HOEBEL, 2008). Assim como em roedores, em humanos são observadas alterações nos sinais da dopamina durante o consumo de alimento gorduroso (JOHNSON & KENNY, 2010), como também durante episódios de compulsão alimentar (BELLO & HAJNAL, 2010). Conforme demonstrado, a influência da sinalização dos opióides pode contribuir para compulsão alimentar induzida por restrição alimentar e stress (BOGGIANO et al., 2005).

Além deste estudo, outros também tem encontrado a participação de receptores opióides na compulsão por alimento açucarado em ratos (BOGGIANO et al., 2005; COLANTUONI et al., 2002; SPANGLER et al., 2004) e em humanos (DREWNOWSKI et al., 1995). Conforme observado, há décadas atrás já se postulava que há um mecanismo pelo qual a restrição

alimentar, através da sensibilização dos receptores opióides, pode colaborar para desencadear compulsão alimentar (HAGAN & MOSS, 1991). De acordo com estas pesquisas, a dopamina tem um papel importante no processo de desenvolvimento da compulsão alimentar, a qual, por sua vez, pode desregular os sinais da dopamina nos circuitos de recompensa. Assim, uma vez iniciado, o comportamento compulsivo dificilmente pode ser interrompido. Conforme exposto acima, para observar o efeito da dopamina, como também do sistema de opióides durante os episódios compulsivos foram utilizados modelos animais com limitado acesso a alimento palatável. Nestes modelos, para investigar estes efeitos, foi necessária a administração de fármacos antagonistas dopaminérgicos ou opióides em áreas responsáveis pela resposta de recompensa, como no caso o núcleo acumbens.

Conforme tem sido demonstrado há alteração da função serotoninérgica no tocante à fisiopatologia dos transtornos alimentares (COWEN et al, 1996; KAYE, GENDALL & STROBER, 1998; MONTELEONE et al., 2000), visto que através da administração central e sistêmica de um Inibidor Seletivo da Recaptura da Serotonina (ISRS) em animais ocorreu a supressão do consumo alimentar em animais (DE VRY & SCHREIBER, 2000; HAGAN & MOSS, 1993). Considerando os modelos animais que utilizam restrição alimentar e stress para induzir compulsão alimentar, observou-se que a fluoxetina foi capaz de suprimir o comportamento compulsivo (CIFANI et al., 2009; PLACIDI et al., 2004). A 5-HT é um neurotransmissor que participa do desenvolvimento do sistema nervoso e está envolvida na formação, na diferenciação de neurônios (LEVITT et al., 1997), como também na regulação de comportamentos e funções orgânicas (HALFORD & BLUNDELL, 1996; JACOBS & FORNAL, 1999). Do ponto de vista farmacológico, pesquisas evidenciaram que o tratamento com ISRS promove déficit no crescimento somático, desenvolvimento sensorio motor e comportamento alimentar em ratos (DEIRÓ et al., 2008; HALFORD & BLUNDELL, 1996; DE SOUZA et al., 2004). Os resultados decorrentes da desnutrição ou manipulação farmacológica do sistema serotoninérgico durante a gestação e/ou lactação, foi possível observar, em ratos, alterações morfológicas e funcionais permanentes (DE MOURA & PASSOS, 2005; MANHÃES-DE-CASTRO et al., 2001). Assim, estas alterações perinatais (fetal ou neonatal) que ocorrem devido à desnutrição proteica (LOPES DE SOUZA et al., 2008) e a superalimentação (PLAGEMANN et al., 2000) podem alterar as estruturas nervosas, como também os seus sistemas de neurotransmissores, com repercussões durante a vida adulta.

Durante o tratamento de depressão materna (gestação e/ou lactação) são frequentemente utilizados os ISRS, cujo efeito sob os níveis de serotonina no encéfalo humano nessa fase da vida vem sendo discutido (OBERLANDER et al., 2002). Em estudos que consideram a

influência de fármacos durante períodos iniciais da vida, sobretudo os ISRS, sugere-se que uma alteração na disponibilidade de 5-HT durante o período perinatal seria um possível fator indutor de mudanças na maturação de reflexos em ratos (DEIRÓ et al., 2006). Visto que a serotonina apresenta um papel importante no controle do comportamento alimentar (HALFORD & BLUNDELL, 1996) através da inibição do consumo de alimentos, regulação do peso corporal e estado de humor (BLUNDELL, 1992; LEIBOWITZ & ALEXANDER, 1998), sendo sua função interrompida nos indivíduos com bulimia nervosa (STEIGER, 2004). Sendo uma associação entre desregulação da 5-HT e a frequência de compulsão alimentar observada em indivíduos com bulimia nervosa (JIMERSON et al., 1992; MONTELEONE et al., 1998). A desorganização da transmissão serotoninérgica, bem como uma direta correlação entre o prejuízo da função da serotonina e a frequência de compulsão alimentar tem sido encontrada em indivíduos em estado agudo ou de recuperação da bulimia nervosa (JIMERSON et al., 1992; KAYE et al., 1990; KAYE, GENDALL & STROBER, 1998; KAYE et al., 2001; MONTELEONE et al., 1998).

Estes resultados também podem ser transportados para pessoas com obesidade, dentre as quais há uma população que pode apresentar comportamento compulsivo (STUNKARD, 1959). Neste contexto, mulheres obesas com transtorno de compulsão alimentar periódica apresentaram redução nos níveis do transportador responsável pela recaptura da 5-HT, o que pode contribuir para desencadear episódios frequentes de compulsão alimentar (KUIKKA et al., 2001). Inclusive, estudos farmacológicos demonstram uma diminuição da atividade do receptor 5-HT_{2A} e 5-HTT em indivíduos com bulimia nervosa (LEVITAN et al., 1997; STEIGER et al., 2000), podendo estas alterações ser fatores hereditários de risco para a bulimia nervosa (STEIGER et al., 2006). Em animais, administração central e sistêmica de ISRS suprimiu o consumo alimentar (DE VRY & SCHREIBER, 2000; HAGAN & MOSS, 1993). Uma vez que a serotonina no sistema nervoso central desempenha um papel chave na sinalização da saciedade (HOEBEL et al., 1989), é possível sugerir que períodos de restrição alimentar, que são utilizados por indivíduos com transtornos alimentares, podem estar relacionados às alterações nos níveis de serotonina no encéfalo. Visto que restrição alimentar tem sido considerada como um fator crítico para desencadear compulsão alimentar em ratas submetidas a stress agudo (HAGAN et al., 2002, 2003). Em longo prazo, a restrição alimentar animais é capaz de reduzir a atividade do receptor de serotonina no encéfalo (HUETHER et al., 1997). Por sua vez, alteração na função da serotonina é considerada, do ponto de vista fisiológico, relevante nos transtornos alimentares (COWEN & SMITH, 1999; KAYE, GENDALL & STROBER, 1998; MONTELEONE et al., 2000). Há décadas, através dos

estudos com ratos, o pesquisador Hoebel e seus colaboradores conduziram as bases para considerar a serotonina com sendo o alvo no tratamento em alguma anormalidade do comportamento alimentar (BREISCH, ZEMLAN & HOEBEL, 1976; HOEBEL, 1977). Tal como em humanos, a restrição alimentar em animais geralmente diminui os níveis séricos de 5-HT no encéfalo, fato este que pode estar associado a uma diminuição do triptofano derivado da dieta para a síntese de 5-HT (CHIK, HO & BROWN, 1986; COWEN et al., 1996; HALEEM & HAIDER, 1996; KOHSAKA, TAKAMATSU & TSUKADA 1980). O

De acordo com estes achados, observa-se que o efeito anorexígeno da fluoxetina pode ser influenciado pela condição pregressa, tanto pelo estoque energético como pela situação de stress agudo. Interessantemente, a disponibilidade de acesso à dieta palatável também tem sido considerado importante para incentivar a ação da fluoxetina. Desta forma, uma forte ação anorexígena da fluoxetina sob o consumo alimentar foi encontrado em ratas com esporádico acesso (24hs) à dieta palatável em relação às ratas com história de restrição que nunca tiveram acesso ou mesmo as que tiveram acesso diário à dieta palatável (CHANDLER-LANEY et al., 2007). Desta forma, sugere-se que as alterações do comportamento alimentar decorrentes da manipulação do sistema serotoninérgico na lactação posam contribuir para o desenvolvimento de compulsão alimentar e contribuir para a etiologia dos transtornos alimentares. Nesta perspectiva, esta tese pretende investigar os efeitos da manipulação farmacológica com ISRS durante o período de lactação no desenvolvimento de compulsão alimentar na idade adulta.

3 HIPÓTESE

Desnutrição proteica perinatal ou manipulação do sistema serotoninérgico durante a lactação promove o desenvolvimento de compulsão alimentar em ratas.

4 OBJETIVO GERAL

Investigar o possível efeito da desnutrição proteica perinatal ou da manipulação do sistema serotoninérgico durante a lactação como indutor de comportamento alimentar compulsivo após ciclos de Restrição/Realimentação (R/R).

4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

4.1.1 Primeiro estudo:

4.1.1.1 Traçar o perfil de oscilação do peso corporal em cada um dos três ciclos de Restrição/Realimentação;

4.1.1.2 Mensurar o consumo alimentar (dieta padrão e palatável) em cada um dos três ciclos de Restrição/Realimentação;

4.1.1.3 Mensurar o consumo alimentar e dieta padrão no teste alimentar, após os três ciclos de Restrição/Realimentação.

4.1.2 Segundo estudo:

4.1.2.1 Traçar o perfil de oscilação do peso corporal em cada um dos três ciclos de Restrição/Realimentação;

4.1.2.2 Mensurar o consumo alimentar (dieta padrão e palatável) em cada um dos três ciclos de Restrição/Realimentação;

4.1.2.3 Mensurar o consumo alimentar e dieta padrão no teste alimentar, após os três ciclos de Restrição/Realimentação.

4.1.2.4 Após o teste alimentar: Traçar o perfil de oscilação do peso corporal e mensurar o consumo alimentar durante 1 semana;

4.1.2.5 Após o teste alimentar: Traçar o perfil de consumo alimentar e dieta padrão após privação alimentar aguda de 24hs.

4.1.3 Terceiro estudo:

4.1.3.1 Traçar o perfil de oscilação do peso corporal em cada um dos três ciclos de Restrição/Realimentação;

4.1.3.2 Mensurar o consumo alimentar (dieta padrão e palatável) em cada um dos três ciclos de Restrição/Realimentação;

4.1.3.3 Mensurar o consumo alimentar e dieta padrão no teste alimentar, após os três ciclos de Restrição/Realimentação.

4.1.3.4 Após o teste alimentar: Traçar o perfil de oscilação do peso corporal e mensurar o consumo alimentar, durante 1 semana e durante 6 semanas;

4.1.3.5 Traçar o perfil de consumo alimentar e dieta padrão no teste alimentar quando os animais estão com 120 dias de vida.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Métodos gerais

5.1.1 Animais

Foram utilizados ratos e ratas albinos da linhagem *Wistar* provenientes do biotério do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais permaneceram no ciclo claro/escuro de 12 horas (luz acesa às 06:00hs) 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. As fêmeas não possuíram qualquer parentesco com os machos, os quais fecundaram apenas uma fêmea de cada grupo experimental. O acasalamento iniciou-se no período estro, fase mais fértil da fêmea, e a prenhes foi diagnosticada com visualização de espermatozoides no 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 foi considerado como o primeiro dia de vida da prole, sendo ao segundo dia as ninhadas ajustadas para quatro filhotes fêmeas e quatro filhotes machos, total de oito filhotes pesando entre 6-7g cada. Para participar do modelo experimental de compulsão alimentar foram selecionadas duas fêmeas de cada ninhada. Após o desmame, aos 21 dias de vida, duas das quatro ratas foram colocadas em uma mesma caixa de polipropileno com acesso livre à dieta padrão do biotério (Labina® - Purina do Brasil) e água.

5.1.2 Formação dos grupos segundo a dieta materna

Durante o período de gestação e lactação, as mães consumiram dietas isocalóricas com diferentes teores de proteína, no caso dieta à base de caseína 17% ou dieta à base de caseína 8%. Para compor os grupos experimentais, nutrido e desnutrido, foram utilizados os filhotes do sexo feminino provenientes de mães que receberam caseína 17% e caseína 8%, 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.

5.1.3 Formação dos grupos segundo a manipulação farmacológica

Durante o período de gestação e lactação, as mães consumiram dieta padrão do biotério (Labina®, Purina do Brasil). Ao nascimento, os filhotes receberam diariamente (às 07h00min) durante a lactação, injeção via subcutânea (região dorsal superior) de salina (10mg/Kg) ou fluoxetina (10mg/Kg) que consiste em um inibidor seletivo da recaptação de serotonina (ISRS).

Para compor os grupos experimentais, salina e fluoxetina, foram utilizados os filhotes do sexo feminino manipulados com salina ou fluoxetina, respectivamente. Após o desmame (21 dias de vida) os filhotes de todas as ninhadas receberam dieta padrão do biotério (Labina®, Purina do Brasil).

5.1.4 Estudo experimental - Modelo de compulsão alimentar

O modelo de compulsão alimentar utilizado foi uma modificação do modelo de Hagan et al., 2002. Aos 45 dias de vida, cada uma das duas fêmeas foi colocada em caixa individual para adaptação antes de se iniciar o modelo experimental. As caixas mantiveram as mesmas características daquelas de origem das ratas. Durante esse período foi mensurado o consumo alimentar diário e o perfil de oscilação do peso corporal. O período de adaptação foi composto por sete dias. Durante os últimos cinco dias do período de adaptação, foi mensurada a média do consumo de dieta padrão. Esta média foi a referência para oferta de alimento durante o período de restrição do modelo experimental. O modelo de compulsão alimentar começou quando os animais atingiram 52 dias de vida. Este modelo foi composto por três ciclos consecutivos de restrição alimentar e realimentação, ou ciclos Restrição/Realimentação (ciclos R/R), seguido por um teste alimentar (Figura 1).

Componentes do modelo de compulsão alimentar:

Restrição alimentar: O período de restrição alimentar foi composto por quatro dias em cada um dos três ciclos R/R. A quantidade de alimento oferecida ao animal durante este período foi o equivalente ao percentual (40%) da média do consumo *ad. libitum* de dieta padrão Labina® durante o cinco dias antes do início do modelo (no período de adaptação). A porcentagem de 40% considerada foi escolhida através de teste piloto durante a adequação do método. O alimento foi oferecido sempre no mesmo horário do ciclo escuro.

Realimentação: Assim como na restrição, o período de realimentação foi composto por quatro dias em cada um dos três ciclos R/R. Nestes, aos animais tiveram livre acesso à dieta padrão Labina® do biotério. No entanto, foram realizados estímulos pontuais com dieta palatável nas duas primeiras horas dos dois primeiros dias dos 1^o e 2^o ciclos R/R. Este período de duas horas de acesso à dieta palatável foi necessário para que o animal tivesse um prévio contato antes de iniciar o teste alimentar. No mais, durante os três ciclos R/R foram mensurados, em todos os animais, o consumo alimentar e a oscilação do peso corporal. Assim, o peso corporal (g) foi considerado pela variação de ganho de peso (%) em cada um dos três ciclos R/R. Já o consumo alimentar (kcal/100g de peso corporal) foi considerado pelo total do consumo em cada um dos três ciclos R/R (para dieta padrão) e nos primeiros dois ciclos R/R

(para dieta palatável).

Teste alimentar: Foi realizado imediatamente após os três ciclos R/R (aos 77 dias de vida). Além da dieta padrão *ad. libitum*, o animal teve acesso à dieta palatável por vinte quatro horas. No primeiro estudo, o consumo de dieta palatável foi mensurado durante 2, 4, 6 e 24h. Já no segundo e terceiro estudo, o consumo de dieta palatável foi mensurado em 1, 2, 4, 6 e 24hs. A dieta palatável do primeiro estudo 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, com um total de 399,83 Kcal/100g. Já no segundo e terceiro estudo, a dieta palatável (dieta nutella em pellet) foi composta por 53% de carboidrato, 35% de gordura e 12% de proteína), com um total de 430 Kcal/100g (Tabela 1). A dieta palatável foi modificada de Ferro Cavalcante et al., 2013 e produzida pelo Laboratório de Nutrição Experimental e Dietética do Departamento de Nutrição/UFPE.

5.1.5 Formação dos grupos segundo o modelo de compulsão alimentar

Para iniciar o modelo de compulsão alimentar, aos 52 dias de vida, as ratas foram subdivididas em quatro grupos conforme disposto na (Figura 1). Isto se deve ao fato de que os animais dos grupos Nutrido (N) ou Salina (S), como também, Desnutrido (D) ou Fluoxetina (F) foram submetidos a períodos de restrição alimentar dentro do modelo de compulsão alimentar. Assim, vamos obter os seguintes subgrupos:

Nutrido Restrito (NR) ou Salina Restrito (SR) - Filhotes fêmeas de ratas que consumiram (na gestação e lactação) dieta normoprotéica (caseína 17%) ou foram submetidos (na lactação) à aplicação de salina. Aos 52 dias de vida passaram por restrição alimentar ao participarem do modelo de compulsão alimentar.

Nutrido Não Restrito (N) ou Salina Não Restrito (S) - Filhotes fêmeas de ratas que consumiram (na gestação e lactação) dieta normoprotéica (caseína 17%) ou foram submetidos (na lactação) à aplicação de salina. Aos 52 dias de vida **não** passaram por restrição alimentar ao participarem do modelo de compulsão alimentar.

Desnutrido Restrito (DR) ou Fluoxetina Restrito (FR) - Filhotes fêmeas de ratas que consumiram (na gestação e lactação) dieta hipoprotéica (caseína 8%) ou foram submetidos (na lactação) à aplicação de fluoxetina. Aos 52 dias de vida passaram por restrição alimentar ao participarem do modelo de compulsão alimentar.

Desnutrido Não Restrito (D) ou Fluoxetina Não Restrito (F) - Filhotes fêmeas de ratas

que consumiram (na gestação e lactação) dieta hipoprotéica (caseína 8%) ou foram submetidos (na lactação) à aplicação de fluoxetina. Aos 52 dias de vida **não** passaram por restrição alimentar ao participarem do modelo de compulsão alimentar.

5.1.6 Teste de privação alimentar durante 24hs

Para compor o segundo estudo, após o teste alimentar imediatamente após os ciclos de Restrição/Realimentação, os animais (dos grupos nutrido, nutrido restrito, desnutrido e desnutrido restrito) receberam livre acesso à dieta padrão do biotério (Labina® - Purina do Brasil) e água durante sete dias. Este período foi necessário para que houvesse normalização do consumo alimentar dos animais. Após estes sete dias, todos os animais dos quatro grupos foram submetidos à privação de dieta padrão do biotério durante 24hs. Em seguida, foi ofertada dieta palatável (por 2hs) e logo após os animais receberam dieta padrão do biotério durante as 22hs restantes. O propósito deste teste foi observar a persistência do efeito da restrição alimentar para induzir comportamento alimentar compulsivo por dieta palatável após 24hs de privação alimentar. Para tanto, a quantidade de dieta palatável consumida foi mensurada durante o período de 1h e 2hs, após 24hs de privação alimentar.

5.1.7 Teste alimentar aos 120 dias de vida

Para compor o terceiro estudo, aos 120 dias de vida, os animais (dos grupos salina, salina restrito, fluoxetina e fluoxetina restrito) foram submetidos a um teste alimentar semelhante ao que foi descrito anteriormente (realizado imediatamente após os três ciclos R/R). O propósito deste teste foi observar se o comportamento compulsivo apresentado durante o teste alimentar anterior (após os três ciclos R/R) poderia ser novamente apresentado, como um resgate de uma “memória alimentar”. Contudo durante este teste, além de considerar o consumo de dieta palatável (Kcal/Kg) foi mensurado também o consumo de dieta padrão do biotério (Labina® - Purina do Brasil) durante o total de 24hs.

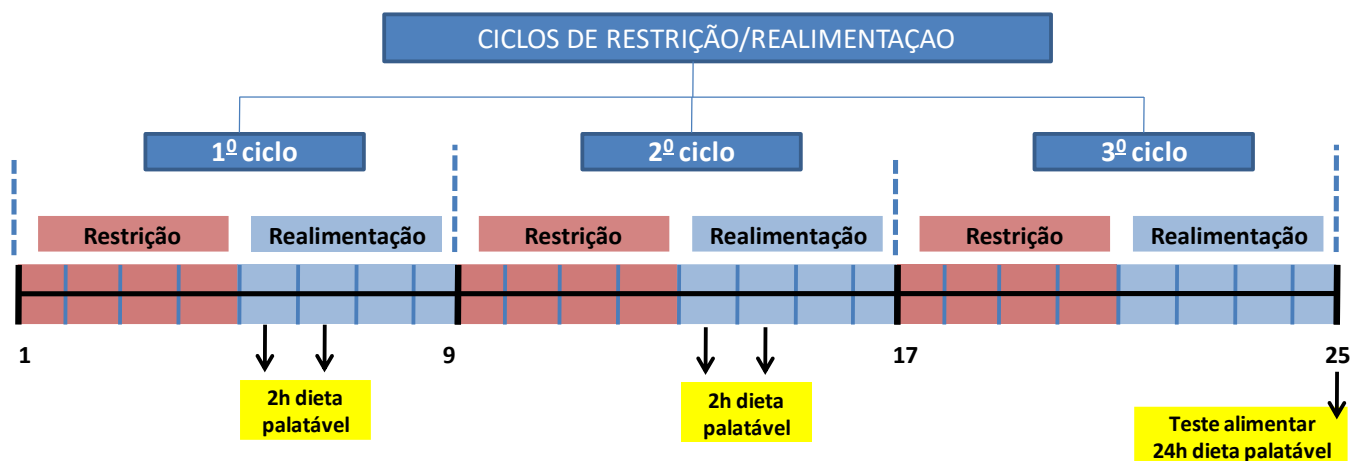


Figura 1 - Esquema do protocolo experimental de compulsão alimentar. Ratas com 45 dias de vida foram submetidas a três ciclos consecutivos de restrição alimentar (40%) e realimentação (R/R ciclos). No período de realimentação, os animais receberam dieta padrão *ad. libitum* com oferta de dieta palatável durante duas horas nos dois primeiros dias dos 1º e 2º ciclos. Após os ciclos R/R (25º dia), os animais foram submetidos ao teste alimentar que consistiu de 24hs de acesso *ad. libitum* para dieta padrão (mensurada em 24hs) e dieta palatável (mensurada em 1, 2, 4, 6 e 24hs).

Table 1 - Composição da dieta palatável (dieta nutella em pellet).

Ingredientes (g/1Kg)	Quantidade (g)
Açúcar	200
Amido	150
Banha	55
Biscoito maisena	65
BHT	0,01
Caseína	120
Celulose microfina	8
Colina	2,5
Farinha de rosca	45
Farinha de soja	55
Farinha de trigo	130
Glutamato monossódico	3
Goma guar	5
Manteiga	30
Margarina	25
Metionina	2
Mix mineral	25
Mix vitamina	7
Nutella	200
Óleo de milho	20
Óleo de soja	10
Sal	3

5.8 Análise estatística

No primeiro estudo, Two-way ANOVA (medidas repetidas) foi usado para comparar as médias dos grupos relacionadas com a interação dieta materna vs. restrição calórica, bem em outros parâmetros, como a dieta materna, restrição e o tempo durante os ciclos Restrição/Realimentação e o teste alimentar. Post-hoc Sidak testes para comparações múltiplas foi usado para valores alfa de $p < 0,05$. Em todas as análises estatísticas foi usado STATA 12.1SE (College Station, Texas, EUA).

No segundo estudo foi examinada a diferença no consumo alimentar (dieta padrão e palatável), como também, na variação de peso corporal (%). Two-way ANOVA (medidas repetidas) foi usado para comparar as médias de grupo relacionadas com a dieta materna, restrição calórica e a interação dieta materna vs. restrição calórica, bem como a influência do tempo em cada um destes parâmetros. Two-way ANOVA (sem medidas repetidas) foi usado em relação ao consumo alimentar de dieta palatável no teste de alimentação, bem como para o consumo de dieta palatável (Kcal) e variação de ganho de peso (%) em uma semana após o teste alimentar. Post-hoc Sidak testes para comparações múltiplas foi usado para valores alfa de $p < 0,05$. Em todas as análises estatísticas foi usado STATA 12.1SE (College Station, Texas, EUA).

No terceiro estudo, Two-way ANOVA (medidas repetidas) foi utilizado para analisar dentro e entre os grupos, considerando os respectivos parâmetros: Manipulação neonatal do sistema serotoninérgico, restrição calórica e interação manipulação neonatal do sistema serotoninérgico vs. restrição calórica. Além disso, foi considerada a influência do tempo em cada um destes parâmetros. Two-way ANOVA (sem medidas repetidas) foi usado para mensurar o consumo alimentar de dieta palatável nos dois testes alimentares e entre cada um destes testes, bem como durante uma semana após o primeiro teste alimentar (após ciclos R/R). Também, as variações de ganho de peso corporal (%) em uma semana após o primeiro teste alimentar (após ciclos R/R) e entre cada um dos dois testes alimentares. Post-hoc Sidak testes para comparações múltiplas foi usado para valores alfa de $p < 0,05$. Em todas as análises estatísticas foi usado STATA 12.1SE (College Station, Texas, EUA).

6 RESULTADOS

6.1 Primeiro estudo (Apêndice A)

Title: Can early protein restriction induce the development of binge eating?

Abstract

We tested the hypothesis that perinatal undernourishment is a factor for binge eating. At 52 days rats born from dams fed on 17% protein (Control) or 8% protein (Undernourished) were distributed into four groups, two of which continued to be fed ad libitum chow and two were submitted to three consecutive Restricted/Refeeding (R/R) cycles. According to the following schedule: Control Naïve (from mothers fed 17% protein/no restriction phase); Control Restricted (from mothers fed 17% protein/restriction phase); Undernourished Naïve (from mothers fed 8% protein/no restriction phase); and Undernourished Restricted (from mothers fed 8% protein/restriction phase). Each cycle consisted of a restriction phase (in the first four days 40% of the mean daily individual chow intake was offered for consumption), followed by a refeeding phase (4 days of chow ad libitum). After the three cycles, all animals were subjected to a feeding test (chow diet and palatable food ad libitum for 24 h). During the feeding test, the Under-nourished Restricted demonstrated rebound hyperphagia during 2, 4 and 6 h. These results suggest the perinatal undernourishment cannot contribute to a binge eating phenotype. Keywords: Binge eating disorder; Caloric restriction; Hyperphagia; Perinatal undernutrition.

6.2 Segundo estudo (Apêndice B)

Title: Effect of perinatal undernutrition followed by caloric restriction on binge eating behavior and related morbidities.

