

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE  
UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE  
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA**

**JOÃO MANOEL DE SOUSA SILVA**

**COMPARAÇÃO DE PARÂMETROS DE ANSIEDADE ENTRE MACHOS E  
FÊMEAS DA PROLE DE RATAS WISTAR SUPLEMENTADAS COM ÓLEO DE  
MILHO (*Zea mays*) DURANTE A GESTAÇÃO E LACTAÇÃO**

**CUITÉ - PB**

**2022**

JOÃO MANOEL DE SOUSA SILVA

COMPARAÇÃO DE PARÂMETROS DE ANSIEDADE ENTRE MACHOS E FÊMEAS  
DA PROLE DE RATAS WISTAR SUPLEMENTADAS COM ÓLEO DE MILHO (*Zea  
mays*) DURANTE A GESTAÇÃO E LACTAÇÃO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à  
Coordenação do Curso de Bacharelado em  
Farmácia do Centro de Educação e Saúde da  
Universidade Federal de Campina Grande –  
Campus Cuité, como requisito obrigatório para  
obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dra. Flávia Negromonte Souto  
Maior.

CUITÉ-PB

2022

S586c

Silva, João Manoel de Sousa.

Comparação de parâmetros de ansiedade entre machos e fêmeas da prole de ratas wistar suplementadas com óleo de milho (*Zea mays*) durante a gestação e lactação / João Manoel de Sousa Silva. – Cuité, 2022. 39 f. : il. color.

Monografia (Bacharelado em Farmácia) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, 2022.

"Orientação: Profa. Dra. Flávia Negromonte Souto Maior".

Referências.

1. Nutrição Animal. 2. Óleo de Milho (*Zea mays*). 3. Ansiedade – Machos e Fêmeas – Ratas Wistar. 4. Neurodesenvolvimento. 5. Gestação – Ratas Wistar. 6. Sistema Nervoso Central. I. Maior, Flávia Negromonte Souto. II. Título.

CDU 591.53(043)

JOÃO MANOEL DE SOUSA SILVA

COMPARAÇÃO DE PARÂMETROS DE ANSIEDADE ENTRE MACHOS E FÊMEAS  
DA PROLE DE RATAS WISTAR SUPLEMENTADAS COM ÓLEO DE MILHO (*Zea  
mays*) DURANTE A GESTAÇÃO E LACTAÇÃO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à  
Coordenação do Curso de Bacharelado em  
Farmácia do Centro de Educação e Saúde da  
Universidade Federal de Campina Grande –  
Campus Cuité, como requisito obrigatório para  
obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Aprovado em: 22/07/2022.

BANCA EXAMINADORA

Flávia Negromonte Souto Maior

Profª Dra. Flávia Negromonte Souto Maior  
Universidade Federal de Campina Grande  
Orientadora

Raphaella Veloso Rodrigues Dantas

Profª Dra. Raphaella Veloso Rodrigues Dantas  
Universidade Federal de Campina Grande  
Examinadora

Maria Emília da Silva Menezes

Profª Dra. Maria Emília da Silva Menezes  
Universidade Federal de Campina Grande  
Examinadora

CUITÉ-PB

2022

À Deus, por ser meu sustento em todos os momentos difíceis. Aos meus pais, irmã e familiares, por fazer desta caminhada um sonho possível.

**Dedico.**

## AGRADECIMENTOS

Não tenho muitas certezas na vida, mas uma eu tenho: que o caminho até aqui não foi nada fácil, sempre foram mais espinhos do que flores. Mas, o caminho para quem consegue coisas fáceis na vida não tem tanta graça e cor quanto o de quem rala para ser quem sonha. E durante esse caminho, houveram vários atenuantes para que minha cabeça permanecesse no lugar.

Primeiramente, e inevitavelmente, gostaria de agradecer a Deus e a todos os seres da Natureza por ter me erguido nos momentos tão difíceis de provação que eu passei ao longo desses 5 anos de curso. Obrigado por me fazer senti-los nesses momentos, e me auxiliar a continuar firme nessa caminhada tão árdua e incessante. Juntamente a esse primeiro agradecimento, gostaria de agradecer aos meus pais Neuma Pinheiro e Augusto Gomes, e a minha irmã Claudia Augusta, por todo o apoio durante todo esse tempo. Vocês nunca deixaram, ainda que em meio às dificuldades, de me incentivar a conquistar os meus sonhos, bem como sempre estiveram ali presentes em todas as fases da minha vida, de forma fundamental, indispensável e imprescindível. Vocês são a base de tudo o que sou, eu estou em vocês e vocês em mim. Eu amo vocês!

Em seguida, gostaria de agradecer à todas as minhas tias Francisca das Chagas (e também madrinha), Neusa Pinheiro, Elsa Pinheiro (in memoriam) e Josinete Firmino por todo o apoio e preocupação durante todo esse tempo de graduação, por todas as vezes que estiveram ali de pronta e nunca hesitaram em me ajudar. Eu amo vocês!

Às minhas primas Thaysa Joane, Francilucia Pinheiro, Ítala Adriene, e Francilene Pinheiro por toda a ajuda, apoio, amizade e carinho durante todo esse tempo, e que ainda de longe, me divertiam e me entretinham por meio das redes sociais, procurando sempre saber como eu estava, e compartilhando notícias da nossa família e também das redondezas. Ainda, nesse espaço, gostaria de agradecer ao meu primo Vitório Expedito, meu confidente, pela companhia e parceria de sempre. Eu amo vocês!

Às minhas amigas Ana Beatriz (Julia Bea), Amanda Canzenza (Mandy), Kaline Cortês (Kallys Anny), Valdicleide Mello (Glícia) pela parceria durante todo o curso relacionada a estudos, surtos, madrugadas viradas, mas também farras, viagens, experiências compartilhadas, momentos desabafo e muita diversão. À minha amiga Graciele Oliveira, a quem chamo carinhosamente de Isis e digo que ela foi minha esposa, por todos os momentos que moramos e vivemos juntos, por toda sofrência compartilhada por nós, por todos os desabafos, e também por todos os momentos de diversão que passamos juntos. A meu amigo Douglas Domingos, a

quem chamo carinhosamente de Mainha, por todo o significado que esta palavra carrega, muito obrigado pelos momentos de reflexão, pelas histórias por você compartilhadas, por todas as experiências significativas, conversas e momentos de diversão que passamos juntos. Ao meu amigo Pablo Matheus, por todos os momentos de diversão que compartilhamos. Vocês foram imprescindíveis para que esses 5 anos árduos se tornassem mais doces e toleráveis. Eu amo vocês!

Aos meus amigos e parceiros de pesquisa Roseane Souza, Elen Alves, Rafaella Charllany, Samarina Karoline e Diogo Leonardo, por todo o apoio na pesquisa, momentos juntos no LANEX e pela divisão da carga que é ter que ir todos os dias, durante 60 dias, para o Biotério às 06h da manhã. A todos vocês, meu muito obrigado!

A minha amiga de infância Katiuci Kelly, que por mais que tenhamos nos vistos pouco nesses últimos 4 anos, mas sua amizade continua sendo significativa, importante e indispensável em minha vida. A minha amiga Alcilene Lourenço, da qual tenho intensamente me aproximado nos últimos 5 anos, por toda sua amizade, pelos momentos e memórias que construímos juntos e por toda a parceria e preocupação para comigo. A minha amiga Pollyana Tavares, por nossa amizade e toda a parceria e momentos que tivemos juntos, pelos nossos gostos, que são os mesmos, por toda nossa experiência compartilhada. A minha amiga Maria Flávia, por toda nossa ligação espiritual, por sempre estar ali, por sempre compartilhar comigo suas experiências, por sempre ouvir minhas ideias loucas que surgem do nada em minha mente, por já saber o que eu quero dizer quando ainda estou formulando o pensamento. A minha amiga Maria Luiza, por todos os momentos que vivemos juntos, por nosso grude durante todos os 4 anos do IF, pelas loucuras já vividas juntos. A Junior Borges, por todos os momentos que passamos juntos, pelas ótimas memórias das quais compartilhamos. Ao meu irmão Everton Cesar, por toda a parceria e bons momentos que já vivemos juntos. Eu amo vocês!

A minha orientadora, Flávia Negromonte Souto Maior, por todo o apoio durante esse tempo, por me incentivar, por me fazer apaixonar pela docência e ter certeza de que o que eu quero para minha vida é seguir nessa área. Desde o período de 2019.1, quando paguei Patologia com a senhora, fiquei encantado com toda sua didática e com sua forma perfeita de ensinar, e foi naquele momento que decidi ter a senhora como minha mentora durante todo o resto do curso, e que quero ser “Flávia” na vida de muitos alunos. És minha inspiração e modelo de como ser professor. À senhora, todo o meu respeito e admiração possíveis!

A Raphaela Veloso Rodrigues Dantas, minha orientadora da iniciação científica que originou este TCC, muito obrigado por ter me aceitado como seu orientando, a senhora foi um marco para que todo este projeto pudesse acontecer. A José Alixandre de Sousa Luís, orientador da minha primeira iniciação científica, por ter me dado a oportunidade de participar do projeto contigo, e me dar a experiência do primeiro contato com a pesquisa. Vocês foram muito importantes nesta caminhada!

Enfim, gostaria de agradecer a todos que participaram da construção do meu caminho, direta ou indiretamente, que de alguma forma contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional.

