# UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE CURSO DE BACHARELADO EM NUTRIÇÃO

LENYELLE DO NASCIMENTO FERNANDES

EFEITOS COMPORTAMENTAIS NA PROLE DE RATAS ALIMENTADAS COM DIETA HIPERLIPÍDICA A BASE DE ÓLEO DE AVESTRUZ DURANTE GESTAÇÃO E LACTAÇÃO

Cuité/PB

# LENYELLE DO NASCIMENTO FERNANDES

# EFEITOS COMPORTAMENTAIS NA PROLE DE RATAS ALIMENTADAS COM DIETA HIPERLIPÍDICA A BASE DE ÓLEO DE AVESTRUZ DURANTE GESTAÇÃO E LACTAÇÃO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Unidade Acadêmica de Saúde da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito para a obtenção de título de Bacharel em Nutrição, com linha específica em Nutrição Experimental.

Orientadora: Prof.ª Msc. Raphaela Araújo Veloso Rodrigues

# FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE Responsabilidade Msc Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

F363e Fernandes, Lenyelle do Nascimento.

Efeitos comportamentais na prole de ratas alimentadas com dieta hiperlipídica à base de óleo de avestruz durante gestação e lactação. / Lenyelle do Nascimento Fernandes. – Cuité: CES, 2016.

55 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Nutrição) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2016.

Orientadora: Raphaela Araújo Veloso Rodrigues.

1. Dietoterapia. 2. Óle de avestruz. 3. Ácidos graxos poliinsaturados. 4. Ansiedade. I. Título.

Biblioteca do CES - UFCG

CDU 615.874.2

#### LENYELLE DO NASCIMENTO FERNANDES

# EFEITOS COMPORTAMENTAIS NA PROLE DE RATAS ALIMENTADAS COM DIETA HIPERLIPÍDICA A BASE DE ÓLEO DE AVESTRUZ DURANTE GESTAÇÃO E LACTAÇÃO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Unidade Acadêmica de Saúde da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Nutrição, com linha específica em Nutrição Experimental. Aprovado em\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_de\_\_\_\_ BANCA EXAMINADORA Prof.<sup>a</sup> Msc. Raphaela Araújo Veloso Rodrigues Universidade Federal de Campina Grande Orientadora Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Camila Carolina de Menezes Santos Bertozzo Universidade Federal de Campina Grande Examinadora Mikaelle Albuquerque de Souza Universidade Federal da Paraíba

Cuité/PB

Examinadora

2016

À minha família, e em especial a minha mãe, Lenilda do Nascimento, que jamais mediu esforços para que meu sonho pudesse se tornar realidade, a ela dedico cada vitória alcançada em minha vida, me orgulho imensamente de têla como mãe, Te Amo!

#### **AGRADECIMENTOS**

Devo muitos agradecimentos, e desde já, peço desculpas se, por ventura, esquecer de mencionar alguém, pois foram muitas as pessoas, que de maneiras tão especiais me ajudaram a chegar até aqui. Primeiramente, gostaria de agradecer a **Deus**, pelo dom da vida, pelo seu amor infinito, pela família e amigos maravilhosos que me deu, com os quais sempre posso contar, por ter me dado saúde e coragem para correr atrás dos meus objetivos, fé e força para superar as dificuldades, pela esperança e determinação de levantar todos os dias e buscar a realização de um sonho que tanto almejei e por sempre olhar por mim, me direcionar e permitir que tudo isso fosse possível.

À minha mãe, minha rainha, **Lenilda do Nascimento**, pelo amor, incentivo e apoio incondicional, por não permitir que eu caísse nas horas difíceis, de desânimo e cansaço, por todo esforço que fez e faz para me ver vencer, a senhora sem dúvidas foi quem mais me motivou para que eu chegasse até aqui, é meu maior exemplo e essa conquista é dedicada a senhora, dona de infinitas qualidades, e de um coração imenso, te amo mainha, muito obrigado por tudo de coração!

À Universidade Federal de Campina Grande, *campus* de Cuité, seu corpo docente, direção, administração e todos os demais funcionários, que tornaram possível todo o aprendizado que adquiri nos últimos anos, me proporcionando ensino de qualidade, meios facilitadores, um ambiente propício, enfim, obrigada por me proporcionarem chegar até aqui.

À minha orientadora **Prof.**<sup>a</sup> **Msc. Raphaela Araújo Veloso Rodrigues** pelo suporte, por suas correções, orientação e pelo tempo e atenção dedicados à elaboração deste trabalho.

À Flor, **Prof.** a **Dr.** a **Maria Elieidy Gomes de Oliveira**, tão doce, tão dedicada a seus alunos, se mostrando sempre disponível e disposta a ajudar em tudo que pudesse.

Ao Bioterista **Jaciel Galdino Melo** e aos colegas e professores do biotério, principalmente os que participaram comigo da pesquisa do óleo de avestruz, obrigada por me proporcionaram aprender tanto e pela oportunidade de realizar a pesquisa.

A todos os professores do curso de Nutrição da Universidade Federal de Campina Grande, *campus* Cuité, por me proporcionar o conhecimento e uma excelente formação profissional, por se dedicarem, não somente a me ensinar, mas a me fazer aprender. A palavra mestre, nunca fará justiça aos professores dedicados aos quais sem nominar terão os meus eternos agradecimentos.

Ao meu pai **Lenilson Fernandes de Oliveira** que a sua maneira sempre me incentivou a me dedicar e alcançar uma educação de qualidade e um bom futuro profissional, o amo muito!

Aos meus irmãos, Lenilson Fernandes de Oliveira Júnior, Laize do Nascimento Fernandes e Luana Deográcia do Nascimento Fernandes, por estarem sempre ao meu lado, dando sempre que preciso seu apoio, amo vocês!

À minha princesinha linda, minha sobrinha Letícia Gabriella Fernandes de Souza por me proporcionar tantos momentos de conforto, alegria e paz em sua inocência, a amo incondicionalmente!

À toda minha família, pela tão valiosa contribuição, por sempre se mostrarem dispostos a ajudar da maneira que fosse, por se preocuparem com o que se passava comigo, como eu estava indo, por vibrarem a cada conquista realizada, devo muito a vocês, e tenho muita sorte de tê-los, os amo muito!

Ao meu Namorado **Janduí Araújo dos Santos Júnior**, que sempre esteve presente para me confortar nos momentos de fraqueza, por acreditar na minha capacidade quando nem eu mesma acreditava, por aguentar meus estresses e me compreender dizendo sempre que daria tudo certo. Obrigada por todo amor e carinho que dividiu comigo nos últimos anos e que sem dúvida alguma foram imprescindíveis para que eu passasse por tudo isso, te amo muito meu amor!

À toda equipe dos **Rurius**, que nos últimos 4 anos se tornaram uma segunda família, obrigada pelas resenhas, risadas, farras e momentos de tanta alegria e descontração, que me ajudavam a relaxar e desopilar depois de dias de grande sobrecarga, cansaço e desânimo.

Às minhas cunhadas, Priscila Dayanne dos Santos Araújo, Poliana Raphaela dos Santos Araújo e Jaiara Dayanne Almeida de Souza, pelo apoio, conversas, ideias, conselhos, pelos

momentos de descontração, pela amizade, tenho por vocês um carinho de irmã, obrigada por tudo!

À minha sogra, **Marluce Maria dos Santos**, sempre tão alto astral, um grande exemplo de mulher que se tornou para mim uma grande amiga nos últimos anos.

Ao meu sogro **Janduí Araujo dos Santos**, pelos conselhos, sugestões, compartilhamentos e incentivo, foram e são de grande valia para mim.

A todos os meus amigos e amigas, que sempre torcem por mim e vibram a cada vitória junto comigo, sintam-se agradecidos, amo cada um de vocês!

É difícil agradecer todas as pessoas que de algum modo, fizeram ou fazem parte dessa fase da minha vida, e que tanto nos momentos de apreensão e maiores dificuldades como nos momentos de conquistas e realizações, estiveram presentes, torcendo sempre pelo meu sucesso, por isso agradeço a todos vocês, que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação. É muito gratificante chegar até aqui e poder dizer a todos vocês que consegui, e que essa vitória não é apenas minha, sem todo o apoio e dedicação que recebi, esse sonho não seria possível. Agora posso dizer que todo o estresse, as noites de sono perdidas, a distância e a saudade de todos que amo, tudo valeu a pena, e devo tudo a vocês, agradeço a todos de coração!

# **RESUMO**

FERNANDES, L. N. Efeitos comportamentais na prole de ratas alimentadas com dieta hiperlipídica a base de óleo de avestruz durante gestação e lactação 2016. 55 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) - Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, 2016.

Durante a fase do desenvolvimento mental, há um aumento no aporte de ácidos graxos poliinsaturados, tornando-os capazes de influenciar em determinadas etapas dessa fase. Tais ácidos graxos incluem as famílias do ômega-6 e ômega-3, precursores dos ácidos araquidônico e, eicosapentaenoico e docosaexaenoico, respectivamente, sendo esses ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa. Esses são predominantes no Sistema Nervoso Central, sendo essenciais para o desenvolvimento neurológico. O óleo de avestruz, pouco conhecido no Brasil, é rico em ácidos graxos ômega 3, ômega 6, ômega 7 e ômega 9. Com o objetivo de Investigar as alterações comportamentais na prole de ratas, foi feita a suplementação com óleo de avestruz na dieta de ratas no período de gestação e lactação. Fêmeas primíparas, da linhagem Wistar, foram utilizadas para obtenção dos ratos machos. Formaram-se dois grupos: o grupo controle, que recebeu a dieta padrão, e o outro experimental, que recebeu a dieta padrão modificada, contendo 14% de óleo de avestruz. Após o desmame, as ninhadas foram divididas em dois grupos, o grupo controle, provenientes das ratas que receberam dieta padrão e o grupo óleo de avestruz, das ratas que receberam a dieta experimental. Para avaliar o efeito do óleo sobre a ansiedade dos animais, foram realizados dois testes: o Teste do Campo Aberto, e o Teste do Labirinto em Cruz Elevado. Na maior parte dos parâmetros analisados foi observado comportamento ansiolítico no grupo óleo de avestruz quando comparado ao grupo controle, como o aumento da ambulação no teste do campo aberto, e no teste do labirinto, o menor tempo de permanência nos braços fechados, e a maior permanência na área central. Em contrapartida, apenas o número de entradas nos braços fechados aumentou no grupo óleo de avestruz, sendo caracterizado como comportamento ansiogênico, porém, esse comportamento pode ser interpretado como um aumento na atividade exploratória dos animais, uma vez que permaneceram menos tempo nesses braços. Os demais parâmetros não demonstraram diferença estatística. Assim, foi possível observar que o consumo do óleo de avestruz durante a gestação e a lactação, causou uma diminuição na ansiedade da prole.

**Palavras-chaves:** Óleo de avestruz. Ácidos graxos poli-insaturados. Comportamento. Ansiedade.

**ABSTRACT** 

FERNANDES, L. N. Behavioral effects in the offspring of rats fed with high fat diet ostrich

oil based during pregnancy and lactation. 2016. 55 f. Completion of course work

(Undergraduate Nutrition) - Federal University of Campina Grande, Cuité, 2014.