ABSTRACT

This study investigated the effect of the perinatal undernutrition on the development of binge eating behavior and related morbidities after Restriction/Refeeding (R/R) cycles. Pups from Control and Perinatal Undernourished groups were submitted to three R/R cycles each one composed of a food restriction phase (4 days of 40% of the mean daily individual chow intake prior to beginning of R/R cycles) followed by a refeeding phase (4 days of chow *ad libitum*). So, four experimental groups were constituted: Control Naïve (CN) from dams fed 17% protein/not restriction phase, Control Restricted (CR) from dams fed 17% protein/restriction phase, Undernourished Naïve (UN) from dams fed 8% protein/not restriction phase, Undernourished Restricted (UR) from dams fed 8% protein/restriction phase. After the three R/R cycles, all animals were submitted to a feeding test (chow and palatable food for 24h). Then were measured their chow intake and weight gain changes during 1 week, as well as were submitted to an acute food deprivation and then a palatable food was offered for 2h and chow in other 22h. In the feeding test UR rats demonstrated hyperphagia for palatable food compared to UN rats. Then, UR rats increased weight gain changes compared to CN rats, suggesting the development of obesity. Under hunger condition (after acute food deprivation) these rats did not show increase palatable food intake. Undernourishment is not a factor to binge eating behavior, but for the development of hyperphagia and obesity after R/R cycles.

Keywords: Behavioral models; Food deprivation; Hyperphagia; Perinatal undernutrition; Obesity.

6.3 Terceiro estudo (Apêndice C)

Title: Absence of binge eating behavior in adulthood rats under fluoxetine treatment in the breastfeeding period.

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to demonstrate that the administration of selective serotonin reuptake inhibition (SSRI) during breastfeeding period can to promote binge eating by injuries in the feeding behavioral. Method: Female rats that were submitted or not to serotonergic system manipulation in the breastfeeding period, formed the Fluoxetine and Saline groups, respectively. At 52 days old, all the animals of these groups were submitted to three consecutive Restricted/Refeeding cycles (R/R cycles), since each one composed for: caloric restriction phase (four days with 40% of the mean of own chow intake before started the R/R cycles) followed for a refeeding phase (4 days of chow *ad. libitum*). Thus, was formed the groups: Saline Naïve (SN), Saline Restricted (SR), Fluoxetine Naïve (FN) and Fluoxetine Restricted (FR). During the first and second refeeding phases, all the animals had access for palatable food during 2h on both day 1 and day 2. After the three R/R cycles, the groups were submitted to a feeding test in which was offered chow and palatable food for 24h. At adulthood, all the animals were submitted to a similar feeding test to the previous. Results: Manipulation of serotonergic system in the nursing period is not a factor to binge eating behavior, but for the development of obesity after R/R cycles. Conclusion: After R/R cycles, early fluoxetine treatment did not contribute to induce or sustain binge eating in short or long-lasting, respectively.

Keywords: Animal model; Binge eating; Fluoxetine; SSRI.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo vem de forma pioneira e original investigar o impacto de eventos adversos no início da vida, sejam eles decorrentes da desnutrição perinatal ou intervenção farmacológica no aleitamento, para o desenvolvimento dos transtornos alimentares. Para tanto foi utilizado um modelo experimental de compulsão alimentar composto por períodos de restrição alimentar e realimentação (ciclos R/R) visando mimetizar as dietas para perder peso, bastante utilizadas atualmente. Contudo, não foi observado que estas duas intervenções precoces tenham sido, em si, suficientes para desencadear o fenótipo compulsivo após a aplicação do modelo anteriormente citado. No entanto, a restrição alimentar foi um fator importante para que animais desnutridos no período perinatal demonstrassem um comportamento hiperfágico por dieta palatável após ciclos R/R, durante o teste alimentar. Com a utilização subsequente deste modelo, também foi possível observar que após ciclos R/R, os animais desnutridos no período perinatal apresentaram aumento do peso corporal, fato que indica uma susceptibilidade para o desenvolvimento de obesidade. Interessantemente, não houve nenhum efeito da manipulação do sistema serotoninérgico durante o aleitamento sob o desenvolvimento de compulsão alimentar com a utilização do referido modelo. Desta forma, este estudo em modelo animal pode contribuir para o entendimento dos fatores que estão implicados na origem dos transtornos alimentares e como estes podem favorecer o desenvolvimento de comorbidades relacionadas a estes transtornos.

REFERÊNCIAS

- ABILÉS, V.; RODRÍGUEZ-RUIZ, S.; ABILÉS, J.; MELLADO, C.; GARCÍA, A.; PÉREZ DE LA CRUZ, A.; FERNÁNDEZ-SANTAELLA, M. C. Psychological characteristics of morbidly obese candidates for bariatric surgery. **Obes Surg.** 20,161-167. 2010.
- 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.
- AHMED, S. H.; KOOB, G. F. Transition from moderate to excessive drug intake: change in hedonic set point. **Science.** 9;282(5387):298-300. 1998.
- ALBAYRAK, O.; WÖLFLE, S. M.; HEBEBRAND J. Does food addiction exist? A phenomenological discussion based on the psychiatric classification of substance-related disorders and addiction. **Obes Facts.** 5,165-179. 2012.
- ALPERS, G. W.; TUSCHEN-CAFFIER, B. Energy and macronutrient intake in bulimia nervosa. **Eat Behav.** 5(3):241-9. 2004.
- ALSIÖ, J.; OLSZEWSKI, P. K.; NORBÄCK, A. H.; GUNNARSSON, Z. E.; LEVINE, A. S.; PICKERING, C.; SCHIÖTH, H. B. Dopamine D1 receptor gene expression decreases in the nucleus accumbens upon long-term exposure to palatable food and differs depending on diet-induced obesity phenotype in rats. **Neuroscience.** 15;171(3):779-87. 2010.
- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders.** Fifth Edition (DSM-5™), APA, Arlington, VA. 2013.
- 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. Binge eating: neurochemical insights from animal models. **Eat Disord.** 17(1):89-92. 2009.

AVENA, N. M.; CARRILLO, C. A.; NEEDHAM, L.; LEIBOWITZ, S. F.; HOEBEL, B. G. Sugar-dependent rats show enhanced intake of unsweetened ethanol. **Alcohol**. 34, 203-209. 2004.

AVENA, N. M.; HOEBEL, B. G. A diet promoting sugar dependency causes behavioral cross-sensitization to a low dose of amphetamine. **Neuroscience**. 122:17-20. 2003.

AVENA, N. M.; HOEBEL, B. G. Amphetamine-sensitized rats show sugar-induced hyperactivity (crosssensitization) and sugar hyperphagia. **Pharmacol Biochem Behav**. 74:635-639. 2003.

AVENA, N. M.; LONG, K. A.; HOEBEL, B. G. Sugar-dependent rats show enhanced responding for sugar after abstinence: evidence of a sugar deprivation effect. **Physiol Behav**. 84:359-362. 2005.

AVENA, N. M.; RADA, P.; HOEBEL, B. G. Evidence for sugar addiction: behavioral and neurochemical effects of intermittent, excessive sugar intake. **Neurosci Biobehav Rev**. 32:29-39. 2008.

AVENA, N. M.; RADA, P.; HOEBEL, B. G. Sugar and fat bingeing have notable differences in addictive-like behavior. **J Nutr**. 139(3):623-8. 2009.

AVENA, N. M.; RADA, P.; MOISE, N.; HOEBEL, B. G. Sucrose sham feeding on a binge schedule releases accumbens dopamine repeatedly and eliminates the acetylcholine satiety response. **Neuroscience**. 139(3):813-20. 2006.

AZARBAD, L.; CORSICA, J.; HALL, B.; HOOD, M. Psychosocial correlates of binge eating in Hispanic, African American, and Caucasian women presenting for bariatric surgery. **Eating Behaviors**. 11:79-84. 2010.

BAGOT, R. C.; MEANEY, M. J. Epigenetics and the biological basis of gene x environment interactions. **J Am Acad Child Adolesc Psychiatry**. 49:752-71. 2010.

BALODIS, I. M.; GRILO, C. M.; POTENZA, M. N. Neurobiological features of binge eating disorder. **CNS Spectr.** 20(6):557-65. Review. 2015.

BARBARICH, N. C.; KAYE, W. H.; JIMERSON, D. Neurotransmitter and imaging studies in anorexia nervosa: new targets for treatment. **Curr Drug Targets CNS Neurol Disord.** 2(1):61-72. Review. 2003.

BARKER, D. J. The developmental origins of chronic adult disease. **Acta Paediatr Suppl.** 93(446):26-33. Review. 2004.

BARKER, D. J.; OSMOND, C.; GOLDING, J.; KUH, D.; WADSWORTH, M. E. Growth in utero, blood pressure in childhood, and mortality from cardiovascular disease. **British Medical Journal.** 298:564-7. 1989.

BARRETO-MEDEIROS, J. M.; FEITOZA, E. G.; MAGALHAES, K.; CABRAL-FILHO, J. E.; MANHAES-DE-CASTRO, F. M.; DE-CASTRO, C. M.; MANHAES-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.

BARRETO-MEDEIROS, J. M.; CABRAL FILHO, J. E.; DE SOUZA, S. L.; FREITAS SILVA, S. R.; MENDES DA SILVA, C.; DEIRÓ, T. C.; ET AL. Early malnourished rats are not affected by anorexia induced by a selective serotonin reuptake inhibitor in adult life. **Nutr Neurosci.** 5(3):211-4. 2002.

BARROS, K. M. F. T.; MANHÃES-DE-CASTRO, R.; SOUSA, S. L.; MATOS, R. J. B.; DEIRÓ, T. C. B. J.; CABRAL-FILHO, J. E.; ET AL. A regional model (Northeast Brazil) of induced malnutrition delays ontogeny of reflexes and locomotor activity in rats. **Nutrit Neurosci.** 9:99-104. 2006.

BARRY, D.; CLARKE, M.; PETRY, N. M. Obesity and its relationship to addictions: Is overeating a form of addictive behavior? **Am. J. Addict.** 18,439-451. 2009.

BARRY, D. T.; GRILO, C. M.; MASHEB, R. M. Gender differences in patients with binge eating disorder. **Int J Eat Disorders.** 31,63-70. 2002.

BELLINGER, L.; LANGLEY-EVANS, S. C. Fetal programming of appetite by exposure to a maternal low-protein diet in the rat. **Clin Sci (Lond)**. 109(4):413-20. 2005.

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(3):513-20. 2004.

BELLINGER, L.; SCULLEY, D. V.; LANGLEY-EVANS, S. C. Exposure to undernutrition in fetal life determines fat distribution, locomotor activity and food intake in ageing rats. **Int J Obes (Lond)**. 30(5):729-38. 2006.

BELLO, N. T; GUARDA, A. S.; TERRILLION, C. E.; REDGRAVE, G. W.; COUGHLIN, J. W.; MORAN, T. H. Repeated binge access to a palatable food alters feeding behavior, hormone profile, and hindbrain c-Fos responses to a test meal in adult male rats. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol**. 297. R622-R631. 2009.

BELLO, N. T.; HAJNAL, A. Dopamine and binge eating behaviors. **Pharmacol Biochem Behav**. 97(1):25-33. 2010.

BELLO, N. T.; SWEIGART, K. L.; LAKOSKI, J. M.; NORNGREN, R.; HAJNAL, A. Restricted feeding with scheduled sucrose access results in an upregulation of the rat dopamine transporter. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**. 284:R1260-R1268. 2003.

BERNER, L. A.; AVENA, N. M.; HOEBEL, B. G. Bingeing, self-restriction, and increased body weight in rats with limited access to a sweet-fat diet. **Obesity (Silver Spring)**. 16(9):1998-2002. 2008.

BLOOMFIELD, F. H.; OLIVER, M. H.; GIANNOULIAS, C. D.; GLUCKMAN, P. D.; HARDING, J. E.; CHALLIS, J. R. Brief undernutrition in late-gestation sheep programs the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in adult offspring. **Endocrinology**. 144(7):2933-40. 2003.

BLUNDELL, J. E. Serotonin and the biology of feeding. **Am J Clin Nutr**. 55(1 Suppl):155S-159S. Review. 1992.

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. **Behav Neurosci**. 119:1207-1214. 2005.

BOGGIANO, M. M.; ARTIGA, A. I.; PRITCHETT, C. E.; CHANDLER-LANEY, P. C.; SMITH, M. L.; ELDRIDGE, A. J. High intake of palatable food predicts binge-eating independent of susceptibility to obesity: an animal model of lean vs obese binge-eating and obesity with and without binge-eating. **Int J of Obesity**. 31(9), 1357-1367. 2007.

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

BORBA, J. M.; ARAÚJO, M. S.; PICANÇO-DINIZ, C. W.; MANHÃES-DE-CASTRO, R.; GUEDES, R. C. Permanent and transitory morphometric changes of NADPH-diaphorase-containing neurons in the rat visual cortex after early malnutrition. **Brain Res Bull**. 15 53(2):193-201. 2000.

BOUCHARD-MERCIER, A.; GODIN, G.; LAMARCHE, B.; PÉRUSSE, L.; VOHL, M. C. Effects of peroxisome proliferator-activated receptors, dietary fat intakes and gene-diet interactions on peak particle diameters of low-density lipoproteins. **J Nutrigenet Nutrigenomics**. 4(1):36-48. 2011.

BREISCH, S. T.; ZEMLAN, F. P.; HOEBEL, B. G. Hyperphagia and obesity following serotonin depletion by intraventricular p-chlorophenylalanine. **Science**. 23 192(4237):382-5. 1976.

BREWERTON, T. D.; LYDIARD, R. B.; HERZOG, D. B.; BROTMAN, A. W.; O'NEILL, P. M.; BALLENGER, J. C. Comorbidity of axis I psychiatric disorders in bulimia nervosa. **Journal of Clinical Psychiatry**. 56,77-80. 1995.

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. **Int J Eat Disord**. 40(4):337-48. Review. 2007.

BULIK, C. M.; KLUMP, K. L.; THORNTON, L.; KAPLAN, A. S.; DEVLIN, B.; FICHTER, M. M.; ET AL. Alcohol use disorder comorbidity in eating disorders: a multicenter study. **J Clin Psychiatry**. 65(7):1000-6. 2004.

BULIK, C. M.; SULLIVAN, P. F.; KENDLER, K. S. Medical and psychiatric morbidity in obese women with and without binge eating. **Int J Eat Disord**. 32,72-78. 2002.

BURGER, G. C. E.; SANDSTEAD, H. R.; DRUMMOND, J.C.; EDS. **Malnutrition and Starvation in Western Netherlands, September 1944 to July 1945**. Part I and II. The Hague: General State Printing Office. p.87. 1948.

BURMEISTER, J. M.; HINMAN, N.; KOBALL, A.; HOFFMANN, D. A.; CARELS, R. A. Food addiction in adults seeking weight loss treatment. Implications for psychosocial health and weight loss. **Appetite**. 60:103-110. 2013.

CAMPBELL, M.; BENTON, J. M.; WERK, L. N. Parent perceptions to promote a healthier lifestyle for their obese child. **Soc Work Health Care**. 50(10):787-800. 2011.

CARROLL, M. E. The role of food deprivation in the maintenance and reinstatement of cocaine seeking behavior in rats. **Drug Alcohol Depend**. 16:95-109. 1985.

CASPER, R. C.; ECKERT, E. D.; HALMI, K. A.; GOLDBERG, S. C.; DAVIS, J. M. Bulimia: its incidence and clinical importance in patients with anorexia nervosa. **Archives of General Psychiatry**. 37, 1030-1035. 1980.

CASPER, R. C.; SULLIVAN, E. L.; TECOTT, L. Relevance of animal models to human eating disorders and obesity. **Psychopharmacology (Berl)**. 199(3):313-29. 2008.

CASSIN, S. E.; VON RANSON, K. M. Is binge eating experienced as an addiction? **Appetite**. 49,687-690. 2007.

CHANDLER-LANEY, P. C.; CASTANEDA, E.; PRITCHETT, C. E.; SMITH, M. L.; GIDDINGS, M.; ARTIGA, A. I.; BOGGIANO, M. M. A history of caloric restriction induces

neurochemical and behavioral changes in rats consistent with models of depression. **Pharmacol. Biochem. Behav.** 87,104-114. 2007.

CHANDLER-LANEY, P. C.; CASTANEDA, 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.

CHEN, H.; JACKSON, T. Prevalence and sociodemographic correlates of eating disorder endorsements among adolescents and young adults from China. **Eur Eat Disord Rev.** 16(5):375-85. 2008.

CHIK, C. L.; HO, A. K.; BROWN, G. M. Effect of food restriction on the circadian rhythms of circulating tryptophan and serotonin in rats. **J Neural Transm.** 66(3-4):261-9. 1986.

CIFANI, C.; POLIDORI, C.; MELOTTO, S.; CICCOCIOPPO, R.; MASSI, M. A preclinical model of binge eating elicited by yo-yo dieting and stressful exposure to food: effect of sibutramine, fluoxetine, topiramate, and midazolam. **Psychopharmacology (Berl).** 204(1),113-125. 2009.

COCORES, J. A.; GOLD, M. S. The Salted Food Addiction Hypothesis may explain overeating and the obesity epidemic. **Med Hypotheses.** 73(6):892-9. 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.

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

CONSOLI, D.; CONTARINO, A.; TABARIN, A.; DRAGO, F. Binge-like eating in mice. **Int J Eat Disord.** 42(5):402-8. 2009.

CONNORS, M. E.; JOHNSON, C. L. Epidemiology of bulimia and bulimic behaviors. **Addict Behav.** 12(2):165-79. 1987.

CORWIN, R. L. Bingeing rats: a model of intermittent excessive behavior? **Appetite.** 46:11-15. 2006.

CORWIN, R. L. The face of uncertainty eats. **Curr Drug Abuse Rev.** 4:174-181. 2011.

CORWIN, R. L.; BABBS, R. K. Rodent models of binge eating: are they models of addiction? **ILAR J.** 53(1):23-34. 2012.

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

CORWIN, R. L.; WOJNICKI, F. H. Baclofen, raclopride, and naltrexone differentially affect intake of fat and sucrose under limited access conditions. **Behav Pharmacol.** 20(5-6):537-48. 2009.

CORWIN, R. L.; WOJNICKI, F. H.; FISHER, J. O.; DIMITRIOU, S. G.; RICE, H. B.; YOUNG, M. A. 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. Consummatory, anxiety-related and metabolic adaptations in female rats with alternating access to preferred food. **Psychoneuroendocrinology.** 34, 38-49. 2009.

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. 2008.

COTTONE, P.; WANG, X.; PARK, J. W.; VALENZA, M.; BLASIO, A.; KWAK, J.; ET AL. Antagonism of sigma-1 receptors blocks compulsive-like eating. **Neuropsychopharmacology.** 2012.

COUPÉ, B.; AMARGER, V.; GRIT, I.; BENANI, A.; PARNET, P. Nutritional programming affects hypothalamic organization and early response to leptin. **Endocrinology**. 151(2):702-13. 2010.

COWEN, P. J.; CLIFFORD, E. M.; WALSH, A. E.; WILLIAMS, C.; FAIRBURN, C. G. Moderate dieting causes 5-HT_{2C} receptor supersensitivity. **Psychol Med**. 26:1155-1159. 1996.

COWEN, P. J.; SMITH, K. A. Serotonin, dieting, and bulimia nervosa. **Advances in Experimental Medicine and Biology**. 467,101-104. 1999.

CROW, S. J.; STEW, A. R. T.; AGRAS, W.; HALMI, K.; MITCHELL, J. E.; KRAEMER, H. C. Full syndromal versus subthreshold anorexia nervosa, bulimia nervosa, and binge eating disorder: a multicenter study. **Int J Eat Disord**. 32(3):309-18. 2002.

DANESE, A.; PARIANTE, C. M.; CASPI, A.; TAYLOR, A.; POULTON, R. Childhood maltreatment predicts adult inflammation in a life-course study. **Proc Natl Acad Sci U S A**. 23;104(4):1319-24. 2007.

DA SILVA ARAGÃO, R.; GUZMÁN-QUEVEDO, O.; PÉREZ-GARCÍA, G.; MANHÃES-DE-CASTRO, R.; BOLAÑOS-JIMÉNEZ, F. Maternal protein restriction impairs the transcriptional metabolic flexibility of skeletal muscle in adult rat offspring. **Br J Nutr**. 14;112(3):328-37. 2014.

DAVIS, C. Compulsive overeating as an addictive behavior: Overlap between food addiction and binge eating disorder. **Curr. Obes. Rep**. 2,171-178. 2013.

DAVIS, C.; CARTER, J. C. Compulsive overeating as an addiction disorder. A review of theory and evidence. **Appetite**. 53(1):1-8. Review. 2009.

DAVIS, C.; LOXTON, N. J.; LEVITAN, R. D.; KAPLAN, A. S.; CARTER, J. C.; KENNEDY, J. L. "Food addiction" and its association with a dopaminergic multilocus genetic profile. **Physiol. Behav**. 118,63-69. 2013.

DAVIS, J. F.; MELHORN, S. J.; SHURDAK, J. D.; HEIMAN, J. U.; TSCHÖP, M. H.; CLEGG, D. J.; BENOIT, S. C. Comparison of hydrogenated vegetable shortening and nutritionally complete high-fat diet on limited access-binge behavior in rats. **Physiol Behav.** 92(5):924-930. 2007.

DEIRÓ, T. C.; CARVALHO, J.; NASCIMENTO, E.; MEDEIROS, J. M.; CAJUHI, F.; FERRAZ-PEREIRA, K. N.; MANHÃES-DE-CASTRO, R. Neonatal exposure to citalopram, a serotonin selective reuptake inhibitor, programs a delay in the reflex ontogeny in rats. **Arq Neuropsiquiatr.** 66(3B):736-40. 2008.

DEIRÓ, T. C.; MANHÃES-DE-CASTRO, R.; CABRAL-FILHO, J. E.; BARRETO-MEDEIROS, J. M.; SOUZA, S. L.; MARINHO, S. M.; ET AL. Sertraline delays the somatic growth and reflex ontogeny in neonate rats. **Physiol Behav.** 28;87(2):338-44. 2006.

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

DE NADAL, E.; AMMERER, G.; POSAS, F. Controlling gene expression in response to stress. **Nat Rev Genet.** 3;12(12):833-45. Review. 2011.

DE SOUZA, S. L.; NOGUEIRA, M. I.; DE JESUS DEIRÓ, T. C.; DE CASTRO, F. M.; DA SILVA, C. M.; DA SILVA, M. C.; ET AL. Differential effects on somatic and reflex development by chronic clomipramine treatment. **Physiol Behav.** 15;82(2-3):375-9. 2004.

DE SOUZA FERREIRA, J. E.; DA VEIGA, G. V. Eating disorder risk behavior in Brazilian adolescents from low socio-economic level. **Appetite.** 51:249-55. 2008.

DE VRIES, T. J.; SHIPPENBERG, T. S. Neural systems underlying opiate addiction. **J Neurosci.** 22:3321-5. 2002.

DE VRY, J.; SCHREIBER, R. Effects of selected serotonin 5-HT(1) and 5-HT(2) receptor agonists on feeding behavior: Possible mechanisms of action. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews.** 24(3),341-353. 2000.

DIMITRIOU, S. G.; 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.

DOBBING, J. The effect of undernutrition on myelination in the central nervous system. **Biol Neonat.** 9(1):132-47. 1965.

DOLINOY, D. C.; WEIDMAN, J. R.; WATERLAND, R. A.; JIRTLE, R. L. Maternal genistein alters coat color and protects Avy mouse offspring from obesity by modifying the fetal epigenome. **Environ Health Perspect.** 114:567-72. 2006.

DREWNOWSKI, A.; KRAHN, D. D.; DEMITRACK, M. A.; NAIRN, K.; GOSNELL, B. A. Naloxone, an opiate blocker, reduces the consumption of sweet high-fat foods in obese and lean female binge eaters. **Am J Clin Nutr.** 61(6):1206-12. 1995.

DULLOO, A. G.; JACQUET, J. Adaptive reduction in basal metabolic rate in response to food deprivation in humans: a role for feedback signals from fat stores. **Am J Clin Nutr.** 68(3):599-606. 1998.

DULLOO, A. G.; GIRARDIER, L. Adaptive role of energy expenditure in modulating body fat and protein deposition during catch-up growth after early undernutrition. **Am J Clin Nutr.** 58(5):614-21. 1993.

DULLOO, A. G.; JACQUET, J.; GIRARDIER, L. Autoregulation of body composition during weight recovery in human: the Minnesota Experiment revisited. **Int J Obes Relat Metab Disord.** 20(5):393-405. 1996.

ECKEL, L. A. The ovarian hormone estradiol plays a crucial role in the control of food intake in females. **Physiol. Behav.** 104(4),517-24. 2011.

EICHEN, D. M.; LENT, M. R.; GOLDBACHER, E.; FOSTER, G. D. Exploration of “food addiction” in overweight and obese treatment-seeking adults. **Appetite.** 67,22-24. 2013.

EVANS, K. L.; GREENWOOD, J. J.; GASTON, K. J. Relative contribution of abundant and rare species to species-energy relationships. **Biol Lett.** 22;1(1):87-90. 2005.

EVERITT, B. J.; WOLF, M. E. Psychomotor stimulant addiction: a neural systems perspective. **J Neurosci.** 22:3312-20. 2002.

FAIRBURN, C. G.; COOPER, Z.; COPPER, P. J. **The clinical features and maintenance of bulimia nervosa.** In: BROWNELL, K. D.; FOREYT, J. P.; EDS. Handbook of Eating Disorders: Physiology, Psychology and Treatment of Obesity, Anorexia and Bulimia. New York: Basic Books. pp. 389-404. 1986.

FAVARO, A.; TENCONI, E.; COLOMBO, G.; SANTONASTASO, P. Full and partial post-traumatic stress disorder among World War II prisoners of war. **Psychopathology.** 39(4):187-91. 2006.

FERNANDEZ-TWINN, D. S.; OZANNE, S. E. Early life nutrition and metabolic programming. **Ann N Y Acad Sci.** 1212:78-96. Review. 2010.

FERRO CAVALCANTE, T. C.; LIMA DA SILVA, J. M.; DA MARCELINO DA SILVA, A. A.; MUNIZ, G. S.; DA LUZ NETO, L. M.; LOPES DE SOUZA, S.; ET AL. Effects of a westernized diet on the reflexes and physical maturation of male rat offspring during the perinatal period. **Lipids.** 48(11):1157-68. 2013.

FOLEY, D. L.; CRAIG, J. M.; MORLEY, R.; OLSSON, C. A.; DWYER, T.; SMITH, K.; SAFFERY, R. Prospects for epigenetic epidemiology. **Am J Epidemiol.** 169:389-400. 2009.