*É preciso de um final pra poder recomeçar,  
como é preciso cair pra poder se levantar.  
Nem sempre engatar a ré  
significa voltar.*

*Bráulio Bessa*

## RESUMO

O milho é uma das culturas mais importantes para a economia brasileira, sendo a segunda maior produção de grãos no território nacional. O óleo de milho é um produto agroalimentar extraído do gérmen do milho. Este óleo apresenta alto valor nutricional, contendo em sua composição um alto teor de ácidos graxos poliinsaturados, dos quais os principais são os ácidos palmítico, oleico e linoleico, como também elevados níveis de vitamina A e E. Sabe-se que, durante a gravidez, mulheres passam por processos fisiológicos de adaptação que culminam na diminuição de alguns nutrientes, tais como os ácidos graxos, o que pode trazer complicações para a mesma, além destes serem importantes para a formação do sistema nervoso central do feto. Sabendo da composição do óleo de milho, e dos benefícios que o consumo do mesmo pode trazer, este estudo tem como objetivo avaliar a influência da suplementação materna de ratas *Wistar*, durante os períodos de gestação e lactação, com óleo de milho, sobre parâmetros de ansiedade na prole dessas ratas. Foram formados dois grupos a partir das mães: Grupo Controle (GC), as quais receberam óleo de soja e o Grupo Óleo de Milho (GM), aos quais foram administradas a dose de 0,3mL/100g de peso do respectivo óleo. A suplementação aconteceu diariamente, por meio de gavagem, durante todo o período de gestação e lactação. Os animais da prole, em quantidade padronizada de 9 ratos machos e 7 ratas fêmeas, foram submetidos a três testes de avaliação de parâmetros de ansiedade: os testes do Labirinto em Cruz Elevado (LCE), Habituação em Campo Aberto (CA) e Caixa Claro-Escuro (CE). Para analisar os resultados obtidos, foi utilizado o teste *T Student*, levando em consideração o nível de significância para rejeição da hipótese nula de  $p < 0,05$ . As análises estatísticas foram realizadas através do software *Graph Pad Prism*, versão 9.0.0. Ao final dos testes, e após as análises dos resultados, pôde-se observar que a suplementação com óleo de milho na dose supracitada não foi capaz de reduzir parâmetros de ansiedade dos animais nos parâmetros avaliados nos aparelhos do LCE nem da CE, onde todos os parâmetros apresentaram  $p > 0,05$ . Quando avaliamos os indicadores do CA, pôde-se observar que a suplementação gerou efeitos estatisticamente positivos nos parâmetros de ambulação e grooming nos machos e fêmeas oriundos do GM ( $p = 0,0477$  para os machos e  $p = 0,0406$  para as fêmeas no parâmetro de ambulação;  $p = 0,0179$  para os machos e  $p = 0,0063$  para as fêmeas no parâmetro de grooming), e no parâmetro de tempo nos cantos nas fêmeas oriundas do GM ( $p = 0,05343$ ). Por fim, pode-se concluir que a suplementação com óleo de milho durante a gestação e lactação, nesta pesquisa, foi capaz apenas de alterar parâmetros de ansiedade no aparelho do Campo Aberto. Ainda, com base nos resultados obtidos, conclui-se não houve diferenças significativas de parâmetros de ansiedade entre machos e fêmeas oriundos do GM, uma vez que os mesmos não diferiram de forma estatística nos parâmetros avaliados.

**Palavras-chave:** Óleo de Milho. Ansiedade. Neurodesenvolvimento. Gestação. Sistema Nervoso Central.

## ABSTRACT

Corn is one of the most important crops for the Brazilian economy, being the second largest grain production in the national territory. Corn oil is an agrifood product extracted from the corn germ. This oil has high nutritional value, containing in its composition a high content of polyunsaturated fatty acids, of which the main ones are palmitic, oleic, and linoleic acids, as well as high levels of vitamin A and E. It is known that during pregnancy, women go through physiological adaptation processes that culminate in the decrease of some nutrients, such as fatty acids, which can bring complications to the pregnancy, besides these being important for the formation of the central nervous system of the fetus. Knowing the composition of corn oil, and the benefits that its consumption can bring, this study aims to evaluate the influence of maternal supplementation of Wistar rats, during gestation and lactation, with corn oil, on anxiety parameters in the offspring of these rats. Two groups were formed from the mothers: Control Group (CG), which received soybean oil, and the Corn Oil Group (GM), to which were administered a dose of 0.3mL/100g of weight of the respective oil. Supplementation occurred daily, by gavage, during the entire period of gestation and lactation. The offspring animals, in a standardized quantity of 9 male and 7 female rats, were submitted to three tests to evaluate anxiety parameters: the Elevated Cross Maze (ECL), Open Field Habituation (AC) and the Light-Dark Box (EC) tests. To analyze the results obtained, we used the Student t-test, taking into account the significance level for rejection of the null hypothesis of  $p < 0.05$ . The statistical analyses were performed using Graph Pad Prism software, version 9.0.0. At the end of the tests, and after the analysis of the results, it could be observed that the supplementation with corn oil in the aforementioned dose was not able to reduce anxiety parameters of the animals in the parameters evaluated in the LCE or EC, where all parameters showed  $p > 0.05$ . When we evaluated the indicators of CA, we could observe that the supplementation generated statistically positive effects on the ambulation and grooming parameters in males and females from GM ( $p = 0.0477$  for males and  $p = 0.0406$  for females on the ambulation parameter;  $p = 0.0179$  for males and  $p = 0.0063$  for females on the grooming parameter), and on the time on cornering parameter in females from GM ( $p = 0.05343$ ). Finally, it can be concluded that the supplementation with corn oil during gestation and lactation, in this research, was only able to alter anxiety parameters in the Open Field apparatus. Also, based on the results obtained, it can be concluded that there were no significant differences in anxiety parameters between GM males and females, since they did not differ statistically in the parameters evaluated.

**Keywords:** Corn Oil. Anxiety. Neurodevelopment. Gestation. Central Nervous System.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1A-</b> Número de entradas nos braços abertos do LCE.....	27
<b>Figura 1B-</b> Tempo gasto pelos animais nos braços abertos do LCE.....	27
<b>Figura 1C-</b> Tempo gasto pelos animais no centro do LCE.....	27
<b>Figura 2A-</b> Ambulação dos animais no Campo Aberto.....	29
<b>Figura 2B-</b> Número de rearing dos animais no Campo Aberto.....	29
<b>Figura 2C-</b> Tempo de Grooming dos animais no Campo Aberto.....	29
<b>Figura 2D-</b> Número de bolos fecais dos animais no Campo Aberto.....	29
<b>Figura 2E-</b> Tempo gasto pelos animais nos cantos do Campo Aberto.....	29
<b>Figura 3A-</b> Tempo de permanência no lado claro da CCE.....	30
<b>Figura 3B-</b> Tempo de Permanência no lado escuro da CCE.....	30
<b>Figura 3C-</b> Número de transição dos animais entre os compartimentos claro e escuro da CCE.....	30

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

< - Menor que

± - Mais ou Menos

% - Porcentagem

°C - Graus célsius

**GC** - Grupo Controle

**GM** - Grupo Óleo de Milho

**MM** - Filhotes machos do GM

**FM** - Filhotes fêmeas do GM

**MS** - Filhotes machos do GC

**FS** - Filhotes fêmeas do GC

**CA** - Campo Aberto

**CCE** - Caixa Claro-Escuro

**LCE** – Labirinto em Cruz Elevado

**g** – Gramas

**mg/kg** - miligramas por quilograma

**SNC** - Sistema nervoso central

**UFCG** - Universidade Federal de Campina Grande

**UFPE** – Universidade Federal de Pernambuco

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>17</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	17
<b>3. REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>18</b>
3.1 ÓLEO DE MILHO .....	18
3.2 ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS E FORMAÇÃO DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL .....	18
3.3 BASES NEUROBIOLÓGICAS DA ANSIEDADE.....	18
3.4 ANSIEDADE NA GESTAÇÃO E IMPLICAÇÕES PARA O CONCEPTO ....	20
3.5 ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS E ANSIEDADE .....	20
3.6 INFLUÊNCIA DO SEXO BIOLÓGICO SOBRE O DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA NERVOSO E COMPORTAMENTO.....	21
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>23</b>
4.1 ANIMAIS E PROTOCOLO EXPERIMENTAL.....	23
4.2 TESTES DE ANSIEDADE .....	23
4.2.1 Teste do Labirinto em Cruz Elevado .....	24
4.2.2 Teste do Aparelho Claro/Escuro .....	24
4.2.3 Teste do Campo Aberto.....	24
4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	24
4.4 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	25
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>26</b>
5.1 LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO.....	26
5.2 CAMPO ABERTO.....	26
5.3 CAIXA CLARO/ESCURO.....	29
<b>6. DISCUSSÃO .....</b>	<b>31</b>

<b>7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>34</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>35</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>39</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays L.*) é uma das culturas mais importantes para a economia brasileira, sendo a segunda com maior produção de grãos no território nacional e com grande participação nas exportações, tendo, além dos benefícios econômicos, diversas outras aplicações, tais como alimentação humana e animal, produção de bebidas, combustíveis, dentre outros (SIMÃO, 2016; MIRANDA, 2018; SILVA *et al.*, 2020).

O óleo de milho apresenta um alto valor nutricional e propriedades sensoriais desejáveis como um leve sabor de noz (MOREAU, 2005). Contém em sua composição um alto teor de ácidos graxos poliinsaturados (RAMALHO; JORGE, 2006), além de ser fonte de altas concentrações de vitaminas E e A (CARVALHO, 2017), o que atribui a estes altos índices antioxidantes, mostrando-se assim ser essencial à saúde.

Os componentes lipídicos, especialmente os ácidos graxos, estão presentes nas mais diversas formas de vida, desempenhando importantes funções na estrutura das membranas celulares e nos processos metabólicos. Em humanos, os ácidos linoléico (18:2n-6, AL) e alfa-linolênico (18:3n-3, AAL), considerados ácidos graxos essenciais, são necessários para manter sob condições normais, as membranas celulares, as funções cerebrais e a transmissão de impulsos nervosos (MARTIN *et al.*, 2006).

Estes agentes, quando metabolizados após ingestão, são convertidos em alguns metabólitos como o ácido araquidônico (AA), ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosaenoico (DHA), que contribuem para as propriedades físicas das membranas biológicas, interferindo na fluidez e permeabilidade da mesma (FERRAZ *et al.*, 2008), influenciando assim na plasticidade sináptica e cognição (DELATTRE *et al.*, 2016).

A gestação e os eventos a ela relacionados, como puerpério e lactação, são marcados por profundas mudanças que interferem na vida da mulher e do conceito, dentre as quais, as mais reconhecidas são as modificações relacionadas ao corpo, sua fisiologia e metabolismo (BAIÃO; DESLANDES, 2006). Nesta fase, o organismo requer uma demanda especial para minimizar possíveis agravos à saúde da mãe e do conceito, além de oferecer boas condições para o parto (LIMA, 2016).

No início da formação do sistema nervoso central, há uma maior demanda de ácidos graxos saturados, insaturados e poliinsaturados por parte do feto (EDMOND *et al.*, 2002), que são incorporados em grandes quantidades com funções estruturais durante o desenvolvimento

deste sistema (ARBUCKLE; INNIS, 1993), ao passo que se houver uma deficiência destes nutrientes neste período, implicará num comprometimento do comportamento do concepto (RODRÍGUEZ-CRUZ *et al.*, 2005). Desta forma, uma suplementação destes componentes no período de gestação, poderá repercutir em um melhor desenvolvimento do sistema nervoso central do feto, bem como numa condição saudável para a progenitora.