During the phase of mental development, there is an increased contribution of Polyunsaturated

Fatty Acids, making them able to influence at certain stages of this phase. Polyunsaturated Fatty

Acids include the families of omega-3 fatty acids and omega-6, precursors of long-chain

polyunsaturated fatty acids, arachidonic acid, Eicosapentaenoic acid l and docosahexaenoic

acid. Long-chain polyunsaturated fatty acids are prevalent in the central nervous system, It is

essential for the neurological development. The ostrich oil, little known in Brazil, It is rich in

fatty acids as Omega 3, Omega 6, Omega 7 and Omega 9. In order to investigate the behavioral

changes in the offspring of treated rats during the period of pregnancy and lactation fat diet

(14%) containing ostrich oil as a lipid source, primiparous females, Wistar the lineage, they

were used to obtain the males rats. Two groups were formed: the control group received

standard diet and the other experiment that received standard diet modified, containing 14% oil

ostrich. After weaning, litters were divided into two groups, the control group, from the rats

that received standard diet and the ostrich oil group, the rats that received the experimental diet.

To evaluate the effect of oil on the animals' anxiety, two tests were performed: Field Test Open,

and test Plus Maze High. In most analyzed parameters behaviors were observed anxiolytic the

oil group group compared to the control group, and increasing ambulation in open-field test, in

the maze test, the less time spent in the closed arms, and greater permanence in the central area.

In contrast, only the number of entries into the closed arms in the oil group, this being an

anxiogenic behavior. however, this behavior can be interpreted as an increase in exploratory

activity of animals, since they spent less time in these arms. The other parameters showed no

statistical difference. Thus, it was observed that ostrich oil consumption, in rats, during

pregnancy and lactation, caused a decrease in offspring anxiety.

**Key-words:** Ostrich Oil. Polyunsaturated fatty acids. Behavior. Anxiety.

# LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Aparelho de Campo Aberto					30		
Figura 2 -	Aparel	Aparelho de Labirinto em Cruz Elevado						
Gráfico 1 -	Efeito	Efeito do consumo de dieta hiperlipídica a base de óleo de avestruz						
	-	-	-		lo Campo Aber		35	
Gráfico 2 -								
		Efeito do consumo de dieta hiperlipídica a base de óleo de avestruz para o parâmetro de defecação no Teste do Campo Aberto em						
	•	•	,		······································		36	
Gráfico 3 -								
		Efeito do consumo de dieta hiperlipídica a base de óleo de avestruz para o parâmetro de levantar no Teste do Campo Aberto em						
	•	•					36	
Gráfico 4 -					se de óleo de av			
		sobre o parâmetro de autolimpeza no Teste do Campo Aberto em						
		-	-				37	
Gráfico 5 -					se de óleo de av			
	sobre o	sobre o Número de Entrada nos Braços Fechados (NEBF) no Teste						
	de	Labirinto	em	Cruz	Elevado	em		
	ratos						37	
Gráfico 6 -	Efeito	do consumo de	dieta hipe	·lipídica a ba	se de óleo de av	estruz		
	sobre o	Número de Ei	ntrada nos	Braços Abe	rtos (NEBA) no	Teste		
	de	Labirinto	em	Cruz	Elevado	em		
	ratos						38	
Gráfico 7 -	Efeito	do consumo de	dieta hipe	·lipídica a ba	se de óleo de av	estruz		
	sobre o tempo nos Braços Fechados (TBF) no Teste de Labirinto							
	- · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·					38		
Gráfico 8 -	Efeito	do consumo de	dieta hipe	·lipídica a ba	se de óleo de av	estruz		
	sobre o tempo nos Braços Abertos (TBA) no Teste de Labirinto em							
		•	•	· ·			39	

Gráfico 9 -	Efeito do consumo de dieta hiperlipídica a base de óleo de avestruz			
	sobre o tempo gasto na área central (TC) no Teste de Labirinto em			
	Cruz Elevado em ratos	39		

# LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Composição	nutricional	do	óleo	de	avestruz	informada	no	
	rótulo		•••••		• • • • • •				29
Tabela 2 -	Composição	da dieta conti	ole		• • • • • • •				29
Tabela 3 -	Composição	da dieta modi	fica	da			•••••		30

#### LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AG - Ácidos Graxos

AGE - Ácidos Graxos Essenciais

AGMI - Ácidos Graxos Monoinsaturados

AGPI - Ácidos Graxos Poli-insaturados

AGPICL - Ácidos Graxos Poli-insaturados de Cadeia Longa

AIN-93 - American Institute of Nutrition

ARA - Ácido Araquidônico

AV - Grupo Experimental Óleo de Avestruz

CT - Grupo Controle

CES - Centro de Educação e Saúde

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais

DHA - Ácido Decosaexaenoico

EPA - Eicosapentaenoico

LANEX - Laboratório de Nutrição Experimental

LCE - Labirinto em Cruz Elevada

N-3 - Ômega 3

N-6 - Ômega 6

N-9 - Ômega 9

NEBA - Número de Entradas nos Braços Abertos

NEBF - Número e Entradas nos Braços Fechados

TAG - Transtorno de Ansiedade Generalizada

TBA - Tempo de Permanência nos Braços Abertos

TBF - Tempo de Permanência nos Braços Fechados

TC - Tempo de Permanência na Área Central

SNC - Sistema Nervoso Central

UFCG - Universidade Federal de Campina Grande

UFPB - Universidade Federal da Paraíba

# LISTA DE SÍMBOLOS

g - Gramas

ml - Mililitros

# **SUMÁRIO**

1 INTRODUÇÃO	17
2 OBJETIVOS	19
2.1 OBJETIVO GERAL	19
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3 REFERENCIAL TEÓRICO	20
3.1 ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS E SUA IMPORTÂNCIA	20
3.1.1 Ômega 3	21
3.1.2 Ômega 6	21
3.1.3 Ômega 9	22
3.2 GESTAÇÃO, LACTAÇÃO E OS ÁCIDOS GRAXOS ESSENCIAIS	23
3.3 DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA NERVOSO	24
3.4 COMPORTAMENTO DE ANSIEDADE EM MODELOS ANIMAIS	25
3.5 ASPECTOS GERAIS SOBRE O ÓLEO DE AVESTRUZ	26
4 MATERIAIS E MÉTODOS	28
4.1 ANIMAIS	28
4.2 DIETA EXPERIMENTAL	28
4.3 TESTES COMPORTAMENTAIS	30
4.3.1 Teste do Campo Aberto	30
4.3.1 Teste do Labirinto em Cruz Elevado	32
4.4 ANÁLISE DOS DADOS	33
4.5 ASPECTOS ÉTICOS	34
5 RESULTADOS	35
5.1 EFEITOS DO ÓLEO DE AVESTRUZ SOBRE A ANSIEDADE	35
5.1.1 Teste do Campo Aberto	35
5.1.2 Teste do Labirinto em Cruz Elevada	36
6 DISCUSSÃO	40
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	45
REFERÊNCIAS	46

ANEXOS	 53

# 1 INTRODUÇÃO

As gorduras dietéticas exercem um importante impacto no metabolismo humano. Dentre os ácidos graxos (AG) que apresentam atividades biológicas benéficas, incluem-se os ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) e ácidos graxos monoinsaturados (AGMI). Os AGPI incluem as famílias do ômega-3 (ácido linolênico), e do ômega-6 (ácido linoleico), sendo estes classificados como Ácidos Graxos Essenciais (AGE), uma vez que não podem ser sintetizados endogenamente e devem ser obtidos através da alimentação (MARTIN, et al., 2006; KUS; FILHO, 2010; GUINÉ; HENRIQUES, 2011).

Peixes e óleos vegetais como o de linhaça são boas fontes de ômega 3 (n-3), enquanto o ômega 6 (n-6) está presente nos óleos vegetais, como o de soja. Os ácidos graxos ômega 9 (n-9), derivados do ácido oleico, são AGMI que podem ser sintetizados em pequenas quantidades pelo organismo, e por isso, não são considerados essenciais, mas devem ser incluídos na dieta (MARTIN, et al., 2006; GUINÉ; HENRIQUES, 2011).

Os AGPI n-3 e n-6 são precursores dos ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (AGPICL), entre eles o ácido araquidônico (ARA), sintetizado a partir do n-6, o ácido eicosapentaenoico (EPA) e o ácido docosaexaenoico (DHA), derivados da série n-3. Os AGPICL são os principais componentes da membrana fosfolipídica das células e são os AGPI predominantes no Sistema Nervoso Central (SNC).

A nutrição adequada é necessária para inúmeros aspectos do funcionamento do cérebro e a maior necessidade dos AGPICL ocorre durante a vida intrauterina e nos primeiros meses de vida. São componentes essenciais, não só para o desenvolvimento neurológico, devido ao rápido aumento no cérebro durante o primeiro ano de vida, como também para a função visual da criança. O DHA, por exemplo, está correlacionado à regulação das emoções, atividade exploratória e funções cognitivas em animais e humanos. A alimentação e estado nutricional materno são fatores determinantes na oferta desses ácidos graxos para a criança através do leite materno. (BODNAR; WISNER, 2005; SILVA; JÚNIOR; SOARES, 2007; KUS; FILHO, 2010; GUINÉ; HENRIQUES, 2011; MOREIRA, 2011).

O sistema nervoso possui a segunda maior concentração de lipídios do organismo. (CURI et al., 2002). O desenvolvimento do SNC se inicia no período perinatal e prossegue até os primeiros anos de vida pós-natal. Os AGPI podem influenciar em determinadas etapas do desenvolvimento mental, pois nesta fase, há aumento do aporte de AGPI (KOLETZKO et al., 2001; HERRERA, 2002). Em ratos, esta demanda maior ocorre entre o 16º ao 18º dia de gestação (SOARES, 2012).

Um óleo com teores significativos de AGPI é o óleo de avestruz. Apesar de pouco divulgado no Brasil, ele tem propriedades terapêuticas e estéticas muito poderosas. É extraído da gordura localizada na região abdominal do animal, composto quase 100% por lipídios e triglicerídeos, sendo rico em ácidos graxos, como ômega 3 (ácido linolênico), ômega 6 (linoleico), ômega 7 (palmitoleico) e ômega 9 (ácido oleico). Seu alto teor de ácido oleico aumenta a sua capacidade de transportar compostos através da pele, o que explica algumas de suas características como sua propriedade antibacteriana, pouco irritante, anti-inflamatória, entre outras características (BASUNY; ARAFAT; NASEF, 2011).

. Nos últimos anos o número de avestruzes para abate tem aumentado. Com a crescente demanda por produtos de primeira linha, como a carne e a pele, a indústria começou a fazer uso de avestruz para produtos alternativos, especialmente gordura. Isto inclui o óleo fornecido a partir da gordura e usado em produtos cosméticos. Além disso, a indústria de alimentos utiliza gordura de avestruz como ingrediente de produtos de valor acrescentado para os seres humanos (GAVANJI, et al., 2013).

Diante da sua importância, o óleo de avestruz seria capaz de causar benefício no desenvolvimento cerebral, influenciando no comportamento da prole de ratas alimentadas com dieta hiperlipídica à base desse óleo?

Sabendo da possibilidade deste óleo influenciar no desenvolvimento cerebral e no comportamento de ratos, podendo diminuir os níveis de ansiedade, das evidências de que dietas enriquecidas com AGPI influenciam o comportamento e no desenvolvimento cerebral, e da composição do óleo apresentar teores significativos de AGPI, além da escassez de estudos sobre os efeitos comportamentais ocasionados pelo consumo de óleo de avestruz, o presente trabalho teve como objetivo investigar as alterações comportamentais na prole de ratas tratadas durante o período de gestação e lactação com dieta hiperlipídica a base de óleo de avestruz.

# **2 OBJETIVOS**

# 2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar as alterações comportamentais na prole de ratas tratadas durante o período de gestação e lactação com dieta hiperlipídica a base de óleo de avestruz.

# 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar possíveis alterações comportamentais de ansiedade e atividade exploratória, por meio de modelos específicos;
- Avaliar o efeito ansiolítico ou ansiogênico do óleo de avestruz na dieta.