FRANKLIN, G. H.; FELDMAN, S.; ODBERT, H. S. Relationship of total bodily movements to some emotional components of personality. **J Psychol.** 26:499-506. 1948.

FRANZEK, E. J.; SPRANGERS, N.; JANSSENS, A. C.; VAN DUIJN, C. M.; VAN DE WETERING, B. J. Prenatal exposure to the 1944-45 Dutch 'hunger winter' and addiction later in life. **Addiction.** 103(3):433-8. 2008.

FREEMAN, L. M.; GIL, K. M. Daily stress, coping, and dietary restraint in binge-eating. **Int. J. Eat. Disord.** 36, 204-212. 2004.

GEARHARDT, A. N.; BROWNELL, K. D. Can food and addiction change the game? **Biol Psychiatry**. 1;73(9):802-3. 2013.

GEARHARDT, A. N.; CORBIN, W. R.; BROWNELL, K. D. Preliminary validation of the Yale Food Addiction Scale. **Appetite**. 52:430-436. 2009.

GEARHARDT, A. N.; WHITE, M. A.; MASHEB, R. M.; MORGAN, P. T.; CROSBY, R. D.; GRILO, C. M. An examination of the food addiction construct in obese patients with binge eating disorder. **Int. J. Eat. Disord**. 45,657-663. 2012.

GLOVER, V.; O'CONNOR, T. G.; O'DONNELL, K. Prenatal stress and the programming of the HPA axis. **Neurosci Biobehav Rev**. 35(1):17-22. Review. 2010.

GLUCK, M. E.; GELIEBTER, A.; HUNG, J.; YAHAV, E. Cortisol, hunger, and desire to binge eat following a cold stress test in obese women with binge eating disorder. **Psychosom.Med**. 66(6)876-81. 2004.

GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A. Living with the past: evolution, development, and patterns of disease. **Science**. 305:1733-1736. 2004.

GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A. Developmental plasticity and human disease: research directions. **J Intern Med**. 261(5):461-71. Review. 2007.

GLUCKMAN, P. D.; HANSON, M. A.; BEEDLE, A. S. Early life events and their consequences for later disease: a life history and evolutionary perspective. **Am. J. Hum. Biol**. 19:1-9. 2007.

GLUCKMAN, P. D.; ET AL. The fetal, neonatal, and infant environments-the long-term consequences for disease risk. **Early human development**. v.81, n.1, p.51-59. 2005.

GOLD, M. S.; AVENA, N. M. Animal models lead the way to further understanding food addiction as well as providing evidence that drugs used successfully in addictions can be successful in treating overeating. **Biol Psychiatry**. 1;74(7):e11. 2013.

GOLDSCHMIDT, A. B.; WALL, M. M.; LOTH, K. A.; BUCCHIANERI, M. M.; NEUMARK-SZTAINER, D. The course of binge eating from adolescence to young adulthood. **Health Psychol.** 33(5):457-60. 2014.

GUERTIN, T. L. Eating behavior of bulimics, self-identified binge eaters, and non-eating-disordered individuals: what differentiates these populations? **Clin Psychol Rev.** 19(1):1-23. Review. 1999.

GUTHRIE, K. A.; SHEPPARD, L.; WAKEFIELD, J. A hierarchical aggregate data model with spatially correlated disease rates. **Biometrics.** 58(4):898-905. 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.** 34:183-97. 2003.

HAGAN, M. M.; MOSS, D. E. An animal model of bulimia nervosa: opioid sensitivity to fasting episodes. **Pharmacol, Biochem Behav.** 39: 421-2. 1991.

HAGAN, M. M.; MOSS, D. E. Effect of naloxone and antidepressants on hyperphagia produced by peptide YY. **Pharmacology Biochemistry and Behavior.** 45, 941-944. 1993.

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. **Physiology & Behavior.** 77(1),45-54. 2002.

HAINES, J.; GILLMAN, M. W.; RIFAS-SHIMAN, S.; FIELD, A. E.; AUSTIN, S. B. Family dinner and disordered eating behaviors in a large cohort of adolescents. **Eat Disord.** 18(1):10-24. 2010.

HALEEM, D. J.; HAIDER, S. Food restriction decreases serotonin and its synthesis rate in the hypothalamus. **Neuroreport**. 26;7(6):1153-6. 1996.

HALES, C. N.; BARKER, D. J. P. Type 2 (non-insulindependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. **Diabetologia**. 35,595-601. 1992.

HALES, C. N.; BARKER, D. J. P. **The thrifty phenotype hypothesis**. In Type 2 Diabetes: The Thrifty Phenotype, Ed. BARKER, D. J. P. British Medical Bulletin. vol. 60, pp. 5-21. Oxford University Press, Oxford. 2001.

HALES, C. N.; BARKER, D. J.; CLARK, P. M.; COX, L. J.; FALL, C.; OSMOND, C.; WINTER, P. D. **Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64**. BMJ, v.303, n.6809, p.1019-1022. 26. 1991.

HALFORD, J. C.; BLUNDELL, J. E. The 5-HT_{1B} receptor agonist CP-94,253 reduces food intake and preserves the behavioural satiety sequence. **Physiol Behav**. 60(3):933-9. 1996.

HANCOCK, S. D.; MENARD, J. L.; OLMSTEAD, M. C. Variations in maternal care influence vulnerability to stress-induced binge eating in female rats. **Physiol Behav**. 85:430-439. 2005.

HARRINGTON, E. F.; CROWTHER, J. H.; HENRICKSON, H. C.; MICKELSON, K. D. The relationships among trauma, stress, ethnicity, and binge eating. **Cultur Divers Ethnic Minor Psychol**. 12(2):212-29. 2006.

HEIM, C.; NEMEROFF, C. B. Neurobiology of early life stress: clinical studies. **Semin Clin Neuropsychiatry**. 7(2):147-59. Review. 2002.

HERMAN, C. P.; OLMSTED, M. P.; POLIVY, J. Obesity, externality, and susceptibility to social influence: an integrated analysis. **J Pers Soc Psychol**. 45(4):926-34. 1983.

HERPERTZ-DAHLMANN, B. Adolescent eating disorders: update on definitions, symptomatology, epidemiology, and comorbidity. **Child Adolesc Psychiatr Clin N Am**. 24(1):177-96. 2015.

HOEBEL, B. G. Pharmacologic control of feeding. **Annu Rev Pharmacol Toxicol.** 17:605-21. Review. 1977.

HOEBEL, B. G.; AVENA, N. M.; BOCARSLY, M. E.; RADA, P. Natural addiction. **J Addict Med.** 3:33-41. 2009.

HOEBEL, B. G.; HERNANDEZ, L.; SCHWARTZ, D. H.; MARK, G. P.; HUNTER, G. A. Microdialysis studies of brain norepinephrine, serotonin, and dopamine release during ingestive behavior. Theoretical and clinical implications. **Ann N Y Acad. Sci.** 575:171-91; discussion 192-3. Review. 1989.

HOEBEL, B.; RADA, P. V.; MARK, G. P.; POTHOS, E. **Neural systems for reinforcement and inhibition of behavior: relevance to eating, addiction and depression.** In: KAHNEMAN, D.; DIENER, E.; SCHWARTZ, N.; EDS. *Well-being: foundations of hedonic psychology.* New York 7 Russell Sage Foundation. p. 560-74. 1999.

HUDSON, J. I.; HIRIPI, E.; POPE, J. R. H. G.; KESSLER, R. C. The prevalence and correlates of eating disorders in the National Comorbidity Survey Replication. **Biol Psychiatry.** 61:348-58. 2007.

HUETHER, G.; ZHOU, D.; SCHMIDT, S.; WILTFANG, J.; RÜTHER, E. Long-term food restriction down-regulates the density of serotonin transporters in the rat frontal cortex. **Biol Psychiatry.** 15;41(12):1174-80. 1997.

HULT, M.; TORNHAMMAR, P.; UEDA, P.; CHIMA, C.; BONAMY, A. K.; OZUMBA, B.; NORMAN, M. Hypertension, diabetes and overweight: looming legacies of the Biafran Famine. **PLOS One.** 5(10):13582. 2010.

HSU, L. K.; MULLIKEN, B.; MCDONAGH, B.; KRUPA DAS, S.; RAND, W.; FAIRBURN, C. G.; ET AL. Binge eating disorder in extreme obesity. **Int J of Obesity and Related Metabolic Disorders.** 26, 1398-1403. 2002.

HYMAN, S. E.; MALENKA, R. C.; NESTLER, E. J. Neural mechanisms of addiction: the role of reward-related learning and memory. **Annu Rev Neurosci.** 29:565-98. Review. 2006.

JABS, J.; DEVINE, C. M. Time scarcity and food choices: an overview. **Appetite**. 47(2):196-204. Review. 2006.

JACOBS, B. L.; FORNAL, C. A. Activity of serotonergic neurons in behaving animals. **Neuropsychopharmacology**. 21(2 Suppl):9S-15S. Review. 1999.

JANG, H.; SERRA, C. Nutrition, epigenetics, and diseases. **Clin Nutr Res**. 3(1):1-8. Review. 2014.

JIMERSON, D. C.; LESEM, M. D.; KAYE, W. H.; BREWERTON, T. D. Low serotonin and dopamine metabolite concentrations in cerebrospinal fluid from bulimic patients with frequent binge episodes. **Arch Gen Psychiatry**. 49(2):132-8. 1992.

JOHNSON, P. M.; KENNY, P. J. Dopamine D2 receptors in addiction-like reward dysfunction and compulsive eating in obese rats. **Nat Neurosci**. 13(5):635-41. 2010.

JOHNSON, J. G.; SPITZER, R. L.; WILLIAMS, J. B.; KROENKE, K.; LINZER, M.; BRODY, D.; ET AL. Psychiatric comorbidity, health status, and functional impairment associated with alcohol abuse and dependence in primary care patients: findings of the PRIME MD-1000 study. **J Consult Clin Psychol**. 63(1):133-40. 1995.

KALES, E. F. Macronutrient analysis of binge eating in bulimia. **Physiol Behav**. 48:837-840. 1990.

KALIVAS, P. W.; VOLKOW, N. D. The neural basis of addiction: a pathology of motivation and choice. **Am J Psychiatry**. 162(8):1403-13. Review. 2005.

KALRA, S. P.; DUBE, M. G.; PU, S.; XU, B.; HORVATH, T. L.; KALRA, P. S. Interacting appetite-regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight. **Endocr Rev**. 20(1):68-100. Review. 1999.

KAS, M. J.; ADAN, R. A. Animal models of eating disorder traits. **Curr Top Behav Neurosci**. 6:209-27. Review. 2011.

KAYE, W. Neurobiology of anorexia and bulimia nervosa. **Physiol. Behav.** 94,121-35. 2008.

KAYE, W. H.; BERRETTINI, W.; GWIRTSMAN, H.; GEORGE, D. T. Altered cerebrospinal fluid neuropeptide Y and peptide YY immunoreactivity in anorexia and bulimia nervosa. **Arch Gen Psychiatry.** 47:548-56. 1990.

KAYE, W. H.; FUDGE, J. L.; PAULUS, M. New insights into symptoms and neurocircuit function of anorexia nervosa. **Nat Rev Neurosci.** 10(8):573-84. Review. 2009.

KAYE, W.; GENDALL, K.; STROBER, M. Serotonin neuronal function and selective serotonin reuptake inhibitor treatment in anorexia and bulimia nervosa. **Biological Psychiatry.** 44(9),825-838. 1998.

KAYE, W. H.; NAGATA, T.; WELTZIN, T. E.; HSU, L. K.; SOKOL, M. S.; MCCONAHA, C.; ET AL. Double-blind placebo-controlled administration of fluoxetine in restricting-and restricting-purging-type anorexia nervosa. **Biol Psychiatry.** 49(7):644-52. 2001.

KEYS, A.; BROZEK, J.; HENSCHER, A.; MICKELSON, O.; TAYLOR, H. L. **The biology of human starvation.** (2 vols). Minneapolis, MN: University of Minnesota Press. 1950.

KINZIG, K. P.; HARGRAVE, S. L.; HONORS, M. A. Binge-type eating attenuates corticosterone and hypophagic responses to restraint stress. **Physiol Behav.** 3;95(1-2):108-13. 2008.

KLUMP, K. L.; KEEL, P. K.; CULBERT, K. M.; EDLER, C. Ovarian hormones and binge eating: exploring associations in community samples. **Psychol. Med.** 38(12), 1749-57. 2008.

KOHSAKA, S.; TAKAMATSU, K.; TSUKADA, Y. Effect of food restriction on serotonin metabolism in rat brain. **Neurochem Res.** 5(1):69-79. 1980.

KOMATSU, S. Rice and sushi cravings: A preliminary study of food craving among Japanese females. **Appetite.** 50,353-358. 2008.

KOOB, G. F.; LE MOAL, M. Plasticity of reward neurocircuitry and the 'dark side' of drug addiction. **Nat Neurosci.** 8(11):1442-4. 2005.

KUIKKA, J. T.; TAMMELA, L.; KARHUNEN, L.; RISSANEN, A.; BERGSTRÖM, K. A.; NAUKKARINEN, H.; VANNINEN, E.; KARHU, J.; LAPPALAINEN, R.; REPO-TIIHONEN, E.; TIIHONEN, J.; UUSITUPA, M. Reduced serotonin transporter binding in binge eating women. **Psychopharmacology (Berl)**. 155(3):310-4. 2001.

LEIBOWITZ, S. F.; ALEXANDER, J. T. Hypothalamic serotonin in control of eating behavior, meal size, and body weight. **Biol Psychiatry**. 44:851-864. 1998.

LEHMANN, J.; PRYCE, C. R.; BETTSCHEN, D.; FELDON, J. The maternal separation paradigm and adult emotionality and cognition in male and female Wistar rats. **Pharmacol Biochem Behav.** 64(4):705-15. 1999.

LENT, M. R.; EICHEN, D. M.; GOLDBACHER, E.; WADDEN, T. A.; FOSTER, G. D. Relationship of food addiction to weight loss and attrition during obesity treatment. **Obesity**. 22,52-55. 2014.

LÉONHARDT, M.; LESAGE, J.; CROIX, D.; DUTRIEZ-CASTELOOT, I.; BEAUVILLAIN, J. C.; DUPOUY, J. P. Effects of perinatal maternal food restriction on pituitary-gonadal axis and plasma leptin level in rat pup at birth and weaning and on timing of puberty. **Biol Reprod.** 68(2):390-400. 2003.

LESTER, N. A.; KEEL, P. K.; LIPSON, S. F. Symptom fluctuation in bulimia nervosa: relation to menstrual-cycle phase and cortisol levels. **Psychol Med.** 33:51-60. 2003.

LEVINE, A. S.; BILLINGTON, C. J. Opioids as agents of reward related feeding: A consideration of the evidence. **Physiology & Behavior**. 82,57-61. 2004.

LEVITAN, R. D.; KAPLAN, A. S.; JOFFE, R. T.; LEVITT, A. J.; BROWN, G. M. Hormonal and subjective responses to intravenous meta-chlorophenylpiperazine in bulimia nervosa. **Arch Gen Psychiatry**. 54(6):521-7. 1997.

LILLYCROP, K. A.; BURDGE, G. C. The effect of nutrition during early life on the epigenetic regulation of transcription and implications for human diseases. **J Nutrigenet Nutrigenomics**. 4(5):248-60. Review. 2011.

LOPES DE SOUZA, S.; OROZCO-SOLIS, R.; GRIT, I.; MANHÃES DE CASTRO, R.; BOLAÑOS-JIMÉNEZ, F. Perinatal protein restriction reduces the inhibitory action of serotonin on food intake. **Eur J Neurosci**. 27(6):1400-8. 2008.

LOWE, M. R.; BUTRYN, M. L.; DIDIE, E. R.; ANNUNZIATO, R. A.; THOMAS, J. G.; CRERAND, C. E.; OCHNER, C. N.; COLETTA, M. C.; BELLACE, D.; WALLAERT, M.; HALFORD, J. The Power of Food Scale. A new measure of the psychological influence of the food environment. **Appetite**. 53(1):114-8. 2009.

LUCAS, A. **Programming by early nutrition in man**. Ciba Foundation symposium, v.156, p.38-50; discussion. 50-35, 1991.

MANHÃES DE CASTRO, R.; BARRETO MEDEIROS, J. M.; MENDES DA SILVA, C.; FERREIRA, L. M.; GUEDES, R. C.; CABRAL FILHO, J. E.; COSTA, J. A. Reduction of intraspecific aggression in adult rats by neonatal treatment with a selective serotonin reuptake inhibitor. **Braz J Med Biol Res**. 34(1):121-4. 2001.

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

MARCUS, M. D.; WING, R. R.; LAMPARSKI, D. M. Binge eating and dietary restraint in obese patients. **Addict Behav**. 10(2):163-8. 1985.

MARCUS, M. D.; WING, R. R.; HOPKINS, J. Obese binge eaters: Affect, cognitions, and response to behavioural weight control. **J Consulting and Clinical Psychology**. 56,433-439. 1988.

MARTÍNEZ J. A.; CORDERO, P.; CAMPIÓN, J.; MILAGRO, F. I. Interplay of early-life nutritional programming on obesity, inflammation and epigenetic outcomes. **Proc Nutr Soc.** 71(2):276-83. 2012.

MEULE, A.; GEARHARDT, A. N. Five years of the Yale Food Addiction Scale: Taking stock and moving forward. **Curr. Addict. Rep.** 1,193-205. 2014.

MEULE, A.; KÜBLER, A. Food cravings in food addiction: The distinct role of positive reinforcement. **Eat. Behav.** 13,252-55. 2012.

MEULE, A.; HECKEL, D.; KÜBLER, A. Factor structure and item analysis of the Yale Food Addiction Scale in obese candidates for bariatric surgery. **Eur. Eat. Disord. Rev.** 20,419-422. 2012.

MICALI, N.; SIMONOFF, E.; TREASURE, J. Risk of major adverse perinatal outcomes in women with eating disorders. **Br J Psychiatry.** 190:255-9. 2007.

MICIONI DI BONAVENTURA, M. V.; CICCOCIOPPPO, R.; ROMANO, A.; BOSSERT, J. M.; RICE, K. C.; UBALDI, M.; ET AL. Role of bed nucleus of the stria terminalis corticotrophin-releasing factor receptors in frustration stress-induced binge-like palatable food consumption in female rats with a history of food restriction. **J Neurosci.** 20;34(34):11316-24. 2014.

MONTELEONE, P.; BRAMBILLA, F.; BORTOLOTTI, F.; FERRARO, C.; MAJ, M. Plasma prolactin response to D-fenfluramine is blunted in bulimic patients with frequent binge episodes. **Psychol Med.** 28(4):975-83. 1998.

MONTELEONE, P.; BRAMBILLA, F.; BORTOLOTTI, F.; MAJ, M. Serotonergic dysfunction across the eating disorders: Relationship to eating behaviour, purging behaviour, nutritional status and general psychopathology. **Psychological Medicine.** 30(5),1099-1110. 2000.

MOORE, C. J.; CUNNINGHAM, S. A. Social position, psychological stress, and obesity: a systematic review. **J. Acad. Nutr. Diet.** 112(4)518-26. 2012.

MORGANE, P. J.; AUSTIN-LAFRANCE, R.; BRONZINO, J.; TONKISS, J.; DÍAZ-CINTRA, S.; CINTRA, L.; KEMPER, T.; GALLER, J. R. Prenatal malnutrition and development of the brain. **Neurosci Biobehav Rev.** Spring 17(1):91-128. Review. 1993.

MORGANE, P. J.; MOKLER, D. J.; GALLER, J. R. Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. **Neurosci Biobehav Rev.** 26(4):471-83. Review. 2002.

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.** 21;443(7109):289-95. Review. 2006.

NASCIMENTO, E.; GUZMAN-QUEVEDO, O.; DELACOURT, N.; DA SILVA ARAGÃO, R.; PEREZ-GARCIA, G.; DE SOUZA, S. L.; ET. AL. Long-lasting effect of perinatal exposure to L-tryptophan on circadian clock of primary cell lines established from male offspring born from mothers fed on dietary protein restriction. **PLoS One.** 8(2):e56231. 2013.

NAQVI, N. H.; BECHARA, A. The hidden island of addiction: The insula. **Trends Neurosci.** 32,56-67. 2009.

NATHAN, P. J.; BULLMORE, E. T. From taste hedonics to motivational drive: central mu-opioid receptors and binge-eating behaviour. **Int J Neuropsychopharmacol.** 1-14. 2009.

NEUMARK-SZTAINER, D.; HANNAN, P. J. Weight-related behaviors among adolescent girls and boys: results from a national survey. **Arch Pediatr Adolesc Med.** 154:569-77. 2000.

OBERLANDER, T. F.; ECKSTEIN GRUNAU, R.; FITZGERALD, C.; ELLWOOD, A. L.; MISRI, S.; RURAK, D.; RIGGS, K. W. Prolonged prenatal psychotropic medication exposure alters neonatal acute pain response. **Pediatr Res.** 51(4):443-53. 2002.

OROZCO-SÓLIS, R.; LOPES DE SOUZA, S.; BARBOSA MATOS, R. J.; GRIT, I.; LE BLOCH, J.; NGUYEN, P.; ET AL. Perinatal undernutrition-induced obesity is independent of the developmental programming of feeding. **Physiology & Behavior.** v.96, n.3, p.481-92. 2009.

OROZCO-SOLÍS, R.; MATOS, R. J.; GUZMÁN-QUEVEDO, O.; LOPES DE SOUZA, S.; BIHOUEE, A.; HOULGATTE, R.; ET AL. Nutritional programming in the rat is linked to long-lasting changes in nutrient sensing and energy homeostasis in the hypothalamus. **PloS One**. v.5, n.10, p.e13537. 2010.

OROZCO-SOLÍS, R.; MATOS, R. J.; LOPES DE SOUZA, S.; GRIT, I.; KAEFFER, B.; MANHÃES DE CASTRO, R.; BOLAÑOS-JIMÉNEZ, F. Perinatal nutrient restriction induces long-lasting alterations in the circadian expression pattern of genes regulating food intake and energy metabolism. **Int J Obes (Lond)**. 35(7):990-1000. 2011.

OSWALD, K. D.; MURDAUGH, D. L.; KING, V. L.; BOGGIANO, M. M. Motivation for palatable food despite consequences in an animal model of binge eating. **Int J Eat Disord**. 44(3):203-11. 2011.

OZANNE, S. E. Metabolic programming in animals. **Br Med Bull**. 60:143-52. Review. 2001.

OZANNE, S. E.; HALES, C. N. Lifespan: catch-up growth and obesity in male mice. **Nature**. 427:411-2. 2004.

PANKEVICH, D. E.; TEEGARDEN, S. L.; HEDIN, A. D.; JENSEN, C. L.; BALE, T. L. Caloric restriction experience reprograms stress and orexigenic pathways and promotes binge eating. **J Neurosci**. 1;30(48):16399-407. 2010.

PAULI-POTT, U.; BECKER, K.; ALBAYRAK, Ö.; HEBEBRAND, J.; POTT, W. Links between psychopathological symptoms and disordered eating behaviors in overweight/obese youths. **Int J Eat Disord**. 46(2):156-63. 2013.

PELCHAT, M. L. Food addiction in humans. **J. Nutr**. 139,620-22. 2009.

PELCHAT, M. L. Of human bondage: food craving, obsession, compulsion, and addiction. **Physiol Behav**. 76:347-52. 2002.

PECORARO, N.; REYES, F.; GOMEZ, F.; BHARGAVA, A.; DALLMAN, M. F. Chronic stress promotes palatable feeding, which reduces signs of stress: feedforward and feedback effects of chronic stress. **Endocrinology**. 145:3754-62. 2004.

PLACIDI, R. J.; CHANDLER, P. C.; OSWALD, K. D.; MALDONADO, C.; WAUFORD, P. K.; BOGGIANO, M. M. Stress and Hunger Alter the Anorectic Efficacy of Fluoxetine in Binge-Eating Rats with a History of Caloric Restriction. **Int J Eat Disord**. 36:328-41. 2004.

PLAGEMANN, A.; HARDER, T.; RAKE, A.; MELCHIOR, K.; ROHDE, W.; DORNER, G. Increased number of galanin-neurons in the paraventricular hypothalamic nucleus of neonatally overfed weanling rats. **Brain Research**. 818,160-63. 1999.

PLAGEMANN, A.; HARDER, T.; RAKE, A.; MELCHIOR, K.; ROHDE, W.; DORNER, G. Hypothalamic nuclei are malformed in weanling offspring of low protein malnourished rat dams. **Journal of Nutrition**. 130,2582-89. 2000.

PLAGEMANN, A.; HARDER, T.; BRUNN, M.; HARDER, A.; ROEPKE, K.; WITTROCK-STAAR, M.; ET AL. Hypothalamic proopiomelanocortin promoter methylation becomes altered by early overfeeding: an epigenetic model of obesity and the metabolic syndrome. **The Journal of physiology**. v.587, n.Pt 20, p.4963-76, 15. 2009.

POLIVY, J. Psychological consequences of food restriction. **J. Am. Diet. Assoc.** 96, 589e592. quiz 593e584. 1996.

POLIVY, J.; HERMAN, C. P. Dieting and bingeing: A causal analysis. **American Psychologist**. 40,193-201. 1985.

POLIVY, J.; ZEITLIN, S. B.; HERMAN, C. P.; BEAL, A. L. Food restriction and binge eating: a study of former prisoners of war. **J Abnorm Psychology**. 103:409-11. 1994.

POZZO MILLER, L. D.; AOKI, A. Postnatal development of the hypothalamic ventromedial nucleus: neurons and synapses. **Cell Mol Neurobiol**. 12(2):121-9. 1992.

PRATT, E. M.; NIEGO, S. H.; AGRAS, W. Does the size of a binge matter? **Int J Eat Disord.** 24:24-307. 1998.

RANDOLPH, T. G. The descriptive features of food addiction: Addictive eating and drinking. **Q. J. Stud. Alcohol.** 17,198-224. 1956.

RAVELLI, G. P.; STEIN, Z. A.; SUSSER, M. W. Obesity in young men after famine exposure in utero and early infancy. **N Engl J Med.** 295:349-53. 1976.

RESNICK, O.; MORGANE, P. J. Generational effects of protein malnutrition in the rat. **Brain Res.** 317(2):219-27. 1984.

ROBINSON, T. E.; BERRIDGE, K. C. The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. **Brain Res Rev.** 18:247-91. 1993.

ROGERS, P. J.; HILL, A. J. Breakdown of dietary restraint following mere exposure to food stimuli: interrelationships between restraint, hunger, salivation, and food intake. **Addict Behav.** 14(4):387-97. 1989.