Diante da importância dos ácidos graxos para um bom desenvolvimento do sistema nervoso dos conceptos, bem como da ausência de estudos acerca do óleo de milho, este projeto visa avaliar a influência do consumo de óleo de milho sobre parâmetros de ansiedade da prole de ratas *Wistar* suplementadas durante os períodos de gestação e lactação. Entretanto, sabe-se que a variação hormonal ligada ao ciclo menstrual em mulheres faz com que estas sejam mais suscetíveis a alterações em funções cognitivas, de humor e aprendizado. Desta forma, buscou-se comparar os efeitos da suplementação sobre parâmetros de ansiedade de fêmeas e machos da prole.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 GERAL**

Avaliar e comparar parâmetros de ansiedade entre ratos machos e fêmeas da prole de ratas *Wistar* suplementadas com óleo de milho durante os períodos de gestação e lactação.

### **2.2 ESPECÍFICOS**

- Contribuir para o conhecimento científico do óleo de milho acerca dos benefícios por ele trazidos durante os períodos de gestação e lactação;
- Avaliar parâmetros de ansiedade relacionados ao consumo de óleo de milho em prole de ratas suplementadas, por meio do teste do Labirinto em Cruz Elevado;
- Investigar a atividade ansiolítica do consumo de óleo de milho na prole de ratas suplementadas, utilizando o teste do Aparelho de Claro-Escuro;
- Analisar parâmetros de ansiedade no teste de habituação em campo aberto;
- Comparar os efeitos do óleo de milho sobre comportamento ansioso de machos e fêmeas da prole de ratas suplementadas.

### **3 REFERENCIAL TEÓRICO**

#### **3.1 ÓLEO DE MILHO**

O milho (*Zea mays* L.) é um dos principais cereais cultivados no mundo, onde o Brasil é o terceiro produtor mundial (6 a 7% da produção mundial). Em 2005, a produção brasileira de milho foi de 35,5 milhões de toneladas em 12 milhões de hectares colhidos (FUENTES, 2011).

O milho é especialmente rico em carboidratos (açúcares), essencialmente o amido, o que o caracteriza como alimento energético. O gérmen de milho é rico em óleo (> 30%), é a fonte de todo o óleo de milho comercial, por este motivo o óleo de milho poderia ser chamado mais precisamente de "óleo de gérmen de milho" (FUENTES, 2011).

Os principais ácidos graxos que constituem o óleo de milho são: ácido palmítico (9-17%), oleico (20-42%) e linoléico (39-63%). Apesar da alta insaturação, o óleo apresenta boa estabilidade oxidativa devido aos altos níveis de compostos insaponificáveis que inclui os fitosteróis e tocoferóis (FUENTES, 2011).

Como visto acima, a composição lipídica do óleo de milho se mostra interessante e importante para o consumo, visto que é rico em ácidos graxos poliinsaturados essenciais, que significa que nosso organismo não possui a capacidade de produzir bioquimicamente estes lipídeos, sendo assim necessária uma suplementação adicional destes na dieta.

#### **3.2 ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS E FORMAÇÃO DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL**

Segundo Junqueira & Carneiro (2017), o sistema nervoso tem como função receber e transmitir impulsos elétricos. Ele é dividido, anatomicamente, em sistema nervoso central (SNC), formado pelo encéfalo, constituintes neurais do sistema fotorreceptor e medula espinhal; e sistema nervoso periférico (SNP), constituído por nervos e gânglios. O tecido nervoso é composto principalmente por: neurônios, células geralmente com longos prolongamentos, e vários tipos de células da glia ou neuroglias, que sustentam os neurônios e participam de outras funções importantes.

O sistema nervoso surge muito cedo (3<sup>a</sup> a 4<sup>a</sup> semanas pós-fecundação) no embrião, como um espessamento (conjunto de células que se proliferam por divisões mitóticas) longitudinal do ectoderma denominado placa neural; ao invaginar-se, esta placa se transforma em goteira (ou sulco) neural e, posteriormente, em tubo neural. O processo de fechamento da goteira e formação do tubo resulta na presença de duas aberturas: uma superior (anterior), denominada

neurópodo rostral e uma inferior (posterior), denominada neurópodo caudal; ambas normalmente se fecham por volta do 24<sup>o</sup>-28<sup>o</sup> dia de vida (PINHEIRO, 2007).

De acordo com Muralikrishna e Hatcher (2007), o metabolismo lipídico possui particular importância para o SNC, visto que este órgão possui uma alta concentração de lipídios, perdendo apenas para o tecido adiposo. Baseado em suas características moleculares e localização celular, os lipídios desempenham um papel crítico no controle da fluidez da membrana do Sistema Nervoso Central. Além destas funções, os lipídios também participam da constituição das fibras nervosas. Existem dois tipos de fibras nervosas: as mielinizadas e as não mielinizadas. As fibras nervosas mielinizadas, em particular, possuem uma camada lipídica envolvendo-as, chamada de bainha de mielina, que é de natureza lipídica, desenvolvida também no período neurogênico.

Os ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (LCPUFA), tais como os da família n-3, como o ácido eicosapentaenoico (C20:5 n 3, EPA), e o ácido docosahexanóico (C22:6 n 3, DHA), têm funções bioquímicas e fisiológicas relevantes no metabolismo e na saúde humana. Nesse sentido, o DHA é um nutriente fundamental para o crescimento e desenvolvimento infantil. Ele tem papel primordial na formação e no funcionamento do sistema nervoso central e da retina dos seres humanos. Além da importância evolutiva do DHA para nossa espécie, uma pesquisa estabeleceu que LCPUFAs n-3 são críticos durante a gravidez e no estágio inicial da infância, nos quais o DHA desempenha um papel decisivo no desenvolvimento e no funcionamento do cérebro e dos olhos. Deficiências e desequilíbrios de LCPUFAs (n-6 e n-3) apresentam correlação positiva com comprometimento no desempenho cognitivo e comportamental da criança (GONZÁLEZ; BÁEZA, 2017).

### **3.3 BASES NEUROBIOLÓGICAS DA ANSIEDADE**

Ansiedade é um sentimento vago e desagradável de medo, apreensão, caracterizado por tensão ou desconforto derivado de antecipação de perigo, de algo desconhecido ou estranho (CASTILLO *et al.*, 2000). A ansiedade se refere principalmente a estados psicológicos, como adequação social e êxito competitivo (LYRA; NAKAI; MARQUES, 2010).

A característica dos transtornos de ansiedade é a resposta inadequada ao estresse, regulada pelo sistema nervoso. A resposta ao estresse é a reação coordenada que acontece em função de estímulos aversivos. É caracterizada por comportamento de evitação ou esquiva, aumento da vigilância e do alerta, ativação da divisão simpática do sistema nervoso e liberação de cortisol pelas glândulas adrenais (KONKIEWITZ, 2009).

A ansiedade é regulada pela ação da amígdala e do hipocampo sobre o sistema Hipotálamo-Hipófise-Adrenal (HPA), onde a hiperatividade da amígdala está relacionada a memórias inconscientes condicionadas pelo medo, e a diminuição da atividade do hipocampo está relacionada ao armazenamento de memórias conscientes durante uma situação de aprendizado traumático (BEAR; CONNOS; PARADISO, 2006; LE DOUX, 2001).

### **3.4 ANSIEDADE NA GESTAÇÃO E IMPLICAÇÕES PARA O CONCEPTO**

Estudos epidemiológicos realizados com amostras de gestantes são quase consensuais quanto à existência de uma morbidade aumentada para a sintomatologia psicopatológica de tipo ansioso ou depressivo, durante a gravidez (CONDE; FIGUEIREDO, 2005).

Hansen; Lou; Olsen (2000) realizaram um estudo nacional com mulheres grávidas e evidenciaram que gestantes expostas a situações de estresse, especificamente a situação de perda prévia de um outro filho, podem ocasionar malformações congênitas, principalmente em órgãos derivados da crista neural e cardiopatias. Além disso, afirmaram que uma dieta pobre antes da concepção também potencializa a ocorrência destas malformações.

Outros estudos evidenciaram que o nascimento de conceptos provenientes de mulheres gestantes expostas a estresses no período gestacional apresenta-se de forma prematura, e acompanhado com este nascimento precoce, os bebês nascem com o peso abaixo do esperado para a média de neonatos (COOPER *et al.*, 1996; PAARLBERG *et al.*, 1999).

Os autores da pesquisa “Prenatal psychosocial factors and the neuroendocrine axis in human pregnancy” evidenciaram que fatores neuroendócrinos envolvendo a progenitora, a placenta e o feto estão associados a fatores do espaço psicossocial da mãe durante a gestação (WADHWA *et al.*, 1996). Além disso, devido ao fato de muitos destes eventos acontecerem no útero, a exposição do cérebro fetal imaturo e em desenvolvimento às mudanças neuroendócrinas maternas podem ter um mais largo e duradouro efeito, que alterações similares nos recém-nascidos ou adultos (CONDE; FIGUEIREDO, 2005).

### **3.5 ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS E ANSIEDADE**

Cortes e colaboradores (2013) discutiram em seu trabalho sobre a aplicação de ácidos graxos ômega-3 em pacientes com sintomas ansiosos e depressivos em decorrência da dor crônica, onde relataram ser importante o uso deste ácido graxo devido possuírem efeitos similares aos fármacos da classe dos anti-inflamatórios não esteroides (AINE's) (MAROON; BOOST, 2006).

O hipocampo é uma das estruturas no cérebro adulto onde ocorre a formação de novos neurônios, ou neurogênese. A neurogênese no hipocampo do adulto foi associada diretamente à cognição e ao humor (NATACCI, 2018). A modulação da neurogênese pela dieta poderia surgir, então, como um possível mecanismo pelo qual a nutrição afeta a saúde mental (ZAINUDDIN; THURET, 2012).

