

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE**

**CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE**

**UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE**

**CURSO DE BACHARELADO EM NUTRIÇÃO**

**SABRINA CAMILA DE MEDEIROS DANTAS**

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS COMPORTAMENTAIS NA  
PROLE DE RATAS SUPLEMENTADAS COM ÓLEO DE CHIA  
DURANTE A LACTAÇÃO**

Cuité/PB

2017

SABRINA CAMILA DE MEDEIROS DANTAS

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS COMPORTAMENTAIS NA PROLE DE RATAS  
SUPLEMENTADAS COM ÓLEO DE CHIA DURANTE A 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.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Camila Carolina de Menezes Santos Bertozzo.

Cuité/PB

2017

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

D192a Dantas, Sabrina Camila de Medeiros.

Avaliação dos efeitos comportamentais na prole de ratas suplementadas com óleo de chia durante a lactação. / Sabrina Camila de Medeiros Dantas. – Cuité: CES, 2017.

56 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Nutrição) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2017.

Orientadora: Camila Carolina de Menezes Santos Bertozzo.

1. Dietoterapia. 2. Ácidos graxos - ômega 3. 3. Suplementação alimentar. I. Título.

Biblioteca do CES - UFCG

CDU 615.874.2

SABRINA CAMILA DE MEDEIROS DANTAS

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS COMPORTAMENTAIS NA PROLE DE RATAS  
SUPLEMENTADAS COM ÓLEO DE CHIA DURANTE A 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> Dr.<sup>a</sup>. Camila Carolina de Menezes Santos Bertozzo  
Universidade Federal de Campina Grande – UFCG/CES/UAS  
Orientadora

---

Diego Elias Pereira  
Mestrando do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos –  
UFPB/PPGCTA  
Examinador

---

Prof.<sup>a</sup> Msc Michelly Pires Queiroz  
Universidade Federal de Campina Grande – UFCG/CES/UAS  
Examinadora

Cuité/PB

2017

Dedico este trabalho a minha família, não só ele, mas todas as conquistas que alcancei até agora. Pois vocês são minha fortaleza, são também o reflexo de Deus em minha vida e as pessoas no qual deposito o maior amor do mundo e minha mais sincera gratidão.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar ao meu amado **Deus**, por todas as maravilhas que fizestes em minha vida, por me guiar e me cobrir de bênçãos, e ser meu consolo em momentos de aflição. Obrigada por me amar primeiro, para que assim eu recebesse o dom de amar.

Aos meus pais, **José Saturnino Dantas e Ana Célia de Medeiros Dantas**, por estarem comigo em todos os momentos, me apoiando, me amando e aconselhando, sem medir esforços para me auxiliar no que eu precisasse. Qualquer agradecimento será pequeno perante tudo que vocês representam em minha vida. Amo vocês e agradeço a Deus todos os dias pela graça de ter vocês em minha vida.

A minha irmã **Maria Luiza de Medeiros Dantas**, por ter me dado o melhor presente que nossa família poderia receber meu **sobrinho Benício Vítor Dantas de Medeiros**, e pelos conselhos e cuidados de irmã mais velha, e a minha irmã **Ana Caroline de Medeiros Dantas**, pelo carinho e companheirismo em todos os momentos. As duas por serem irmãs maravilhosas e fazerem da nossa família um lar de união e amor.

A minha orientadora, **Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Camila Carolina de Menezes Santos Bertozzo**, pela paciência, compreensão, dedicação e compromisso durante toda construção deste trabalho. E também por ser um exemplo de pessoa e uma excelente profissional. Que Deus derrames todas as bênçãos sobre sua família e te reserves o melhor que a vida tem a oferecer, pois és merecedora de todas as conquistas alcançadas e as quais almeja.

A Professora **Msc. Michelly Queiroz e Diego Elias Pereira** por aceitaram participar da banca examinadora.

Aos Professores do curso de Nutrição, pela grande contribuição durante todo meu período de graduação, vocês são excelentes profissionais.