ROSENBERG, N.; BLOCH, M.; BEN AVI, I.; ROUACH, V.; SCHREIBER, S.; STERN, N.; GREENMAN, Y. Cortisol response and desire to binge following psychological stress: comparison between obese subjects with and without binge eating disorder. **Psychiatry Res.** 208(2):156-161. 2013.

ROSEBOOM, T. J.; PAINTER, R. C.; VAN ABELEN, A. F.; VEENENDAAL, M. V.; DE ROOIJ, S. R. Hungry in the womb: what are the consequences? Lessons from the Dutch famine. **Maturitas.** 70(2):141-5. 2011.

RUTLEDGE, T.; LINDEN, W. To eat or not to eat: affective and physiological mechanisms in the stress-eating relationship. **J Behav Med.** 21(3):221-40. 1998.

SAMUELSSON, A. M.; MATTHEWS, P. A.; ARGENTON, M.; CHRISTIE, M. R.; MCCONNELL, J. M.; JANSEN, E. H.; ET AL. Diet-induced obesity in female mice leads to

offspring hyperphagia, adiposity, hypertension, and insulin resistance: a novel murine model of developmental programming. **Hypertension**. 51(2):383-92. 2008.

SCHULZ, S.; LAESSLE, R. G. Stress-induced laboratory eating behavior in obese women with binge eating disorder. **Appetite**. 58(2)457-61. 2012.

SCHWARTZ, M. W.; WOODS, S. C.; PORTE, J. R. D.; SEELEY, R. J.; BASKIN, D. G. Central nervous system control of food intake. **Nature**. 404(6778):661-71. 2000.

SECKL, J. R. Glucocorticoids, developmental 'programming' and the risk of affective dysfunction. **Prog Brain Res**. 167:17-34. Review.

SERLACHIUS, A.; HAMER, M.; WARDLE, J. Stress and weight change in university students in the United Kingdom. **Physiol. Behav**. 92(4)548-53. 2007.

SIMMONS, D. Diabetes: diabetes risk after gestational diabetes mellitus. **Nat Rev Endocrinol**. 5(12):646-8. 2009.

SISSON, S. B.; BROYLES, S. T.; NEWTON, R. L. J. R.; BAKER, B. L.; CHERNAUSEK, S. D. TVs in the bedrooms of children: does it impact health and behavior? **Prev Med**. 52(2):104-8. 2011.

SMITH, G. P. Animal models of human eating disorders. **Ann N Y. Acad Sci**. 575:63-72. 1989.

SMYTH, J. M.; WONDERLICH, S. A.; HERON, K. E.; SLIWINSKI, M. J.; CROSBY, R. D.; MITCHELL, J. E.; ENGEL, S. G. Daily and momentary mood and stress are associated with binge eating and vomiting in bulimia nervosa patients in the natural environment. **J Consulting and Clinical Psychology**. 75:629-38. 2007.

SOMINSKY, L.; SPENCER, S. J. Eating behavior and stress: a pathway to obesity. **Front Psychol**. 13;5:434. Review. 2014.

SPANGLER, R.; WITTKOWSKI, K. M.; GODDARD, N. L.; AVENA, N. M.; HOEBEL, B. G.; LEIBOWITZ, S. F. Opiate-like effects of sugar on gene expression in reward areas of the rat brain. **Brain Res Mol Brain Res.** 19;124(2):134-42. 2004.

STEIGER, H. Eating disorders and the serotonin connection: state, trait and developmental effects. **J Psychiatry Neurosci.** 29(1):20-9. Review. 2004.

STEIGER, H.; GAUVIN, L.; JOOBER, R.; ISRAEL, M.; NG YING KIN, N. M.; BRUCE, K. R.; ET AL. Intrafamilial correspondences on platelet [3H-] paroxetine-binding indices in bulimic probands and their unaffected first-degree relatives. **Neuropsychopharmacology.** 31(8):1785-92. 2006.

STEIGER, H.; LÉONARD, S.; KIN, N. Y.; LADOUCEUR, C.; RAMDOYAL, D.; YOUNG, S. N. Childhood abuse and platelet tritiated-paroxetine binding in bulimia nervosa: implications of borderline personality disorder. **J Clin Psychiatry.** 61(6):428-35. 2000.

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.

STICE, E.; FIGLEWICZ, D. P.; GOSNELL, B. A.; LEVINE, A. S.; PRATT, W. E. The contribution of brain reward circuits to the obesity epidemic. **Neurosci Biobehav Rev.** 37(9PtA):2047-58. 2013.

STICE, E.; PRESNELL, K.; SPANGLER, D. Risk factors for binge-eating onset in adolescent girls: A 2-year prospective investigation. **Health Psychology.** 21,131-8. 2002.

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. **Int J Eat Disord.** 40:481-87. 2007.

STROBER, M.; FREEMAN, R.; LAMPERT, C.; DIAMOND, J.; KAYE, W. Males with anorexia nervosa: a controlled study of eating disorders in first-degree relatives. **Int J Eat Disord.** 29(3):263-9. 2001.

STUNKARD, A. J. Eating patterns and obesity. **Psychiatric Quarterly**. 33, 284-92. 1959.

STUNKARD, A. J.; PENICK, S. B. Behavior modification in the treatment of obesity. The problem of maintaining weight loss. **Arch Gen Psychiatry**. 36(7):801-6. 1979.

STUNKARD, A. J.; WADDEN, T. A. Psychological aspects of severe obesity. **Am J Clin Nutr**. 55(2 Suppl):524S-532S. Review. 1992.

SULKOWSKI, M. L.; DEMPSEY, J.; DEMPSEY, A. G. Effects of stress and coping on binge eating in female college students. **Eating Behaviors**. 12(3): 188-191. 2011.

SUVISAARI, J.; MANTERE, O. Inflammation theories in psychotic disorders: a critical review. **Infect Disord Drug Targets**. 13(1):59-70. Review. 2013.

SYMONDS, M. E.; MOSTYN, A.; PEARCE, S.; BUDGE, H.; STEPHENSON, T. Endocrine and nutritional regulation of fetal adipose tissue development. **J Endocrinol**. 179(3):293-9. Review. 2003.

TALGE, N. M.; NEAL, C.; GLOVER, V. Early Stress, Translational Research and Prevention Science Network: Fetal and Neonatal Experience on Child and Adolescent Mental Health. Antenatal maternal stress and long-term effects on child neurodevelopment: how and why? **J Child Psychol Psychiatry**. 48(3-4):245-61. Review. 2007.

TANG, D. W.; FELLOWS, L. K.; SMALL, D. M.; DAGHER, A. Food and drug cues activate similar brain regions: A meta-analysis of functional mri studies. **Physiol. Behav**. 106,317-324. 2012.

TANOFISKY, M. B.; WILFLEY, D. E.; SPURRELL, E. B.; WELCH, R.; BROWNELL, K. D. Comparison of men and women with binge eating disorder. **Int J Eat Disord**. 21,49-54. 1997.

TARANTINO, L. M.; SULLIVAN, P. F.; MELTZER-BRODY, S. Using animal models to disentangle the role of genetic, epigenetic, and environmental influences on behavioral outcomes associated with maternal anxiety and depression. **Front Psychiatry**. 18;2:44. 2011.

TELCH, C. F.; AGRAS, W. S. Do emotional states influence binge eating in the obese? **Int J Eat Disord.** 20(3):271-9. 1996.

THOMAS, M. A.; RICE, H. B.; WEINSTOCK, D.; CORWIN, R. L. Effects of aging on food intake and body composition in rats. **Physiol Behav.** 76:487-500. 2002.

THOMPSON, C.; SYDDALL, H.; RODIN, I.; OSMOND, C.; BARKER, D. J. Birth weight and the risk of depressive disorder in late life. **Br J Psychiatry.** 179:450-5. 2001.

TOSCANO, A. E.; MANHAES-DE-CASTRO, R.; CANON, F. Effect of a low-protein diet during pregnancy on skeletal muscle mechanical properties of offspring rats. **Nutrition.** v.24, n.3, p.270-278. 2008.

TRABULSI, J. C.; MENNELLA, J. A. Diet, sensitive periods in flavour learning, and growth. **Int Rev Psychiatry.** 24(3):219-30. Review. 2012.

UHER, R.; MURPHY, T.; BRAMMER, M. J.; DALGLEISH, T.; PHILLIPS, M. L.; NG, V. W.; ET AL. Medial prefrontal cortex activity associated with symptom provocation in eating disorders. **Am J Psychiatry.** 161(7):1238-46. 2004.

UMBERG, E. N.; SHADER, R. I.; HSU, L. K.; GREENBLATT, D. J. From disordered eating to addiction: The “food drug” in bulimia nervosa. **J. Clin. Psychopharmacol.** 32,376-89. 2012.

VALLÉE, M.; MAYO, W.; DELLU, F.; LE MOAL, M.; SIMON, H.; MACCARI, S. Prenatal stress induces high anxiety and postnatal handling induces low anxiety in adult offspring: correlation with stress-induced corticosterone secretion. **J Neurosci.** 17(7):2626-36. 1997.

VAN DEN EYNDE, F.; KOSKINA, A.; SYRAD, H.; GUILLAUME, S.; BROADBENT, H.; CAMPBELL, I. C.; SCHMIDT, U. State and trait food craving in people with bulimic eating disorders. **Eat. Behav.** 13,414-17. 2012.

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. **Am J Physiol Endocrinol Metab.** 279(1):E83-7. 2000.

VIEAU, D.; SEBAAI, N.; LÉONHARDT, M.; DUTRIEZ-CASTELOOT, I.; MOLENDI-COSTE, O.; LABORIE, C.; ET AL. HPA axis programming by maternal undernutrition in the male rat offspring. **Psychoneuroendocrinology.** 32 Suppl 1:S16-20. 2007.

WARDLE, J.; BEINART, H. Binge eating: a theoretical review. **Br J Clin Psychol.** 20(Pt 2):97-109. 1981.

WARDLE, J.; STEPTOE, A.; OLIVER, G.; LIPSEY, Z. Stress, dietary restraint and food intake. **J Psychosomatic Res.** 48:195-202. 2000.

WATERS, A.; HILL, A.; WALLER, G. Internal and external antecedents of binge eating episodes in a group of women with bulimia nervosa. **Int J Eat Disorders.** 29:17-22. 2001.

WEINGARTEN, H. P.; ELSTON, D. Food cravings in a college population. **Appetite.** 17, 167-175. 1991.

WELLS, J. C. The thrifty phenotype: An adaptation in growth or metabolism? **Am J Hum Biol.** 23(1):65-75. 2011.

WEST-EBERHARD, M. J. Phenotypic accommodation: adaptive innovation due to developmental plasticity. **J Exp Zool B Mol Dev Evol.** 15;304(6):610-8. 2005.

WHITE, M. A.; GRILO, C. M. Diagnostic efficiency of DSM-IV indicators for binge eating episodes. **J Consult Clin Psychol.** 79(1):75-83. 2011.

WHITAKER, R. C.; DIETZ, W. H. Role of the prenatal environment in the development of obesity. **J Pediatr.** 132(5):768-76. Review. 1998.

WILSON, G. T.; FAIRBURN, C. G. Cognitive treatments for eating disorders. **J Consult Clin Psychol.** 61(2):261-9. Review. 1993.

- WISE, R. A. Drug-activation of brain reward pathways. **Drug Alcohol Depend.** 51:13-22. 1998.
- WOJNICKI, F. H.; JOHNSON, D. S.; CORWIN, R. L. Access conditions affect binge-type shortening consumption in rats. **Physiol Behav.** 15;95(5):649-57. 2008.
- WOJNICKI, F. H.; STINE, J. G.; CORWIN, R. L. Liquid sucrose bingeing in rats depends on the access schedule, concentration and delivery system. **Physiol Behav.** 23;92(4):566-74. 2007.
- VOLKOW, N. D.; WANG, G. J.; BALER, R. D. Reward, dopamine and the control of food intake: implications for obesity. **Trends Cogn Sci.** 15(1):37-46. Review. 2011.
- VOLKOW, N. D.; WANG, G. J.; FOWLER, J. S.; TOMASI, D. Addiction circuitry in the human brain. **Annu Rev Pharmacol Toxicol.** 52:321-36. Review. 2012.
- WÜST, S.; ENTRINGER, S.; FEDERENKO, I. S.; SCHLOTZ, W.; HELLHAMMER, D. H. Birth weight is associated with salivary cortisol responses to psychosocial stress in adult life. **Psychoneuroendocrinology.** 30(6):591-8. 2005.
- WYNNE, K.; GIANNITSOPOULOU, K.; SMALL, C. J.; PATTERSON, M.; FROST, G.; GHATEI, M. A.; ET AL. Subcutaneous ghrelin enhances acute food intake in malnourished patients who receive maintenance peritoneal dialysis: a randomized, placebo-controlled trial. **J Am Soc Nephrol.** 16(7):2111-8. 2005.
- YACH, D.; STUCKLER, D.; BROWNELL, K. D. Epidemiologic and economic consequences of the global epidemics of obesity and diabetes. **Nat Med.** 12:62-66. 2006.
- YANOVSKI, S. Z. Binge eating disorder: current knowledge and future directions. **Obes Res.** 1:306-324. 1993.
- YANOVSKI, S. Z.; LEET, M.; YANOVSKI, J. A.; FLOOD, M.; GOLD, P. W.; KISSILEFF, H. R.; WALSH, B. T. Food selection and intake of obese women with binge-eating disorder. **Am J Clin Nutr.** 56(6):975-80. 1992.

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(6):371-8. 2005.

APÊNDICE



Contents lists available at ScienceDirect

Behavioural Processes

journal homepage: www.elsevier.com/locate/behavproc

Can early protein restriction induce the development of binge eating?



Madge Farias Fachine^a, Tássia Karin Borba^a, José Eulálio Cabral-Filho^b,
Francisco Bolaños-Jiménez^c, Sandra Lopes-de-Souza^d, Raul Manhães-de-Castro^{e,*}

^a Post-Graduation in Neuropsychiatry and Behavioral Sciences, Health Sciences Center, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil

^b Institute of Integrated Medicine Prof. Fernando Figueira, Recife, Pernambuco, Brazil

^c INRA, UMR1280 Physiologie des Adaptations Nutritionnelles, F-44096 Nantes, France

^d Department of Anatomy, Health Sciences Center, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil

^e Department of Nutrition, Health Sciences Center, Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, Recife, Pernambuco CEP: 50670901, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 28 April 2015

Received in revised form

30 December 2015

Accepted 1 January 2016

Available online 4 February 2016

Keywords:

Binge eating disorder

Caloric restriction

Hyperphagia

Perinatal undernutrition

ABSTRACT

We tested the hypothesis that perinatal undernourishment is a factor for binge eating. At 52 days rats born from dams fed on 17% protein (Control) or 8% protein (Undernourished) were distributed into four groups, two of which continued to be fed *ad libitum* chow and two were submitted to three consecutive Restricted/Refeeding (R/R) cycles. According to the following schedule: Control Naïve (from mothers fed 17% protein/no restriction phase); Control Restricted (from mothers fed 17% protein/restriction phase); Undernourished Naïve (from mothers fed 8% protein/no restriction phase); and Undernourished Restricted (from mothers fed 8% protein/restriction phase). Each cycle consisted of a restriction phase (in the first four days 40% of the mean daily individual chow intake was offered for consumption), followed by a refeeding phase (4 days of chow *ad libitum*). After the three cycles, all animals were subjected to a feeding test (chow diet and palatable food *ad libitum* for 24 h). During the feeding test, the Undernourished Restricted demonstrated rebound hyperphagia during 2, 4 and 6 h. These results suggest the perinatal undernourishment cannot contribute to a binge eating phenotype.

© 2016 Published by Elsevier B.V.

1. Introduction

Several epidemiological investigations have clearly indicated that an adverse nutritional environment during intrauterine or early postnatal development has deleterious consequences on health, and these effects last throughout the entire lifespan (Gluckman and Hanson, 2004; Hales and Barker, 2001). Individuals exposed to the Dutch famine, which was a 5-month period of extreme food shortage that occurred in the Netherlands in the winter of 1944–1945 during which food rations dropped to as low as 400 calories per day, were more prone to developing obesity, cardio-metabolic disease and breast cancer in adult life (Ravelli et al., 1999). In animals, the development of hypertension, insulin resistance and increased body fat during adulthood can be induced by perinatal nutrient restriction (Langley-Evans, 2001). Interest-

ingly, survivors of World War II who were submitted to caloric restriction in Nazi camps exhibited altered eating patterns and an increased preference for the consumption of high-energy foods (Polivy et al., 1994). Similarly, adult rats born from protein- or nutrient-restricted dams have been shown to exhibit hyperphagia (Orozco-Solis et al., 2009; Vickers et al., 2000).

A high consumption of palatable foods has often been associated with binge eating, which is a maladaptive behavior characterized by the consumption of an unusually large amounts of food over a short periods of time, accompanied by loss of control over eating (American Psychiatric Association, 2013). Foods that are consumed during a binge episode are rich in calories, fat, and/or sugar, and therefore, binge eating is predictive of excessive weight gain and has been linked to obesity (Hudson et al., 2007). In the United States, it affects 3.5% of women, 2% of men and up to 1.6% of adolescents (Swanson et al., 2011). Considering evidence about high prevalence of binge behavior in adolescent and young adult women (American Psychiatric Association, 2013; Hudson et al., 2007; Kjelsås et al., 2004) it is important to approach the problem in animal model observing female rats. Binge eating disorder can be accompanied by anxiety and depression (Sassaroli et al., 2005), which are two mood disorders that have also been shown to be prevalent in individu-

* Corresponding author. Fax: +81 88257635.

E-mail addresses: madgefachine@yahoo.com.br (M.F. Fachine), ftassiakarin@yahoo.com.br (T.K. Borba), eulalio@imip.org.br (J.E. Cabral-Filho), Francisco.Bolanos@univ-nantes.fr (F. Bolaños-Jiménez), sanlopesufpe@gmail.com (S. Lopes-de-Souza), manhaesdecastroraul@gmail.com (R. Manhães-de-Castro).

als exposed to nutrient restriction during perinatal development (Brown et al., 2000).

Studies of binge eating have employed different rat models exposed to varying dietary treatments to induce binge access to palatable foods, e.g., three consecutive cycles of Restriction/Refeeding or binge access without food deprivation (Artiga et al., 2007; Berner et al., 2008; Boggiano et al., 2005; Corwin and Buda-Levin, 2004; Hagan and Moss, 1997). Many conditions, such as caloric restriction, space-restricted cages, foot-shock stress, increased susceptibility to obesity, limited access to palatable foods and 2 h of daily access (binge access) to combined sugar-fat food without restriction interact to promote binge-eating behaviors (Berner et al., 2008; Boggiano et al., 2007; Hagan et al., 2002; Inoue et al., 1998). Even in unrestricted conditions, palatable foods have been shown to enhance intake during a test meal (Hagan and Moss, 1997) and to result in the alterations of reward pathways related to addiction with effects comparable to those produced by drugs (Colantuoni et al., 2001). Considering the effects of early nutrient restriction on food intake and the development of psychiatric eating disorders, we hypothesized that perinatal undernourishment favors the development of binge eating. The aim of this study was to determine the effects of undernourishment during perinatal development on susceptibility to the development of a binge eating phenotype.

2. Methods

maior or low protein diet throughout gestation and lactation were submitted to a model of binge eating that mimicked the “yo-yo” diet (Boggiano et al., 2007; Cifani et al., 2009; Hagan et al., 2002) typically used by women to lose weight (Reas and Grilo, 2007).

2.1. Animals and maternal diet

All of the experimental procedures were performed in compliance with the recommendations of the Brazilian Society of Neuroscience and were approved by the Animal Experimentation Ethics Committee of the Centre of Biological Sciences of the Federal University of Pernambuco, Brazil (no. 23076.005614/2008-65). Virgin female albino Wistar rats aged 12–18 weeks from the animal colony of the Federal University of Pernambuco were acclimatised to a reverse 12 h light/dark cycle (lights on at 18:00 pm) and maintained under controlled temperature (22–23 °C) with free access to a chow diet (Labina Purina®, Brazil) and water. They were then mated with a male of the same strain and age. After confirmation of mating by the visualization of spermatozoa in the vaginal smear, pregnant dams ($n = 13$) were housed individually and fed either a normal protein diet containing 17 g protein/100 g of food (Control group-6 dams) or a low-protein diet containing 8 g protein/100 g of food (Undernourished group-7 dams) throughout pregnancy and lactation. These diets were isocaloric (Table 1), and both were developed at the Department of Nutrition of the Federal University of Pernambuco according to the AIN-93 (Reeves et al., 1993) recommendations for rodent diets. At birth, the litters from both groups were culled to 8 pups within 12 h of delivery to maintain an approximately 1:1 male to female ratio. At weaning (21 days) two female offspring from each litter were selected at random and maintained in the same cage until 45 days of age receiving chow *ad libitum*. On day 45 the animals were placed into individual cages for 7 days, at which time and the daily mean chow intake calculated.

2.2. Binge eating schedule and experimental groups

At 52 days of age rats born both from dams fed on 17% protein (Control) and from dams fed 8% protein (Undernourished)

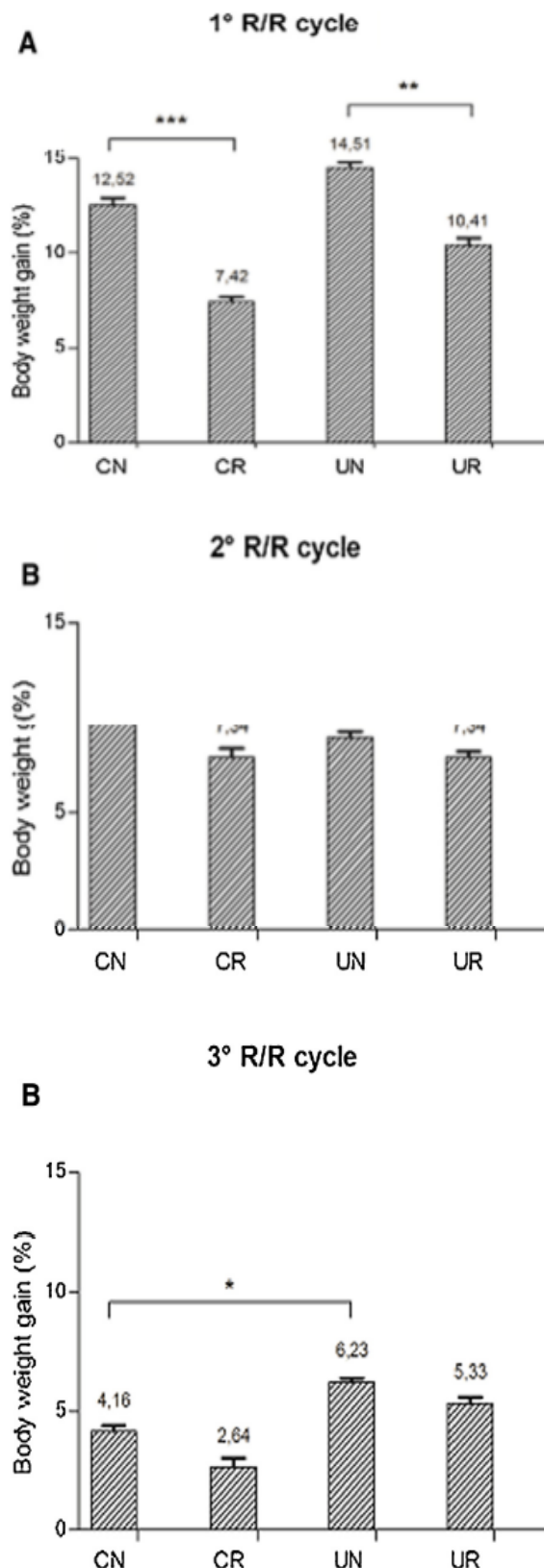


Fig. 1. Body weights change (%) after each one of the three Restriction/Refeeding (R/R) cycles. (A) First R/R cycle: ** $p < .01$ (UR vs. UN) and *** $p < .001$ (CR vs. CN); (B) Second R/R cycle: Not significant in any comparison; (C) Third R/R cycle: * $p < .05$ (UN vs. CN). Restricted groups [Control (CR) and Undernourished (UR)] and Naïve groups [Control (CN) and Undernourished (UN)]. Data are mean $\pm$ SEM.

Table 1

Compositions of experimental diets. A normal protein diet containing 17 g protein/100 g of food (control group) or a low-protein diet containing 8 g protein/100 g of food (undernourished group) offered during gestation and lactation periods (g/Kg diet).

Macronutrient	Control (17% protein)	Low protein (8% protein)
Casein	220	90
Cornstarch	397.5	503
Dextrinised starch	132	132
Cellulose	50	50
Sucrose	100	100
Vegetable oil (mL)	70	70
Water (mL)	300	350
Vitamin mix	10	10
Mineral mix	35	35
D-methionine	3	3
Choline	2.5	2.5
BHT	0.01	0.01
Energy density (Kcal/g)	3.8	3.8

were distributed into four groups, two of which continued to be fed chow *ad libitum* and two were submitted to three consecutive Restricted/Refeeding cycles (R/R cycles). According to the following schedule: Control Naïve (CN), $n=6$ (from mothers fed 17% protein/no restriction phase); Control Restricted (CR), $n=6$ (from mothers fed 17% protein/restriction phase); Undernourished Naïve (UN), $n=7$ (from mothers fed 8% protein/no restriction phase); and Undernourished Restricted (UR), $n=7$ (from mothers fed 8% protein/restriction phase).

Each cycle consisted of a restriction phase (in the first four days 40% of the mean daily individual chow intake was offered for the consumption), followed by a refeeding phase (4 days of chow *ad libitum*). They were also provided access to palatable food (PF) for two hours on both day 1 and day 2 of the first and second cycles refeeding (Table 2). So, four groups were designed as follows: Food was placed into the cages at 7:00 am every morning (1 h after lights off), and the body weight and food intake rate of the animals were recorded. Daily food intake was measured according to the difference between the amount of food provided at 07:00 am and that remaining 24 h later. The palatable food consisted of a paste prepared by mixing a chocolate cream (Nutella, Ferrero, Brasil; IND.DOC.ALIM.LTDA; CNPJ No. 43.816.719/0001-08), ground chow diet (Labina-Purina, Brasil) and water in the following per cent ratios: Nutella 52%, chow 33% and water 15% (Cifani et al., 2009). The composition of the palatable food was as follows: 399.8 Kcal/100 g (49.1% carbohydrate, 17.8% fat and 10.8% protein).