### **3.6 INFLUÊNCIA DO SEXO BIOLÓGICO SOBRE O DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA NERVOSO E COMPORTAMENTO**

As diferenças na organização neuronal existentes entre o cérebro do homem e da mulher decorrem de diversos fatores biológicos, que estão sujeitos a importante regulação hormonal, atribuídas ao dimorfismo sexual (KUMAR, 2017). As células cerebrais da mulher e do homem apresentam diferenças nos padrões de expressão de genes que são específicos para o cérebro em desenvolvimento, os quais determinam funções e habilidades específicas para cada gênero (MCCARTHY *et al.*, 2009). O SNC é um dos principais tecidos-alvo dos esteróides sexuais, os quais agem tanto por mecanismos genômicos, modulando a síntese, liberação e metabolismo de muitos neuropeptídeos e neurotransmissores, como por meio de mecanismos não-genômicos, influenciando a excitabilidade elétrica, a função sináptica e as características morfológicas dos neurônios (SILVA; SÁ, 2006).

Indivíduos pertencentes ao sexo feminino possuem um ciclo menstrual mensal, marcado por flutuações de níveis de dois hormônios a depender da fase do ciclo menstrual: a progesterona e os estrogênios. A progesterona é um hormônio predominantemente feminino, conhecido por atuar aumentando a atividade da MAO, enzima responsável pela degradação das catecolaminas, resultando assim em diminuição dos níveis de serotonina e produzindo efeito depressivo. O principal efeito depressivo da progesterona é atribuído ao seu metabólito 3 $\alpha$  hidroxiesteróide denominado alopregnanolone ou 3 $\alpha$ ,5 $^{\alpha}$ -THP, que pode ser formado no próprio SNC a partir da progesterona e do colesterol. O alopregnanolone age por meio dos receptores do ácido gama-aminobutírico (GABA) e sua ação tem sido demonstrada nas células do hipocampo, medula espinhal, cerebelo e córtex frontal (SILVA; SÁ, 2006).

Por outro lado, durante as fases de estrogênios elevados, a atividade das estruturas de nível superior é reforçada, levando a uma melhor modulação do stress e a um menor enviesamento cognitivo para a informação negativa. Em mulheres saudáveis, o estrogênio pode apoiar o funcionamento do cérebro que otimiza a resposta ao stress, processamento emocional e função

cognitiva, evitando assim ciclos de desregulação do sistema hipotálamo-hipófise-adrenal e desregulação emocional que pode levar à depressão (ALBERT; NEWHOUSE, 2019).

Isto por que os estrogênios possuem atividades contrárias à progesterona, tais como ação reparadora sobre neurônios lesados, inibição da MAO, participação na síntese de neurotransmissores importantes nas funções de humor e cognição, tais como acetilcolina, catecolaminas e serotonina, dentre outras ações (SILVA; SÁ, 2006). A variação mensal dos níveis destes hormônios, que possuem atividades contrárias sobre o sistema nervoso central, fazem com que as mulheres sejam mais suscetíveis a variações no humor e cognição, bem como a problemas permanentes que comprometem estes estados.

Nos indivíduos do sexo masculino, o esteroide predominante é um andrógeno denominado testosterona. Diferente das mulheres, os homens não apresentam ciclos mensais com flutuação de diferentes hormônios sendo, dessa forma, a testosterona presente de forma permanente durante todo o período no organismo masculino. Estudos realizados em primatas com este hormônio marcado mostram que existem receptores para o mesmo em diversas regiões cerebrais, como hipotálamo, amígdala, septo e hipocampo (BLOOM, 1998), áreas estas relacionadas com humor, comportamento, memória, aprendizado e regulação hormonal. Adverso à progesterona, este hormônio atua de forma benéfica sobre estas funções, promovendo melhora no humor, concentração, aprendizado, dentre outros benefícios.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 ANIMAIS E PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Os animais utilizados na pesquisa foram obtidos a partir de ratas da linhagem Wistar, provenientes do Biotério de criação da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) com idade entre 90 e 120 dias e peso de  $250 \pm 50$  g. Foram utilizadas 04 fêmeas para obtenção dos neonatos, sendo mantida uma fêmea para cada macho durante o acasalamento. Após a confirmação da prenhez através de esfregaço vaginal, as ratas foram alojadas em gaiolas-maternidade individuais de polipropileno recobertas com maravalha, em condições-padrão: temperatura de  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ ; obedecendo a um ciclo claro-escuro de 12h, com o início da fase clara às 06h; umidade de  $\pm 65\%$ , recebendo água *ad libitum*. A ração utilizada foi a PRESENCE®, ofertada semanalmente à uma proporção de 30g de ração/animal/dia. O rejeito foi pesado semanalmente.

Foram formados 02 grupos: Grupo Controle (GC), que recebeu óleo de soja na dose de 0,3ml/100g de peso do animal e o Grupo óleo de milho (GM), que recebeu também 0,3ml/100g de peso do animal. As mães, durante 42 dias, receberam suplementação diária (durante os 21 dias de gestação e os 21 dias de lactação), por gavagem, com o auxílio de sonda, sempre no mesmo horário, às 06h00.

Após o desmame, a prole recebeu dieta comercial durante todo o tempo de experimento (PRESENCE®). As ninhadas foram padronizadas em 08 filhotes por cada rata, e para os testes, 09 filhotes machos e 07 filhotes fêmeas para cada grupo, o desmame foi realizado aos 21 dias pós-natal e os mesmos foram separados. Os animais foram mantidos sob as mesmas condições padrão que as mães e os experimentos tiveram início quando os animais atingiram os 35 dias de nascidos, com pesos de  $220 \pm 20$ g.

Os animais foram separados em quatro grupos, sendo estes o MM, correspondente aos animais machos que foram suplementados com óleo de milho; MS, correspondente aos animais machos que foram suplementados com óleo de soja, como controle dos animais deste sexo; FM, correspondente aos animais fêmeas que foram suplementados com óleo de milho; FS, correspondente aos animais fêmeas que foram suplementados com óleo de soja, como controle dos animais deste sexo.

### 4.2 TESTES DE ANSIEDADE

#### **4.2.1 TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO**

Esse teste foi realizado utilizando um equipamento formado por quatro braços, sendo dois braços abertos e dois braços fechados, estes envolvidos por paredes laterais. Os braços abertos são dispostos uns aos outros formando assim uma cruz, e são elevados a 50 cm do chão. Os braços permitem que os animais percebam o precipício e o espaço aberto, fazendo com que os animais explorem mais os braços fechados e evitem mais os braços abertos (CRUZ; LANDEIRA-FERNANDEZ, 2012). Os animais foram inicialmente colocados no centro do equipamento e o tempo de exploração do aparato foi fixado em 5 minutos/animal. Foram observados: o número de entradas nos braços abertos, o número de entradas nos braços fechados e o tempo de permanência do animal em cada um destes. A cada troca de animal no aparelho, foi realizada a higienização de toda a superfície com álcool 10%.

#### **4.2.2 TESTE DO APARELHO CLARO-ESCURO**

Nesse teste os animais foram colocados em uma caixa que possui dois lados, um lado claro em branco, onde a luz penetra com facilidade, e um lado preto onde a luz não consegue atravessar a parede da caixa. Este aparato possui 27 cm de altura, 30 cm de largura 30 cm de comprimento. Neste aparelho, busca-se analisar o tempo de permanência do animal no lado claro e o tempo de permanência do mesmo no lado escuro. O animal foi colocado dentro da caixa, no centro do compartimento claro e virado para a entrada do compartimento escuro. O teste teve duração de 5 minutos e foram analisados os parâmetros descritos acima.

#### **4.2.3 TESTE DO CAMPO ABERTO**

O aparelho do campo aberto consiste numa arena quadricular de madeira, sendo o piso da arena fracionado em 9 campos quadrados com o mesmo diâmetro. O campo aberto é um instrumento para testar comportamento de ansiedade e atividade exploratória, a fim de verificar os efeitos de ambientes não familiares sobre a emocionalidade em ratos (HALL, 1934; SEIBENHENER & WOOTEN, 2015). Cada animal foi analisado individualmente durante 10 minutos. Entre a troca de um animal para outro, a caixa foi limpa com álcool a 10%. Nesse teste foram analisados os parâmetros de rearing (quantas vezes o animal levantará usando as patas dianteiras), a ambulação (quantidade total de cruzamentos das linhas usando as quatro patas), o grooming (autolimpeza), a defecação (número de bolos fecais).

### **4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os resultados foram analisados levando-se em consideração o nível de significância para rejeição da hipótese nula de  $p < 0,05$ . Para análise dos resultados foi utilizado o teste T

Student. As análises estatísticas foram feitas por meio do software Graph Pad Prism, versão 9.0.0

#### **4.4 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS**

O protocolo experimental seguiu as recomendações éticas do National Institute of Health Bethesda (Bethesda, USA), com relação aos cuidados com animais, sendo levado em consideração o bem-estar dos animais no laboratório, de modo que o sofrimento e o estresse dos animais experimentais serão minimizados ao máximo. Após o término dos experimentos, os animais foram anestesiados com a administração de cloridrato de ketamina na dose de 1ml/kg de peso, e eutanasiados por decapitação na guilhotina. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética de Uso Animal CEUA/CSTR – UFCG sob nº 30/2021 (certidão em anexo).

## 5 RESULTADOS

Este estudo tem como finalidade avaliar os efeitos da suplementação com óleo de milho sobre a formação do sistema nervoso central, através da avaliação de parâmetros de ansiedade. Ainda, pretende-se analisar se há diferenças, ou não, dos efeitos da suplementação nos diferentes sexos dos animais.