Aos meus companheiros de pesquisa **Marina, Maria Fernanda, Ianna, Sebastião e Monalidghya**, pelo imenso apoio, por toda dedicação e por sempre estarem dispostos a ajudar. Também agradeço imensamente aos colaboradores nesta pesquisa, **Suedna, Igor** e especialmente **Jaciel Galdino**, pela amizade e por toda

dedicação ao biotério e disponibilidade para auxiliar em qualquer situação pertinente as pesquisas realizadas com os animais do LANEX (Laboratório de Nutrição Experimental), você é um profissional incrível. Sem vocês eu não teria conseguido, serei eternamente grata.

A **Jaielson Yandro**, por ter sido o melhor companheiro de monitoria, e por sempre me ajudar, me motivar a ser melhor e me fazer acreditar que sou capaz. Continue irradiando luz e disseminando sua humildade e força de vontade por onde passar. Torço muito por ti.

Aos meus companheiros de curso, principalmente a **Janaina, Tatiane, Elizana, Tatiany, Danielle, Natália, Paulo e Raphael**, no qual se fizeram presente em boa parte desses quatro anos de graduação e juntos construímos vínculos de amizade. As lembranças dos nossos momentos difíceis e momentos felizes ficarão guardadas em meu coração. Fizemos história nesse campus.

A **Keicy Priscila, Fernanda Augusta, Marina Castro e Catarina Fernandes**, pois realmente ganhei amigas que se fizeram irmãs, vivemos muitos momentos, tivemos muitas alegrias e enfrentamos muitas coisas juntas. Torço muito por vocês, e por mais que sigamos caminhos diferentes e nos vejamos cada vez menos, vocês sempre estarão no meu coração e em minhas orações.

A **Jussara Garcia, Juliclecia Garcia e Letícia Fernandes**, minhas grandes amigas, que me acolheram em Cuité-PB, e se tornaram como irmãs, vou lembrar para sempre de todo carinho, companheirismo e de todos os momentos que vivemos durante os primeiros anos de faculdade no qual moramos juntas, sou grata por todo apoio e amizade, amo muito vocês e torço muito por cada uma.

Aos meus amigos de toda vida, **Natanael, Ingrid, Maria Helena, Lylia, Mylla, Eugênia, Fabrício, Andressa, Ana Lígia, Délis, Bruna, Laura e Kekinha** que sempre estiveram presentes em todos os momentos da minha vida e fazem meus dias mais felizes, tenho sorte de ter vocês.

Por fim, agradeço imensamente a todos que contribuíram direta ou indiretamente para realização desta grande conquista.

E sabemos que todas as coisas contribuem juntamente para o bem daqueles que amam a Deus, daqueles que são chamados segundo o seu propósito.

Romanos 8:28



## RESUMO

DANTAS, S. C. M. **Avaliação dos efeitos comportamentais na prole de ratas suplementadas com óleo de chia durante a lactação.** 2017. 56f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) – Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, 2017.

A ingestão de ômega-3 é importante em todas as fases da vida, principalmente durante os períodos de gestação e lactação, pois exerce uma grande influência sobre a maturação dos órgãos e função neurológica relacionada ao comportamento. Quantidades significativas de AGPI são encontradas no óleo de chia sendo considerada uma excelente fonte deste ômega. O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos comportamentais na prole de ratas suplementadas com óleo de chia durante o período de lactação. Para isso, foram utilizados três grupos de animais: o grupo controle que recebeu ração padrão comercial, o grupo chia que recebeu uma suplementação com 5% de óleo de chia e o grupo banha, 5% de banha de porco, durante todo o período de lactação. Para avaliar o efeito do óleo de chia e banha de porco sobre a ansiedade dos animais, foram realizados o Teste de Campo Aberto, Labirinto em Cruz Elevado e o Teste de transição claro-escuro. Os resultados foram analisados no programa Graph Pad Prism e foram considerados significativos quando o  $p < 0,05$ . No Teste de Campo Aberto, dentre os parâmetros avaliados, o grupo chia *versus* controle apresentou maior número bolos fecais ( $<0,05$ ), porém, os parâmetros de ambulação, *rearing* e tempo de *grooming* não apresentaram diferenças estatisticamente significativas. No Teste de Labirinto em Cruz Elevado, o grupo banha aumentou o número de mergulhos de cabeça *versus* controle ( $<0,01$ ) e chia ( $<0,05$ ). Já os demais parâmetros como número de entradas e tempo de permanência nos braços abertos e fechados, juntamente com a permanência na área central não apresentaram dados significativos. O Teste de Transição claro/escuro não apresentou nenhum resultado significativo para os parâmetros analisados, tempo de latência para o compartimento escuro, número de transição entre os dois compartimentos, permanência no compartimento claro e escuro, além da ambulação. Portanto, este trabalho demonstrou que a suplementação de óleo de chia e banha de porco nas ratas mães durante a lactação não foram capazes de influenciar nos parâmetros relacionados à ansiedade.