2.3. Feeding test and rebound hyperphagia

To examine the effects of the food manipulations (perinatal and Restriction/Refeeding cycles) on the subsequent palatable food intake (rebound hyperphagia), the rats were provided free access to chow and palatable food (placed in separate containers) immediately after the last Restriction/Refeeding cycle at the end of the experiment. Both diets were presented at the same time, but only palatable food intake was measured at 2, 4, 6 and 24 h.

2.4. Statistical analysis

The comparisons of the group means were made by two-way repeated measures ANOVA in the case of the relationship between maternal diet and restriction as well as in the case of maternal diet, restriction and time of the binge eating schedule and feeding test. Post hoc multiple comparisons between each two groups of experimental conditions were made (Sidak test) when F value of ANOVA was significant. The α critical value of .05 was adopted to decide

about the null hypothesis. All analyses were conducted using STATA 12.1SE (College Station, Texas, USA).

3. Results

3.1. Body weight and food consumption during binge eating schedule

Concerning body weight during R/R cycles main effects for maternal diet [$F(1,22)=13.84$, $p=.001$, partial eta-squared=.169], restriction [$F(1,22)=33.07$, $p<.001$, partial eta-squared=.327] and time [$F(2,44)=57.43$, $p<.001$, partial eta-squared=.723] were revealed, but not for interaction between maternal diet vs. restriction [$F(1,22)=.91$, $p=.350$]. Moreover, the time had a significant interaction with maternal diet [$F(2,44)=3.38$, $p=.044$, partial eta-squared=.133] as well as with restriction [$F(2,44)=5.02$, $p=.011$, partial eta-squared=.186] (Fig. 1). The post hoc analyses showed, in the first cycle, that both CR and UR groups presented lower weight gain than CN ($p<.001$) and UN groups ($p=.007$), respectively (Fig. 1A). In the second cycle no significant difference among the groups was found (Fig. 1B). In the third cycle, an increased weight gain was observed in the UN group compared with the CN group ($p=.035$) (Fig. 1C).

In addition to altering body weight, chow intake analysis showed main effects for maternal diet [$F(1,22)=9.26$, $p=.006$, partial eta-squared=.566], restriction [$F(1,22)=67.33$, $p<.001$, partial eta-squared=.905] and time [$F(2,44)=100.52$, $p<.001$, partial eta-squared=.820], but not for interaction between maternal diet vs. restriction [$F(1,22)=.01$, $p=.935$]. Moreover, restriction had a significant interaction with the time [$F(2,44)=4.74$, $p=.018$, partial eta-squared=.177] (Fig. 2A). Post hoc comparisons showed that during all the three refeeding phases, exposure to the R/R cycles induced increased chow intake for both CR and UR groups relative to respective CN ($p<.001$) and UN groups ($p<.001$). Moreover, on the third cycle the UN group showed an increased chow intake compared to CN ($p=.001$) group (Fig. 2A).

Palatable food intake analysis revealed main effects for maternal diet [$F(1,22)=4.90$, $p=.037$, partial eta-squared=.199], restriction [$F(1,22)=25.74$, $p<.001$, partial eta-squared=.566] and time [$F(1,22)=29.95$, $p<.001$, partial eta-squared=.576], but not for interaction between maternal diet vs. restriction [$F(1,22)=.36$, $p=.553$]. Moreover, maternal diet had a significant interaction with the time [$F(1,22)=5.43$, $p=.029$, partial eta-squared=.198] (Fig. 2B). Post hoc analyses indicated an increase of palatable food intake for both CR and UR groups relative to respective CN ($p=.003$) and UN ($p<.001$) groups only during the second cycle (Fig. 2B).

3.2. Food consumption during feeding test

Following the last day of the third refeeding (R/R cycles) the rats were exposed to chow and palatable food *ad libitum* during twenty-four hours in the feeding test (Fig. 3). Only the cumulative palatable food intake rates were measured. For food intake a main effects of restriction [$F(1,22)=16.66$, $p<.001$, partial eta-squared=.581] and time [$F(3,66)=557.83$, $p<.001$, partial eta-squared=.962], but not for either maternal diet [$F(1,22)=.20$, $p=.658$] or interaction between maternal diet vs. restriction [$F(1,22)=1.37$, $p=.254$] were verified. However, the maternal diet had a significant interaction with the time [$F(3,66)=7.50$, $p=.002$, partial eta-squared=.254] (Fig. 3). The post hoc analyses showed an increased food intake in the CN compared to UN groups at 2 h ($p=.006$) and 4 h ($p=.026$). Moreover, in the UR group a greater intake compared to UN group at times [2 h ($p<.001$), 4 h ($p<.001$) and 6 h ($p=.005$)] was showed (Fig. 3).

Tabela 2

Restriction/Refeeding cycles (R/R cycles) of the binge eating schedule and experimental groups.

Groups	Three cosecutive Restriction/Refeeding cycels (R/R cycle)						Feeding test (Day 25)
	1° R/R cycle		2° R/R cycle		3° R/R cycle		
	1° Restriction (day 1–4)	1° Refeeding (day 5–8)	2° Restriction (day 9–12)	2° Refeeding (day 13–16)	3° Restriction (day 17–20)	3° Refeeding (day 21–24)	
Control Naïve	Ad lib chow	Ad lib chow + PF	Ad lib chow	Ad lib chow + PF	Ad lib chow	Ad lib chow	Ad lib chow and PF
Control Restricted	40% of chow	Ad lib chow + PF	40% of chow	Ad lib chow + PF	40% of chow	Ad lib chow	Ad lib chow and PF
Undernourished Naïve	Ad lib chow	Ad lib chow + PF	Ad lib chow	Ad lib chow + PF	Ad lib chow	Ad lib chow	Ad lib chow and PF
Undernourished Restricted	40% of chow	Ad lib chow + PF	40% of chow	Ad lib chow + PF	40% of chow	Ad lib chow	Ad lib chow and PF

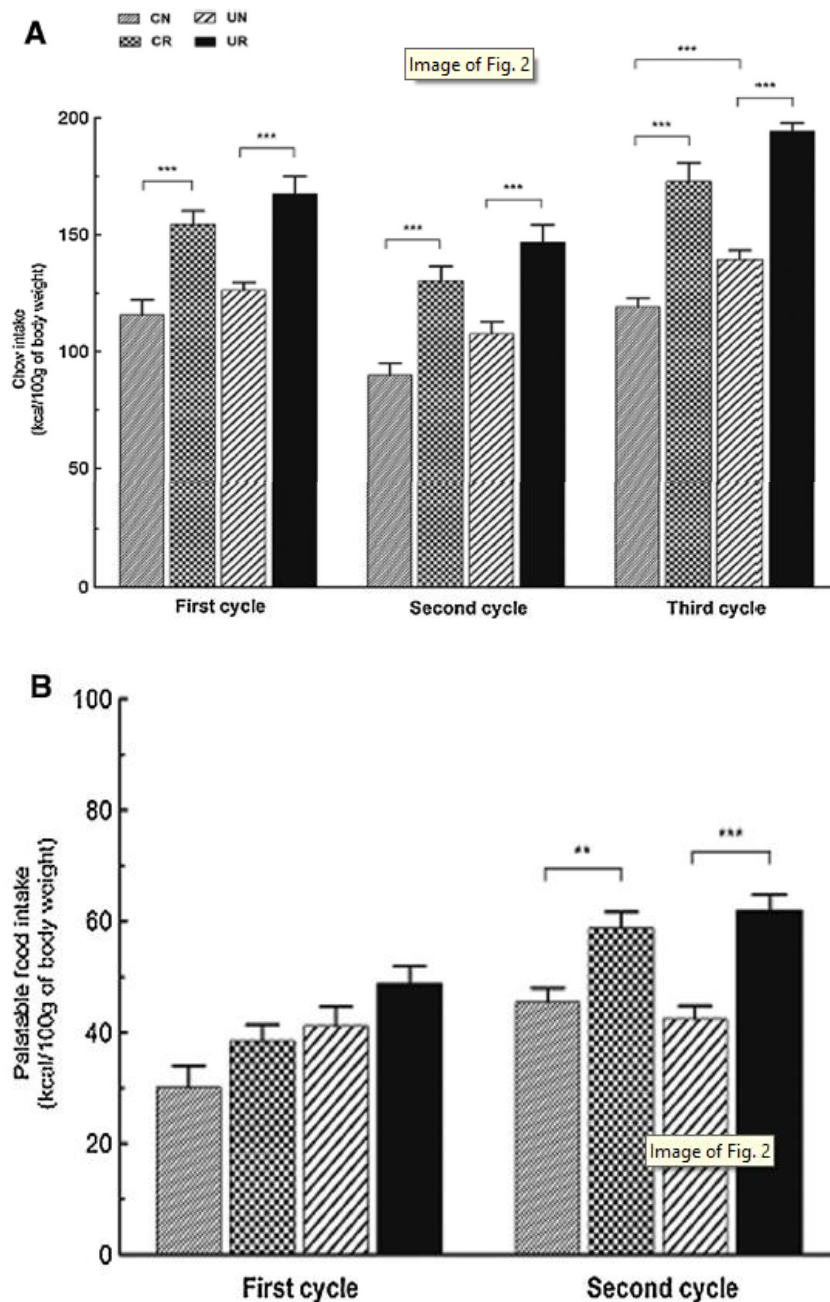


Fig. 2. Food intake (kcal/100 g of body weight) during refeeding in each one of the three R/R cycles. (A) Chow intake: First cycle: *** $p < .001$ (CR vs. CN and UR vs. UN); Second cycle: *** $p < .001$ (CR vs. CN and UR vs. UN); Third cycle: *** $p < .001$ (CR vs. CN and UR vs. UN) and *** $p < .001$ (UN vs. CN); (B) Palatable food intake: First cycle: Not significant in any comparison; Second cycle: ** $p < .01$ (CR vs. CN) and *** $p < .001$ (UR vs. UN). Restricted groups [Control (CR) and Undernourished (UR)] and Naïve groups [Control (CN) and Undernourished (UN)]. Data are mean $\pm$ SEM.

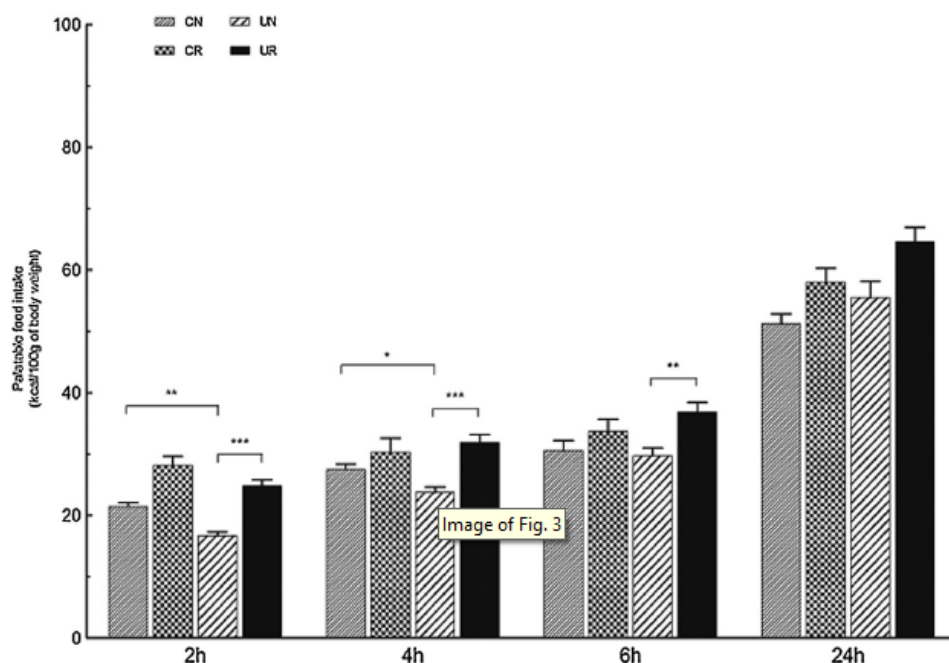


Fig. 3. Feeding Test. Palatable food intake (kcal/100 g of body weight) across the time: At 2 h [$**p < .01$ (CN vs. UN) and $***p < .001$ (UR vs. UN)], 4 h [$*p < .05$ (CN vs. UN) and $***p < .001$ (UR vs. UN)] and 6 h [$**p < .01$ (UR vs. UN)]. Restricted groups [Control (CR) and Undernourished (UR)] and Naïve groups [Control (CN) and Undernourished (UN)]. Data are mean $\pm$ SEM.

4. Discussion

Using a model of binge eating, we studied the susceptibility of rats subjected to perinatal undernourishment to the development of a binge eating phenotype with the increased consumption palatable food. We observed that after implementing our model, the undernourished animals exposed to the Restriction/Refeeding cycles showed rebound hyperphagia compared with the Undernourished Naïve rats. This effect was independent of gestation and the lactation treatment of the dams since a main effect of maternal diet was not observed alone. However, when the palatable food was consumed through the time (at 2 and 4 h), Undernourished Naïve animals did not show hyperphagia (Lopes de Souza et al., 2008; Orozco-Solís et al., 2009; Vickers et al., 2000) or high-fat diet preference (Bellinger and Langley-Evans, 2005). Thus, the maternal diet had not effect *per se*, but its association with the time indicated that it undergoes an influence of this parameter. Moreover, it is possible that this absence of hyperphagia had been because Undernourished Naïve increased body weight and chow intake in the third refeeding compared to Control Naïve. This effect can be the result of the energy accumulation of the Undernourished Naïve animals before starting the feeding test, but not a binge-like behavior of the Control Naïve animals.

The fact that only the Undernourished Restricted rats showed rebound hyperphagia under conditions of satiety, may suggest that undernourishment during perinatal life induced a higher susceptibility to the increased intake of a high-caloric diet only when had a history of restriction cycles. In our binge eating model, this rebound hyperphagia demonstrated for Undernourished Restricted rats differs from those reported in previous studies, in which nutrient restriction during uterine and/or neonatal development has been shown to induce a long-term perturbation of food intake (Orozco-Solís et al., 2009; Vickers et al., 2000). However, it was similar to other models (Boggiano et al., 2005; Hagan and Moss, 1997; Hagan et al., 2002), since an excessive consumption of palatable foods occurred just after restriction cycles and foot shock stress. These studies could therefore support our model, in which

caloric restriction was sufficient to induce an increased susceptibility to the development of rebound hyperphagia and may simulate dietary patterns commonly observed in eating disorders (Abbott et al., 1998). In addition evidence exists that rebound hyperphagia is activated by the process of hedonic control (Bello et al., 2009).

Several behavioral models of binge eating, such as those involving limited access to preferred foods during a test meal, exposure to stressful stimuli and limited access to palatable foods (Artiga et al., 2007; Boggiano et al., 2005; Corwin and Buda-Levin, 2004; Hagan and Moss, 1997; Hagan et al., 2002) have been proposed. Additionally, successive cycles of Restriction/Refeeding have been used to induce preference and rebound hyperphagia for palatable food (Boggiano et al., 2005; Hagan and Moss, 1997; Hagan et al., 2002). However, an important difference exists between the binge eating model here used and those of previous studies (Artiga et al., 2007; Boggiano et al., 2005, 2007; Cifani et al., 2009; Corwin and Buda-Levin, 2004; Hagan and Moss, 1997; Hagan et al., 2002). In our model, animals were exposed only to food restriction (R/R cycles) but not to harmful stimuli or other conditions. It has been suggested that the trigger for the excessive consumption of palatable food or a sweet-fat diet is similar to that of binge eating as a response to stressful stimuli or daily 2 h binge access (Bernier et al., 2008; Hagan et al., 2002). Moreover, there is evidence of a genetic resistance of Wistar female rats to the development of binge eating behaviors (Hildebrandt et al., 2014).

Notably, this rebound hyperphagia following the three R/R cycles occurring under satiety conditions was similar to those of previous studies, in which rats have been maintained in space-restricted cages or provided time-limited access to palatable foods in satiated states (Bernier et al., 2008; Inoue et al., 1998) or to other models involving limited access to junk foods without food deprivation (Corwin and Buda-Levin, 2004). It may be possible that the hyperphagia exhibited in the Undernourished Restricted group in this study involved a delay in the onset of satiety status until not more than the first two months in rats undernourished early in life (pregnancy and lactation), as previously described (Orozco-Solís et al., 2009). However, the increase in palatable food intake that

we observed may have been due to the binge eating model used because this increase occurred two weeks later than the 60-day period previously demonstrated in undernourished animals (Lopes de Souza et al., 2008; Orozco-Solis et al., 2009).

In our model, the rats from both groups exposed to dietary restriction demonstrated an increased chow intake compared to the naïve groups during each refeeding in the three cycles. However, the Undernourished Naïve rats increased their chow intake compared with the Control Naïve rats only during the third cycle, specifically when palatable food was not offered. This result was similar to another study in which rats received chow *ad libitum* and were not restricted (Berner et al., 2008). Moreover, increased intake for palatable food observed in the restricted groups during the second refeeding, is suggestive of bingeing behavior similar to that observed in other models in which non-restricted rats received limited (2 h daily) access to palatable food (Berner et al., 2008; Corwin and Buda-Levin, 2004).

Considering the body weight variation on each R/R cycle it was observed that only on the first cycle the restricted groups (Control and Undernourished) showed lower gain weight compared to their respective naïve groups (Control and Undernourished). In other studies, non-restricted rats have shown gains in body weight during a 2 h period of access to sweet-fat chow, but their body weights have been demonstrated to remain stable when provided standard chow or sweet-fat chow *ad libitum*. (Berner et al., 2008). Considering these results, we suggest that in our model, body weight regulation undergone greater influence of restriction than palatable food access, although the intermittent access to palatable food (Berner et al., 2008) has been important for promoting body weight fluctuations in the non-restricted rats. Moreover, the intermittent access to palatable food (2 h of sweet-fat chow), but not *ad libitum* access, was important to promote binge eating behaviors and body weight fluctuations in the non-restricted rats (Berner et al., 2008).

In our model, binge eating may have occurred due to an increased motivational state and also to the heightened sensitivity to the reward of palatable food in these animals (Dawe and Loxton, 2004). In other studies, undernourishment has led to an increased intake of palatable food in adult animals fed low levels of protein during perinatal life (Bellinger and Langley-Evans, 2005) and early weaning (Oliveira et al., 2011). A low level of maternal care (licking and grooming) during lactation has been shown to induce an increased intake of palatable food after acute stress in adolescent female rats submitted to R/R cycles (Hancock et al., 2005). Considering these results, adverse events in early life may play an important role in the development of binge eating behaviors, which may be related to the increased susceptibility of adolescent rats with a history of caloric restriction in intrauterine life to the development of hyperphagia for hypercaloric foods.

5. Conclusion

In conclusion, we suggest that caloric restriction used in a binge eating experimental model could be considered a factor for development of binge eating behavior. However, this conclusion should be considered with caution because of the reduced sample size employed in this work. The consequences of caloric restriction revealed by our model provide important information that may aid in determining susceptibility to the development of binge eating behaviors related to undernourishment.

Acknowledgments

This work was supported by FACEPE, CNPq, CAPES and CAPES-COFECUB (Action Number Me 657/09).

References

- Abbott, D.W., De Zwaan, M., Mussell, M.P., Raymond, N.C., Seim, H.C., Crow, S.J., et al., 1998. Onset of binge eating and dieting in overweight women: implications for etiology, associated features and treatment. *J. Psychosom. Res.* 44, 367–374.
- American Psychiatric Association, 2013. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 5th ed. American Psychiatric Association, Arlington, VA.
- Artiga, A.L., Viana, J.B., Maldonado, C.R., Chandler-Laney, P.C., Oswald, K.D., Boggiano, M.M., 2007. Body composition and endocrine status of long-term stress-induced binge-eating rats. *Physiol. Behav.* 91, 424–431.
- Bellinger, L., Langley-Evans, S.C., 2005. Fetal programming of appetite by exposure to a maternal low-protein diet in the rat. *Clin. Sci. (Lond.)* 109, 413–420.
- Bello, N.T., Guarda, A.S., Terrillion, C.E., Redgrave, G.W., Coughlin, J.W., Moran, T.H., 2009. Repeated binge access to a palatable food alters feeding behavior, hormone profile, and hindbrain c-Fos responses to a test meal in adult male rats. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 297, 31, R622.
- Berner, L.A., Avena, N.M., Hoebel, B.G., 2008. Bingeing, self-restriction, and increased body weight in rats with limited access to a sweet-fat diet. *Obesity* 16, 1998–2002.
- Boggiano, M.M., Artiga, A.L., Pritchett, C.E., Chandler-Laney, P.C., Smith, M.L., Eldridge, A.J., 2007. High intake of palatable food predicts binge-eating independent of susceptibility to obesity: an animal model of lean vs obese binge-eating and obesity with and without binge-eating. *Int. J. Obes.* 31, 1357–1367.
- Boggiano, M.M., Chandler, P.C., Viana, J.B., Oswald, K.D., Maldonado, C.R., Wauford, P.K., 2005. Combined dieting and stress evoke exaggerated responses to opioids in binge eating rats. *Behav. Neuroscience* 119, 1207–1214.
- Brown, A.S., Van Os, J., Driessens, C., Hoek, H.W., Susser, E.S., 2000. Further evidence of relation between prenatal famine and major affective disorder. *Am. J. Psychiatry* 157, 190–195.
- Cifani, C., Polidori, C., Melotto, S., Ciccocioppo, R., Massi, M., 2009. A preclinical model of binge eating elicited by yo-yo dieting and stressful exposure to food: effect of sibutramine, fluoxetine, topiramate, and midazolam. *Psychopharmacology (Berl.)* 204, 113–125.
- Colantuoni, C., Schwenker, J., McCarthy, J., Rada, P., Ladenheim, B., Cadet, J.L., et al., 2001. Excessive sugar intake alters binding to dopamine and mu-opioid receptors in the brain. *Neuroreport* 12, 3549–3552.
- Corwin, R.L., Buda-Levin, A., 2004. Behavioral models of binge-type eating. *Physiol. Behav.* 82, 123–130.
- Dawe, S., Loxton, N.J., 2004. The role of impulsivity in the development of substance use and eating disorders. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 28, 343–351.
- Gluckman, P.D., Hanson, M.A., 2004. The developmental origins of the metabolic syndrome. *Trends Endocrinol. Metab.* 15, 183–187.
- Hagan, M.M., Moss, D.E., 1997. 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, 411–420.
- Hagan, M.M., Wauford, P.K., Chandler, P.C., Jarrett, L.A., Rybak, R.J., Blackburn, K., 2002. A new animal model of binge eating: key synergistic role of past caloric restriction and stress. *Physiol. Behav.* 77, 45–54.
- Hales, C.N., Barker, D.J., 2001. The thrifty phenotype hypothesis. *Br. Med. Bull.* 60, 5–20, Review.
- Hancock, S.D., Menard, J.L., Olmstead, M.C., 2005. Variations in maternal care influence vulnerability to stress induced binge eating in female rats. *Physiol. Behav.* 85, 430–439.
- Hildebrandt, B.A., Klump, K.L., Racine, S.E., Sisk, C.L., 2014. Differential strain vulnerability to binge eating behaviors in rats. *Physiol. Behav.* 127, 81–86.
- Hudson, J.L., Hiripi, E., Pope Jr., H.G., Kessler, R.C., 2007. The prevalence and correlates of eating disorders in the national comorbidity survey replication. *Biol. Psychiatry* 61, 348–358.
- Inoue, K., Kirilke, N., Okuno, M., Fujisaki, Y., Kurioka, M., Iwasaki, S., et al., 1998. Prefrontal and striatal dopamine metabolism during enhanced rebound hyperphagia induced by space restriction—a rat model of binge eating. *Biol. Psychiatry* 44, 1329–1336.
- Kjelsås, E., Bjørnstrom, C., Gøtestam, K.G., 2004. Prevalence of eating disorders in female and male adolescents (14–15 years). *Eat Behav.* 5, 13–25.
- Langley-Evans, S.C., 2001. Fetal programming of cardiovascular function through exposure to maternal undernutrition. *Proc. Nutr. Soc.* 60, 505–513, Review.
- Lopes de Souza, S., Orozco-Solis, R., Grit, I., Manhães de Castro, R., Bolaños-Jiménez, F., 2008. Perinatal protein restriction reduces the inhibitory action of serotonin on food intake. *Eur. J. Neurosci.* 27, 1400–1408.
- Oliveira, L.S., Da Silva, L.P., Da Silva, A.L., Magalhães, C.P., De Souza, S.L., De Castro, R.M., 2011. Effects of early weaning on the circadian rhythm and behavioral satiety sequence in rats. *Behav. Processes* 86, 119–124.
- Orozco-Solis, R., Lopes de Souza, S., Barbosa Matos, R.J., Grit, I., Le Bloch, J., Nguyen, P., et al., 2009. Perinatal undernutrition-induced obesity is independent of the developmental programming of feeding. *Physiol. Behav.* 96, 481–492.
- Polyvy, J., Herman, C.P., McFarlane, T., 1994. Effects of anxiety on eating: does palatability moderate distress-induced overeating in dieters? *J. Abnorm. Psychol.* 103, 505–510.
- Ravelli, A.C., Van Der Meulen, J.H., Osmond, C., Barker, D.J., Bleker, O.P., 1999. Obesity at the age of 50 y in men and women exposed to famine prenatally. *Am. J. Clin. Nutr.* 70, 811–816.
- Reas, D.L., Grilo, C.M., 2007. Timing and sequence of the onset of overweight dieting, and binge eating in overweight patients with binge eating disorder. *Int. J. Eat Disord.* 40, 165–170.

- Reeves, P.G., Nielsen, F.H., Fahey, G.C., 1993. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American institute of nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J. Nutr.* 123, 1939–1951.
- Sassaroli, S., Bertelli, S., Decoppi, M., Crosina, M., Milos, G., Ruggiero, G.M., 2005. Worry and eating disorders: a psychopathological association. *Eat Behav.* 6, 301–307.
- Swanson, S.A., Crow, S.J., Le Grange, D., Swendsen, J., Merikangas, K.R., 2011. Prevalence and correlates of eating disorders in adolescents. Results from the national comorbidity survey replication adolescent supplement. *Arch. Gen. Psychiatry.* 68, 714–723.
- Vickers, M.H., Breier, B.H., Cutfield, W.S., Hofman, P.L., Gluckman, P.D., 2000. Fetal origins of hyperphagia, obesity, and hypertension and postnatal amplification by hypercaloric nutrition. *Am. J. Physiology. Endocrinol. Metab.* 279, E83–E87.

Title: Effect of perinatal undernutrition followed by caloric restriction on binge eating behavior and related morbidities.