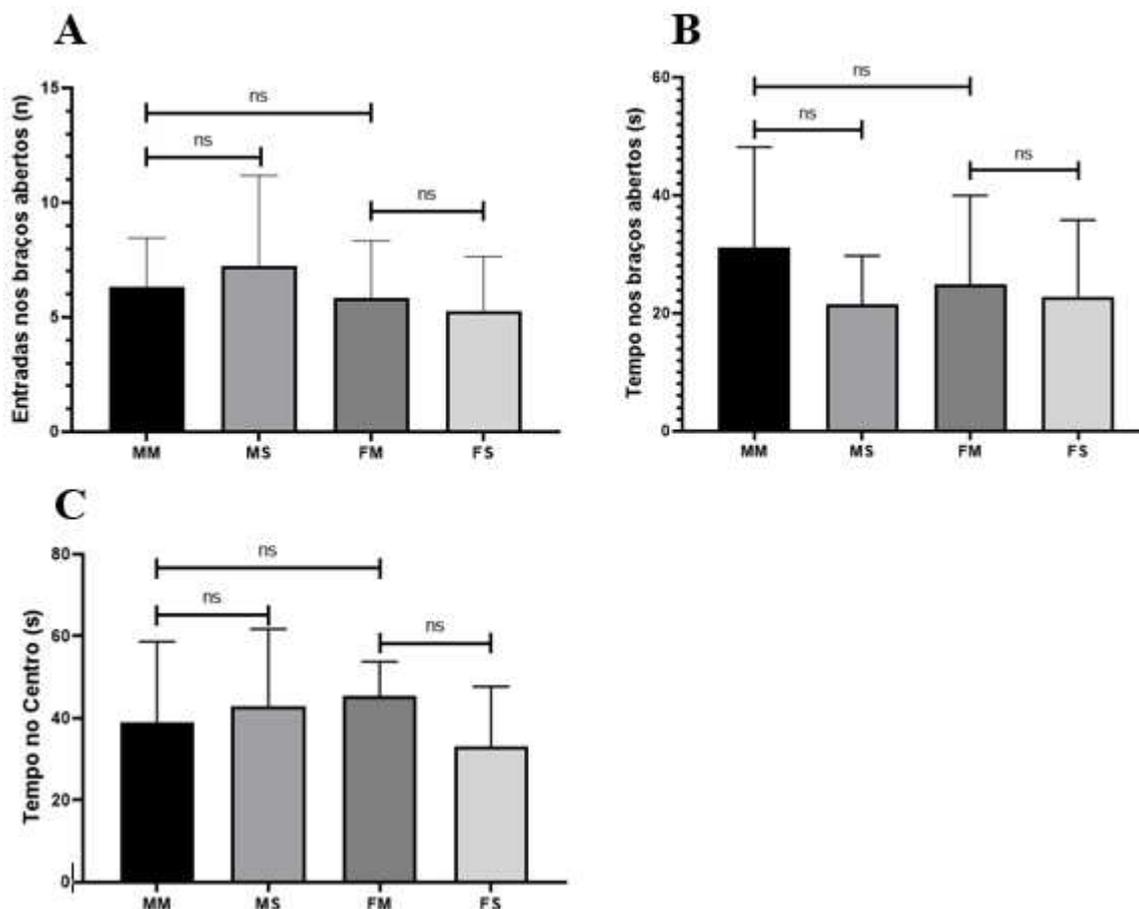
### 5.1 LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO

Em relação a quantidade de entrada dos animais nos braços abertos do labirinto, pôde-se observar que ambos os grupos de óleo de milho MM ( $6,333 \pm 2,121$ , n=9) e FM ( $5,857 \pm 2,478$ , n=7) não apresentaram diferença significativa quanto a seus respectivos grupos controles de óleo de soja MS ( $7,222 \pm 3,961$ , n=9) ( $P=0,5612$ ) e FS ( $80,286 \pm 23,164$ ) ( $P=0,6665$ ). Quando se compara os dois grupos de óleo de milho MM e FM, observa-se que também não houve uma diferença estatística entre eles ( $P=0,6850$ ) (**Figura 1A**).

Ao avaliar o tempo gasto nos braços abertos, observa-se que ambos os grupos de óleo de milho MM ( $31,167 \pm 16,995$ ) e FM ( $24,871 \pm 15,117$ ) não apresentaram diferença significativa quanto a seus respectivos grupos controles de óleo de soja MS ( $21,544 \pm 8,212$ ) ( $P=0,1463$ ) e FS ( $22,814 \pm 13,004$ ) ( $P=0,7895$ ). Quando se compara os dois grupos de óleo de milho MM e FM, observa-se que também não houve uma diferença estatística entre eles ( $P=0,4549$ ) (**Figura 1B**).

Em relação ao tempo gasto na região do centro do LCE, pôde-se observar que ambos os grupos de óleo de milho MM ( $39,044 \pm 19,695$ ) FM ( $45,457 \pm 8,334$ ) não apresentaram diferença significativa quanto a seus respectivos controles de óleo de soja MS ( $42,955 \pm 18,793$ ) ( $P=0,6722$ ) e FS ( $33,186 \pm 14,526$ ) ( $P=0,0764$ ). Na comparação dos animais dos grupos MM com os do grupo FM, pode-se observar também não há diferença estatística entre eles ( $P=0,4357$ ) (**Figura 1C**).

**Figura 1-** Teste do Labirinto em Cruz Elevado realizado em prole de ratas *Wistar*, suplementadas ou não com óleo de milho, durante a gestação e lactação.



**Figura 1-** Teste do Labirinto em Cruz Elevado em prole de ratas *Wistar*, suplementadas ou não com óleo de milho, durante a gestação e lactação. Machos Milho e Machos Soja (MM=9, MS=9, respectivamente); Fêmeas Milho e Fêmeas Soja (FM=7, FS=7, respectivamente). Valores expressos em Desvio Padrão ( $\pm$  DP) Teste T Student. ns foi usado quando não houve diferença estatística entre os grupos analisados, com  $p > 0,05$ . \* foi usado quando houve diferença estatística entre os grupos analisados, com  $P < 0,05$ . Fonte: dados da pesquisa, 2021.

## 5.2 CAMPO ABERTO

Ao avaliar a ambulação dos animais no campo aberto, que consiste no número de cruzamento de linhas dos quadrantes, pode-se observar que ambos os grupos do óleo de milho, MM ( $149,777 \pm 28,230$ ) e FM ( $153,857 \pm 31,233$ ), diferiram de forma estatisticamente significativa dos seus respectivos grupos controle de óleo de soja MS ( $126,555 \pm 16,087$ ) ( $P=0,0477$ ) e FS ( $122,286 \pm 17,715$ ) ( $P=0,0406$ ). Quando comparados os machos e fêmeas do grupo óleo de milho, não há diferença significativa entre ambos ( $P=0,7882$ ) (**Figura 2A**).

Em relação ao parâmetro de rearing, que consiste em ficar sobre as duas patas traseiras, com as patas dianteiras livres, pôde-se observar que ambos os grupos de óleo de milho MM ( $11,444 \pm 3,644$ ) e FM ( $7,000 \pm 3,873$ ) não apresentaram diferença significativa quanto a seus respectivos grupos controles de óleo de soja MS ( $10,555 \pm 5,077$ ) ( $P=0,6753$ ) e FS ( $10,428 \pm$

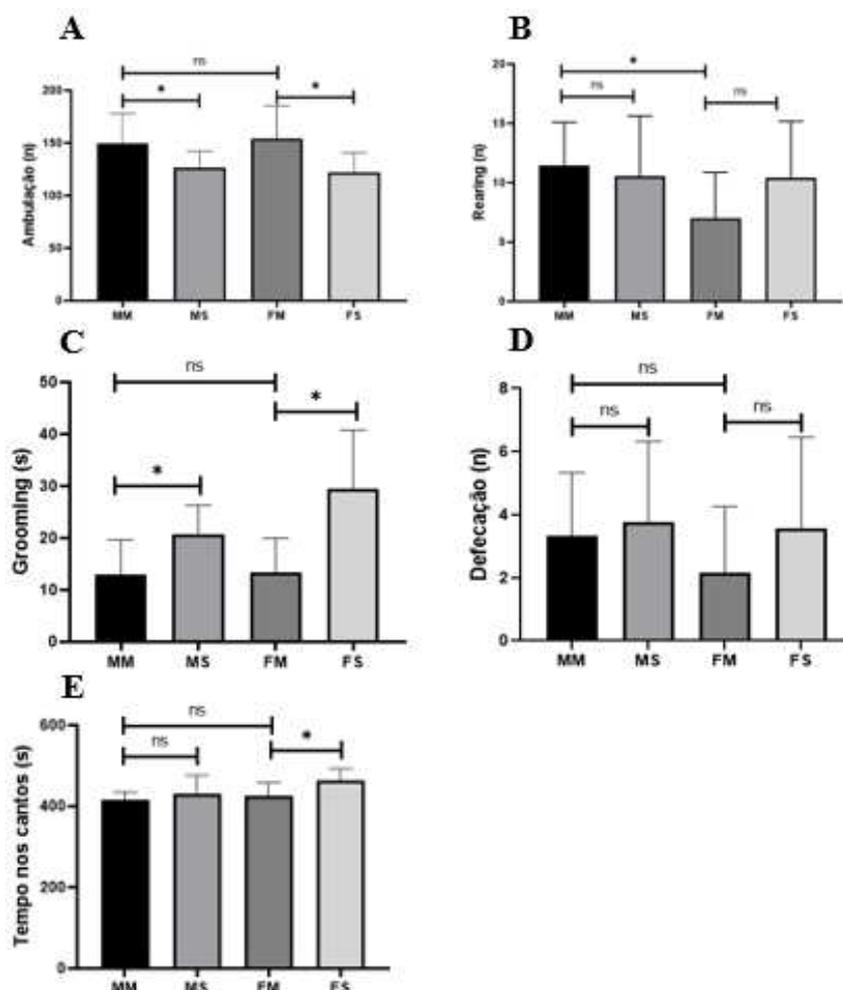
4,756) ( $P=0,1649$ ). Quando se compara os dois grupos de óleo de milho MM e FM, observa-se que há uma diferença estatística entre eles para esse parâmetro ( $P=0,0336$ ), tendo o grupo MM apresentado um número significativamente maior de rearing (**Figura 2B**).

Quanto ao tempo de grooming dos animais, que consiste no comportamento de autolimpeza, pode-se observar que ambos os grupos do óleo de milho, MM ( $13,000 \pm 6,633$ ) e FM ( $13,286 \pm 6,676$ ), diferiram de forma estatisticamente significativa dos seus respectivos grupos controle de óleo de soja MS ( $20,666 \pm 5,657$ ) ( $P=0,0179$ ) e FS ( $29,571 \pm 11,193$ ) ( $P=0,0063$ ). Quando comparados os machos e fêmeas do grupo óleo de milho, não há diferença significativa entre ambos ( $P=0,9333$ ) (**Figura 2C**).

Em relação ao parâmetro de defecação no campo aberto, que é calculado pela soma dos bolos fecais dos animais, observa-se que não houve diferença estatística entre os grupos de milho MM ( $3,333 \pm 2,000$ ) e FM ( $2,143 \pm 2,116$ ) e seus respectivos controles MS ( $3,778 \pm 2,539$ ) ( $P=0,6854$ ) e FS ( $3,571 \pm 2,879$ ) ( $P=0,3109$ ), como também não houve diferença significativa entre os dois grupos de milho ( $P=0,2686$ ) (**Figura 2D**).