**Palavras Chaves:** ansiedade. ácidos graxos ômega 3. suplementação alimentar.

## ABSTRACT

DANTAS, S. C. M. **Evaluation of behavioral effects on offspring of rats supplemented with chia oil during lactation.** 2017. 56f. Final Course Assignment (Graduation in Nutrition) – Federal University of Campina Grande, Cuité, 2017.

The ingestion of omega-3 is important in all life stages, primarily during the gestation and lactation periods, because it exerts a great influence on organs maturation and neurological functions related to the behaviour. Significant amounts of PUFA are found in chia oil, being considered an excellent source of this omega. The present work aims to evaluate the behavioral effects on offsprings of rats supplemented with chia oil during the period of lactation. For this, were used three groups of animals: the control group, that received commercial standard food, the chia group, that received a supplementation with 5% of chia oil, and the lard group, 5% of lard, during all the lactation period. To evaluate the effect of chia oil and lard on the animals anxiety, were performed the Open Field Test, Elevated Plus Maze and the Light/Dark Transition Test. The results were analysed in the Graph Pad Prism software and were considered significant when  $p < 0,05$ . In the Open Field Test, among the evaluated parameters, the chia group *versus* control group presented higher number of fecal cakes ( $<0,05$ ), however, the parameters of ambulation, *rearing* and time of *grooming* did not presented statistically significant differences. In the Elevated Plus Maze Test, the lard group increased the number of head dips *versus* control ( $<0,01$ ) and chia ( $<0,05$ ). The other parameters as number of entries and time of permanence in the opened and closed arms, along with the permanence in the central area did not presented significant data. The Light/Dark Transition Test did not presented any significant result for the analysed parameters, latency time for the dark compartment, number of transitions between the compartments, permanence in the light and dark compartment, as well as ambulation. Therefore, this work has demonstrated that supplementation of chia oil and lard in the mother rats during the lactation were not able to influence in the parameters related to anxiety.

**Keywords:** anxiety. omega 3 fatty acids. food supplementation.

**LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura 1</b> - <i>Salvia hispânica</i> L. (A) Planta na fase adulta; (B) Sementes..	22
<b>Figura 2</b> - Aparelho de Campo Aberto.....	27
<b>Figura 3</b> - Aparelho de Labirinto em Cruz Elevada.....	28
<b>Figura 4</b> - Aparelho de Caixa de Transição Claro/Escuro.....	29