Authors: Madge Farias Fechine ^a, José Eulálio Cabral-Filho ^b, Maria Zilda Barbosa de Santana ^c, Wenicios Ferreira Chaves ^c, Ana Elisa Toscano ^d, Elizabeth do Nascimento ^e, Sandra Lopes-de-Souza ^f, Raul Manhães-de-Castro ^g

^a Post-graduation in Neuropsychiatry and Behavioral Sciences, Health Sciences Center, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil. madgefechine@yahoo.com.br

^b Institute of Integrative Medicine Professor Fernando Figueira, Recife, Pernambuco, Brazil. eulalio_cabral@ig.com.br

^c Nutrition Graduate Program and Department of Nutrition, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil. dhindhinha1622@gmail.com, winicios_f@hotmail.com

^d Graduate Program in Nutrition, Physical Activity and Phenotypic Plasticity, CAV, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil. aetoscano@hotmail.com

^e Department of Nutrition, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil. nlizabeth@gmail.com

^f Department of Anatomy, Health Sciences Center, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil. sanlopesufpe@gmail.com

Correspondence to:

^g Department of Nutrition, Health Sciences Center, Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil. Av. Prof. Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, CEP 50670901. manhaesdecastroraul@gmail.com

ABSTRACT

This study investigated the effect of the perinatal undernutrition on the development of binge eating behavior and related morbidities after Restriction/Refeeding (R/R) cycles. Pups from Control and Perinatal Undernourished groups were submitted to three R/R cycles each one composed of a food restriction phase (4 days of 40% of the mean daily individual chow intake prior to beginning of R/R cycles) followed by a refeeding phase (4 days of chow *ad libitum*). So, four experimental groups were constituted: Control Naïve (CN) from dams fed 17% protein/not restriction phase, Control Restricted (CR) from dams fed 17% protein/restriction phase, Undernourished Naïve (UN) from dams fed 8% protein/not restriction phase, Undernourished Restricted (UR) from dams fed 8% protein/restriction phase. After the three R/R cycles, all animals were submitted to a feeding test (chow and palatable food for 24h). Then were measured their chow intake and weight gain changes during 1 week, as well as were submitted to an acute food deprivation and then a palatable food was offered for 2h and chow in other 22h. In the feeding test UR rats demonstrated hyperphagia for palatable food compared to UN rats. Then, UR rats increased weight gain changes compared to CN rats, suggesting the development of obesity. Under hunger condition (after acute food deprivation) these rats did not show increase palatable food intake. Undernourishment is not a factor to binge eating behavior, but for the development of hyperphagia and obesity after R/R cycles.

Keywords: Behavioral models; Food deprivation; Hyperphagia; Perinatal undernutrition; Obesity.

1. Introduction

Epidemiological studies have shown a relationship between the development of chronic diseases in adulthood and lower fetal growth due to injuries in the maternal nutrition [1,2]. In animal models of early life adverse experience, maternal low protein or caloric restriction had been used [3-6] to demonstrate hyperphagia (or binge-like eating behavior). Considered an abnormal feeding behavior, hyperphagia can be induced in animal models of binge eating [7-9].

Persistent hyperphagia can be also observed in rats submitted to cycles of caloric restriction [10] or maternal separation [11]. This behavior was observed as well as in human submitted to starvation in war camps [12]. Binge eating is defined as frequent episodes of increased consumption over a short period of time accompanied by feelings of lack of control while bingeing [13]. In humans, binge eating is the principal feature of eating disorders which has a high prevalence among adolescents and young adult women [14] and often is not induced by physical hunger or metabolic need [13,15]. Moreover, binge eating disorders (BED) has been associated with obesity about 65% of individuals [16] and have a higher risk at developing several psychiatric disorders [17] compared to obesity individuals without BED.

Food restriction is considered an important factor to the onset or sustains the binge eating behavior in humans [18]. In several animal models, food restriction is not sufficient to promote binge-like eating for palatable food, but only when associated with acute stress [7,9,19]. According to these premises, perinatal undernutrition is considered a stressful stimulus similar to early life adverse experience. Thus, this study investigated the effect of the perinatal undernutrition to the development of the binge eating behavior and related morbidities after Restriction/Refeeding (R/R) cycles.

2. Materials and methods

2.1. Animals and dietary manipulations

Virgin female Wistar rats (aged 12-18 weeks) were maintained under regular conditions in the animal colony of the Federal University of Pernambuco, 12h light/dark cycle (lights on at 0600), temperature (22-23°C) with *ad libitum* access to standard laboratory chow (Labina Purina®, Brasil) and water. They were then mated with male Wistar rats of the same age. Soon after the visualisation of spermatozoa in the vaginal smear to confirm the mating, the pregnant dams were housed individually and fed isocaloric diets throughout of perinatal period (pregnancy and lactation). Total dams (n=22) was divided on two groups according to diet composition: Normal diet (17g protein/100g of food, n=11) or a low-protein diet (8g

protein/100g of food, n=11). The preparation of both diets followed the recommendation of AIN-93 [20] for rodents and development at the Department of Nutrition of the Federal University of Pernambuco. At birth litters' size was adjusted to eight pups and a ratio of the 1:1 male to female, approximately, was maintained. At weaning (21 days) two female pups from dams fed on 17% protein - normal diet (Control group) or 8% protein - low-protein diet (Undernourished group) were selected at random and fed chow *ad libitum*. At 45 days old, the animals were placed into individual cages during seven days, before start the experimental procedure, in which time the daily mean chow intake was calculated. The experiments were performed according to the Brazilian Society of Neuroscience and approved by the Animal Experimentation Ethics Committee of the Center of Biological Sciences of the Federal University of Pernambuco, Brazil (n° 23076.017246/2012-84).

2.2. Restricted/Refeeding cycles and experimental groups

At 52 days old, pups from dams of the both Control and Undernourished groups were submitted to a corresponding modification of the animal models previously described [8,9]. Our model was composed of the three consecutive Restricted/Refeeding cycles (R/R cycles), in which each R/R cycles consisted of a food restriction phase (four days with 40% of the mean of own chow intake for five days prior to beginning of R/R cycles), followed by a refeeding phase (4 days of chow *ad libitum*) [21]. So the following experimental groups were constituted: Control Naïve (CN) from dams fed 17% protein/not restriction phase, n=10; Control Restricted (CR) from dams fed 17% protein/restriction phase, n=11; Undernourished Naïve (UN) from dams fed 8% protein/not restriction phase, n=11; and Undernourished Restricted (UR) from dams fed 8% protein/restriction phase, n=10). During the first and second refeeding phases, all the animals had access to a palatable food (Kcals/100g body weight) for two hours on both day 1 and day 2. At 10:00am (4h after lights on), during all the experiment, daily chow and palatable food (Kcals/100g body weight) were offered in separate containers and placed into the cages. The difference between the amount of food offered at 10:00am and that remaining 24h later was measured. Regarding to body weight, the weight gain changes (%) was considered for each R/R cycle. For food intake, a total chow intake on each one of the three refeeding phases was measured, as well as the total palatable food intake on the first and second refeedings. The palatable food consisted of a Nutella diet: 430 Kcals/100g (53% carbohydrate, 35% fat and 12% protein).

2.3. Feeding test

Soon after the last day of the third refeeding, the feeding test was executed to verify the effect of maternal nutritional manipulation early in life (perinatal normal nutrition or

undernutrition) with or without caloric restriction (Restriction/Refeeding cycles). In the feeding test access to chow and palatable food was offered *ad libitum* during 24h. Cumulative palatable food intake (Kcals/100g body weight) was measured at 1, 2, 4, 6 and 24h, but chow intake (Kcals/100g body weight) only during the total 24h.

After the feeding test, the animals received chow and water *ad libitum*, in which total chow intake (Kcals) and weight gain changes (%) were measured from beginning until the end during for 1 week. Afterwards all the animals were submitted to acute food deprivation (24h without chow) and then the palatable food (for 2h) was offered. Following this time the animals received only chow during 22h. After this acute food deprivation, palatable food intake (Kcals/100g body weight) was recorded at 1 and 2h and chow (Kcals/100g body weight) in other 22h. The purpose of acute food deprivation was observed the role of hunger to promote trigger for palatable food (2h).

2.4. Statistical analysis

To examine differences in the food intake (chow or palatable food) and body weight gain changes (%) Two-way repeated measures ANOVA was used to compare the group means related to the maternal diet, caloric restriction and interaction maternal diet vs. caloric restriction, as well as the influence of the time in each one of these parameters. Two-way ANOVA (no repeated measures) was used in relation for chow intake during the feeding test, as well as for chow intake (Kcals) and weight gain changes (%) during 1 week (after feeding test). The multiple comparisons between groups were made with post hoc Sidak's test. In all tests a p value $< .05$ was considered significant. In the statistical analyses STATA 12.1SE (College Station, Texas, USA) was employed.

3. Results

3.1. Body weight and food intake in the Restriction/Refeeding cycles

Concerning to weight gain changes (%) in each R/R cycle (Fig. 1) ANOVA revealed that there was main effects on caloric restriction [$F(1,38)= 29.10, p < .001$, partial eta-squared= .335], time [$F(2,76)= 84.54, p < .001$, partial eta-squared= .690] and interaction caloric restriction vs. time [$F(2,76)= 6.49, p = .004$, partial eta-squared= .146]. Post hoc comparisons showed only in the first cycle a lower weight gain changes (%) for CR group compared to CN ($p < .001$) group. As well as for UR groups compared to UN ($p = .041$) and CN ($p = .023$) groups. In the second and third cycles ANOVA did not reveal a main effect among the groups (data not shown).

For chow intake (Fig. 2.A) ANOVA revealed that there was main effects on caloric restriction [$F(1,38)=73.41, p < .001$, partial eta-squared= .848], time [$F(2,76)=70.11, p < .001$, partial eta-squared= .648] and interaction caloric restriction vs. time [$F(2,76)=6.73, p = .003$, partial eta-squared= .150]. Post hoc comparisons showed that R/R cycles promoted an increase of chow intake, in the three refeeding phases for CR groups compared to their respective CN ($p < .001$) groups. As well as for UR groups compared to their respective UN ($p < .001$) and CN ($p < .001$) groups. For palatable food intake (Fig. 2.B) ANOVA revealed that there was main effects on caloric restriction [$F(1,38)=22.35, p < .001$, partial eta-squared= .726], time [$F(1,38)=32.36, p < .001$, partial eta-squared= .460] and interaction maternal diet vs. caloric restriction [$F(1,38)=7.80, p = .008$, partial eta-squared= .480]. Post hoc comparisons showed that R/R cycles promoted an increase of palatable food intake in the first refeeding for UR groups compared to UN ($p < .001$) groups and in the second refeeding for UR groups compared to UN ($p < .001$) and CN groups ($p < .001$).

3.2. Feeding test

For palatable food intake in this test (Fig. 3) ANOVA revealed that there was a main effect on caloric restriction [$F(1,38)=8.87, p = .005$, partial eta-squared= .3824] and time [$F(4,152)=518.88, p < .001$, partial eta-squared= .9317]. Post hoc comparisons showed an increase of palatable food intake for UR compared to UN groups in the times [2h ($p = .035$), 4h ($p < .001$) and 6h ($p = .008$)]. For chow intake (data not shown) ANOVA did not reveal a main effect among the groups.

After the feeding test when the chow intake and body weight were measured: For chow intake (data not shown) ANOVA did not reveal a main effect among the groups; For weight gain changes (%) (Fig. 4.A) ANOVA revealed that there was a main effect on caloric restriction [$F(1,38)=23.00, p < .001$, partial eta-squared= .3770]. An increased weight gain changes (%) was observed in CR groups compared to CN ($p = .005$) groups. As well as for UR groups compared to UN ($p = .018$) and CN ($p < .001$) groups. After acute food deprivation, only for palatable food intake ANOVA revealed that there was a main effect on time [$F(1,38)=88.17, p < .001$, partial eta-squared= .699]. However, post hoc comparisons did not reveal a main effect among the groups (Fig. 4.B). For chow intake (data not shown) ANOVA did not reveal a main effect among the groups.

4. Discussion

This study has examined the development of binge eating behavior and related morbidities after Restriction/Refeeding (R/R) cycles. Thus, our model composed for three R/R

cycles was used to demonstrate that undernourishment early in life can be important to incentive binge-like eating for palatable food. In this context, undernourished rats that were submitted to R/R cycles demonstrated increase palatable food intake at 2, 4 and 6h in the feeding test compared to undernourished naïve rats. This abnormal feeding behavior was compatible for binge-like eating like found in stressed restricted rats compared to control ones [7,9,19]. Moreover, this study considerate that after R/R cycles, undernourished rats could development related morbidities of binge eating disorders. In this case, after food restriction (R/R cycles) was possible to observed increase body weight in our animals. The fact that undernourished restricted rats demonstrated overweight compared to control naïve rats was suggestive for obesity. This vulnerable to develop obesity was observed in adolescence when our undernourished restricted rats started the binge eating schedule. This coincide with other researches demonstrating that binge eating predict overweight [22,23] and obesity [24,25] in adolescence.

In addition, after R/R cycles could be demonstrate binge-like eating behavior under hunger condition (after acute food deprivation), but hunger does not be an important factor to promote trigger for palatable food or increase chow intake in our animals. Thus, undernourished rats submitted for R/R cycles showed an increased palatable food intake in satiated state in the feeding test, but not in hungry condition after acute food deprivation. Another study using R/R cycles, through of palatable food access occurred trigger to increase food intake in satiety and normal weight [10]. After R/R cycles, our undernourished rats showed a sensibility to overweight and did not have the capacity of trigger for palatable food intake under hunger. Though overweight display abnormal feeding behavior and can lead to disordered eating behavior accompanied for disruptions in the reward system [26]. In other models not using R/R cycles or acute food deprivation it was possible to observe binge-like eating behavior at 2h of limited access (binge days) for palatable food (sweet-fat chow or vegetable shortening) [27,28]. This bingeing behavior was accompanied for self-restriction to chow intake [27] while our undernourished restricted rats under hunger condition did not increase chow intake into the limited access to palatable food (2h). A taste-sized morsel of highly palatable food was sufficient to increase chow intake (at 2h) while the stressed restricted rats were satiated but not hungry (during the caloric restriction phase) [29]. In other works, not restricted rats have shown weight gain during 2h of access to sweet-fat chow, but their weights have remained stable when offered standard chow or sweet-fat chow *ad libitum* [27]. Thus, the provision of intermittent access to palatable food (2h of sweet-fat chow) is important to promote binge eating behavior

and body weight fluctuations in no restricted rats [27] differently to our restricted rats during the three R/R cycles.

In relation for body weight in the three R/R cycles, only in the first cycle was observed a lower weight gain changes (%) in restricted groups. However, R/R cycles influenced the increase chow intake in restricted groups during the three refeeding phases and the palatable food intake in undernourished rats. Moreover, these different effects of R/R cycles have not remained in others cycles. Thus, could be suggestive that R/R cycles were not sufficient to promote energy deficit and prejudice the satiety state in feeding test. Considering other studies, R/R cycles did not promote energy deficit since that the restricted rats recovered their weight in the refeeding phase [7,9]. Moreover, in rats submitted to food restriction was not found weight dysregulation [7,9,19], as well as our second and third cycles. Thus, our animals did not show weight gain changes (%) through the time (second and third cycles) since that was acquired a capacity for body weight regulation after R/R cycles. Moreover, the body weight regulation may have resulted from metabolic adaptation due to the periods of food restriction (R/R cycles). Also, individuals with binge eating disorders had normal weight although they do fasting (i.e. no eating for 24 hours) to try weight control [13]. This effect could be mimicked in rats in which returned their body weights after each refeeding phase and so started the feeding test on satiety condition [9,19]. In other work was showed that an environmental stimulus early in life can induce metabolic adjustments to maximise energy conservation during adulthood [30]. In addition, a dysregulatory mechanism was observed in rats submitted to neonatal stress (maternal separation), in which was showed weight fluctuations and sustained hyperphagia in fasting/refeeding cycles [31].

Using animal models to investigate binge eating for palatable food under satiated condition in the feeding test [7-9,19] our undernourished restricted animals demonstrated an increased for palatable food intake during 2, 4 and 6h similar for Fechine et al [21] differently for other studies [7,9,21]. Moreover, our undernourished restricted rats did not show an increase palatable food intake during 24h in the feeding test, differently for other models in which rats were satiated [9] or hungry [29]. Thereby, was observed that food restriction was an important factor to promote overeating for palatable food only in the undernourished rats. The value of this feeding behavior experience could be contributed to the development of morbidities related to eating disorders like obesity or trigger to palatable food after acute food deprivation. However, these results suggest that an increase of palatable food intake was dependent on the metabolic state. This was possible because undernourished restricted rats did not show an increased for palatable food intake under hungry, but only under satiety condition during

feeding test. Thus, this feeding behavior of the undernourished rats submitted to R/R cycles was consistent for hyperphagia, similarly for other studies that used stress in restricted rats [7,9,19,29] or only R/R cycles [21]. The fact that undernourished restricted rats did not show hyperphagic behavior after acute food deprivation, was suggestive for an adaptive response due an adverse environment, in this case the R/R cycles.

In conclusion, differently for lasting consequences of food restriction (R/R cycles) on food intake of the rats [10,19] and in the Minnesota Semi-starvation study [12], in which feeding behavior was compatible to binge eating, our undernourished restricted rats showed hyperphagia but did not show trigger for palatable, although had demonstrated a predisposition to obesity.

Acknowledgments

This work was supported by FACEPE (1944-4.05/12), CNPq (482701/2012-9), CAPES and CAPES-COFECUB (Action Number Me 657/09). We thank to José Natal Figueiroa, who performed the statistical analysis.

Conflict of interest

All authors declare no conflicts of interest.

Figure Captions

1

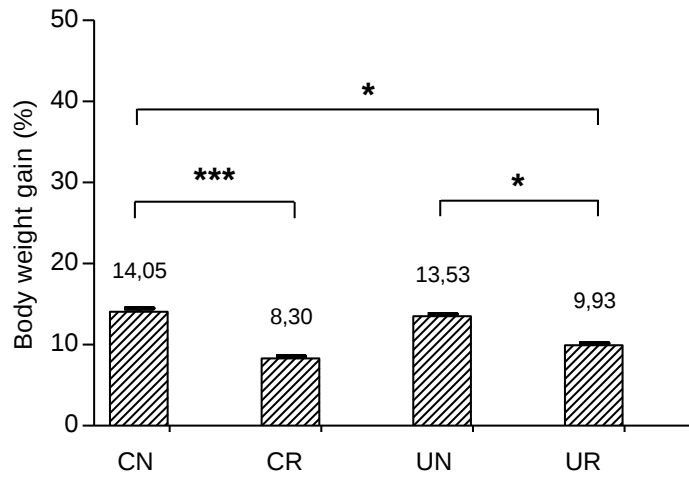


Figure 1. Body weight changes (%) in the first R/R cycle: $*p < .05$ (UR vs. UN), $*p < .05$ (UR vs. CN) and $***p < .001$ (CR vs. CN). Restricted groups [Control (CR) and Undernourished (UR)] and Naïve groups [Control (CN) and Undernourished (UN)]. Data are mean $\pm$ SEM.

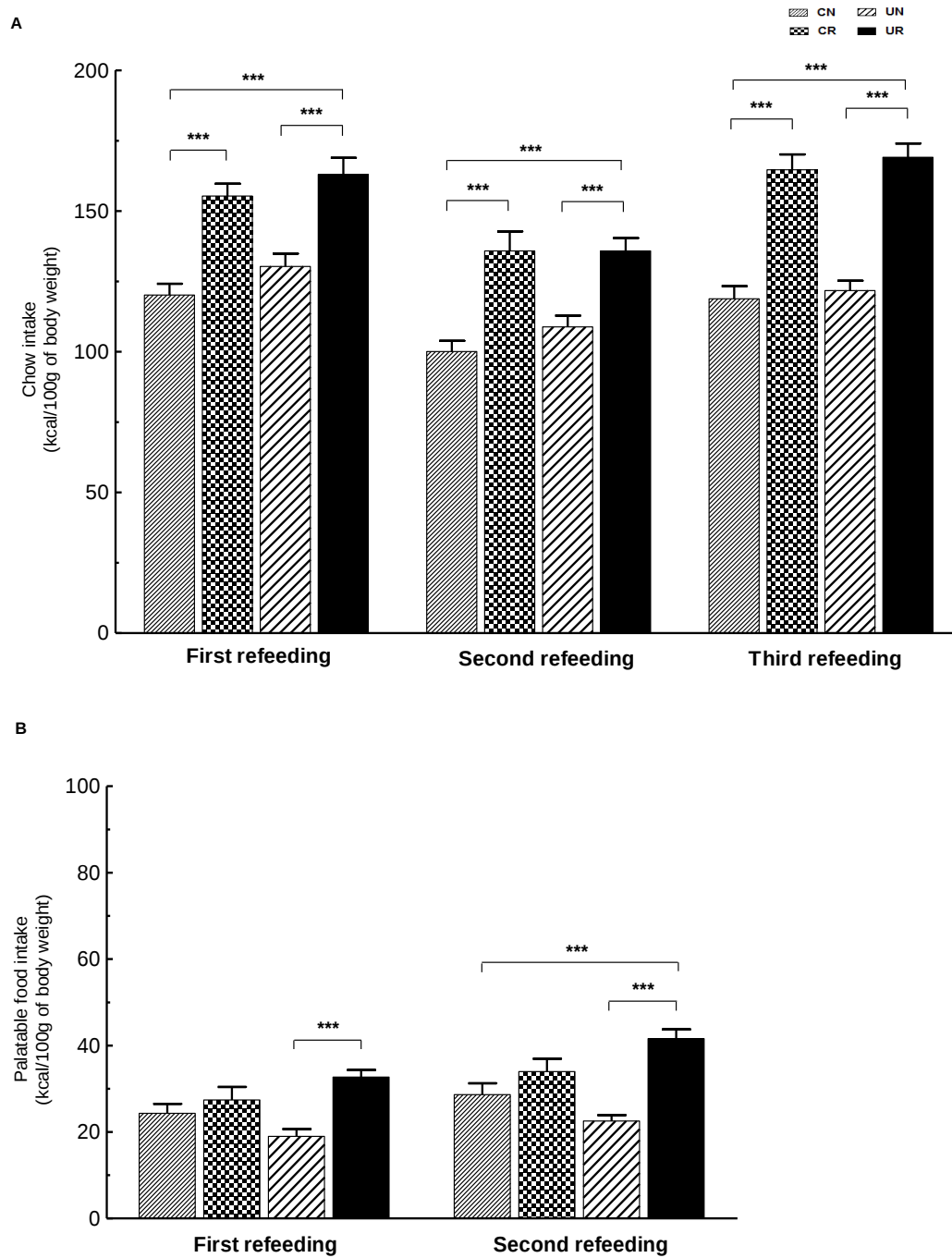


Figure 2. Effect of three R/R cycles on food intake (kcal/100g of body weight): (A) Chow intake in the first, second and third refeeding phases: *** $p < .001$ (CR vs. CN, UR vs. UN and UR vs. CN); (B) Palatable food intake in the first refeeding [*** $p < .001$ (UR vs. UN)] and in the second refeeding [*** $p < .001$ (UR vs. UN and UR vs. CN)]. Restricted groups [Control (CR) and Undernourished (UR)] and Naïve groups [Control (CN) and Undernourished (UN)]. Data are mean $\pm$ SEM.

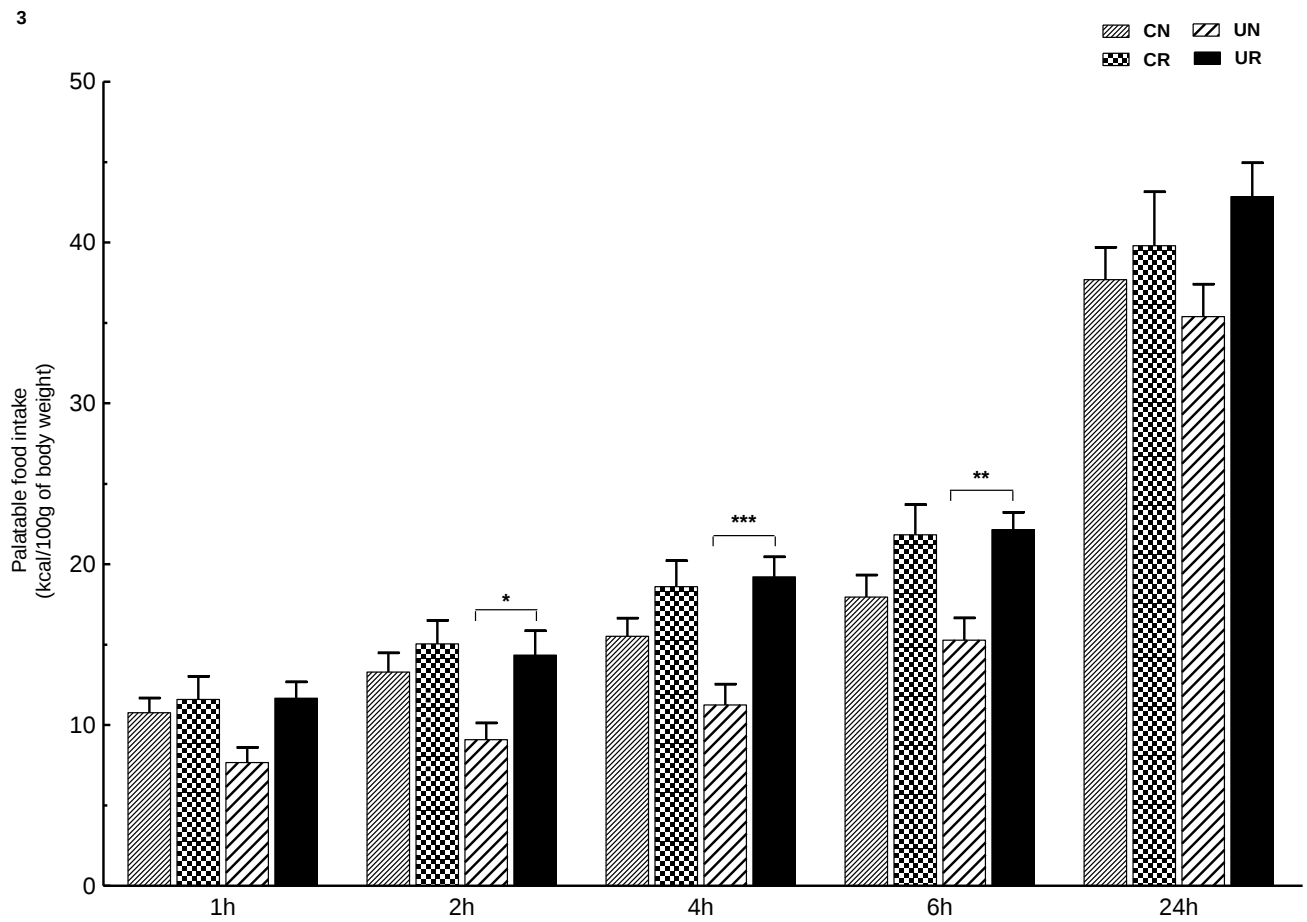


Figure 3. Feeding test. Palatable food intake (kcal/100g of body weight) at 2h [$*p < .05$ (UR vs. UN)], 4h [$***p < .001$ (UR vs. UN)] and 6h [$**p < .01$ (UR vs. UN)]. Restricted groups [Control (CR) and Undernourished (UR)] and Naïve groups [Control (CN) and Undernourished (UN)]. Data are mean $\pm$ SEM.