Quando avaliamos o parâmetro Tempo nos cantos, tempo esse gasto pelos animais nos quadrantes das extremidades do Campo Aberto, observa-se que não há diferença significativa entre os grupos MM ( $414,911 \pm 20,049$ ) e MS ( $430,422 \pm 45,476$ ). Quanto aos grupos FM ( $426,214 \pm 31,731$ ) e FS ( $464,100 \pm 27,495$ ), estes apresentaram diferença significativa ( $P=0,0343$ ). Em relação aos dois grupos de óleo de milho, também não houve diferença estatística entre eles ( $P=0,3978$ ) (**Figura 2E**).

**Figura 2.** Teste do Campo Aberto realizado em prole de ratas *Wistar*, suplementadas ou não com óleo de milho, durante a gestação e lactação.



**Figura 3-** Teste do Campo Aberto realizado em prole de ratas *Wistar*, suplementadas ou não com óleo de milho, durante a gestação e lactação. Machos Milho e Machos Soja (MM=9, MS=9, respectivamente); Fêmeas Milho e Fêmeas Soja (FM=7, FS=7, respectivamente). Valores expressos em Desvio Padrão ( $\pm$  DP) Teste T Student. ns foi usado quando não houve diferença estatística entre os grupos analisados, com  $p > 0,05$ . \* foi usado quando houve diferença estatística entre os grupos analisados, com  $P < 0,05$ . Fonte: dados da pesquisa, 2021.

### 5.3 CAIXA CLARO/ESCURO

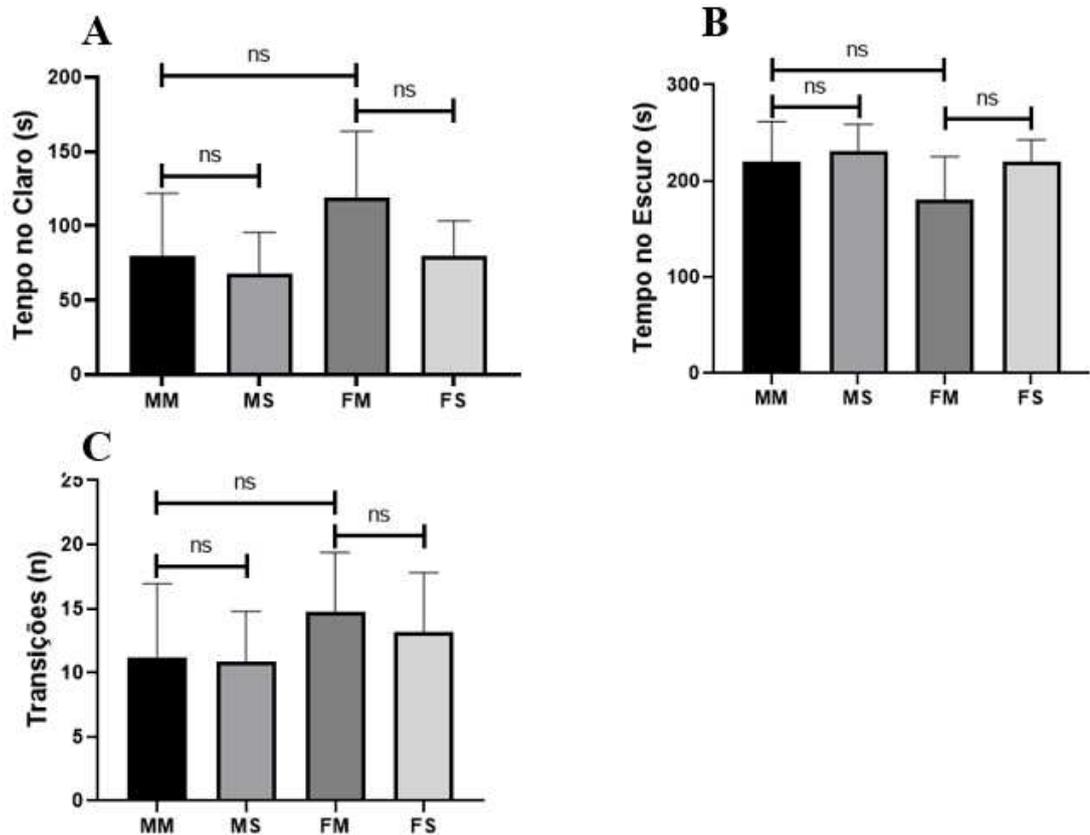
Em relação ao tempo de permanência no lado claro da caixa claro/escuro, pôde-se observar que ambos os grupos de óleo de milho MM ( $80,000 \pm 41,970$ ) e FM ( $119,142 \pm 44,544$ ) não apresentaram diferença significativa quanto a seus respectivos grupos controles de óleo de soja MS ( $68,333 \pm 27,308$ ) ( $P=0,4946$ ) e FS ( $80,286 \pm 23,164$ ) ( $P=0,0631$ ). Quando se compara os dois grupos de óleo de milho MM e FM, observa-se que também não houve uma diferença estatística entre eles ( $P=0,0930$ ) (**Figura 3A**).

Ao avaliar o tempo de permanência no lado escuro da caixa claro/escuro, observa-se que ambos os grupos de óleo de milho MM ( $220,000 \pm 41,970$ ) e FM ( $180,857 \pm 44,544$ ) não apresentaram diferença significativa quanto a seus respectivos grupos controles de óleo de soja

MS ( $231,667 \pm 27,308$ ) ( $P=0,4946$ ) e FS ( $219,714 \pm 23,164$ ) ( $P=0,0631$ ). Quando se compara os dois grupos de óleo de milho MM e FM, observa-se que também não houve uma diferença estatística entre eles ( $P=0,0930$ ) (**Figura 3B**).

Em relação ao número de transições entre os compartimentos claro e escuro, pôde-se observar que ambos os grupos de óleo de milho MM ( $11,222 \pm 5,718$ ) e FM ( $14,714 \pm 4,680$ ) não apresentaram diferença significativa quanto a seus respectivos grupos controles de óleo de soja MS ( $10,888 \pm 3,919$ ) ( $P=0,8871$ ) e FS ( $13,143 \pm 4,670$ ) ( $P=0,5412$ ). Ao comparar os dois grupos de óleo de milho MM e FM, constata-se que também não há diferença estatística entre eles ( $P=0,2120$ ) (**Figura 3C**).

**Figura 3-** Teste da Caixa Claro/Escuro realizado em prole de ratas *Wistar*, suplementadas ou não com óleo de milho, durante a gestação e lactação.



**Figura 3-** Teste da Caixa Claro/Escuro realizado em prole de ratas *Wistar*, suplementadas ou não com óleo de milho, durante a gestação e lactação. Machos Milho e Machos Soja (MM=9, MS=9, respectivamente); Fêmeas Milho e Fêmeas Soja (FM=7, FS=7, respectivamente). Valores expressos em Desvio Padrão ( $\pm$  DP) Teste T Student. ns foi usado quando não houve diferença estatística, com  $p>0,05$ , entre os grupos analisados. \* foi usado quando houve diferença estatística, com  $P<0,05$ , entre os grupos analisados. Fonte: dados da pesquisa, 2021.

## 6 DISCUSSÃO

Existem diversos estudos disponíveis acerca da importância e dos efeitos da suplementação de nutrientes sobre parâmetros de ansiedade em animais, como por exemplo os ácidos graxos. Porém, poucos são os estudos que avaliam essa suplementação durante os períodos de gestação e lactação, e o impacto desta sobre os conceitos.

Da mesma forma, existem várias pesquisas envolvendo suplementação com óleos e avaliação de seus efeitos em animais, porém não foram encontradas pesquisas relacionadas a suplementação com óleo de milho nos períodos de gestação e lactação. O óleo de milho se mostra interessante para pesquisas deste cunho devido sua composição lipídica, sendo fonte de ácido palmítico, oleico e linoléico (FUENTES, 2011).

A nutrição materna exerce grande impacto no resultado da gestação e sobre a saúde da mulher e da criança durante a lactação. Em ambas as fases é fundamental que as recomendações nutricionais, que se encontram aumentadas em relação às mulheres adultas, sejam atendidas para garantir aporte nutricional e ganho de peso adequados (LACERDA *et al*, 2007).

A quantidade e qualidade dos lipídios dietéticos ofertados durante o período intra e extrauterino é de extrema importância, pois, determinará o tipo de ácido graxo a se depositar no tecido do conceito. A transferência desses nutrientes se faz via placenta e leite materno, através de processos que envolvem mecanismos de difusão simples e facilitada (INNIS, 2007; YETIMLER, 2012 apud MOURA, 2019).

Um dos aparatos utilizados nesta pesquisa para avaliar os parâmetros de ansiedade nos animais foi o labirinto em cruz elevado. Este aparelho possui forma de cruz e uma elevação do solo, tendo dois braços abertos e dois braços fechados, sendo cada tipo de braço disposto de forma coincidente. Este teste baseia-se na aversão natural que os roedores apresentam por espaços abertos (LISTER, 1987). Os parâmetros avaliados neste aparelho são o número de entradas nos braços abertos, o tempo gasto nos braços abertos e o tempo no centro. O número de entradas e o tempo gasto nos braços abertos são indicadores inversamente relacionados à ansiedade (PELLOW *et al.*, 1985). Assim, quanto mais tempo e entradas o animal tiver nos braços abertos, menos ansioso pode-se considerar o mesmo. De acordo com os resultados obtidos nesta pesquisa, a suplementação com o óleo de milho não foi capaz de promover diferença no comportamento dos animais frente ao espaço aberto do aparelho, visto que estes não diferiram significativamente dos animais do grupo controle. Esses achados do Labirinto

corroboram com o estudo de Pereira (2019), onde pesquisou-se o efeito da suplementação com óleo de peixe sobre ansiedade em ratos adultos expostos a estresse crônico.