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1 -</b>	Efeito do óleo de chia suplementado na lactação sobre a ambulação no teste do campo aberto em ratos.....	30
<b>Gráfico 2 -</b>	Efeito do óleo de chia suplementado na lactação sobre a quantidade de levantar no teste do campo aberto em ratos....	31
<b>Gráfico 3 -</b>	Efeito do óleo de chia suplementado na lactação sobre o número de bolos fecais no teste do campo aberto em ratos....	31
<b>Gráfico 4 -</b>	Efeito do óleo de chia suplementado na lactação sobre tempo de autolimpeza no teste do campo aberto em ratos.....	32
<b>Gráfico 5 -</b>	Efeito do óleo de chia suplementado na lactação sobre o número de entradas nos braços fechados no teste LCE.....	32
<b>Gráfico 6 -</b>	Efeito do óleo de chia suplementado na lactação o tempo de permanência nos braços fechados no teste LCE.....	33
<b>Gráfico 7 -</b>	Efeito do óleo de chia suplementado na lactação sobre o número de entradas nos braços abertos no teste LCE.....	33
<b>Gráfico 8 -</b>	Efeito do óleo de chia suplementado na lactação sobre o tempo de permanência nos braços abertos no teste LCE.....	34
<b>Gráfico 9 -</b>	Efeito do óleo de chia suplementado na lactação sobre o tempo de permanência na área central no teste LCE.....	34
<b>Gráfico 10 -</b>	Efeito do óleo de chia suplementado na lactação sobre o tempo de permanência na área central no teste LCE.....	35
<b>Gráfico 11 -</b>	Efeito do óleo de chia suplementado na lactação sobre o tempo de latência para o compartimento escuro no teste de transição claro/escuro.....	36
<b>Gráfico 12 -</b>	Efeito do óleo de chia suplementado na lactação sobre o número de transições entre os dois compartimentos no teste de transição claro/escuro.....	36
<b>Gráfico 13 -</b>	Efeito do óleo de chia suplementado na lactação sobre o período de permanência no compartimento claro no teste de transição claro/escuro.....	37
<b>Gráfico 14 -</b>	Efeito do óleo de chia suplementado na lactação sobre o período de permanência no compartimento escuro no teste	

	de transição claro/escuro .....	37
<b>Gráfico 15 -</b>	Efeito do óleo de chia suplementado na lactação sobre o parâmetro de ambulações no teste de transição claro/escuro.	38

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

AA	–	Ácido Araquidônico
AGPI	–	Ácidos Graxos Poli-Insaturados
AGPI-CL	–	Ácidos Graxos Poli-Insaturados de Cadeia Longa
AGPI-CML	–	Ácidos Graxos Poli-Insaturados
ALA	–	Ácido Alfa Linolênico
CEP	–	Comitê de Ética em Pesquisa
CES	–	Centro de Educação e Saúde
DHA	–	Ácido Docosaheptaenoico
DSM-V	–	Manual de Diagnóstico e Estatística
EPA	–	Ácido Eicosapentaenóico
EPM	–	Erro Padrão da Média
LABROM	–	Laboratório de Bromatologia
LANEX	–	Laboratório de Nutrição Experimental
LCE	–	Labirinto em Cruz Elevada
UFCG	–	Universidade Federal de Campina Grande

**LISTA DE SÍMBOLOS**

cm	–	Centímetros
$\omega$ -3	–	Ômega 3
$\omega$ -6	–	Ômega 6

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	16
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	18
2.1	OBJETIVO GERAL.....	18
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
<b>3</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	19
3.1	ANSIEDADE.....	19
3.2	ACIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS.....	20
3.3	CHIA.....	22
3.4	ALIMENTAÇÃO NO PERÍODO DE LACTAÇÃO.....	23
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	25
4.1	ANIMAIS.....	25
4.2	COMPOSIÇÃO DAS DIETAS EXPERIMENTAIS.....	25
4.3	TESTES COMPORTAMENTAIS.....	26
<b>4.3.1</b>	<b>Teste do Campo Aberto</b> .....	26
<b>4.3.2</b>	<b>Teste do Labirinto em Cruz Elevado</b> .....	27
<b>4.3.3</b>	<b>Teste de transição claro/escuro</b> .....	28
4.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	29
4.5	ASPECTOS ÉTICOS.....	29
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	30
5.1	TESTE DO CAMPO ABERTO.....	30
5.2	TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO.....	32
5.3	TESTE DE TRANSIÇÃO CLARO/ESCURO.....	35
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	39
<b>7</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	44
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	45
	<b>ANEXO</b> .....	55



# 1 INTRODUÇÃO

A ansiedade é a desordem psiquiátrica mais prevalente na população geral. Por isso, nos últimos anos, tornou-se uma importante área de pesquisa em todo mundo (LOURDU-JAFRIN et al., 2013; VIANA et al., 2016).