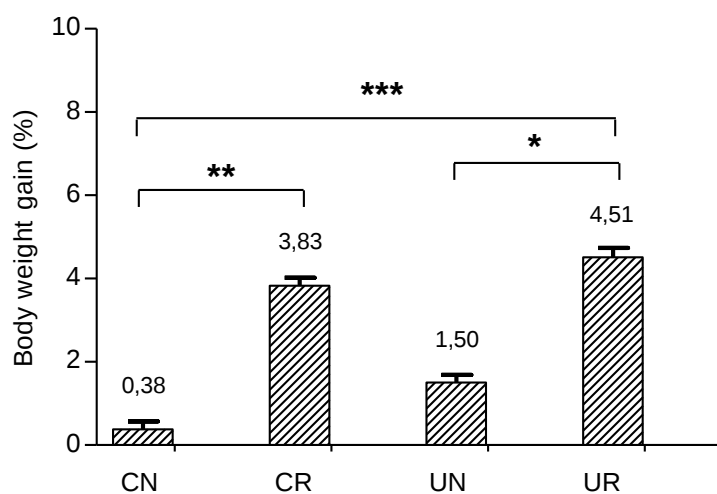
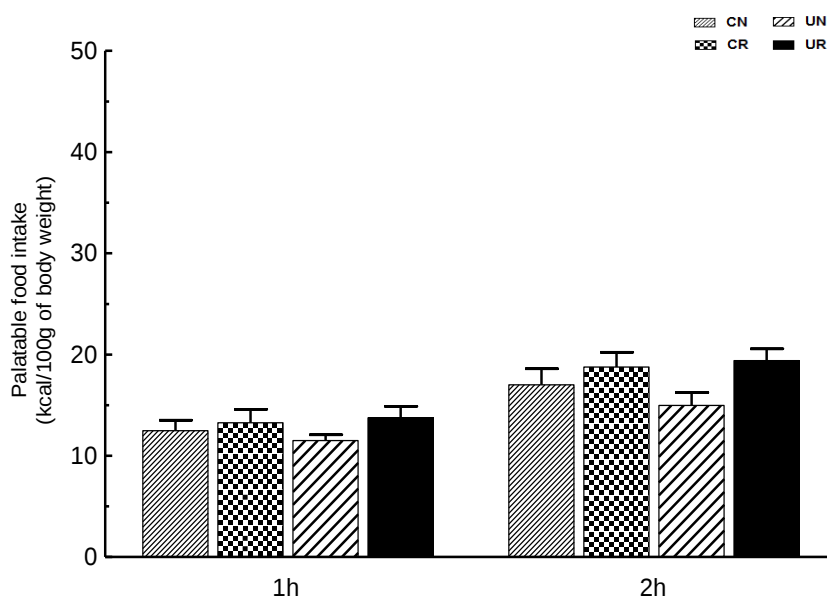
A**B**

Figure 4. After feeding test: (A) Weight gain changes (%) 1 week after feeding test: $*p < .05$ (UR vs. UN); $**p < .005$ (CR vs. CN) and $***p < .001$ (UR vs. CN); (B) Palatable food intake (kcal/100g of body weight) after acute food deprivation (24h): ANOVA did not reveal a main effect among the groups. Restricted groups [Control (CR) and Undernourished (UR)] and Naïve groups [Control (CN) and Undernourished (UN)]. Data are mean $\pm$ SEM.

References

- [1] P.D. Gluckman, M.A. Hanson. The developmental origins of the metabolic syndrome, *Trends Endocrinol Metab.* 15 (2004) 183-187. Review.
- [2] C.N. Hales, D.J. Barker. The thrifty phenotype hypothesis, *Br Med Bull.* 60 (2001) 5-20. Review.
- [3] M. Desai, D. Gayle, J. Babu, M.G. Ross. Programmed obesity in intrauterine growth restricted newborns: modulation by newborn nutrition, *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 288 (2005) R91-96.
- [4] S. Lopes de Souza, R. Orozco-Solís, I. Grit, R. Manhães de Castro, F. Bolaños-Jiménez. Perinatal protein restriction reduces the inhibitory action of serotonin on food intake, *Eur J Neurosci.* 27 (2008) 1400-1408.
- [5] R. Orozco-Solís, S. Lopes de Souza, R.J. Barbosa Matos, I. Grit, J. Le Bloch, P. Nguyen, R. Manhães de Castro, F. Bolaños-Jiménez. Perinatal undernutrition-induced obesity is independent of the developmental programming of feeding, *Physiol Behav.* 96 (2009) 481-492.
- [6] M.H. Vickers, B.H. Breier, W.S. Cutfield, P.L. Hofman, P.D. Gluckman. Fetal origins of hyperphagia, obesity, and hypertension and postnatal amplification by hypercaloric nutrition, *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 279 (2000) E83-87.
- [7] M.M. Boggiano, P.C. Chandler, J.B. Viana, K.D. Oswald, C.R. Maldonado, P.K. Wauford. Combined dieting and stress evoke exaggerated responses to opioids in binge eating rats, *Behav Neurosci.* 119 (2005) 1207-1214.
- [8] C. Cifani, C. Polidori, S. Melotto, R. Ciccocioppo, M. Massi. A preclinical model of binge eating elicited by yo-yo dieting and stressful exposure to food: effect of sibutramine, fluoxetine, topiramate, and midazolam, *Psychopharmacology (Berl).* 204 (2009) 113-125.
- [9] M.M. Hagan, P.K. Wauford, P.C. Chandler, L.A. Jarrett, R.J. Rybak, K. Blackburn. A new animal model of binge eating: key synergistic role of past caloric restriction and stress, *Physiol Behav.* 77 (2002) 45-54.
- [10] M.M. Hagan, D.E. Moss. 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 (1997) 411-420.
- [11] V. Ryu, J-H. Lee, S.B. Yoo, X.F. Gu, Y.W. Moon, J.W. Jahng. Sustained hyperphagia in adolescent rats that experienced neonatal maternal separation, *Int J Obesity.* 32 (2008) 1355-1362.
- [12] J. Polivy, S.B. Zeitlin, C.P. Herman, A.L. Beal. Food restriction and binge-eating: A study of former prisoners of war, *J Abnorm Psychol.* 103 (1994) 409-411.

- [13] American Psychiatric Association (APA), Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition (DSM-5™), American Psychiatric Association, Arlington, VA, 2013.
- [14] C.G. Fairburn, P.J. Harrison. Eating disorders, *Lancet*. 361 (2003) 407-416.
- [15] A. Waters, A. Hill, G. Waller. Internal and external antecedents of binge eating episodes in a group of women with bulimia nervosa, *Int J Eat Disord*. 29 (2001) 17-22.
- [16] R.H. Striegel-Moore, F.M. Cachelin, F.A. Dohm, K.M. Pike, D.E. Wilfley, C.G. Fairburn. Comparison of binge eating disorder and bulimia nervosa in a community sample, *Int J Eat Dis*. 29 (2001) 157-65.
- [17] C.M. Bulik, P.F. Sullivan, K.S. Kendler. Medical and psychiatric morbidity in obese women with and without binge eating, *Int J Eat Disord*. 32 (2002) 72-8.
- [18] E. Stice, W.S. Agras, F.C. Telch, K.A. Halmi, J.E. Mitchell, T. Wilson. Subtyping binge eating-disordered women along dieting and negative affect dimensions, *Int J Eat Disord*. 30 (2001) 11-27.
- [19] A.I. Artiga, J.B. Viana, C.R. Maldonado, P.C. Chandler-Laney, K.D. Oswald, M.M. Boggiano. Body composition and endocrine status of long-term stress-induced binge-eating rats, *Physiol Behav*. 91 (2007) 424-31.
- [20] P.G. Reeves, F.H. Nielsen, G.C. Fahey. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet, *J Nutr*. 123 (1993) 1939-51.
- [21] M.F. Fechine, T.K. Borba, J.E. Cabral-Filho, F. Bolaños-Jiménez, S. Lopes-de-Souza, R. Manhães-de-Castro. Can early protein restriction induce the development of binge eating? *Behav Process*. 125 (2016) 19-25.
- [22] A.E. Field, S.B. Austin, C.B. Taylor, S. Malspeis, B. Rosner, H.R. Rockett, M.W. Gillman, G.A. Colditz. Relation Between Dieting and Weight Change Among Preadolescents and Adolescents, *Pediatrics*. 112 (2003) 900-906.
- [23] D. Neumark-Sztainer, M. Wall, J. Haines, M. Story, M.E. Eisenberg. Why Does Dieting Predict Weight Gain in Adolescents? Findings from Project EAT-II: A 5-Year Longitudinal Study, *J. Am. Diet. Assoc*. 107 (2007) 448-455.
- [24] J. Haines, D. Neumark-Sztainer, M. Wall, M. Story. Personal, Behavioral, and Environmental Risk and Protective Factors for Adolescent Overweight [ast][ast], *Obesity*. 15 (2007) 2748-2760.
- [25] E. Stice, K. Presnell, D. Spangler. Risk factors for binge eating onset in adolescent girls: A 2-year prospective investigation, *Health Psychol*. 21 (2002) 131-138.

- [26] D.P. Figlewicz, A. MacDonald Naleid, A.J. Sipols. Modulation of food reward by adiposity signals, *Physiol Behav.* 91 (2007) 473-478.
- [27] L.A. Berner, N.M. Avena, B.G. Hoebel. Bingeing, self-restriction, and increased body weight in rats with limited access to a sweet-fat diet, *Obesity.* 16 (2008) 1998-2002.
- [28] R.L. Corwin, F.H. Wojnicki, J.O. Fisher, S.G. Dimitriou, H.B. Rice, M.A. Young. Limited access to a dietary fat option affects ingestive behavior but not body composition in male rats, *Physiol Behav.* 65 (1998) 545-53.
- [29] M.M. Hagan, P.C. Chandler, P.K. Wauford, R.J. Rybak, K.D. Oswald. The role of palatable food and hunger as trigger factors in an animal model of stress induced binge-eating, *Int J Eat Disord.* 34 (2003) 183-97.
- [30] K.M. Godfrey, P.D. Gluckman, M.A. Hanson. Developmental origins of metabolic disease: life course and intergenerational perspectives, *Trends Endocrinol Metab.* 21 (2010) 199-205.
- [31] V. Ryu, J-H. Lee, S.B. Yoo, X.F. Gu, Y.W. Moon, J.W. Jahng. Sustained hyperphagia in adolescent rats that experienced neonatal maternal separation, *Int J Obesity.* 32 (2008) 1355-1362.

Title: Absence of binge eating behavior in adulthood rats under fluoxetine treatment in the breastfeeding period.

Authors: Madge Farias Fechine ¹, José Eulálio Cabral Filho ², Raquel de Medeiros Maia Campos ³, Anne Jaciele da Silva ³, Sandra Lopes de Souza ⁴, Raul Manhães-de-Castro^{5*}

¹ Post-graduation in Neuropsychiatry and Behavioral Sciences, Health Sciences Center, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil. madgefechine@yahoo.com.br

² Postdoctorate. Institute of Integrative Medicine Professor Fernando Figueira, Recife, Pernambuco, Brazil. eulalio_cabral@ig.com.br

³ Nutrition Graduate Program and Department of Nutrition, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil.

⁴ Department of Anatomy, Health Sciences Center, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil. sanlopesufpe@gmail.com

^{5*} Correspondence to: Department of Nutrition, Health Sciences Center, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil. Av.Prof.Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, CEP 50670901. manhaesdecastroraul@gmail.com

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to demonstrate that the administration of selective serotonin reuptake inhibition (SSRI) during breastfeeding period can to promote binge eating by injuries in the feeding behavioral. Method: Female rats that were submitted or not to serotonergic system manipulation in the breastfeeding period, formed the Fluoxetine and Saline groups, respectively. At 52 days old, all the animals of these groups were submitted to three consecutive Restricted/Refeeding cycles (R/R cycles), since each one composed for: caloric restriction phase (four days with 40% of the mean of own chow intake before started the R/R cycles) followed for a refeeding phase (4 days of chow *ad. libitum*). Thus, was formed the groups: Saline Naïve (SN), Saline Restricted (SR), Fluoxetine Naïve (FN) and Fluoxetine Restricted (FR). During the first and second refeeding phases, all the animals had access for palatable food during 2h on both day 1 and day 2. After the three R/R cycles, the groups were submitted to a feeding test in which was offered chow and palatable food for 24h. At adulthood, all the animals were submitted to a similar feeding test to the previous. Results: Manipulation of serotonergic system in the breastfeeding period is not a factor to binge eating behavior, but for the development of obesity after R/R cycles. Conclusion: After R/R cycles, early fluoxetine treatment did not contribute to induce or sustain binge eating in short or long-lasting, respectively.

Keywords: Animal model; Binge eating; Fluoxetine; SSRI.

INTRODUCTION

Fluoxetine, a selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI), is an antidepressant frequently used in psychiatry disorders (Vasvani, Linda & Ramesh, 2003). In humans, neurodevelopment changes were observed in babies exposed to SSRI during the postpartum depression of their mothers (Belik, 2008; Borue, Chen & Condron, 2007), once that SSRIs can be found in breast milk in the breastfeeding period (Davanzo et al. 2011; Francis-Oliveira et al. 2013). Conformer animal studies, SSRIs can suppress food intake (De Vry & Schreiber, 2000) and especial the fluoxetine can decrease body weight due serotonergic action on food intake for enhance satiety state (Halford & Blundell 1996). Despite the later in life consequences of the injuries during the development of the serotonergic system has been widely studied (da Silva et al., 2014, 2015; Manhães de Castro et al., 2001; Silva et al., 2010), the contribution of early fluoxetine treatment to develop binge eating behavior last life has not been investigated.

Several animal models of binge eating (Boggiano et al., 2005; Cifani et al., 2009; Hagan et al., 2002; Fechine et al., 2016) demonstrated that binge-like eating occur after caloric restriction cycles and this abnormal feeding behavior continuous after successive R/R cycles (Artiga et al., 2007). Binge eating is the most common of behavioral feature of eating disorders and is characterized for overeating accompanied by loss of control (APA, 2013). Also, the fact of the development of eating disorders are more prevalent in women (Barry, Grilo & Masheb, 2002) as well as female rats (Artiga et al., 2007; Boggiano et al., 2005; Cifani et al., 2009; Hagan et al., 2002, 2003), this study used female rats.

Considering a behavioral approach, we used a binge eating model to demonstrate that the administration of selective serotonin reuptake inhibition (SSRI) during breastfeeding period can to promote binge eating by injuries in the feeding behavioral. Also, this study proposed that these modifications could occur due to early influences in long-lasting when a memory of the bingeing behavior was consolidated after R/R cycles. Moreover, the mechanisms that explain how the early exposition to fluoxetine treatment can change the feed behavior and promote binge eating still was not investigate.

METHODS

Animals and Pharmacologic Manipulations in Early Life

The experimental groups were from virgin female Wistar rats (12-18 weeks of age) maintained in regular conditions in the animal colony of the Federal University of Pernambuco: 12h light/dark cycle (lights on at 0600); temperature (22-23°C); *ad libitum* access to standard laboratory chow (Labina Purina®, Brasil) and water. These females were mated with male

Wistar rats of the same age. Soon after the mating be confirmed by the visualisation of spermatozoa in the vaginal smear, the pregnant dams (n=15) were housed individually and fed chow standard diet (Purina do Brasil S/A) throughout pregnancy and lactation. At birth litters' size was adjusted to eight pups (1:1 male to female). The pups groups were formed according to serotonergic system manipulation in the breastfeeding period and divided in two groups: Saline and Fluoxetine. Thus, fluoxetine (Sigma) (1µl/g body weight), a selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI), or saline 0.9%, (1µl/g body weight) was administrated (subcutaneously) from 1 to 21st postnatal day. For 1 wk (at 45 days old) before the beginning of the Restriction/Refeeding cycles, all the animals were placed into individual cages and food intake was measured. At 52st day of life a period of three Restriction/Refeeding cycles was implemented. The experiments were performed according to the Brazilian Society of Neuroscience and approved by the Animal Experimentation Ethics Committee of the Center of Biological Sciences of the Federal University of Pernambuco, Brazil (Protocol number 23076.010097/2015-75).

Animal Model

At 52 days old, a similar model of binge eating (Fechine et al., 2016) was used to verify binge-like eating of the pups from both Saline and Fluoxetine groups. In our model, composed of three consecutive Restricted/Refeeding cycles (R/R cycles) with 8 days each, daily chow and palatable food intakes and body weight were recorded at 10:00 am (4h after lights on). In each R/R cycle, animals (restricted groups) from both saline and fluoxetine groups were submitted to a caloric restriction phase (four days receiving 40% of the mean of own chow intake for five days prior to beginning of R/R cycles) while the other animals (not restricted groups) received chow *ad libitum*. Following the restriction phase, all the animals were submitted to a refeeding phase (4 days of chow *ad libitum*). So the following experimental groups were constituted: Saline Naïve (SN): n=13/15; Saline Restricted (SR): n=11/13; Fluoxetine Naïve (FN): n=12/13 and Fluoxetine Restricted (FR): n=13/14. During the first and second refeeding phases, all the animals had access to a palatable food for two hours on both day 1 and day 2. Weight gain changes (%) were considered for each R/R cycle. A total chow intake in each one of the three refeeding phases was measured, as well as the total palatable food intake on the first and second refeedings. The palatable food consisted of a Nutella diet pellet: 430 Kcal/100 g (56% carbohydrate, 17% fat and 13% protein).

Feeding Test after Restriction/Refeeding Cycles

In order to verify the effect of serotonergic system manipulation in neonatal life the animals submitted or not for caloric restriction (R/R cycles), a feeding test was performed

immediately after the three consecutive R/R cycles. In this test, chow and palatable food were offered *ad libitum* during 24h, time in which the cumulative consumption of palatable food was measured at 1, 2, 4, 6 and 24h, but chow intake only during the total 24h. Moreover, to verify the susceptibility to development obesity after binge eating behavior, the body weight and chow intake were recorded from the first feeding to second one.

Feeding Test at Adulthood

At 120 days old, all the animals were submitted to another feeding test similar to the first one before described.

Statistical Analysis

A Two-way ANOVA (repeated measures) was used to analyse within and between groups considering the respective parameters: Neonatal serotonergic system manipulation (neonatal manipulation), caloric restriction and interaction neonatal manipulation vs. caloric restriction. Moreover, the influence of the time in every one of these parameters was considered. Two-way ANOVA (without repeated measures) was used to measure: Chow intake in two feeding tests and between each of it, as well as during 1 week after the first feeding test (after R/R cycles); Body weight gain changes (%) during 1 week after the first feeding test (after R/R cycles) and between each one of two feeding tests. To alpha values set at $p < .05$ was made Sidak post-hoc tests for multiple comparisons. In the statistical analyses STATA 12.1SE (College Station, Texas, USA) was used.

RESULTS

Restriction/Refeeding Cycles: Body Weight and Food Intakes

Main effects of caloric restriction, time and caloric restriction vs. time were found on body weight gain changes (%) in each R/R cycle [$F_{\text{caloric restriction}}(1,51) = 15.70, p < .001$, partial eta-squared = .1280; $F_{\text{time}}(2,102) = 51.76, p < .001$, partial eta-squared = .5036; $F_{\text{caloric restriction vs. time}}(2,102) = 10.50, p < .001$, partial eta-squared = .1707]. Post hoc test showed in the first cycle a lower body weight gain changes (%) in FR vs. FN ($p = .006$) and FR vs. SN ($p = .016$) (Fig. 1). ANOVA did not show a main effect on body weight changes (%) among the groups in the second and third cycles (data not shown).

Main effects of caloric restriction, time and caloric restriction vs. time were found on chow intake in each refeeding phases [$F_{\text{caloric restriction}}(1,51) = 98.04, p < .001$, partial eta-squared = .8186; $F_{\text{time}}(2,102) = 65.62, p < .001$, partial eta-squared = .5626; $F_{\text{caloric restriction vs. time}}(2,102) = 4.02, p = .0300$, partial eta-squared = .0730]. Post hoc test showed

an increase of chow intake in each refeeding phases in SR vs. SN ($p < .001$), FR vs. FN ($p < .001$) and FR vs. SN ($p < .001$) (Fig. 2.A). Main effects of caloric restriction, time and caloric restriction vs. time were found on palatable food intake in the first and second cycles [$F_{\text{caloric restriction}}(1,51) = 20.44, p < .001$, partial eta-squared = .7147; $F_{\text{time}}(1,51) = 27.82, p < .001$, partial eta-squared = .3529; $F_{\text{caloric restriction vs. time}}(1,51) = 5.07, p = .0287$, partial eta-squared = .0903]. Post hoc test showed an increase of palatable food intake in the first cycle in SR vs. SN ($p < .001$), as well as in the second cycle in SR vs. SN ($p < .001$) and FR vs. FN ($p = .010$) (Fig. 2.B).

Feeding Test after Restriction/Refeeding Cycles

Main effects of caloric restriction and time were found on palatable food intake in the feeding test [$F_{\text{caloric restriction}}(1,51) = 4.73, p = .0343$, partial eta-squared = .2905; $F_{\text{time}}(4,204) = 542.27, p < .001$, partial eta-squared = .9140]. Post hoc test did not show an increase of palatable food intake among the groups in the feeding test (Fig. 3). ANOVA did not show a main effect on chow intake among the groups in the feeding test (data not shown). After the feeding test, a main effect of caloric restriction was found on body weight gain changes (%) during 1 week [$F_{\text{caloric restriction}}(1,47) = 8.15, p = .0064$, partial eta-squared = .1478]. An increase body weight gain (%) was found in FR vs. SN ($p = .035$) (Fig. 4). ANOVA did not show a main effect on chow intake among the groups during 1 week (data not shown).

Feeding Test at Adulthood

A main effect of time was found on palatable food intake in this feeding test [$F_{\text{time}}(4,180) = 282.17, p < .001$, partial eta-squared = .8624]. Post hoc test did not show an increase of palatable food intake among the groups in this feeding test (Fig. 5). ANOVA did not show a main effect on chow intake among the groups in this feeding test (data not shown).

DISCUSSION

In this study, the hypothesis that early life experience with administration of selective serotonin reuptake inhibition (SSRI) during breastfeeding period can influence the binge eating phenotype was tested through of a model of binge eating. After this model, composed to three Restriction/Refeeding cycles, the animals were submitted to a feeding test. The purposed of this feeding test was observed the binge eating phenotype. However, in this test did not observe binge eating in our animals. Different results was showed in previous studies, in which a minimum of three R/R cycles was sufficient to promote binge eating in stressed restricted rats (Hagan et al., 2002, 2003). Besides this test was made another feeding test, but also did not observed binge eating. The purposed of this second feeding test was observed the long-lasting

influence of R/R cycles on feeding behavior, as well as a recovering of the feeding memory that possibly was consolidated in the first feeding test, after R/R cycles.

This absence of binge eating behavior in either effect (short or long-lasting) of R/R cycles could be due to the fact that we used Wistar rats and Hagan et al (Hagan et al., 2002) used Sprague-Dawley rats (Hildebrandt et al., 2014). Moreover, this abnormal feeding behavior remained after several R/R cycles (Artiga et al., 2007) when the animals were satiated or hungry (Hagan & Moss, 1997). However, R/R cycles altered the serotonin function with consequences in the feeding behavior, as well as in the regulation of reward and mood that are dependent on dopamine/serotonin interactions (Chandler-Laney et al., 2007). In other studies, R/R cycles altered the serotonergic control of feeding, as suggested by blockade of binge-eating by fluoxetine (Chandler-Laney et al., 2007; Placidi et al., 2004) in rats under anorectic effects of the acute fluoxetine treatment (Placidi et al., 2004). Also, caloric restriction did not show a change metabolic state when stress induced binge-like eating in rats under satiety state (Hagan et al., 2002).

Concerning to R/R cycles, in which restricted rats showed body weight variations since that lost and recovered body weight during the restriction and refeeding phases, respectively (Artiga et al., 2007; Hagan et al., 2002). Our rats submitted to fluoxetine treatment in the breastfeeding period only showed lower weight gain changes (%) after the first restriction phase (first R/R cycles). In true, this result was not found in the second or third R/R cycles, thus our restricted rats started the feeding test in satiety state like others studies that used caloric restriction (Artiga et al., 2007; Boggiano et al., 2005; Hagan et al., 2002) to induce binge eating. In our consecutive R/R cycles, the lack of body weight changes (%) among our rats could be due to increased food intake of the restricted rats during the refeeding phases. Moreover, the increased palatable food intake was not accompanied by decrease chow intake, differently to rats without history of caloric restriction (Berner et al., 2008) that self-restricted chow intake as a result of binge access (2h) for palatable food. In addition, the body weight changes (%) were consistent with similar binge-like eating models (Fechine et al., 2016; Hagan et al., 2002, 2003), in which were observed physiologic adaptations due to food restriction phases once that the rats started the feeding test in satiety state. Thus, our results suggest that the differences in palatable food intake in the feeding test can be due to different types of stress stimuli through life.

Interestingly, 1 week after the feeding test (after three R/R cycles) was found that the two factors together, fluoxetine treatment in the breastfeeding period and caloric restriction phases (R/R cycles) were able to influence an obesity phenotype. Considering the influence of the early life experience, a study with rats found that fluoxetine treatment during breastfeeding

period decreased the body weight gain until 60 days of life (da Silva et al., 2014). Related to influence of R/R cycles, another study found that caloric restriction was not necessary to use caloric restriction to induce body weight fluctuations and contribute to obesity (Berner et al., 2008). Under limited (2h) access to palatable food (Berner et al., 2008), not restricted rats besides of body weight fluctuations, every day gained significantly more body weight than the control group with standard chow available *ad libitum*. Thus, our results suggest that the increased body weight or obesity later in life can be due to an incapacity of body weight regulation after the synergic effect of two factors included in this study, in this case the fluoxetine treatment in nursing period and caloric restriction (R/R cycles).