No teste do campo aberto, a ansiedade é medida por meio dos parâmetros de ambulação, rearing, grooming, defecação e tempo gasto nas extremidades do aparelho. Em relação a ambulação, pôde-se observar que tanto os ratos machos quanto as fêmeas do grupo óleo de milho apresentaram um número significativamente maior deste parâmetro quando comparados aos animais do grupo controle, não havendo diferença significativa entre os sexos no grupo de milho. A ambulação corresponde ao comportamento de exploração do animal no espaço novo. Substâncias que possuem efeitos ansiolíticos tendem a aumentar o parâmetro de ambulação no campo aberto, assim como substâncias com perfil ansiogênicos tendem a diminuí-lo (TREIT, 1985; SCHMITT; HIEMKE, 1998). Nossos resultados em relação à ambulação corroboram com o estudo de Lima (2016), que avaliou o efeito da suplementação com óleo de avestruz em prole de ratas suplementadas durante gestação e lactação. No parâmetro de rearing, os animais do grupo óleo de milho de ambos os sexos não apresentaram diferença significativa quanto a seus respectivos grupos controle, porém apresentaram diferença estatística entre si. Em relação ao parâmetro de grooming, os machos e fêmeas do grupo de milho apresentaram tempo de grooming significativamente inferior aos seus grupos controles, não havendo diferença significativa entre ambos. O comportamento de grooming é aumentado por situações estressantes que não envolvem a sujidade da pele, o que confere a uma aparente natureza exagerada e desadaptativa, que, juntamente com seus aspectos repetitivos e estereotipados, o torna especialmente útil para modelar aquelas compulsões humanas agravadas pelo estresse (KALUEFF; TUOHIMAA, 2005; VAN HOOFF; GISPEN, 1992; VAN ERP *et al.*, 1994 apud ESTANISLAU *et al.*, 2019). Quanto ao parâmetro de defecação, os grupos de óleo de milho não apresentaram diferença estatística quanto aos seus grupos controles, nem entre si. No que diz respeito ao parâmetro de tempo nos cantos, apenas o grupo das fêmeas de óleo de milho apresentaram diferença significativa em relação ao seu grupo controle, não apresentando diferença em comparação aos machos de óleo de milho.

No experimento da caixa claro/escuro, o perfil ansiolítico de compostos é avaliado pelos parâmetros de tempo no lado claro, tempo no lado escuro e número de transições entre um lado e outro do aparato. Testes baseados no paradigma da novidade, como o teste claro/escuro são comumente utilizados em neurociência comportamental para o estudo de medo e ansiedade, sendo que em geral, administrações de drogas ansiolíticas aumentam o tempo que o animal gasta no compartimento claro, enquanto drogas ansiogênicas diminuem esse tempo (MANSUR;

SANTOS; JÚNIOR, 2014). De acordo com os resultados obtidos nesse teste, pôde-se observar que a suplementação com óleo de milho não promoveu diferença significativa em nenhum dos indicadores avaliados na CCE. Os resultados da pesquisa de Gomes Júnior e colaboradores (2018) difere de nossos resultados, na qual eles suplementaram ratos com ácidos anacárdicos presentes na castanha de caju, e observaram um aumento significativo no tempo gasto pelos animais no compartimento claro da caixa, bem como um aumento no número de travessias entre os dois compartimentos.

Como mostrado anteriormente, indivíduos pertencentes ao sexo feminino estão mais sujeitos a sofrerem alterações de humor e comportamento devido a variação hormonal que estes apresentam ao longo de cada mês de suas vidas. Com essas informações, era esperado que houvesse diferença nos parâmetros comparados entre ratos machos e fêmeas de cada grupo, de forma que se esperava que os ratos machos apresentassem melhor desempenho nos testes. Ao fim dos experimentos, observou-se que não foi isso que aconteceu, tendo assim como resultados parâmetros sem diferença estatística entre os sexos.

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados obtidos com as metodologias executadas, em ratos *Wistar*, foi possível concluir que:

- O óleo de milho, na suplementação de 0,3ml/100g de peso, durante os períodos de gestação e lactação, foi capaz apenas de alterar parâmetros no teste do campo aberto;
- A suplementação com óleo de milho não foi capaz de melhorar parâmetros avaliados no Labirinto em Cruz Elevado;
- O consumo adicional de óleo de milho não apresentou influencia em parâmetros avaliados na Caixa Claro/Escuro;
- A ingestão do óleo de milho interferiu de forma positiva nos parâmetros de ambulação e grooming nos machos e fêmeas do grupo milho, e no parâmetro de tempo nos cantos apenas nas fêmeas do grupo milho;
- De forma geral, não foram observadas diferenças significativas no comportamento ansioso de machos e fêmeas do grupo óleo de milho quando comparados entre si.

No entanto, há a necessidade de novos estudos avaliando os efeitos da suplementação com óleo de milho, nos períodos de gestação e lactação, em diferentes doses, buscando investigar se o aumento na dose interfere nos parâmetros avaliados.

## REFERÊNCIAS

- ALBERT, Kimberly M.; NEWHOUSE, Paul A. Estrogen, Stress, and Depression: cognitive and biological interactions. **Annual Review Of Clinical Psychology**, [S.L.], v. 15, n. 1, p. 399-423, 7 maio de 2019.
- ARBUCKLE, L. Dianne; INNIS, Sheila M. Docosahexaenoic Acid Is Transferred through Maternal Diet to Milk and to Tissues of Natural Milk-Fed Piglets. **The Journal Of Nutrition**, [S.L.], v. 123, n. 10, p. 1668-1675, 1 out. 1993. Oxford University Press (OUP).
- BAIÃO, Mirian Ribeiro; DESLANDES, Suely Ferreira. Alimentação na gestação e puerpério. **Revista de Nutrição**, [S.L.], v. 19, n. 2, p. 245-253, abr. 2006.
- BEAR, M. F.; CONNORS, B. W.; PARADISO, M. A. Transtornos mentais. Neurociências – Desvendando o sistema nervoso. Porto Alegre: Artmed, 2ed, cap 21, p. 675-701, 2006.
- BLOOM, Floyd E. Neurotransmitters: past, present, and future directions 1. **The FASEB Journal**, [S.L.], v. 2, n. 1, p. 32-41, jan. 1988.
- CARVALHO, Ana Carolina de Oliveira. **Características físico-químicas de óleos vegetais comestíveis puros e adulterados**. 2017. 79 f. TCC (Graduação) - Curso de Licenciatura em Química, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goyatacazes, 2017.
- CASTILLO, Ana Regina G.; RECONDO, Rogéria; ASBAHR, Fernando R.; MANFRO, Gisele G. Transtornos de ansiedade. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, [S.L.], v. 22, n. 2, p. 20-23, dez. 2000.
- CONDE, Ana; FIGUEIREDO, Barbara. Ansiedade na Gravidez: implicações para a saúde e desenvolvimento do bebê e mecanismos neurofisiológicos envolvidos. **Portuguese Journal Of Pediatrics**, [s. l.], v. 36, n. 1, p. 41-49, 2005.
- COPPER, Rachel L.; GOLDENBERG, Robert L.; DAS, Anita; ELDER, Nancy; SWAIN, Melissa; NORMAN, Gwendolyn; RAMSEY, Risa; COTRONEO, Peggy; COLLINS, Beth A.; JOHNSON, Francee. The preterm prediction study: maternal stress is associated with spontaneous preterm birth at less than thirty-five weeks' gestation. **American Journal Of Obstetrics And Gynecology**, [S.L.], v. 175, n. 5, p. 1286-1292, nov. 1996.
- CORTES, Matheus Lopes; CASTRO, Martha Moreira Cavalcante; JESUS, Rosangela Passos; BARROS NETO, João Araújo; KRAYCHETE, Durval Campos. Uso de terapêutica com ácidos graxos ômega-3 em pacientes com dor crônica e sintomas ansiosos e depressivos. **Revista Dor**, [S.L.], v. 14, n. 1, p. 48-51, mar. 2013.
- CRUZ, A. P. M.; LANDEIRA-FERNANDEZ, J. Modelos animais de ansiedade e o estudo experimental de drogas serotoninérgicas. **Métodos em Neurociência**. p. 192-217. São Paulo: Manole, 2012.
- DELATTRE, Ana Marcia; CARABELLI, Bruno; MORI, Marco Aurélio; KEMPE, Paula G.; SOUZA, Luiz E. Rizzo; ZANATA, Silvio M.; MACHADO, Ricardo B.; SUCHECKI, Deborah; COSTA, Belmira L. S. Andrade; LIMA, Marcelo M. S. Maternal Omega-3 Supplement Improves Dopaminergic System in Pre- and Postnatal Inflammation-Induced Neurotoxicity in Parkinson's Disease Model. **Molecular Neurobiology**, [S.L.], v. 54, n. 3, p. 2090-2106, 29 fev. 2016.
- EDMOND, John; HIGA, Tami A.; KORSACK, Rose A.; BERGNER, E. Ann; LEE, W.-N. Paul. Fatty Acid Transport and Utilization for the Developing Brain. **Journal Of Neurochemistry**, [S.L.], v. 70, n. 3, p. 1227-1234, 14 nov. 2002.

ESTANISLAU, Celio; VELOSO, André W.N.; FILGUEIRAS, Guilherme B.; MAIO, Taimon P.; DAL-CÓL, Maria L.C.; CUNHA, Daniel C.; KLEIN, Rodrigo; CARMONA, Lucas F.; FERNÁNDEZ-TERUEL, Alberto. Rat self-grooming and its relationships with anxiety, dearousal and perseveration: evidence for a self-grooming trait. **Physiology & Behavior**, [S.L.], v. 209, p. 112585, out. 2019.

FERRAZ, Anete Curte; KISS, Ágata; ARAÚJO, Renata Lins Fuentes; SALLES, Héliidy Maria Rossi; NALIWAIKO, Katya; PAMPLONA, Juliana; MATHEUSSI, Francesca. The antidepressant role of dietary long-chain polyunsaturated n-3 fatty acids in two phases in the developing brain. **Prostaglandins, Leukotrienes And Essential Fatty Acids**, [S.L.], v. 78, n. 3, p. 183-188, mar. 2008.

FUENTES, Paula Heidy Aguilera. Avaliação da qualidade de óleos de soja, canola, milho e girassol durante o armazenamento. 2011. 109 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

GOMES JÚNIOR, Antonio Luiz; TCHEKALAROVA, Jana Dimitrova; MACHADO, Keylla da Conceição; MOURA, Arkellau Kenned Silva; PAZ, Márcia Fernanda Correia Jardim; MATA, Ana Maria Oliveira Ferreira da; NOGUEIRA, Tiago Rocha; ISLAM, Muhammad Torequl; RIOS, Maria Alexsandra de Sousa; CITÓ, Antônia Maria das Graças Lopes. Anxiolytic effect of anacardic acids from cashew (*Anacardium occidentale*) nut shell in mice. **Iubmb Life**, [S.L.], v. 70, n. 5, p. 420-431, 23 mar. 2018.