Tanto a ansiedade quanto o medo passam a ser reconhecidos como patológicos quando são exagerados, desproporcionais em relação ao estímulo e interferem na qualidade de vida, no conforto emocional ou desempenho diário do indivíduo. Tais reações exageradas ao estímulo ansiogênico se desenvolvem, normalmente, em indivíduos com uma predisposição neurobiológica herdada (ALLEN; LEONARD; SWEDO, 1995; CASTILLO et al., 2000).

Várias evidências translacionais acumuladas associam a qualidade da dieta como determinante crucial e comum para transtornos mentais. Já há evidências que alguns alimentos ofertados nas fases iniciais da vida são capazes de proteger a função neurológica envolvida no desenvolvimento destas psicopatologias (MCNAMARA; VANNEST; VALENTINE, 2015; FAN et al., 2016)

De acordo com Chalon (2006), os ácidos graxos ômega-3 ( $\omega$ -3) podem influenciar em diversos processos do funcionamento cerebral, principalmente neurotransmissão e comportamento. A ingestão de ômega-3 é importante em todas as fases da vida, pois, a partir deste ocorre a biossíntese dos ácidos graxos Ácido Eicosapentaenóico (EPA) e Ácido Docosahexaenóico (DHA) no organismo, sendo considerados fundamentais para o desenvolvimento do cérebro e dos sistemas visuais e cruciais no período de pré e pós-natal (ZAMBOM; SANTOS; MODESTO, 2004; MISCHOULON; FREEMAN, 2013).

No período da lactação, são geradas necessidades aumentadas de nutrientes fundamentais, incluindo as proteínas, os carboidratos e os lipídios, para manter a nutrição materna e garantir o adequado crescimento e desenvolvimento do lactente. Em especial, de fontes de Ácido Alfa Linolênico (ALA), um nutriente essencial, pois sua deficiência produz alterações neurológicas em lactentes (HOLMAN; JOHNSON; HATCH, 1982; VALENZUELANA et al., 2015).

Neste cenário, o óleo de chia (*Salvia hispânica L.*) vem se mostrando uma excelente fonte de ALA, contendo, 60%-65% desse componente em sua composição (RAMAKRISHNAN, 2002), sugerindo uma eficiente transformação de ALA em DHA. Além disso, a semente de chia e seu óleo têm sido muito bem

caracterizados em sua composição química e poder antioxidante, e por ser uma matriz alimentar rica em outros micronutrientes (VALENZUELANA et al., 2015; SILVA, 2017).

Vários estudos em modelos animais têm sido determinantes para avaliar a influência do ômega 3 sobre a ansiedade, inclusive durante a gestação e lactação, trazendo indícios de uma útil participação desse nutriente na prevenção e tratamento desta desordem mental (CORTES et al., 2013).

Com base na literatura, viu-se que o ômega-3 está associado a alterações benéficas no sistema nervoso central (INNIS, 2008; GUESNET, ALESSANDRI, 2011), e também na ansiedade (CHEN; SU, 2013; FAN et al., 2016). O óleo de chia sendo uma fonte lipídica desse ômega, possivelmente, exercerá alguma influência positiva sobre o comportamento.

Levando em consideração que o período de lactação é uma fase sensível na vida de um filhote, a ingestão de óleo de chia através do leite materno de ratas suplementadas, apesar dos poucos estudos associando a relação do mesmo com o comportamento, pode ser uma escolha adequada devido suas propriedades e prognóstico a respeito de uma possível influência positiva no comportamento desses filhotes. Além disso, esses achados podem auxiliar na dieta de mulheres lactantes, como também, trazer contribuições para a saúde humana.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar os efeitos comportamentais na prole de ratas suplementadas com óleo de chia durante o período de lactação.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Investigar possíveis alterações na atividade exploratória dos filhotes;
- Avaliar a influência do óleo de chia sobre o comportamento de ansiedade da prole.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 ANSIEDADE