# 3 REFERENCIAL TEÓRICO

# 3.1 ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS E SUA IMPORTÂNCIA

Os ácidos graxos são um tipo de molécula não polimérica, e se apresentam como ácidos carboxílicos com grupos laterais de longas cadeias de hidrocarbonetos. Agregadas, possuem diversas funções como reserva de alimentos na forma de triacilgliceróis, como moléculas de colesterol e/ou como hormônios (ex. testosterona) na forma de esteroides, como glicolipídeos que são AG ligados a açúcares, ou como fosfolipídios, os principais componentes, juntamente com as proteínas, das membranas celulares (ALBERTS et al., 2006).

São classificados como saturados, monoinsaturados e poli-insaturados, dependendo da estrutura química e do comprimento de sua cadeia, que pode variar de 12 a 26 ligações de carbono. O número de insaturações encontradas na cadeia carbônica determina se o ácido graxo é mono ou poli-insaturado. As diferentes posições e quantidade de duplas ligações ao longo da cadeia determinam diferentes propriedades químicas, nutricionais e funcionais aos diferentes AG (CURI et al., 2002).

São chamados de poli-insaturados se possuírem duas ou mais ligações duplas entre os átomos de carbono das cadeias hidrocarbonadas. Estas ligações duplas tendem a ocorrer a cada três carbonos, não sendo conjugadas. A organização biológica das membranas depende da cadeia pesada e do nível de insaturação do ácido graxo (GORJÃO et al., 2009).

Duas importantes famílias dos AGPI, ômega-3 e ômega-6, são caracterizadas como essenciais aos mamíferos, uma vez que estes não são capazes de sintetizá-los. A abreviação n-3 representa a posição da primeira dupla ligação contida no átomo de carbono metil na cadeia poli-insaturada do ácido graxo (YOUDIM; MARTIN; JOSEPH, 2000). O ácido linoleico pertence à família dos ácidos graxos n-6 e o ácido a-linolênico, dos ácidos graxos n-3 (MOREIRA; MACINI-FILHO, 2004).

Os metabólitos do n-6 tendem a ser pró-inflamatórios, enquanto os da família n-3 são anti-inflamatórios. Estes AG competem pelas mesmas enzimas no fígado para dar origem as seus respectivos AGPI. Ressalta-se que o mesmo sistema enzimático está presente em astrócitos no SNC. Estes ácidos devem estar em equilíbrio na alimentação. Estudos apontam que uma relação de n-3 e n-6 de 5:1 é mais adequada para que ambos os ácidos sejam aproveitados pelo organismo (MARSZALEK; LODISH, 2005).

# 3.1.1 Ômega 3

Os AGPI ômega 3, encontrados em gorduras e óleos naturais, como gordura de peixe e alguns óleos vegetais, são parte de componentes estruturais significativos em fosfolipídios de membranas celulares. Essenciais para o crescimento normal e desenvolvimento em mamíferos, facilitam a formação de espinhas dendríticas e crescimento neuronal. Desempenham, assim, um importante papel tanto na estrutura, quanto nas funções das células (WAINWRIGHT et al., 1994; ITOKAZU et al., 2000). Presentes na membrana de neurônios de mamíferos, eles determinam as propriedades biofísicas das membranas neuronais (JENSEN, 1996; BODNAR, 2005), promovendo assim, alterações na função cerebral. Por esse motivo, participam ativamente de processos de sinalização celular, interferindo no funcionamento de receptores, na recaptação de neurotransmissores e na transmissão de sinais (AUESTAD; INNIS, 2000; BODNAR, 2005).

Em humanos, os ácidos graxos n-3 poderiam reduzir o declínio cognitivo e o risco de demência, incluindo o tipo de Alzheimer, sendo envolvidos também na esquizofrenia e na depressão, bem como em crianças neurologicamente deficientes (BOURRE, 2004). O n-3 é benéfico para a melhoria da saúde cardiovascular, e certos tipos de câncer, bem como o reforço do sistema imunológico (ASIF, 2011).

Os AG ômega-3 têm sido sugeridos como um possível tratamento para as condições de depressão e ansiedade. Vários estudos demonstram efeitos benéficos em seres humanos e animais, embora as evidências sejam variadas. Em ratos especificamente, vários estudos atualmente sugerem um efeito de n-3 em ansiedade e comportamentos depressivos, por exemplo, embora nem todos os estudos demonstrem efeitos consistentes (APPLETON et al, 2015).

# 3.1.2 Ômega 6

Os ácidos graxos ômega 6 são um grupo heterogêneo de ácidos graxos com 18 carbonos, com duas duplas ligações, formadas através de biohidrogenação e oxidação por processos naturais (KRITCHEVSKY et al., 2000). São encontrados em óleos vegetais (girassol, palma, milho e cártamo), e pode ser convertido em ARA. O ARA é o principal ácido graxo do sistema neuronal e vascular da retina, está relacionado com o desenvolvimento do cérebro e da retina durante o período pré-natal e pós-natal. No entanto, é achado no cérebro em quantidades inferiores ao DHA. Os fosfolipídios integrados aos neurônios são altamente enriquecidos com

este ácido graxo, o que tem implicado em seu envolvimento na transmissão sináptica (FERNANDES, 2007; MOREIRA, 2011; RACHETTI et al., 2012).

O ácido linoleico (ômega 6) é o ácido graxo mais comum. Quando ácidos graxos ômega 6 são consumidos na dieta, eles são inseridos nas membranas celulares, onde são convertidos em substâncias que promovem a coagulação anormal e aumentam a inflamação (ASIF, 2011).

A deficiência de ácido linoleico específico não parece ocorrer no homem, seria difícil o ser humano não absorver esse ácido, já que ele está presente em quantidades variáveis na maior parte dos alimentos. A maior parte dos estudos sobre o n-6 não lida diretamente com o ômega-6, mas com suas relações com o ômega-3. O n-6 e n-3 apresentam uma função de modular o metabolismo de neurotransmissores, pelo menos em leitões e em ratos, eles participam na densidade do receptor no hipocampo, o que poderia explicar os efeitos destes ácidos graxos sobre a memória. Assim, o consumo de alimentos com uma relação omega-3/ómega-6 bem definido é eficaz contra vários componentes de estresse (BOURRE, 2004).

# 3.1.3 Ômega 9

O ácido oleico, que tem em sua ligação dupla 9 átomos de carbono a partir da extremidade metilo, é considerado um omega-9 (n-9). O ômega 3 e o ômega 6 são "ácidos graxos essenciais", o que significa que esses ácidos graxos não podem ser sintetizados pelo próprio organismo. Em vez disso, devemos incluí-los em nossa dieta ou através de suplementos para atender às nossas demandas corporais. O n-9 é considerado "condicionalmente essencial", o que significa que, se temos os outros ácidos graxos na nossa dieta, então nosso corpo pode fabricar ácidos graxos ômega 9 (ASIF, 2011).

O valor nutricional de ácido oleico no contexto de uma dieta equilibrada, tem sido objeto de vários estudos, com particular ênfase para o sistema cardiovascular. No entanto, a investigação recente demonstrou que este ácido graxo também é importante para o cérebro. No cérebro, os ácidos gradxs n-9 consistem em ácido oleico, mas também em quantidades muito grandes de derivados de cadeia mais longa, em sua maioria, especialmente na bainha de mielina. Em ratos, a deficiência de ácido fólico na dieta conduz a uma redução da concentração de ácido oleico em diversos órgãos, incluindo o nervo ciático, mas não no cérebro. Em muitos órgãos, a síntese endógena, não é suficiente para compensar a ausência de ácido oleico na alimentação. Dessa forma, esse ácido graxo torna-se, por conseguinte, parcialmente essencial, especialmente durante a gravidez e lactação, pelo menos em ratos (BOURRE, 2004).

# 3.2 GESTAÇÃO, LACTAÇÃO E OS ÁCIDOS GRAXOS ESSENCIAIS

Existem dois períodos na vida onde os ácidos graxos são primordiais – na infância e na senescência. Durante o desenvolvimento e a infância, dietas deficientes em AGE podem resultar em atrasos no desenvolvimento neuronal, e função cerebral prejudicada (YEHUDA, 2005; GUNHA, 2009).

Os ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (AGPICL), ácido docosahexaenoico (DHA) e ácido araquidônico (ARA) são componentes essenciais não só para o desenvolvimento neurológico como também para a função visual da criança. A maior necessidade dos AGPICL ocorre durante a vida intrauterina e nos primeiros meses de vida. A mãe é um fator determinante na oferta desses ácidos graxos para a criança. O leite materno contém todos os nutrientes necessários para o crescimento e desenvolvimento da criança. A importância dos lipídios na nutrição e desenvolvimento humano é reconhecida há muitas décadas. Os AG são constituintes estruturais das membranas celulares, cumprem funções energéticas e de reservas metabólicas, além de formarem hormônios e sais biliares (SILVA et al., 2007).

Para suprir a demanda orgânica, o n-3 e o n-6 devem estar em quantidades suficientes na alimentação. Vários estudos apontam que sua utilização traz benefícios para a saúde humana, prevenindo enfermidades cardiovasculares, câncer de cólon, doenças imunológicas e favorecendo o desenvolvimento cerebral e da retina (SILVA et al., 2007).

O ARA (série n-6) tem grande importância nos primeiros meses de vida, sendo constituinte de estruturas celulares e precursores de mediadores inflamatórios. O DHA (série n-3) é considerado o AGPICL mais importante no desenvolvimento neonatal e juntamente com o ARA são os principais componentes dos AG cerebrais (SILVA et al., 2007).

O DHA que representa aproximadamente 17% do total de ácidos graxos constituinte das membranas plasmáticas é comprovadamente importante para atividades relacionadas à emoção, atividade exploratória e função cognitiva (RACHETTI et al., 2012; SALEM JR et al., 2001).

O DHA pode afetar a função sináptica e as habilidades cognitivas, influenciando na integridade e na melhora da fluidez da membrana e consequente permeabilidade iônica nas regiões sinápticas, na excitabilidade neuronal e no crescimento sináptico e axonal (GORJÃO et al., 2009; SANTOS, 2014). A relação do DHA com o sistema glutamatérgico é muito importante, tendo em vista que aumenta a liberação de glutamato e restaura a potenciação de longo prazo (RACHETTI et al., 2012).

Deficiências crônicas de ácidos graxos, particularmente desses precursores ditos AGE, têm sido relacionadas com modificações na composição lipídica das membranas neurais, distúrbios visuais e de comportamento (CURI et al., 2002).

Nos últimos anos, diversos estudos têm investigado a importância dos AGPICL na alimentação do recém-nascido para obter o máximo potencial de desenvolvimento neurológico. Portanto, eles são considerados nutrientes fundamentais para o perfeito desenvolvimento cerebral e visual do bebê antes e após o nascimento (SILVA et al., 2007).

A dieta materna, antes da concepção, é de grande importância, já que ela determina o tipo de ácido graxo que se acumulará no tecido fetal. O transporte dos AGE é realizado através da placenta e são depositados no cérebro e retina do concepto. Além disso, ocorre um acúmulo simultâneo nas glândulas mamárias durante esta fase. O depósito de DHA na retina e no córtex cerebral ocorre principalmente no último trimestre de gestação e nos primeiros seis meses de vida extrauterina, podendo se estender até os dois primeiros anos de vida (SILVA et al., 2007).

Com o nascimento, esses AG essenciais são transferidos aos lactentes em quantidades suficientes pelo leite materno de mães com adequado estado nutricional. Em países em desenvolvimento, onde as condições de saúde e nutrição são precárias, possíveis deficiências podem acarretar prejuízos nos processos de elongação e dessaturação, ou seja, no processo de formação de ARA e DHA a partir dos ácidos linoleico e linolênico, respectivamente (PATIN, et al., 2006).