GONZÁLEZ, Francisca Echeverría; BÁEZA, Rodrigo Valenzuela. IMPORTÂNCIA DOS ÔMEGA 3 NA NUTRIÇÃO INFANTIL. **Revista Paulista de Pediatria**, São Paulo, v. 1, n. 35, p. 3-4, 2017.

HALL, C.S. Emotional behavior in the rat: I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. **Journal of Comparative Psychology**, v.18, p.385-403, 1934.

HANSEN, Dorthe; LOU, Hans C.; OLSEN, Jørn. Serious life events and congenital malformations: a national study with complete follow-up. **The Lancet**, [S.L.], v. 356, n. 9233, p. 875-880, set. 2000.

JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. *Histologia Básica*. 13ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. 568p.

KONKIEWITZ, Elisabete Castelon. **Tópicos em Neurociência Clínica**. Grande Dourados: Editora UFGD, 2009.

KUMAR, Amrita Jha. **Influência de gênero no desenvolvimento somático e sensorio motor de ratos wistar submetidos a anóxia neonatal**. 2017. 76 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-Graduação em Neurociência e Comportamento, Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

LACERDA, Elisa Maria de Aquino; KAC, Gilberto; CUNHA, Cynthia Braga da; LEAL, Maria do Carmo. Consumo alimentar na gestação e no pós-parto segundo cor da pele no município do Rio de Janeiro. **Rev Saúde Pública**, [S.L.], v. 6, n. 41, p. 985-994, 2007.

LE DOUX, Joseph. Onde os desregramentos estão. O Cérebro Emocional: os misteriosos alicerces da vida emocional. Rio de Janeiro: Objetiva, 8ed, cap 8, p. 206-243, 2001.

LIMA, Martiniano da Silva. **EFEITO DO ÓLEO DE AVESTRUZ SOBRE OS PARÂMETROS DE ANSIEDADE NA PROLE DE RATAS TRATADAS DURANTE A GESTAÇÃO E LACTAÇÃO**. 2016. 48 f. TCC (Graduação) - Curso de Nutrição, Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, 2016.

LISTER, Richard G. The use of a plus-maze to measure anxiety in thr mouse. **Psychopharmacology**, v. 92, n. 2, p. 180-5. 1987.

LYRA, Cassandra Santantonio; NAKAI, Larissa Sayuri; MARQUES, Amélia Pasqual. Eficácia da aromaterapia na redução de níveis de estresse e ansiedade em alunos de graduação da área da saúde: estudo preliminar. **Fisioterapia e Pesquisa**, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 13-17, mar. 2010.

MANSUR, B.M.; SANTOS, B.R.; GOUVEIA JÚNIOR, A.. Efeitos da Substância de Alarme no Teste Claro/Escuro no Zebrafish, Danio rerio. **Biota Amazônia**, [S.L.], v. 4, n. 1, p. 87-93, 30 mar. 2014.

MAROON, Joseph Charles; BOST, Jeffrey W.  $\omega$ -3 Fatty acids (fish oil) as an anti-inflammatory: an alternative to nonsteroidal anti-inflammatory drugs for discogenic pain. **Surgical Neurology**, [S.L.], v. 65, n. 4, p. 326-331, abr. 2006.

MARTIN, Clayton Antunes; ALMEIDA, Vanessa Vivian; RUIZ, Marcos Roberto; VISENTAINER, Jeane Eliete Laguila; MATSHUSHITA, Makoto; SOUZA, Nilson Evelázio; VISENTAINER, Jesuí Vergílio. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, [S.L.], v. 19, n. 6, p. 761-770, dez. 2006.

MCCARTHY, M. M.; AUGER, A. P.; BALE, T. L.; VRIES, G. J. de; DUNN, G. A.; FORGER, N. G.; MURRAY, E. K.; NUGENT, B. M.; SCHWARZ, J. M.; WILSON, M. E.. The Epigenetics of Sex Differences in the Brain. **Journal Of Neuroscience**, [S.L.], v. 29, n. 41, p. 12815-12823, 14 out. 2009.

MIRANDA, R. A. Uma história de sucesso da civilização: A Granja, v. 74, n. 829, p. 24-27, jan. 2018.

MOREAU, Robert A. Corn Oil. In: SHAHIDI, Fereidoon. *Bailey's Industrial Oil & Fat Products: Edible Oil & Fat Products Chemistry, Properties & Health Effects*. 6. ed. New Jersey: Wiley Interscience, 2005. v.2. Cap. 4, p. 149-172.

MOURA, Renally de Lima. **Avaliação do comportamento de ansiedade na prole de ratas suplementadas com óleo e polpa de abacate (persea americana mill.) durante a gestação e lactação**. 2019. 58 f. TCC (Graduação) - Curso de Nutrição, Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, 2019.

MURALIKRISHNA, Rao; HATCHER, J. F. Role of Lipids in Brain Injury and Diseases. **Future Lipidol**. Agosto de 2007; 2(4): 403-422.

NATACCI, Lara Cristiane. **Associação entre consumo de ácidos graxos ômega 3 e transtorno de ansiedade: análise transversal do Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto**. 2018. 142 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Ciências Médicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

PAARLBERG, K. Marieke; VINGERHOETS, J. J. M.; PASSCHIER, Jan; DEKKER, Gustaaf A.; HEINEN, Antonius G. J. J.; GEIJN, Herman P.. Psychosocial predictors of low

birthweight: a prospective study. **Bjog: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology**, [S.L.], v. 106, n. 8, p. 834-841, ago. 1999.

PELLOW, S.; CHOPIN, P.; FILE, S. E.; Briley, M. Validation of Open: Closed Arm Entries in an Elevated Plus-Maze as a Measure of Anxiety in the Rat. **Journal of Neuroscience Methods**, 14, 149-167. 1985.

PEREIRA, Victória Maria Rossetti. **Efeitos da suplementação com ômega 3 sobre comportamentos relacionados à ansiedade em camundongos adultos expostos a estresse crônico**. 2019. 44 f. TCC (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019.

PINHEIRO, M. Fundamentos da Neuropsicologia – o Desenvolvimento Cerebral da Criança. *Vita et Sanitas*, v. 1, n. 1, 2007.

RAMALHO, V. C.; Jorge, N. ANTIOXIDANTS USED IN OILS, FATS AND FATTY FOODS. **Quím. Nova**, vol.29 no.4 São Paulo July/Aug. 2006.

RODRÍGUEZ-CRUZ, Maricela; TOVAR, Armando R.; PRADO, Martha del; TORRES, Nimbe. Mecanismos moleculares de acción de los ácidos grasos poliinsaturados y sus beneficios en la salud. **Revista de Investigación Clínica**, [s. l], v. 57, n. 3, p. 457-472, maio/jun. 2005.

SCHMITT, Ulrich; HIEMKE, Cristoph. Strain differences in open-field and Elevated plus-maze behavior of rats without and with pretest handling. **Pharmacology Biochemistry And Behavior**, [S.L.], v. 58, n. 4, p. 807-811, abr. 1998.

SEIBENHENER, Michael L.; WOOTEN, Michael C. Use of the Open Field Maze to Measure Locomotor and Anxiety-like Behavior in Mice. **Journal Of Visualized Experiments**, [S.L.], v. 1, n. 96, p. 1-6, 6 fev. 2015.

SILVA, Ana Carolina J. S. Rosa; SÁ, Marcos Felipe Silva de. Efeitos dos esteróides sexuais sobre o humor e a cognição. **Archives Of Clinical Psychiatry (São Paulo)**, [S.L.], v. 33, n. 2, p. 60-67, 2006.

SILVA, Luiz Eduardo Bezerra; SILVA, José Crisólogo de Sales; SOUZA, Willian Cleisson Lopes; LIMA, Luan Lucas Cardoso; SANTOS, Rafael Lima Vieira. Desenvolvimento da cultura do milho (*Zea mays* L.): revisão de literatura. **Diversitas Journal**, [S.L.], v. 5, n. 3, p. 1636-1657, 5 jul. 2020.

SIMÃO, Eduardo de Paula. **Características agrônômicas e nutrição do milho safrinha em função de épocas de semeadura e adubação**. 2016. 70 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, Universidade Federal de São João Del-Rei, Sete Lagoas, 2016.

TREIT, Dallas. Animal models for the study of anti-anxiety agents: a review. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, [S.L.], v. 9, n. 2, p. 203-222, 1985.

WADHWA, Pathik D.; DUNKEL-SCHETTER, Christine; CHICZ-DEMET, Aleksandra; PORTO, Manuel; SANDMAN, Curt A. Prenatal Psychosocial Factors and the Neuroendocrine Axis in Human Pregnancy. **Psychosomatic Medicine**, [S.L.], v. 58, n. 5, p. 432-446, 1996.

ZAINUDDIN, Muhammad Syahrul Anwar; THURET, Sandrine. Nutrition, adult hippocampal neurogenesis and mental health. **British Medical Bulletin**, [S.L.], v. 103, n. 1, p. 89-114, 24 jul. 2012.

## ANEXOS



Universidade Federal de Campina Grande  
Centro de Saúde e Tecnologia Rural  
Comissão de Ética no Uso de Animais  
Av. Santa Cecília, s/n, Bairro Jatobá, Rodovia Patos,  
CEP: 58700-970, Cx postal 64, Tel. (83) 3511-3045



A Sra.: Profa. Dra. Camila Carolina de Menezes Santos Bertozzo

Protocolo CEUA/CSTR N° 30/2021

**CERTIDÃO**

Certificamos para os devidos fins que o projeto intitulado "***Comparação entre os efeitos do óleo de milho orgânico e transgênico sobre a memória da prole de ratas suplementadas durante a gestação e lactação***", coordenado pelo (a) pesquisador (a) acima citado (a), obteve parecer consubstanciado pelo regulamento interno deste comitê, sendo **APROVADO** em Reunião Ordinária no dia 23 de dezembro de 2021, estando a luz das normas e regulamentos vigentes no país e atendidas as pesquisas para especificações científicas.

Patos, 23 de dezembro de 2021

Prof. Dr. Valdir Moraes de Almeida

UFCG / Campus Patos

SIAPE 1406222

Prof. Valdir Moraes De Almeida  
Coordenador do CEP/CEUA/UFCG/CSTR