A ansiedade consiste em uma resposta normal e adaptativa mediante ameaças reais ou inatas, preparando o indivíduo para reagir face ao perigo. Caracteriza-se por um sentimento difuso, vago, desagradável, de medo e apreensão atrelado a um conjunto de sintomas derivados da antecipação de algo desconhecido ou estranho (KAPLAN; SADOCK; GREBB, 1997; BASTOS; MOHALLE; FARAH, 2008)

Pode ser definida também, como um conjunto de alterações corporais como aumento de excitação, expectativa, ativação autonômica e neuroendócrina, e padrões de comportamento específicos, causando efeitos gerais, tais como de expressão comportamental de exploração, alimentação ou outros comportamentos de defesa, autonômicos, neuroendócrinos, afetivos e cognitivos (STEIMER, 2011). Embora várias dessas respostas sejam adaptativas, para evitar situações de perigo, a ansiedade pode causar distúrbios fisiológicos, dando origem a diferentes patologias (STOLERMAN; PRICE, 2015).

Funciona ainda como um sistema de alarme, o qual possui mecanismos de defesa que tem a função de facilitar o enfrentamento de uma situação adversa ou inesperada. No entanto, se a função adaptativa da ansiedade não é bem sucedida, tal condição pode se tornar um estado patológico, no qual dependendo do grau desta patologia pode comprometer o bem-estar e até mesmo alterar a condição corporal. A ansiedade patológica também pode ser adquirida através de consequentes fatores de predisposição, resultantes de numerosas interações gênero-ambiente durante o desenvolvimento, particularmente durante o período perinatal, e dos eventos cotidianos (STEIMER, 2011).

De acordo o Manual de Diagnóstico e Estatística, 5ª edição, (DSM-V) da Associação Psiquiátrica Americana, a ansiedade é considerada uma condição patológica quando gera uma reação excessiva, desproporcional ao evento desencadeante, causando desconforto em vários âmbitos, desde o funcionamento orgânico até a relação ambiental (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014).

É composta por um estado emocional transitório envolvendo conflitos psicológicos e sentimentos desagradáveis de angústia e sofrimento, no qual um dos principais sintomas são alterações no sono (CHEN et al., 2011), também podendo causar taquicardia, irritabilidade, sudorese, náuseas, vertigens, falta de concentração, falta de ar, apreensão, entre outros (NORTON et.al., 2012).

Ainda segundo o DSM-V muitos dos transtornos de ansiedade se desenvolvem na infância e tendem a persistir se não forem tratados. Ocorre com mais frequência em indivíduos do sexo feminino (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2014; STOLERMAN; PRICE, 2015). Semelhante aos dados de um inquérito representativo da população dos Estados Unidos da América (EUA) até a data realizada, onde também mostrou que as mulheres apresentam maiores taxas de prevalência de transtornos de ansiedade (MCLEAN et al., 2011).

Os transtornos de ansiedade são comuns em todo o mundo, onde a prevalência global atual para transtornos de ansiedade é que 1 em cada 14 pessoas em todo o mundo se enquadra em algum critério de diagnóstico para ansiedade patológica (BAXTER et al., 2013). No Brasil, a prevalência de problemas de saúde nos sistemas de atenção primária à saúde, especialmente transtornos mentais, é consideravelmente alta mostrando que 37,6% da população, independente da classe social, é acometida por transtornos dessa categoria. Situação semelhante também acontece em outros países, por exemplo, nos Estados Unidos, onde os distúrbios da saúde mental afetam uma parte representativa da população (BOSTWICK et al., 2010; KESSLER et al., 2005; GRANT et al., 2004).

Devido a esse cenário, há a necessidade do desenvolvimento de estratégias de prevenção, como a utilização do ômega-3, que vem se destacando como um agente ansiolítico. Alguns estudos realizados com ratos destacam resultados significativos que apoiam o efeito benéfico desse ômega em roedores (ROSS, 2009).