#### 3.3 DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA NERVOSO

O desenvolvimento do sistema nervoso, especialmente do cérebro, ocorre durante o último trimestre de gestação. Durante esse período, a necessidade de DHA aumenta consideravelmente e a mãe exerce um papel fundamental na oferta, não apenas de DHA, como de ARA, uma vez que uma baixa concentração deste no cérebro e na retina pode repercutir na funcionalidade dos órgãos afetados. Os AGPI têm função primariamente estrutural. Este processo morfogênico tem início na crista neural, caracterizando-se por sucessivas etapas de neurogênese, migração neural, apoptoses seletivas, sinaptogênese e mielinização. Essas etapas sequenciais dão forma e funcionalidade ao tecido cerebral. A deficiência de DHA pode alterar a composição das membranas sinápticas, afetando as funções dos receptores da membrana neuronal, canais iônicos e sistemasenzimáticos tendo sido associados ao comprometimento cognitivo e doença de Alzheimer (LIM, 2005; SILVA, et al., 2007).

O sistema nervoso possui a segunda maior concentração de lipídios do organismo. O desenvolvimento do SNC se inicia no período perinatal e prossegue até os primeiros anos de vida pós-natal. Os AGPI podem influenciar em determinadas etapas do desenvolvimento mental, pois nesta fase, há aumento do aporte de AGPI. Em ratos, esta demanda maior ocorre entre o 16° ao 18° dia de gestação (CURI, et al 2002; HERRERA, 2002; KOLETZKO et al., 2001; SOARES, 2012).

A maturação do SNC tem início na fase intrauterina e persiste até os 7 anos, apresentando maior intensidade nos primeiros 2 anos de vida. O processo morfogênico, diretamente associado à função do cérebro, requer uma oferta de AG específica, especialmente de ARA e DHA, como mencionado anteriormente. Esse processo torna a nutrição materna essencial ao feto durante a gestação e lactação, pois há aumento funcional e bioquímico das demandas maternas de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (PATIN, et al., 2006).

O ômega 3 é encontrado no cérebro e na retina e participam do crescimento, contribuindo para o processo de mielinização e desenvolvimento da função da visão, no desenvolvimento psicomotor e em vários aspectos da função neural em relação ao comportamento (PATIN, et al., 2006).

#### 3.4 COMPORTAMENTO DE ANSIEDADE EM MODELOS ANIMAIS

Na ciência experimental, modelo é qualquer representação de um fenômeno complexo em uma forma mais simples. A partir dessa perspectiva, é possível simular um fenômeno ainda desconhecido por meio de sistemas conhecidos. Como todo modelo é uma simplificação da realidade, sabe-se que apresenta limitações. Entretanto, possuem grande valor, uma vez que permitem testar hipóteses a partir de um conjunto de conhecimentos produzido acerca dessa realidade. Ou seja, o avanço na compressão de um fenômeno complexo se dá por meio de pequenos passos, tendo sempre em suas primeiras etapas a simulação do fenômeno em condições mais simples (CRUZ; LANDEIRA-FERNANDEZ, 2011).

O transtorno de ansiedade generalizada (TAG) está entre os transtornos da ansiedade e, consequentemente, transtornos mentais, mais frequentemente encontrados na clínica. Embora visto inicialmente como um transtorno leve, atualmente, avalia-se que o TAG é uma doença crônica, associado a uma morbidade relativamente alta e a altos custos individuais e sociais (ANDREATINIA; BOERNGEN-LACERDA; FILHOB, 2001).

Os modelos animais de ansiedade procuram reproduzir uma situação ambiental de provável ocorrência de diferentes formas de aversão ou desconforto. Geralmente, isso é feito

expondo-se animais a ambientes novos ou potencialmente perigosos, estímulos ou contextos associados a estímulos nociceptivos moderados, situações sinalizadoras da presença de um predador natural, confrontos iminentes com animais da mesma espécie. Os padrões comportamentais e as reações fisiológicas ativadas em decorrência do contato com essas fontes sinalizadoras de perigo em potencial são utilizados como medidas de ansiedade e, geralmente, apresentam grande correspondência com as medidas de ansiedade em humanos (CRUZ; LANDEIRA-FERNANDEZ, 2011).

Um fator limitante na pesquisa da ansiedade é a ausência de análogos no animal. Em decorrência de a ansiedade ser um conceito que descreve um estado subjetivo, ela é considerada uma característica humana. Por isso, na melhor das hipóteses, ela pode ser apenas modelada, e não reproduzida em animais. Modelos animais de ansiedade úteis devem: reproduzir características comportamentais e patológicas da síndrome de ansiedade; permitir investigação de mecanismos neurobiológicos que não são facilmente estudados no homem; e permitir avaliação confiável de agentes ansiolíticos, assim como identificar efeitos ansiogênicos de drogas e toxinas (ANDREATINIA; BOERNGEN-LACERDA; FILHOB, 2001).

# 3.5 ASPECTOS GERAIS SOBRE O ÓLEO DE AVESTRUZ.

Uma das matérias-primas básicas obtidas durante o abate de animais é a fração lipídica. A sua composição e propriedades variam de acordo com as espécies de animais, a sua idade e sexo e as condições de gestão (FRONTCZAK et al., 2008).

A criação de avestruz é uma indústria que cresce rapidamente em todo o mundo e avestruzes estão se tornando uma importante fonte de carne para os seres humanos (SALES; HAYES, 1996). A carne de avestruz tem um excelente sabor e alto valor nutritivo, bem como baixo teor de calorias, com um teor muito baixo de colesterol. Por esta razão, é excepcionalmente valiosa do ponto de vista da dietética e pode ser usada para obter vários produtos à base de carne. Na Polônia, o depósito de gordura coletada durante o abate de avestruzes é tratado como lixo. Existe um problema com a utilização da gordura de avestruz. Relativamente poucos estudos têm sido realizados sobre a sua composição química e as propriedades. A maioria dos estudos dizem respeito a gordura intramuscular, enquanto apenas escassos estudos investigam a gordura de reserva. Supondo-se que o peso médio de um avestruz é 55 kg, a gordura subperitoneal constitui aproximadamente 7% deste peso (4 kg). A sua composição varia consideravelmente e é dependente de vários fatores, por exemplo, espécies,

as condições de manejo e idade dos animais. É uma matéria-prima para a produção de cosméticos, óleo, etc. (FRONTCZAK et al., 2008).

O óleo de avestruz contém 28% de ácidos graxos saturados, principalmente, como o ácido palmítico (20%) e ácido esteárico (8%). Os ácidos graxos poli-insaturados são cerca de 20% de n-6 e 2% de n-3 e o n-9 é óleo de alta. Entre suas características o óleo de avestruz possui propriedades antibacterianas, pouco irritante, anti-inflamatório, aumenta o crescimento de pele, estimula folículos pilosos a proliferar e crescer e podem ser tomados por via oral, ingeridas ou injetadas (BROWN et al., 1995; SALES; HAYES, 1996; KRAWCZYK, 1997; CRAIG-SCHMIDT, 1999; AMANY et al., 2011).

# **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

O estudo em questão trata-se de uma pesquisa do tipo exploratória. Quanto ao procedimento para coleta de dados foi de natureza quantitativa, uma vez todos os dados foram transformados em números para serem analisados.

#### 4.1 ANIMAIS

Fêmeas primíparas, da linhagem Wistar, provenientes do Biotério de criação da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), com idade entre 120 e 150 dias e peso de 250 ± 50 g, foram utilizadas para obtenção de ratos machos. Durante o acasalamento, foram mantidas três fêmeas para cada macho. Os animais foram alojados no Laboratório de Nutrição Experimental (LANEX) do Centro de Educação e Saúde (CES) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) – *campus* Cuité-PB. A confirmação da prenhez foi feita por meio do esfregaço vaginal. Posteriormente, as ratas prenhas foram alojadas em gaiolas-maternidade individuais de polipropileno, em condições-padrão: temperatura de 22 +/- 1°C, com ciclo claroescuro de 12 h (início da fase clara às 6h00), umidade de +/- 65%, recebendo ração experimental e água ad libitum, desde o primeiro dia de gestação até o final da lactação. Foram formados dois grupos: um grupo controle, recebendo dieta padrão, tendo como fonte lipídica o óleo de soja; e um grupo experimental, que recebeu dieta modificada, tendo como fonte lipídica o óleo de avestruz. Após o desmame, as ratas foram sacrificadas seguindo as recomendações éticas do National Institute of Health (Bethesda, USA), com relação aos cuidados com os animais. As ninhadas foram padronizadas em 12 filhotes machos, e novamente foram formados dois grupos, sendo um grupo controle (grupo CT), proveniente das ratas que receberam a dieta a base de óleo de soja e o grupo óleo de avestruz (grupo AV), oriundos das fêmeas que receberam a dieta experimental. Todos os filhotes foram alimentados com a ração padrão e água ad libitum.

#### **4.2 DIETA EXPERIMENTAL**

O grupo CT recebeu a dieta padrão com 7% de óleo de soja (Tabela 2), de acordo com as recomendações do *American Institute of Nutrition* (AIN-93) e o grupo AV recebeu a dieta padrão modificada (Tabela 3), tendo como fonte lipídica o óleo de avestruz, cuja composição encontra-se descrita na Tabela 1, com o dobro da proporção (14%), sendo oferecidas durante a

gestação e a lactação (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993). As rações foram oferecidas diariamente, em quantidade suficiente para manter o consumo *ad libitum*.

Tabela 1 - Composição nutricional do óleo de avestruz informada no rótulo.

Informação Nutricional  Porção de 50 mL (4 colheres de sopa)				
Carboidratos	1,14			
Proteínas	0,04 g			
Gorduras totais	44,49 g			
Gorduras Saturadas	13,29 g			
Gorduras trans	<0 g			
Sódio	-			
Ácido Oleico - Ômega 9	16,53 g			
Ácido Palmitoléico – Ômega 7	2,42 g			
Ácido Linoleico – Ômega 6	8,88 g			
Ácido Linolênico – Ômega 3	0,56 g			

Tabela 2 - Composição da dieta controle.

	Dieta	
Ingredientes (g/kg)	Controle	Calorias
Amido	529,5 g	2118,9
Sacarose	100 g	400
Caseína	200 g	800
Óleo de soja	70 ml	630
Celulose	50 g	-
Mix Minerais	35 g	-
Mix Vitaminas	10 g	-
L-Cisteina	3,0 g	12
Colina	2,5 g	-
Total	1000 g	3960,9 kcal/kg/dia

**Tabela 3 -** Composição da dieta modificada.

	Dieta	
Ingredientes (g/kg)	Experimental	Calorias
Amido	459,5 g	1838
Sacarose	100 g	400
Caseína	200 g	800
Óleo de Avestruz	140 ml	1260
Celulose	50 g	-
Mix Minerais	35 g	-
Mix Vitaminas	10 g	-
L-Cisteina	3,0 g	12
Colina	2,5 g	-
Total	1000 g	4310l/kg/dia

# **4.3 TESTES COMPORTAMENTAIS**

Os modelos animais de ansiedade procuram reproduzir uma situação ambiental de provável ocorrência de diferentes formas de aversão ou desconforto. Geralmente isso é feito expondo-se animais a:

- Ambientes novos ou potencialmente perigosos.
- Estímulos ou contextos associados a estímulos nociceptivos moderados.
- Situações sinalizadoras da presença de um predador natural.
- Confrontos iminentes com animais da mesma espécie.

Os padrões comportamentais e as reações fisiológicas ativadas em decorrência do contato com essas fontes sinalizadoras de perigo em potencial são utilizados como medidas de ansiedade e geralmente apresentam grande correspondência com as medidas de ansiedade em humanos (CRUZ; LANDEIRA-FERNANDEZ, 2012).