According to many investigations, R/R cycles was important in an animal model that used a foot shock stress (Boggiano et al., 2005; Hagan et al., 2002, 2003) or feeding stress (Cifani et al., 2009) to induce binge eating. However, in this model here used, the fluoxetine treatment in the breastfeeding period did not induce binge eating after R/R cycles. Thus, adaptations provide of the early fluoxetine treatment did not induce modifications in feeding behavior in associated to caloric restriction (R/R cycles) during the applied of our binge eating model. As well the long-lasting effect of these R/R cycles, that was expected to contribute to a binge eating phenotype, also was not found at adulthood. Differently to long-lasting stress-induced binge-eating in which rats demonstrated a permanent binge eating behavior after several R/R cycles (Artiga et al., 2007). In these perspectives, after R/R cycles, early fluoxetine treatment did not contribute to induce or sustain binge eating in short or long-lasting, respectively.

Acknowledgments

This study had financial support of FACEPE (1944-4.05/12), CNPq (482701/2012-9), CAPES and CAPES-COFECUB (Action Number Me 657/09). The authors are thankful to José Natal Figueiroa, who performed the statistical analysis.

Figure Captions

1

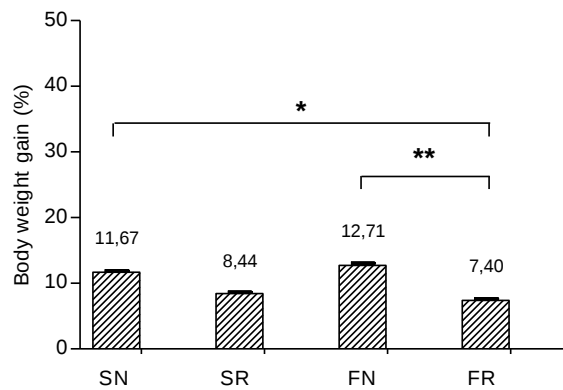


Figure 1. Body weight changes (%) in the R/R cycles: First R/R cycle: $*p < .05$ (FR vs. SN) and $**p < .01$ (FR vs. FN). Restricted groups [Saline (SR) and Fluoxetine (FR)] and Naïve groups [Saline (SN) and Fluoxetine (FN)]. Data are mean $\pm$ SEM.

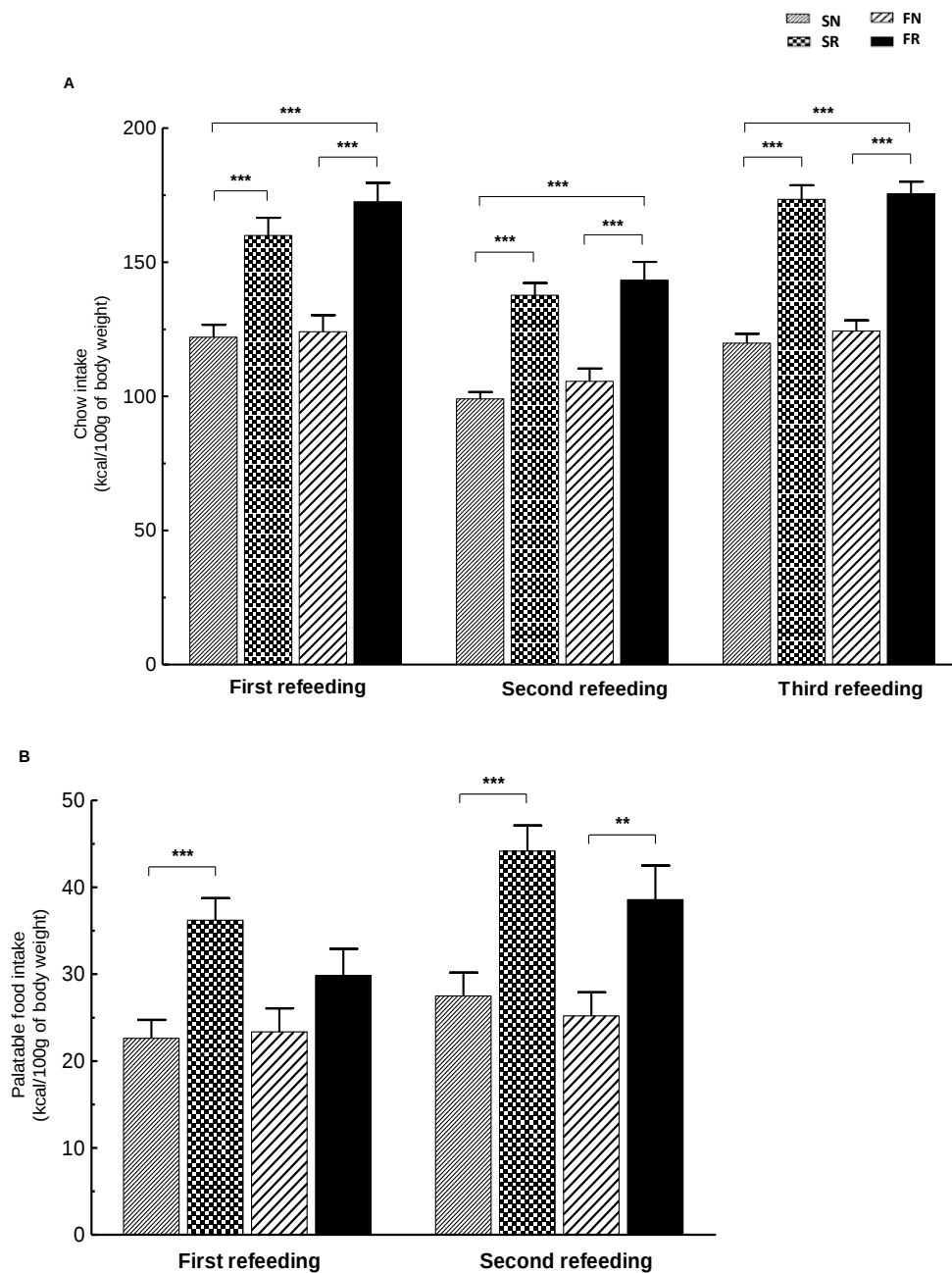


Figure 2. Food intake (kcal/100g of body weight) in the R/R cycles: (A) Chow intake in each one of three refeeding phases: $***p < .001$ (SR vs. SN, FR vs. FN and FR vs. SN); (B) Palatable food intake: First refeeding [$***p < .001$ (SR vs. SN)]; Second refeeding [$**p < .01$ (FR vs. FN)] and $***p < .001$ (SR vs. SN)]. Restricted groups [Saline (SR) and Fluoxetine (FR)] and Naïve groups [Saline (SN) and Fluoxetine (FN)]. Data are mean $\pm$ SEM.

3

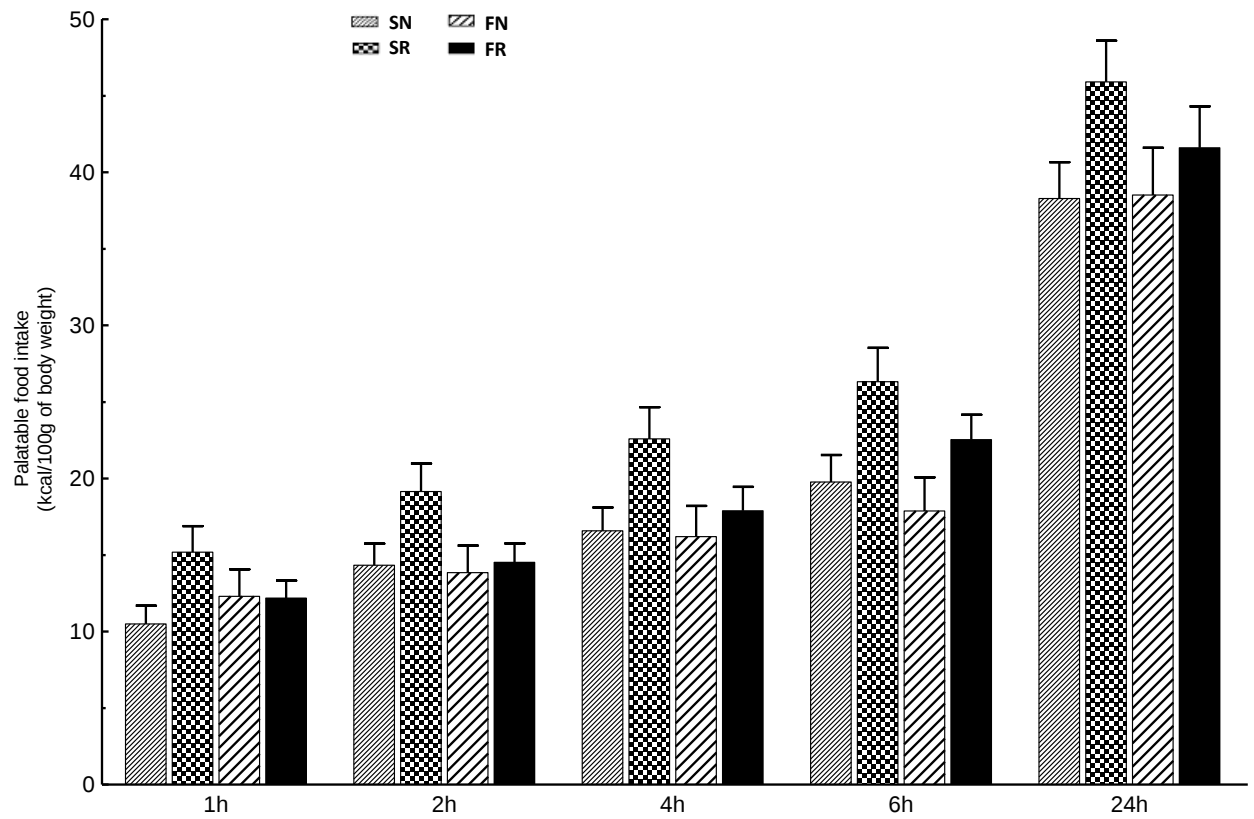


Figure 3. Palatable food intake (kcal/100g of body weight) in the feeding test: ANOVA did not show a main effect on palatable food intake among the groups. Restricted groups [Saline (SR) and Fluoxetine (FR)] and Naïve groups [Saline (SN) and Fluoxetine (FN)]. Data are mean $\pm$ SEM.

4

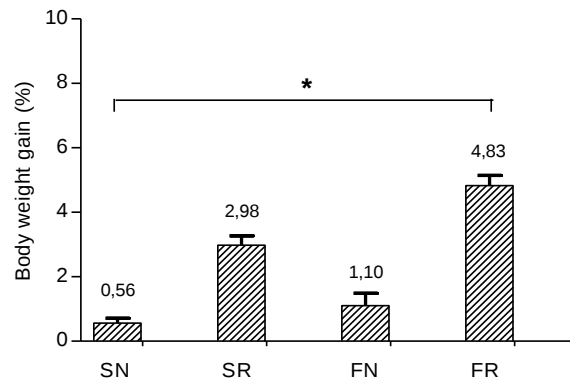


Figure 4. Body weight gain changes (%) 1 week after the feeding test (after R/R cycles): $*p < .05$ (FR vs. SN). Restricted groups [Saline (SR) and Fluoxetine (FR)] and Naïve groups [Saline (SN) and Fluoxetine (FN)]. Data are mean $\pm$ SEM.

5

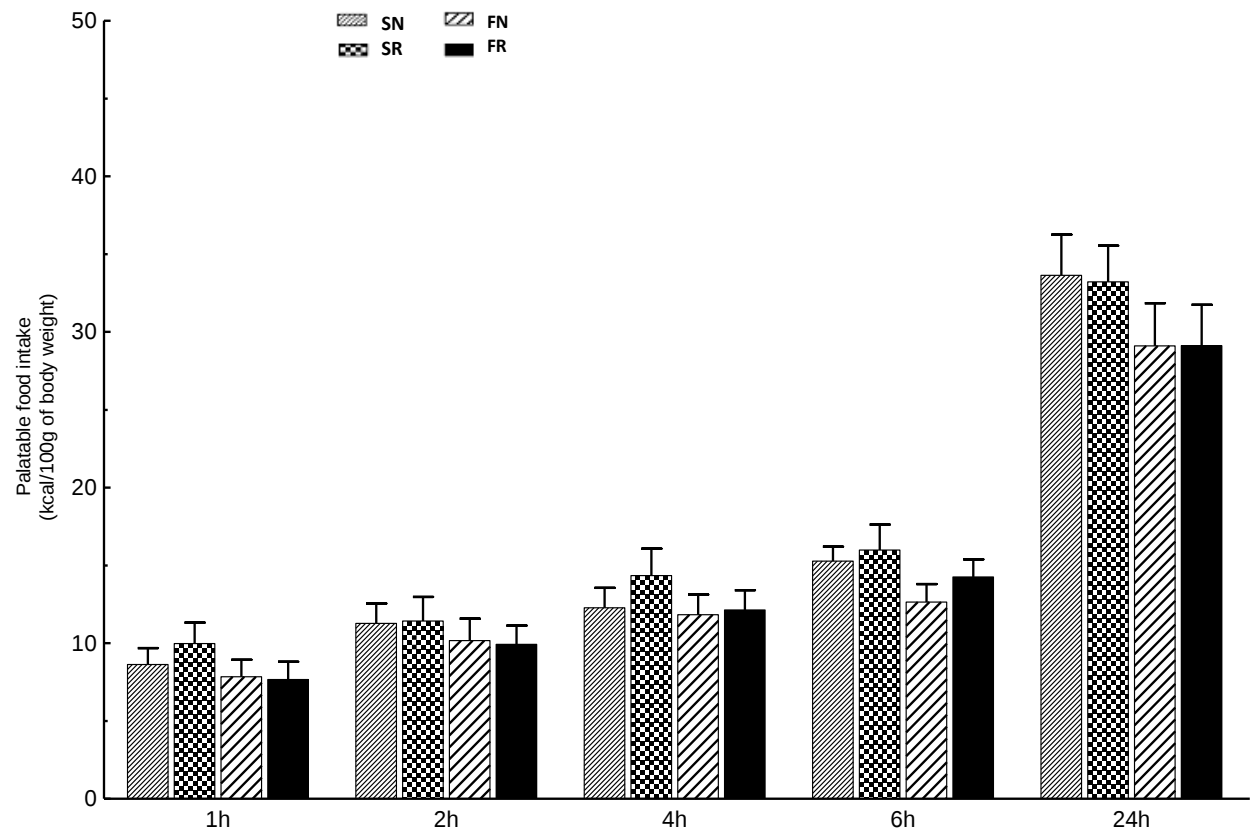


Figure 5. Feeding test at adulthood: ANOVA did not show a main effect on palatable food intake among the groups. Restricted groups [Saline (SR) and Fluoxetine (FR)] and Naïve groups [Saline (SN) and Fluoxetine (FN)]. Data are mean $\pm$ SEM.

REFERENCES

1. AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. 2013. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-V. Washington, DC: American Psychiatric Association.
2. ARTIGA A.I., VIANA J.B., MALDONADO C.R., CHANDLER-LANEY P.C., OSWALD K.D., BOGGIANO M.M. 2007. Body composition and endocrine status of long-term stress-induced binge-eating rats. *Physiol Behav* 91:424–431.
3. BARRY DT, GRILO CM, MASHEB RM. 2002. Gender differences in patients with binge eating disorder. *Int J Eat Disord* 31: 63–70.
4. BELIK, J. 2008. Fetal and neonatal effects of maternal drug treatment for depression. *Semin. Perinatol.* 32; 350–354.
5. BERNER, L.A., AVENA, N.M., HOEBEL, B.G. 2008. Bingeing, self-restriction, and increased body weight in rats with limited access to a sweet-fat diet. *Obesity (Silver Spring)* 16, 1998 e 2002.
6. BOGGIANO MM, CHANDLER PC, VIANA JB, OSWALD KD, MALDONADO CR, WAUFORD PK. 2005. Combined dieting and stress evoke exaggerated responses to opioids in binge-eating rats. *Behav Neurosci.* 119:1207–1214.
7. BORUE X, CHEN J, CONDRON BG. 2007. Developmental effects of SSRIs: lessons learned from animal studies, *Int. J. Dev. Neurosci.* 25; 341–347. Review.
8. CHANDLER-LANEY PC, CASTANEDA E, VIANA JB, OSWALD KD, MALDONADO CR, BOGGIANO MM. 2007. 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.
9. CIFANI C, POLIDORI C, MELOTTO S, CICCOCIOPPPO R & MASSI M. 2009. A preclinical model of binge eating elicited by yo-yo dieting and stressful exposure to food: effect of sibutramine, fluoxetine, topiramate, and midazolam. *Psychopharmacology (Berl)*, 204(1), 113–125.
10. DA SILVA AI, BRAZ GR, SILVA-FILHO R, PEDROZA AA, FERREIRA DS, MANHÃES DE CASTRO R, LAGRANHA C. 2015. Effect of fluoxetine treatment on mitochondrial bioenergetics in central and peripheral rat tissues. *Appl Physiol Nutr Metab.* Jun. 40 (6):565-74.
11. DA SILVA AI, MONTEIRO GALINDO LC, NASCIMENTO L, MOURA FREITAS C, MANHAES-DE-CASTRO R, LAGRANHA CJ, LOPES DE SOUZA S. 2014. Fluoxetine treatment of rat neonates significantly reduces oxidative stress in the hippocampus and in

behavioral indicators of anxiety later in postnatal life. *Can J Physiol Pharmacol.* Apr. 92(4):330-7.

12. DAVANZO R, COPERTINO M, DE CUNTO A, MINEN F AND AMADDEO A. 2011. Antidepressant drugs and breastfeeding: a review of the literature. *Breastfeed. Med.* 6: 89–98.

13. DE VRY J & SCHREIBER R. 2000. Effects of selected serotonin 5-HT (1) and 5-HT (2) receptor agonists on feeding behavior: Possible mechanisms of action. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews.* 24(3), 341-353.

14. FECHINE MF, BORBA TK, CABRAL-FILHO JE, BOLAÑOS-JIMÉNEZ F, LOPES-DE-SOUZA S, MANHÃES-DE-CASTRO R. 2016. Can early protein restriction induce the development of binge eating? *Behav Processes.* Apr.125:19-25.

15. FRANCIS-OLIVEIRA J, PONTE B, BARBOSA AP, VERISSIMO LF, GOMES MV, PELOSI GG, ET AL. 2013. Fluoxetine exposure during pregnancy and lactation: Effects on acute stress response and behavior in the novelty-suppressed feeding are age and gender-dependent in rats. *Behav. Brain Res.* 252: 195–203.

16. HAGAN MM, CHANDLER PC, WAUFORD PK, RYBAK RJ, OSWALD KD. 2003. The role of palatable food and hunger as trigger factors in an animal model of stress induced binge-eating. *Int J Eat Disord.* 34:183-97.

17. HAGAN MM & MOSS DE. 1997. 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, 411-420.

18. HAGAN MM, WAUFORD PK, CHANDLER PC, JARRETT LA, RYBAK RJ & BLACKBURN K. 2002. A new animal model of binge eating: key synergistic role of past caloric restriction and stress. *Physiology & Behavior.* 77(1), 45–54.

19. HALFORD JC AND BLUNDELL JE. 1996. The 5-HT_{1B} receptor agonist CP-94,253 reduces food intake and preserves the behavioural satiety sequence. *Physiol. Behav.* 60: 933-939.

20. HILDEBRANDT BA, KLUMP KL, RACINE SE, SISK CL. 2014. Differential strain vulnerability to binge eating behaviors in rats. *Physiol Behav.* 127:81-6.

21. MANHÃES-DE-CASTRO R, BARRETO-MEDEIROS JM, MENDES DA SILVA C, FERREIRA LM, GUEDES RCA, CABRAL FILHO JE, COSTA JA. 2001. Reduction of intraspecific aggression in adult rats by neonatal treatment with a selective serotonin reuptake inhibitor, *Braz. J. Med. Biol. Res.* 34 (1) 121–124.

22. PLACIDI RJ, CHANDLER PC, OSWALD KD, MALDONADO C, WAUFORD PK, BOGGIANO MM. 2004. Stress and Hunger Alter the Anorectic Efficacy of Fluoxetine in Binge-Eating Rats with a History of Caloric Restriction. *Int J Eat Disord* 36: 328–341.
23. SILVA CM, GONÇALVES L, MANHAES-DE-CASTRO R, NOGUEIRA MI. 2010. Postnatal fluoxetine treatment affects the development of serotonergic neurons in rats. *Neurosci Lett*. 483(3):179-83.
24. VASVANI M, LINDA FK, RAMESH S. 2003. Role of selective serotonin reuptake inhibitors in psychiatric disorders: a comprehensive review. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 27:85–102.

D - Análises Físico-Químicas da dieta palatável utilizada nos modelos experimentais de compulsão alimentar.

 INSTITUTO AGRONÔMICO DE PERNAMBUCO - IPA Vinculado à Secretaria de Agricultura e Reforma Agrária LABORATÓRIO DE ANÁLISE DE PLANTA, RAÇÃO E ÁGUA - LAPRA BOLETIM DE ANÁLISE DE RAÇÃO (MINERAIS)																					
INTERESSADO		Eryvelton de Souza Franco																			
PROCEDÊNCIA		UFPE																			
MUNICÍPIO		Recife/PE																			
REMESSA		028																			
		QUANTIDADE DE AMOSTRA				01 AMOSTRA		DATA DE ENTRADA		13/08/2013		MATERIAL		DATA DE SAÍDA		27/08/2013					
Nº AMOSTRA	REFERÊNCIA	N	Nitrogênio %	P	Fósforo %	K	Potássio %	Na	Sódio %	Ca	Cálcio %	Mg	Magnésio %	Fe	Ferro %	Mn	Manganês %	Zn	Zinco %	Cu	Cobre %
436	Ração Dieta Nutela	-	-	-	-	2,08	-	1,04	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

De acordo com A.O.A.C. Official Methods of Analysis. Association of Official Agricultural Chemists. 18. ed. (2007)

Obs.: Os resultados são expressos em matéria seca e se aplicam tão somente à amostra trazida pelo interessado.

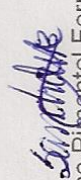

Marlene Pimentel Ferreira
Sandra Mendes Batista
ANALISTA


Dr. Jéssy da Paiva Oliveira
Drª Arminda Saconi Messias
RESPONSÁVEL TÉCNICO

Av. Gal. San Martin, 1371 – Bongl – 50761-000 – Recife – PE – C.P. 1022 – CNPJ 10.912.293/0001-37
Telephone: (081) 3184-7200 PABX: (81) 3184-7211 – Site: www.ipa.br / E-mail: ipa@ipa.br

 INSTITUTO AGRONÔMICO DE PERNAMBUCO - IPA Vinculado à Secretaria de Agricultura e Reforma Agrária LABORATÓRIO DE ANÁLISE DE PLANTA, RAÇÃO E ÁGUA - LAPRA BOLETIM DE ANÁLISE DE RAÇÃO												
INTERESSADO	Eryvelton de Souza Franco											
PROCEDÊNCIA	UFPE											
MUNICÍPIO	Recife /PE	QUANTIDADE DE AMOSTRA	01	MATERIAL		Ração Dieta Nutela						
REMESSA	028	DATA DE ENTRADA	13/08/2013	DATA DE SAÍDA		27/08/2013						
Nº AMOSTRA	436	REFERÊNCIA	Ração Dieta Nutela	MS Matéria Seca (105 °C) %	MM Matéria Mineral %	NT Nitrogênio Total %	PT Proteína Total %	FDA Fibra Detergente Ácido %	FDN Fibra Detergente Neutro %	ENN Extrato não Nitrogenado %	FT Fibra Total %	EE Extrato Etéreo %
				96,22	2,31	2,24	13,97	11,77	15,47	64,38	0,71	18,56

De acordo com A.O.A.C. *Official Methods of Analysis*. Association of Official Agricultural Chemists. 18. ed. (2007)
Obs.: Os resultados são expressos em matéria seca e se aplicam tão somente à amostra trazida pelo interessado.


Marilene Pimentel Ferreira
Sandra Mendes Batista
ANALISTA


Dr. José de Paula Oliveira
Dra. Armanda Saconi Messias
RESPONSÁVEL TÉCNICO

Av. Gal. San Martin, 1371 - Bongl - 50761-000 - Recife - PE - C.P. 1022 - CEP 10.912.293/0001-37
Telephone: (081) 3184-7200 PABX: (81) 3184-7211 - Site: www.ipa.br / E-mail: ipa@ipa.br

E - Pareceres dos Comitês de Ética em Experimentação Animal (CEAA) da Universidade Federal de Pernambuco (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

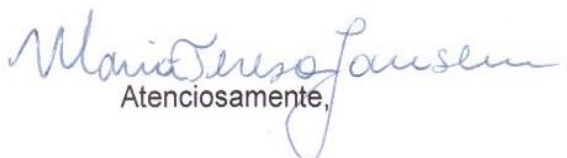
Da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEAA) da UFPE
Para: **Profa. Sandra Lopes de Souza**
Departamento de Anatomia - CCB
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 23076.005614/2008-65

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

Concluimos 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 CEEAA-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,

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



Ofício nº 445/12

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: **Prof. Raul Manhaes de Castro**
Departamento de Nutrição-UFPE
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 23076.017246/2012-84

Os membros da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado, **"Pode a compulsão alimentar em ratas ser programada por desnutrição perinatal?"**.

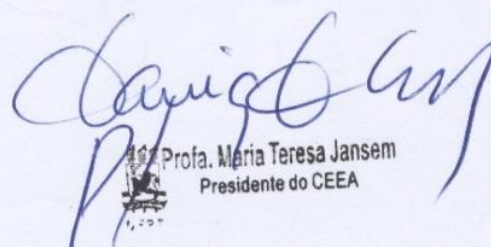
Concluimos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals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

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos.

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

Origem dos animais: Biotério do Departamento de Nutrição-UFPE; Animais: Ratos; Linhagem: Wistar; Sexo: fêmeas; Número de animais previsto no protocolo: 96 ratos; Peso: 220-250g; Idade: 1-120 dias.

Atenciosamente,



Prof. Maria Teresa Jansem
Presidente do CEEA

Recife, 01 de junho de 2012.



**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, 08 de junho 2015.

Ofício nº 53/15

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: Prof.º Raul Manhaes de Castro
Departamento de Nutrição
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 23076. 010097/2015-75

Os membros da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado, "**Pode a compulsão alimentar em ratos ser programada por manipulação do sistema serotoninérgico durante a lactação?**". Concluimos 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 CEUA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos.

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

Origem dos animais: Biotério do Departamento de Nutrição; Animais; Rato Heterogênico; Linhagem; Wistar; Idade; 30 a 120 dias; Peso; 250g; Sexo; fêmea; Nº total de Animais; 80.

Atenciosamente

 Prof. Dr. Pedro V. Carelli
Presidente da CEUA / CCB - UFPE
SIAPE 1801584