Portanto, observações da diminuição da ansiedade com suplementação de ômega 3 é de particular interesse em relação à saúde humana (PIFFERI, 2014).

### 3.2 ÁCIDOS GRAXOS POLI-INSATURADOS

Ácidos Graxos Poli-Insaturados (AGPI) são denominados assim pela presença de duas ou mais instaurações/duplas ligações entre as cadeias de

carbonos (WAITZBERG, 2008). Já em relação ao tamanho da cadeia carbônica, os AGPI que possuem número de átomos de carbono  $\geq$  16 são denominados Ácidos Graxos Poli-Insaturados de Cadeia Longa (AGPI-CL). Os AGPI com número de átomos de carbono  $\geq$  20 são denominados Ácidos Graxos Poli-Insaturados de Cadeia Muito Longa AGPI-CML (PERINI et al., 2010)

O papel desses compostos lipídicos é desempenhar importantes funções estruturais das membranas celulares e no metabolismo. Nos seres humanos, os ácidos linoleico ( $\omega$ -6) e alfa-linolênico ( $\omega$ -3) são conhecidos como ômega 3 e ômega 6, respectivamente, pertencentes à família dos AGPI-CL, e são determinantes para manutenção das membranas celulares, funções cerebrais e transmissão de impulsos nervosos. São conhecidos como ácidos graxos essenciais por não serem sintetizados pelo organismo (MARTIN et al., 2006 apud YEHUDA, 2002; YODIM; MARTIN; JOSEPH, 2000).

Para conseguir suprir a necessidade orgânica, os mesmos devem estar em quantidades suficientes na alimentação. Vários estudos apontam que o consumo dessa fonte lipídica traz alguns benefícios para a saúde humana, inclusive favorecer o desenvolvimento cerebral e da retina (GONZÁLES, 2002; VALENZUELA, 2003; SILVA JÚNIOR; SOARES, 2007).

Os ácidos graxos poli-insaturados  $\omega$ -3 são os ácidos graxos preferidos no cérebro e sistema nervoso. Em relação aos AGPI-CML, o ácido docosaenoico (DHA) tem uma função significativa no desenvolvimento neonatal e em conjunto com o Ácido Araquidônico (AA) são os principais componentes dos ácidos graxos cerebrais (GONZÁLES, 2002; VALENZUELA, 2003; SILVA, 2007). Por isso, devem estar presente em quantidades necessárias no sistema nervoso central durante o período de crescimento cerebral.

As mulheres são capazes de fazer a conversão fracionada do ácido  $\alpha$ -linolênico, o que pode contribuir para satisfazer as demandas de DHA do feto e do recém-nascido amamentado, apesar de haver evidências que indicam limitações na contribuição de ácido  $\alpha$ -linolênico para o DHA (KOLETZKO; CETIN; BRENNAN, 2007; KLINGLER et al., 2003). Limitações estas mostradas por que alguns autores relatam que a conversão do ALA em EPA e DHA em humanos é baixa, sendo expressa da seguinte forma: a conversão do ALA em EPA é aproximadamente 5% a 10%, e a conversão de ALA em DHA é ainda mais baixa (< 3%). Essa conversão pode ser

influenciada por fatores genéticos, estado de saúde e fatores nutricionais (MAHAN; ESCOTT-STUMP; RAYMOND, 2013).

### 3.3 CHIA

A chia (*Salvia hispânica* L.) (Figura 1), é uma planta herbácea anual que pertence à família Lamiaceae, cresce até um metro e pode ser cultivada em pequenas hortas. Seu cultivo exige terras mais secas do que úmidas e sua semente é usada há séculos pelos indígenas da Colômbia e México como fonte importante de energia na alimentação (LEMOS JÚNIOR; LEMOS, 2012).



**Figura 1** – *Salvia hispânica* L. (A) Planta na fase adulta; (B) Sementes.  
**Fonte:** Di Sapia et al., 2013; Muñoz, et al., 2013.