No presente estudo, foi adotada a exposição do animal a um ambiente novo ou potencialmente perigoso, nos dois modelos utilizados, e a partir disso, testar o comportamento de ansiedade e a atividade exploratória do animal.

# 4.3.1 Teste do Campo Aberto

O campo aberto foi desenvolvido para o estudo da emocionalidade em ratos, é um instrumento para testar comportamento de ansiedade e atividade exploratória, a fim de verificar os efeitos de ambientes não familiares sobre a emoção nesses animais (LACERDA, 2006; PRUT; BELZUNG, 2003; SANTOS, 2008).

O aparelho original consiste de uma arena circular metálica (pintada de branco), bem iluminada com aproximadamente 1,2 m de diâmetro, circundada por uma parede circular de 0,45 m de altura com a parte superior aberta. O piso da arena é dividido em 17 campos (com linhas pintadas de preto), sendo 3 círculos concêntricos que, por sua vez, são subdivididos em um total de 16 segmentos e um círculo central (LACERDA, 2006; CARVALHO, 2011; MEZADRI, 2011; RANGEL, 2014).

Normalmente, o procedimento consiste em confrontar o animal com um ambiente novo e observar comportamentos como ambulação (número de linhas cruzadas no chão da arena pelo animal), frequência de *rearings* (levantar), tempo de autolimpeza (*grooming*), defecação.



**Figura 1** - Aparelho de Campo Aberto. Fonte: Laboratório de Nutrição Experimental, LANEX/UFCG (2014).

O aumento da defecação e uma baixa atividade locomotora indicam a ansiedade do animal, enquanto que um aumento na ambulação (número de cruzamentos) indica redução da ansiedade. (CRUZ; LANDEIRA-FERNANDEZ, 2012; MEZADRI et al., 2011). Prut e Belzung (2003) acreditam que dados como locomoção aumentada pode ser um indicativo de um efeito estimulante. Além disso, a ausência de movimento ou tempo de parada é um parâmetro utilizado

como indicativo de alto nível de estresse enquanto a defecação reflete o índice de emoção, sendo relacionada à ativação do sistema simpatomimético (SACHETTI et al., 2009).

O teste foi realizado com ratos *Wistar* com 42 dias de idade divididos nos dois grupos: o grupo CT (N=12) e o grupo AV (N=12). Cada animal foi inserido no centro do aparelho e observado durante 10 minutos, sendo avaliados os parâmetros de ambulação (número de cruzamentos dos segmentos pelo animal com as quatro patas), número de comportamentos de levantar (*rearing*), tempo de comportamentos de autolimpeza (*grooming*) e defecação (registrada por meio do número de bolos fecais) (SANTOS, 2008)

As sessões foram filmadas com uma câmara de vídeo instalada no teto. Posteriormente, os vídeos foram analisados e os parâmetros comportamentais identificados e registrados. O aparelho foi higienizado com uma solução de 10% de álcool após cada sessão de comportamento.

#### 4.3.2 Teste do Labirinto em Cruz Elevado (LCE)

Atualmente, o labirinto em cruz elevado figura entre os modelos animais de ansiedade mais utilizados para o estudo experimental da ansiedade (CRUZ; LANDEIRA-FERNANDEZ2012; MORATO, 2006). O equipamento consiste em uma estrutura de quatro braços, elevados 50 cm do chão, conectados por uma área central. Dois braços possuem paredes, sendo chamados de braços fechados, e os outros dois, perpendiculares aos primeiros, não possuem as paredes, correspondendo aos braços abertos (MEZADRI, 2011).

O comportamento natural do animal ao ser colocado no labirinto é o de refugiar-se nos braços fechados, evitando os braços abertos. A frequência de entradas e o tempo gasto em cada tipo de braço devem ser analizados. O rato explora os dois tipos de braço, mas entra mais e permanece mais tempo nos braços fechados. Considera-se a porcentagem da preferência (entradas e tempo gasto) pelos braços abertos e pelos fechados um índice fidedigno de ansiedade: quanto maiores os níveis de ansiedade, menor a porcentagem de entradas nos braços abertos e de tempo gasto nos mesmos (LISTER, 1987; MARTINEZ, 2005; FEDOROSA; SALEM JR, 2006; CARVALHO, 2011; MEZADRI, 2011;).



**Figura 2** - Aparelho de Labirinto em Cruz Elevado. Fonte: Laboratório de Nutrição Experimental, LANEX/UFCG (2014).

No presente estudo, o teste foi realizado com os dois grupos: o grupo CT (N=12) e o grupo AV (N=12). O animal foi colocado no centro do aparato cuidadosamente com o focinho voltado para um dos braços abertos, onde foi permitida a livre exploração por cinco minutos. A cada animal testado, o labirinto foi higienizado com álcool a 10%, respeitando um intervalo para que secasse completamente. Posteriormente, foram analisadas as seguintes categorias comportamentais:

- Número de entradas nos braços abertos e fechados: considerada uma entrada quando o animal entrava com as quatro patas no braço;
- Tempo gasto em cada um dos braços;
- Tempo gasto na área central;

As sessões foram filmadas com uma câmera de vídeo instalada no teto. Posteriormente, os vídeos foram analisados e os parâmetros comportamentais identificados e registrados.

# 4.4 ANÁLISE DOS DADOS

Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente utilizando-se o teste—t de Student não pareado. Os valores obtidos foram expressos em média ± desvio padrão (D.P.), sendo os resultados considerados significativos quando apresentaram p < 0,05. Os dados numéricos foram aplicados no programa SigmaStat versão 3.0.

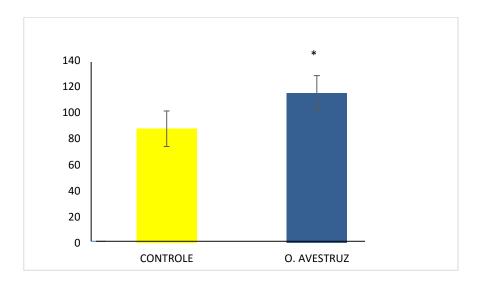
# 4.5 ASPECTOS ÉTICOS

A pesquisa foi previamente aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), em concordância com a CEUA 0407/13 (Anexo A). Foram fornecidos proteção e tratamento humanitário aos animais, não sendo submetidos a dor ou desconforto desnecessário e utilizando-se o número necessário de animais. O procedimento de eutanásia empregado foi por utilização de agentes farmacológicos não-inalantes, por meio administração via intramuscular de anestésicos e relaxantes musculares que proporcionam morte com menor sofrimento, dor ou ansiedade possível (GUIMARÃES; MÁZARO, 2004).

#### **5 RESULTADOS**

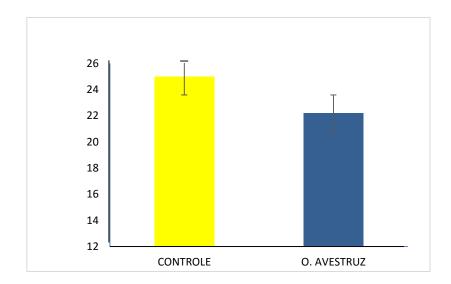
### **5.1.** Teste do Campo Aberto

Os animais foram submetidos ao teste de campo aberto, no qual foram avaliados os parâmetros de ambulação, *rearing*, *grooming* e defecação. Os dados para o parâmetro de ambulação revelaram um aumento significativo para o grupo AV  $(114 \pm 23,1)$  em comparação ao grupo CT  $(87,7 \pm 23,9)$  (Gráfico 1).



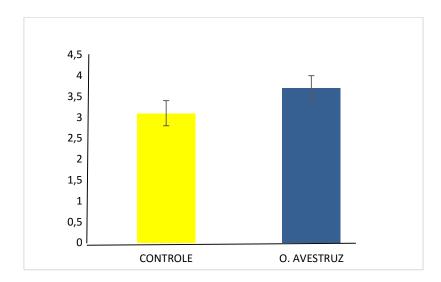
**Gráfico 1** – Efeito do consumo de dieta hiperlipídica a base de óleo de avestruz para o parâmetro de ambulação no Teste do Campo Aberto em ratos. Os valores estão expressos em média ± D.P. (n=12). Teste t Student. \*p<0,05.

Em relação ao parâmetro de levantar (Gráfico 2), não foi observada diferença entre o grupo controle  $(25 \pm 4,6)$  e o grupo experimental  $(22,18 \pm 5,4)$ .



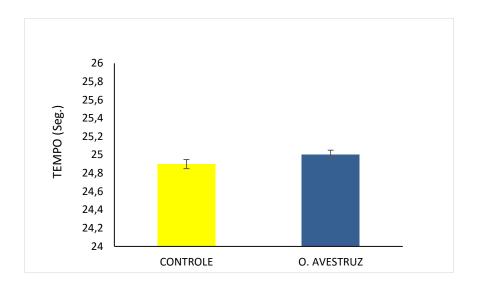
**Gráfico 2** – Efeito do consumo de dieta hiperlipídica a base de óleo de avestruz para os parâmetros de levantar no Teste do Campo Aberto em ratos. Os valores estão expressos em média ± D.P. (n=12).

Quanto ao número de bolos fecais dos grupos CT  $(3,1\pm1,69)$  e AV  $(3,7\pm2,23)$  também não foi verificada diferença (Gráfico 3).



**Gráfico 3** – Efeito do consumo de dieta hiperlipídica a base de óleo de avestruz para o parâmetro de defecação no Teste do Campo Aberto em ratos. Os valores estão expressos em média ± D.P. (n=12).

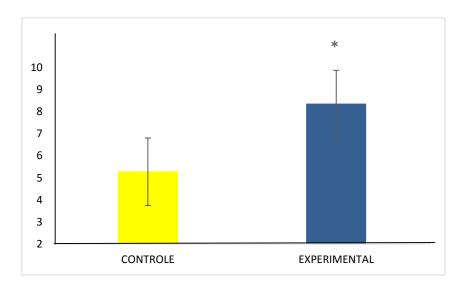
Quanto ao parâmetro de autolimpeza, os resultados apresentados pelos animais dos grupos CT  $(24.4 \pm 16.1)$  e AV  $(25s \pm 7.49)$  foram estatisticamente semelhantes (Gráfico 4).



**Gráfico 4**— Efeito do consumo de dieta hiperlipídica a base de óleo de avestruz para o parâmetro de autolimpeza no Teste do Campo Aberto em ratos. Os valores estão expressos em média ± D.P. (n=12).

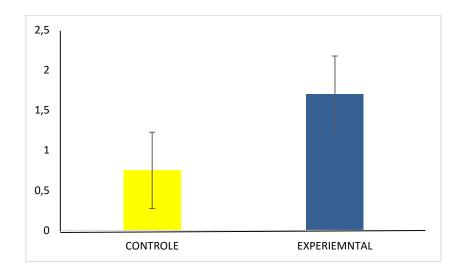
### 5.1.1 Teste do Labirinto em Cruz Elevado

No Labirinto em Cruz Elevado, as análises mostraram que o grupo AV  $(8,3 \pm 3,57)$  obteve número superior de entradas nos braços fechados (NEBF) quando comparados ao grupo CT  $(5,2 \pm 2,19)$  (Gráfico 5).



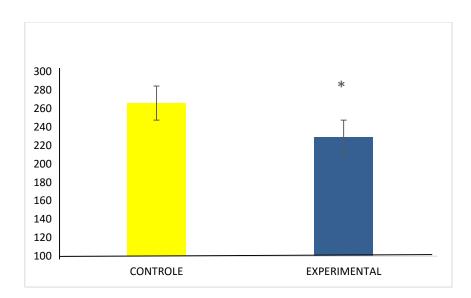
**Gráfico 5** – Efeito do consumo de dieta hiperlipídica a base de óleo de avestruz sobre o Número de Entrada nos Braços Fechados (NEBF) no Teste de Labirinto em Cruz Elevado em ratos. Os valores estão expressos em média ± D.P. (n=12). Teste t Student \*p<0,05

No parâmetro de número de entradas nos braços abertos (NEBA), não houve diferença significativa entre os grupos CT  $(0.75 \pm 0.96)$  e AV  $(1.5 \pm 1.71)$  (Gráfico 6).



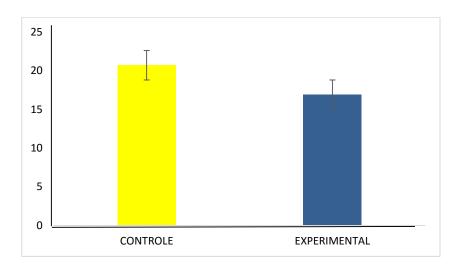
**Gráfico 6** – Efeito do consumo de dieta hiperlipídica a base de óleo de avestruz sobre o Número de Entrada nos Braços Abertos (NEBA) no Teste de Labirinto em Cruz Elevado em ratos. Os valores estão expressos em média ± D.P. (n=12).

Apesar de aumentar o NEBF, o grupo óleo de avestruz (228,8  $\pm$  18,36) permaneceu menos tempo nos braços fechados (TBF) do que o grupo CT (265,7  $\pm$  23,43) (Gráfico 7).



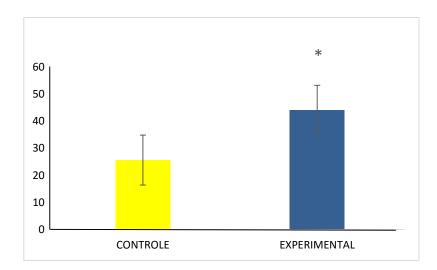
**Gráfico 7** – Efeito do consumo de dieta hiperlipídica a base de óleo de avestruz sobre o tempo nos Braços Fechados (TBF) no Teste de Labirinto em Cruz Elevado em ratos. Os valores estão expressos em média ± D.P. (n=12). Teste t Student \*p<0,05.

Não foi observada diferença no tempo gasto nos braços abertos (TBA) entre o grupo controle  $(20.7 \pm 20.9)$  e o grupo experimental  $(16.9 \pm 24.32)$  (Gráfico 8).



**Gráfico 8** – Efeito do consumo de dieta hiperlipídica a base de óleo de avestruz sobre o tempo nos Braços Abertos (TBA) no Teste de Labirinto em Cruz Elevado em ratos. Os valores estão expressos em média ± D.P. (n=12).

Ao analisar os dados de permanência na área central, constatou-se que grupo AV ( $44 \pm 10,19$ ) permaneceu mais tempo na área central (TC) do Labirinto em Cruz Elevado, quando comparado ao grupo CT ( $25,6 \pm 14,04$ ) (Gráfico 9).



**Gráfico 9** – Efeito do consumo de dieta hiperlipídica a base de óleo de avestruz sobre o tempo na área central (TC) no Teste de Labirinto em Cruz Elevado em ratos. Os valores estão expressos em média ± D.P. (n=12). Teste t Student \*p<0,05

### 6 DISCUSSÃO

O transtorno de ansiedade generalizada está entre os transtornos mentais, mais frequentemente encontrados na clínica. Embora visto inicialmente como um transtorno leve, atualmente, é avaliado como uma doença crônica, associada a uma morbidade relativamente alta e a altos custos individuais e sociais. Por exemplo, cerca de 24% dos pacientes classificados como grandes usuários de serviços médicos ambulatoriais apresentam diagnóstico de ansiedade (ANDREATINIA; BOERNGEN-LACERDA; FILHO, 2001)

Na Clínica, a ansiedade é diagnosticada e avaliada principalmente pelo relato dos pacientes, indicando a natureza subjetiva dos transtornos de ansiedade, o que traz uma limitação aparentemente intransponível aos modelos animais de ansiedade. Entretanto, apesar desta limitação, o desenvolvimento dos modelos animais recebeu impulso importante pelo advento de novas drogas ansiolíticas e pela compreensão da neurobiologia da ansiedade (LACERDA, 2006).

Estudos relacionados ao consumo de alimentos fontes de ácidos graxos essenciais (ω-6 e ω-3), e seus efeitos metabólicos e fisiológicos sobre o organismo humano, têm sido crescentes nas últimas décadas. O desenvolvimento e a manutenção das funções psicomotoras e cognitivas, no decorrer da vida, sofrem influência decisiva da nutrição durante o período perinatal. Embora todos os nutrientes sejam importantes para o desenvolvimento estrutural do SNC, acredita-se que alguns lipídeos, como os Ácidos Graxos Poli-insaturados de Cadeia Longa, podem influenciar decisivamente em determinadas fases do desenvolvimento mental (MELO et al., 2008; FERNANDES, 2007). A importância da incorporação dos ácidos graxos poli-insaturados nas membranas neuronais é amplamente divulgada, pois os seus inúmeros benefícios têm chamado a atenção dos estudiosos por atuarem beneficamente na atividade encefálica e em diferentes neuropatias, como a doença de Alzheimer, depressão e esquizofrenia (BARBOSA et al., 2014).

Alguns estudos demonstram que a suplementação realizada durante a gravidez e lactação de ratos, leva a um efeito antidepressivo em diferentes janelas temporais. Esta fase representa um momento crucial para o desenvolvimento do SNC. Logo, a incorporação dos ômegas 3, 6 e 9 nesse período interfere diretamente no desenvolvimento cerebral influenciando as funções fisiológicas, incluindo a visão, cognição e promovendo a maturação sensorial e neuronal (BARBOSA et al., 2014).

Assim, com a finalidade de avaliar experimentalmente os efeitos da ingestão dietética do óleo de avestruz durante de gestação e lactação, foram realizados testes comportamentais com a prole de ratas alimentadas com uma dieta contendo óleo de avestruz. Os filhotes tinham a partir de 42 dias de idade, fase que corresponde à adolescência nos humanos.

Dois testes foram realizados: os animais foram observados no Campo Aberto, durante 10 minutos, sendo avaliados ambulação (número de linhas cruzadas no chão da arena pelo animal), *rearings* (o número total do levantar), *grooming* (tempo de autolimpeza), e o número de bolos fecais. Adicionalmente, foi realizada observação em Labirinto em Cruz Elevado, para avaliar o potencial efeito ansiolítico do óleo avestruz, conduzido por 5 min segundo o aparato dos estudos de Sachetti et al. (2009) e Oliveira et al. (2008).

O teste de campo aberto é um dos instrumentos mais utilizados na avaliação comportamental e da função motora de animais (PRUT; BELZUNG, 2003). Hall, responsável pelo desenvolvimento do teste do campo aberto, propôs que quando expostos a um ambiente novo, os roedores apresentariam um grau alto de defecação causado por ativação do sistema nervoso autônomo sendo que, inicialmente, se propunha que um baixo grau de ambulação também parecia uma resposta de medo dos animais expostos a um ambiente novo (LACERDA, 2006).

Estudos apontam ainda um aumento do número de bolos fecais como resultado de um elevado índice de emocionalidade, de modo que drogas ansiolíticas reduzem esse comportamento. Além disso, no emprego deste modelo para avaliação da ansiedade, considerase que o aumento na ambulação do animal e maior permanência do mesmo na região central seriam indicativos de uma redução da ansiedade (CARVALHO, 2011; LISTER, 1990; LACERDA, 2006). Entretanto, esta proposta tem sido criticada por alguns autores, principalmente pelo fato das medidas avaliadas poderem ser influenciadas por vários outros fatores além da própria ansiedade, como atividade locomotora e exploração. A novidade de uma primeira exposição pode gerar imobilidade ou extrema locomoção na periferia do aparelho (LACERDA, 2006).

No presente trabalho foi possível notar um aumento na atividade exploratória dos animais do grupo AV em relação ao grupo CT, mostrando um efeito ansiolítico do óleo de avestruz sobre os animais amamentados pelas ratas que consumiram a dieta contendo o óleo, o que pode ser atribuído à presença dos ácidos graxos ômegas 3, 6 e 9. Carvalho (2011) relatou que a ambulação está diretamente relacionada com o grau de excitabilidade do SNC, de modo que um aumento da atividade exploratória é observado após o tratamento dos animais com drogas ansiolíticas. Em contrapartida, não foi verificada diferença significativa do número de

bolos fecais do grupo CT comparado ao grupo AV, não sendo observado nenhum efeito ansiolítico ou ansiogênico do óleo nesse quesito.

Siqueira e colaboradores (2009) também investigaram a influência dos ácidos graxos ômega-3 no desenvolvimento de alguns parâmetros do sistema glutamatérgico e do comportamento de ratos, mostrando que os ácidos graxos essenciais do tipo ômega-3 (ω3) são de extrema relevância para a função e desenvolvimento cerebrais, de maneira a afetar a cognição e o comportamento. Em seu estudo, os animais foram submetidos a duas dietas diferentes: dieta ω3 (grupo ω3) e dieta deficiente em ω3 (grupo D). Nos experimentos comportamentais, aos 60 dias de vida, os animais foram avaliados em campo aberto e labirinto em cruz elevada. O grupo D mostrou alteração no padrão exploratório, apresentou comportamento ansioso e déficit de memória. Este estudo sugere que os ácidos graxos ômega-3 provenientes da dieta são de grande valia para o desenvolvimento do sistema glutamatérgico, e sua deficiência durante o desenvolvimento poderia influenciar o comportamento na vida adulta.

Em concordância, o estudo de Bourre (2004) mostrou que a atividade exploratória é significativamente reduzida em camundongos com deficiência de omega-3. Dessa forma, a suplementação levaria a um aumento na atividade exploratória.

A autolimpeza ou *grooming* é um comportamento inato do animal, que geralmente se encontra exacerbado em situações de estresse. Drogas ansiolíticas diminuem o tempo de *grooming* no teste do campo aberto (KALUEFF; TUOHIMAA, 2005; CARVALHO, 2011; MÜNCHEN, 2013). Os resultados referentes a autolimpeza apresentados pelos animais do grupo CT e o grupo AV foram estatisticamente semelhantes, indicando a inexistência de efeito ansiolítico ou ansiogênico do óleo sobre a prole neste parâmetro.

O comportamento de *rearing*, no qual o animal se ergue, equilibrando-se apenas sobre suas patas posteriores, também está intimamente ligado ao grau de ansiedade do animal frente a situações estressantes, como a exposição a um novo ambiente. Agentes ansiolíticos tendem a aumentar a frequência de *rearing* (JOHANSSON; AHLENIUS, 1989; SHAW et al., 2007 CARVALHO, 2011). Em relação a esse parâmetro, também não foi observada diferença entre o grupo controle e o grupo experimental. O mesmo ocorreu no estudo de Gunha (2009) em estudo com animais divididos em dois grupos, sendo um suplementado com ácidos graxos poli-insaturados e outro não. Os resultados mostraram que o número de elevações nas patas traseiras, comportamento tipicamente exploratório, não foi diferente entre os animais controles ou suplementados com ácidos graxos poli-insaturados. Algo semelhante também aconteceu na pesquisa de Rodrigues (2011) no qual um grupo foi suplementado com óleo de peixe (OP) e

outro, o grupo controle, não foi suplementado (C). A exploração vertical também não teve efeito da suplementação. Tais achados contradizem estudos realizados por Rangel (2014) que explorou o efeito sobre a prole de ratas suplementadas com óleo de cártamo, rico em ácidos graxos poli-insaturados, observando que os filhotes das ratas que receberam a suplementação apresentaram um aumento da atividade exploratória, devido ao maior número de *rearing* quando comparado ao controle.

O modelo de LCE composto por dois braços abertos e dois fechados foi descrito por Handley e Mithani em 1984 para o estudo da ansiedade. Desde então, o LCE tem sido amplamente utilizado para o estudo de novas drogas com potencial ansiolítico, sendo igualmente sensível àquelas com perfil ansiogênico (LISTER, 1987; CARVALHO, 2011).

No presente estudo, as análises do teste do labirinto em cruz elevado mostraram que a suplementação com o óleo de avestruz induziu a um aumento do número de entradas nos braços fechados, mostrando um efeito ansiogênico do óleo de avestruz sobre os filhotes. Porém, apesar de aumentar o NEBF, o grupo suplementado permaneceu menos tempo nos braços fechados (TBF) do que o grupo CT, podendo isso ser interpretado como uma maior exploração do ambiente pelo animal, sendo esta uma característica ansiolítica, podendo também ser corroborado pelo aumento da ambulação no teste do campo aberto. Em relação aos parâmetros de número de entradas nos braços abertos (NEBA) e tempo gasto nos braços abertos (TBA) não houve diferença significativa entre os grupos CT e AV. E em relação aos dados de permanência na área central, constatou-se que o grupo AV permaneceu mais tempo na área central (TC) do Labirinto em Cruz Elevado, quando comparado ao grupo CT, característica essa ansiolítica.

Os efeitos dos ácidos graxos na dieta sobre o grau de ansiedade no labirinto em cruz elevado foram estudados por Nakashima e colaboradores (1993). Eles mostraram que o tempo gasto nos braços abertos, bem como a frequência de entrada nos braços abertos tendeu a ser maior nos ratos deficientes em ácidos graxos n-3, mesmo que as diferenças entre os grupos alimentares não tenham sido muito pronunciadas. Frances e colaboradores (1995) também relataram que a percentagem de entradas nos braços abertos e percentagem de tempo gasto com os braços abertos foram maiores nos ratos deficientes em n-3.

Estes resultados não condizem com os observados mais tarde por Bourre, 2004. Em sua pesquisa, relatou que no labirinto em cruz elevado, o tempo gasto nos braços abertos do aparelho foi significativamente menor em ratos com dieta deficiente em omega-3, comparados ao controle.

No estudo de Carrié e colaboradores (2003) a suplementação com fosfolípides ricos em n-3 iniciado em camundongos com 7 semanas de idade, conduziu a uma redução substancial

do nível de ansiedade no grupo deficiente; mas, mesmo assim, os seus níveis de ansiedade permanecem significativamente mais elevado do que a do grupo adequado, mostrando que em camundongos deficientes em ácido graxos n-3, a ansiedade foi significativamente aumentada em comparação com ratos alimentados com uma dieta contendo tanto linoleico e ácido  $\alpha$ -linolênico (grupo adequado).

Soares (2012) em seu estudo também mostrou que animais tratados com ácido linoleico conjugado, durante os períodos de gestação e lactação, quando submetidos ao LCE, obtiveram maior tempo gasto nos braços abertos, sendo esse um fator ansiolítico.

O estudo de Fedorosa e Salem Jr. (2006) propõe uma hipótese que pode explicar algumas das discrepâncias encontradas entre os estudos analisados. A pesquisa mostrou que a percentagem de entradas nos braços abertos, foi ligeiramente superior no grupo de animais com dieta deficiente em ácidos graxos poli-insaturados, comparado ao grupo adequado, mas a diferença não atingiu estatística significante. No entanto, em condições de alto estresse, o quadro mudou drasticamente. Os ratinhos deficientes em n-3 passaram a exibir um nível elevado de ansiedade em termos de tempo gasto nos braços abertos. O grupo adequado também foi afetada pelo stress, o que é indicado por uma diminuição do tempo passado nos braços abertos, mas em menor grau do que o grupo deficiente, demonstrando que animais deficientes em ácido graxo n-3 são mais vulneráveis ao estresse, e que eles se comportam de forma semelhante aos ratos adequados em condições normais, mas eram significativamente mais ansiosos sob condições estressantes.

Assim, de acordo com alguns estudos, o consumo desses ácidos graxos, auxiliam no desenvolvimento neuronal, e na função cerebral, sendo essencial para a formação de todas as membranas celulares SNC (ALMEIDA et al., 2014; GUNHA, 2009). Os resultados obtidos no presente estudo, reafirmam mais uma vez essa hipótese, e demostram a influência benéfica dos ácidos graxos poli-insaturados contidos no óleo de avestruz.

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos resultados obtidos neste estudo, foi possível observar que o consumo de uma dieta hiperlipídica a base de óleo de avestruz, por ratas, durante a gestação e a lactação, traz em sua maior parte resultados benéficos para a prole, visto que na maior parte dos parâmetros analisados foram observados comportamentos ansiolíticos no grupo AV quando comparado ao grupo CT, como aumento da atividade exploratória, tanto no teste do LCE como no campo aberto, maior permanência na área central do labirinto, e menor permanência nos braços fechados.

Assim, podemos sugerir que a inserção do óleo de avestruz na dieta desses animais, causou uma diminuição na ansiedade dos mesmos, mostrando os benefícios e a importância da inserção de ácidos graxos poli-insaturados na alimentação, principalmente nos períodos de gestação e lactação e atribuir tais resultados significativo teor de ácidos graxos poli-insaturados ômega 3, 6 e 9, na composição do óleo de avestruz.

## REFERÊNCIAS

ALBERTS, B.; BRAY, D.; HOPKIN, K.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. **Fundamentos da Biologia Celular**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 866p.

ALMEIDA, C. A. N.; FILHO, D. R.; MELLO, E. D.; BERTOLUCCI, P. H. F.; FALCÃO, M. C. I consenso da Associação Brasileira de Nutrologia sobre recomendações de DHA durante gestação, lactação e infância. **International Journal of Nutrology,** v. 7, n. 3, p. 01-13, 2014.

AMANY, M. M. B.; SHAKER, M. A.; SHEREEN, L. N. Utilization of ostrich oil in foods. **International Research Journal of Biochemistry and Bioinformatics**, v. 2, n. 8, p. 199-208, 2011.

ANDREATINIA, R.; BOERNGEN-LACERDA, R.; FILHOB, D. Z. Tratamento farmacológico do transtorno de ansiedade generalizada: perspectivas futuras. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 23, n. 4, p. 233-242, 2001.

APPLETON, K.M.; GRIPPO, A. J.; BELTZ, T. G.; JOHNSON, A. K. Consumption of a high n-3 polyunsaturated fatty acid diet during gradual mild physiological stress in rats. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids,** v. 95, p. 11-18, 2015

ASIF, M. Health effects of omega-3,6,9 fatty acids: Perilla frutescens is a good example of plant oils. **Oriental Pharmacy and Experimental Medicine**, v. 11, n.1, p. 51–59, 2011.

AUESTAD, N.; INNIS, S.M. Dietary n-3 fatty acid restriction during gestation in rats: neuronal cell body and growth-cone fatty acids. **American Journal of Clinical Nutrition**. v.71, n.1, p.312-314, 2000.

BARBOSA, A R.; LIMA, M. M. S.; MARQUES, C. M.; FERRAZ, A. C. Efeito da suplementação com ácidos graxos poli-insaturados da Família ômega 3 sobre a expressão de proteínas na substância Cinzenta periaquidutal de ratos wistar. **Cadernos da Escola de Saúde**, Curitiba, v. 8, p. 130-143, 2014.

BASUNY, A. M. M.; ARAFAT, S. M.; NASEF, S. L. Utilization of ostrich oil in foods. **International Research Journal of Biochemistry and Bioinformatics**, v. 2, n. 8, p. 199-208, 2011.

BODNAR, L. M.; WISNER K. L. Nutrition and Depression: Implications for improving mental health among child bearing-aged women. **Biological Psychiatry**, v. 58, n. 9, p. 679-685, 2005.

BOURRE, J.M. Roles of Unsaturated Fatty Acids (Especially Omega-3 Fatty Acids) In The Brain At Various Ages And During Ageing. **The Journal of Nutrition, Health & Aging,** v. 8, n. 3, p. 163 - 174, 2004.

BROWN, M. A.; CRAIG- SCHMIDT, M. C.; SMITH, P. C. Fatty acid composition of emu (Dromaius navaehollandiae) oil, **Inform**, v. 6, p. 470. 1995.

CARRIÉ, I.; CLÉMENT, M.; JAVEL, D.; FRANCÈS, H.; BOURRE, J. M. Phospholipid supplementation reverses behavioral and biochemical alterations induced by n–3 polyunsaturated fatty acid deficiency in mice. **Journal of Lipid Research**, v. 41, p. 473-480, 2000.

CARVALHO, F. L. **Avaliação psicofarmacológica do derivado imidazolidínico im-7 em camundongos**. 2011. 118 f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2011.

CRAIG –SCHMIDT, M. C. Ratite oils: compositon and claimed beneficial effects, Lipid Technol. **Newsletter,** v. 8, p. 80-83, 1999.

CRUZ, A. P. M.; LANDEIRA-FERNANDEZ, J. Modelos animais de ansiedade e o estudo experimental de drogas serotonérgicas. **Métodos em psicopatologia**, p. 192-217, 2012.

CURI, R.; POMPÉIA C.; MIYASAKA, C. K.; PROCOPIO, J. Entendendo a gordura: Os ácidos graxos. 1º ed. São Paulo: Manole, 2002.

FEDOROVA, I.; SALEM JR, N. Omega-3 fatty acids and rodent behavior **Prostaglandins**, **Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 75, p. 271–289, 2006.

FERNANDES, F. S. A semente de linhaça (*Linum usitatissimum*) como fonte de ácido graxo omega-3 durante a gestação, lactação e crescimento no desenvolvimento cognitivo de ratos. 2007. 132 f. Dissertação (Mestrado em Saúde da Criança e do Adolescente) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2007.

FRANCES, H. MONIER, C. BOURRE, J. M. Effects Of Dietary Alpha-Linolenic Acid Deficiency On Neuromuscular And Cognitive Functions In Mice. **Life Sciences**, v. 57, n. 21, p. 1935- 1947, 1995.

FRONTCZAK M.; KRYSZTOFIAK, K.; BILSKA, A.; UCHMAN, W. Características da Gordura de Avestruz Africano Struthio Camelus. Institute of Meat Technology; University of Life Sciences in Poznań, Poland. **Electronic Journal of Polish Agricultural Universities.** v. 11, n. 4, p.1-9, 2008.

GAVANJI, S.; LARKI, B.; TARAGHIAN A. H. A review of Application of Ostrich oil in Pharmacy and Diseases treatment. **Journal of Novel Applied Sciences – JNAS**, v. 2, n. 11, p. 650-654, 2013.

GORJÃO, R.; AZEVEDO-MARTINS, A.N.; RODRIGUES, H.G.; ABDULKADER, F.; TARCISIO-MIRANDA, M.; PROCOPIO, J.; CURI, R. Comparative effects of DHA e EPA on cell function. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 122, n. 1, p. 56–64, 2009.

GUIMARÃES, M. A.; MÁZARO, R. Princípios éticos e práticos do uso de animais de experimentação. São Paulo: UNIFESP, 2004. 75 p.

GUINÉ, R. P. F.; HENRIQUES, F. O papel dos ácidos gordos na nutrição humana e desenvolvimentos sobre o modo como influenciam a saúde. **Millenium**, v. 40, p. 7-21, 2011.

GUNHA, P. C. Efeito da Suplementação com Óleos Ricos em Ácidos Graxos Poliinsaturados das Famílias (N-3) E (N-6) Sobre o Sistema Nervoso de Ratos Wistar. 2009. 28 f. Monografia (Graduação em Biologia) - Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2009.

HERRERA, E. Implications of Dietary Fatty Acids During Pregnancy on Placental, Fetal and Postnatal Development - A Review. **Ideal Ibrary**, v. 23, n. 16, p. 9-19, 2002.

ITOKAZU, N.; IKEGAYA Y.; NISHIKAWA, M.; MATSUKI, N. Bidirectional actions of docosahexaenóico acid on hipocampal neurotransmissions in vivo. University of Tokyo, **Brain Research**, v. 862, n. 1, p. 211-216, 2000.

JENSEN, M. M.; SKARSFELDT, T.; HOY C. E. Correlation between level of (n-3) polyunsaturated fatty acids in brain phospholipids and learning ability in rats. A multiple generation study. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism.** v. 1300, n. 3, p. 203-209, 1996.

JOHANSSON, C.; AHLENIUS, S. Evidence for the involvement of 5-HT1A receptors in the mediation of exploratory locomotor activity in the rat. **Journal of Psychopharmacology,** v. 3, p. 32-35, 1989.

KALUEFF, A. V.; TUOHIMAA, P. Mouse grooming microstructure is a reliable anxiety marker bidirectionally sensitive to GABAergic drugs. **European Journal of Pharmacology**, v. 508, n. 3, p. 147-153, 2005.

KOLETZKO, B.; RODRIGUEZ-PALMERO, A.; DEMMELMAIR, H.; FILDLER, N.; JENSEN, R.; SAUERWALD, T. Physiological aspects of human milk lipids. **Early Human Development**.v. 65, n.1, p. 3-18, 2001.

KRAWEZK, T. Emu: premier oil bird. INFORM, v. 8, p. 246-252, 1997.

KRITCHEVSKY, D. S. T; TEPPER, S. A; WRIGHT, S; CZARNCHI, S. K. Influence of graded levels of conjugated linoleic acid (CLA) on experimental atherosclerosis in rabbits. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 19, n. 4, p.472-477, 2000.

KUS, M. M.; FILHO, J. M. Funções Plenamente Reconhecidas de Nutrientes: Ácidos Graxos Eicosapentaenoico (EPA) e Docosahexaenoico (DHA). **International Life Sciences Institute do Brasil - ILSI BRASIL**, v. 17, 2010.

LACERDA, G. F. M. L. **Ansiedade em modelos animais: efeito de drogas nas dimensões extraídas da análise fatorial**, 2006. 74 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Universidade Federal do Paraná. Paraná, 2006.

LIM, G. P.; CALON, F.; MORIHARA, T.; YANG, F.; TETER, B.; UBEDA, O.; SALEM JR, N.; FRAUTSCHY, S.; COLE, G. A Diet Enriched with the Omega-3 Fatty Acid Docosahexaenoic Acid Reduces Amyloid Burden in na Aged Alzheimer Mouse Model. **The Journal of Neuroscience**, v. 25, n. 12, p. 3032–3040, 2005.

LISTER R. G. Ethologically-based animal models of anxiety disorders. **Pharmacol Ther.** v. 46, n. 3, p.:321-340, 1990

LISTER, R. G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology**, v. 92, n. 2, p. 180-185, 1987.

MARTIN, C. A.; ALMEIDA, V. V.; RUIZ, M. R.; VISENTAINER, J. E. L.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição. Campinas,** v. 19, n. 6, p. 761-770, 2006.

MARTINEZ, R.; GARCIA, A. M. B.; MORATO, S. Papel da luminosidade do biotério no comportamento do rato no labirinto em cruz elevado. **Estudos de Psicologia**, v. 10, n. 2, p. 239-245, 2005.

- MARSZALEK, J. R; LODISH, H. F. Docosahexaenoic acid, fatty acid-interacting proteins, and neuronal function: breastmilk and fish are good for you. **Annual Review of Cell and Developmental Biology.** v. 21, n.1, p. 633-657, 2005.
- MELO, S. S.; SILVEIRA, B. M.; STEFANES, F. B.; TOMIO, T. A.; TISCHER, C. A.. Efeito da goma arábica nas concentrações de colesterol hepático, sérico e fecal de ratos alimentados com semente de linhaça, óleo de linhaça e colesterol sintético. **Alimentação e Nutrição**, v.19, n.2, p. 133-144, 2008.
- MEZADRI, T. J.; ORTOLAN, X. R.; THIEME, A. L.; PIACENTINI, N.; AMARAL, V. L. L.; FRAJBLAT, M. Bem-estar de animais experimentais Avaliação do comportamento de ratos alojados em caixas de cores diferentes. **Revista de Etologia**, v. 10, n. 1, p. 21-22, 2011. MORATO, S. O papel da visão na aversão aos espaços abertos no labirinto em cruz elevado. Universidade São Paulo USP. **Psicologia USP**, v. 10, n. 2, p. 159, 2006.
- MOREIRA, A. V. B.; MANCINI-FILHO, J. Influência dos compostos fenólicos de especiarias sobre a lipoperoxidação e o perfil lipídico de tecidos de ratos. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. **Revista de Nutrição**. v. 17, n. 4, p. 411-424, 2004.
- MOREIRA, J. D. Influência dos ácidos ômegaa-3 sobre o sistema glutamatérgico no hipocampo e retina de ratos: parâmetros de desenvolvimento, comportamentais e neuroproteção. 2011. 173 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2011.
- MÜNCHEN, P. A. **Utilidade da auto-limpeza para a avaliação da atividade em ratos repetidamente expostos a sessões prolongadas de labiento em cruz elevado.** 2013. 35 f. Dissertação (mestrado em análise do comportamento) Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2013.
- NAKASHIMA, Y.; YUASA, S.; HUKAMIZU, Y.; OKUYAMA, H.; OHHARA T.; KAMEYAMA, T.; NABESHIMAT, T. Effect of a high linoleate and a high dinolenate diet on general behavior and drug sensitivity in mice. **Journal of Lipid Research**, v. 34, 1993.
- OLIVEIRA, R. B.; NASCIMENTO, M. V. M.; VALADARES, M. C.; PAULA, J. R.; COSTA, E. A. CUNHA, L. C. Avaliação dos efeitos depressores centrais do extrato etanólico das folhas de Synadenium umbellatum Pax. e de suas frações em camundongos albinos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 44, n. 3, p. 485-491, 2008
- PATIN, R. V.; VÍTOLO, M. R.; VALVERDE, M. A.; CARVALHO, P. O.; PASTORE, G. M.; LOPEZ, F. A. Influência da ingestão de sardinha nos níveis de ácidos graxos poliinsaturados da série ômega 3 no leite materno. **Jornal de Pediatria**, v. 82, n. 1, p.63-69, 2006.

- PRUT, L; BELZUNG, C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. **European Journal of Pharmacology**, v. 463, n.1, p. 3-33, 2003.
- RACHETTI, A. L. F; ARIDA, R.M; PATTI, C.L; ZANIN, K.A; FERNADES-SANTOS, L; FRUSSA-FILHO. R; GOMES DA SILVA, S; SCORZA, F.A; CYSNEIROS, R.M. Fish oil supplementation and physical exercise program: Distinct effects on different memory tasks. **Behavioural Brain Research**, v. 237, n.1, p. 283-289, 2012.
- RANGEL, R. C. Efeitos comportamentais do consumo de óleo de cártamo na prole de ratas durante a gestação e lactação. 2014. 61 f. Monografia (Graduação em Nutrição) Universidade Federal de Campina Grande. Cuité, 2014.
- REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; C. FAHEY, G. C. AIN-93 dietas purificadas para roedores de laboratório: relatório final do American Institute of Nutrition comitê de redação ad hoc sobre a reformulação do roedor dieta AIN-76A. **Journal of Nutrition**. v. 123, n.11, p. 1939-1951, 1993.
- RODRIGUES, L. S. Efeito Do Inibidor Da Síntese De Serotina, P-Clorofenilalanina Hcl (Pcpa), Sobre O Comportamento De Ratos Wistar Submetidos À Suplementação Com Ácidos Graxos Poliinsaturados Da Família Ômega-3 Durante As Fases De Gestação E Lactação. 2011. 34 f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2011.
- SACHETTI, C. G.; FASCINELI, M. L.; SAMPAIO, J. A.; LAMEIRA, O. A.; CALDAS E. D. Avaliação da toxicidade aguda e potencial neurotóxico do óleo-resina de copaíba (Copaifera reticulata Ducke, Fabaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia** v.19, n.4, p. 937-941, 2009.
- SALEM JR, N.; LITMAN, B.; KIM, H-Y.; GAWRISCH, K. Mechanisms of action of docosahexaenoic acid in the nervous system. **Lipids**, v. 36, n. 9, p. 945-959, 2001.
- SALES, J.; HAYES J. P. Proximate, amino acid and mineral composition of ostrich meat. Department of Animal Sciences, University qf Stellenbosch, Stellenbosch 7600. **Food Chemistry**, v. 56, n. 2, p. 167-170, September, 1996.
- SANTOS. C. C. M. P. Estudo psicofarmacológico comparativo da forma racêmica, (rs)-(±)-linalol, e seus enantiômeros, (s)-(+)- linalol e (r)-(-) linalol em camundongos. 2008. 109 f. Dissertação (Mestrado em Produtos naturais e sintéticos Bioativos: Farmacologia) Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2008.

- SANTOS, F. V. Avaliação Comportamental e Bioquímica dos Efeitos dos Ácidos Graxos Poli-Insaturados N-3 E do Exercício Físico não Voluntário em Ratos Wistar. 2014. 96f. Tese (Doutora em Fisiologia) Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2014.
- SHAW, D.; ANNETT, J. M.; DOHERTY, B.; LESLIE, J. C. Anxiolytic effects of lavender oil inhalation on open-field behaviour in rats. **Phytomedicine**, v. 14, p. 613620, 2007.
- SILVA, D. R. B.; JÚNIOR, P. F. M.; SOARES, E. A. A Importância dos Ácidos Graxos Poliinsaturados de Cadeia Longa na Gestação e Lactação. Instituto de Nutrição. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil.** Recife, v. 7 n. 2, p. 123-133, 2007.
- SIQUEIRA, L. V.; THOMAZI, A. P.; SOUZA, C. G.; SOUZA, D. G.; MOREIRA, J. D.; VINADÉ, L.; HELENA, C.; KNORR, L.; GANZELLA, M.; PERRY, M. L. S.; WOFCHUK, S.; SOUZA, T. M. A privação dietética de ácidos graxos ômega-3 afeta parâmetros ontogenéticos das sinapses glutamatérgicas e parâmetros comportamentais em ratos. Salão de Iniciação Científica, v. 21, p. 19-23, 2009.
- SOARES. J. K. B. Ácido linoléico conjugado (CLA) obtido do leite de cabra e seus efeitos sobre o desenvolvimento neural e somático em ratos: análise eletrofisiológica e comportamental. 2012. 89 f. Tese (Doutorado em Nutrição) Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2012.
- WAINWRIGHT, P.E; HUANG, Y. S.; COSCINA, D. V.; LÉVESQUE, S.; MCCUTCHEON, D. Brain and behavioral effects of dietary n-3 deficiency in mice: a three generational study. **Dev. Psychobiology**, v. 27, n. 7, p. 467-487, November, 1994.
- YEHUDA, S.; RSBINOVITZ, S.; MOSTOFSKY, D. J. Neurobiology of aging, Essential fatty acids and the brain: From infancy to aging, **Royaume-UNI**, v. 26, 2005.
- YOUDIM, K. A.; MARTIN, A.; JOSEPH, J. A. Essential fatty acids and the brain: possible health implications. **International Journal of Developmental Neuroscience,** v. 18, n. 4, p. 383-399, 2000

# **ANEXOS**

# ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