Tem destaque no cenário alimentar por suas características nutricionais e funcionais, onde recentes avaliações de suas propriedades e possíveis utilizações mostraram que esta possui um elevado valor nutricional com alto conteúdo de  $\omega$ -3 e  $\omega$ -6, além de compostos antioxidantes, fibras dietéticas e proteínas (PEIRETTI; GAI, 2009).

A composição química e valor nutricional da semente de chia podem variar de acordo com a condição e localização do cultivo. Estudos mostram que o local geográfico e o clima podem influenciar a concentração de nutrientes nas sementes de chia (COATES; AYERZA, 2009).

A chia pode ser considerada como "alimento funcional" porque, além de ser um alimento nutricionalmente completo, atua auxiliando no aumento dos índices de

saciedade, doenças metabólicas, distúrbios inflamatórios e do sistema nervoso e diabetes, entre outros. Com base nessas características nutricionais, mais pesquisas devem ser realizadas para avaliar os efeitos fisiológicos e benefícios terapêuticos das sementes de chia e seus componentes no ser humano com intuito de demonstrar seu imenso potencial (MUÑOZ et al., 2013).

Com isso, os benefícios causados pelo consumo de chia sejam em forma de semente, farinha ou óleo, resultam principalmente das altas concentrações de ácidos graxos essenciais, fibras dietéticas, antioxidantes, flavonoides, antocianinas, vitaminas, carotenoides e minerais presentes nessa semente (COATES et al., 2011).

De acordo com o estudo de Silva e colaboradores (2017), as sementes de chia cultivadas no Brasil, tinham em sua composição 31% de lipídios, valor semelhante ao observado em estudos para sementes em outros países, como por exemplo, a semente de chia cultivada no Chile (MARINELI et al., 2014) apresentava 30% e cultivadas em algumas regiões do México (ÁLVAREZ-CHÁVEZ et al., 2008) variavam de 21,5 a 32,7% na composição de lipídeos. Além de ser uma rica fonte lipídica, a semente de chia brasileira se mostrou um alimento com alto valor nutricional devido a sua altas concentrações de ferro, zinco, cálcio, manganês, potássio e fósforo (SILVA, 2017).

A semente de chia é a principal fonte vegetal de ALA, pois contém a maior porcentagem desse ácido graxo do que qualquer outra fonte, característica importante, pois este tipo de ácido graxo é o precursor dietético para o EPA e DHA (COATES et al., 2011).

O óleo extraído da chia possui cerca de 60% a 65% de ALA, valores maiores do que os encontrados no óleo de linhaça (KHATTAB; ZEITON, 2013) no qual possui, até 57% desse composto. Com isso, a chia pode ser utilizada como uma suplementação dietética de ALA tendo como objetivo aumentar os níveis de DHA no leite materno. Uma pesquisa anterior demonstrou que, ao fornecer ALA a partir de óleo de chia, no rato adulto, houve um aumento do acúmulo de DHA em vários tecidos, especialmente no fígado e cérebro, sugerindo uma transformação eficiente de ALA em DHA (BARCELÓ-COBLIJN; MURPHY, 2009).

### 3.4 ALIMENTAÇÃO NO PERÍODO DE LACTAÇÃO



No período de lactação, as exigências nutricionais são elevadas por causa do aumento das necessidades para produzir o leite materno, principalmente em relação à qualidade lipídica, pois a composição láctea em relação aos ácidos graxos EPA e AA, podem variar de acordo com a dieta materna (ACIOLLY; SANDERS; LACERDA 2009).

Portanto, esse período é caracterizado como de grande risco nutricional para as mães e, nessa fase, os ácidos graxos essenciais, tais como o EPA, o DHA e o AA são necessários para o crescimento, desenvolvimento neurológico e a visão da prole. Dessa forma, a nutrição materna é determinante para o estado nutricional dos filhos (TORRES; TRUGO, 2009).

Há probabilidade de que a alimentação materna seja o principal fator que modula o perfil lipídico do leite humano, levando em consideração o estudo de Silva et al. 2005 realizado no município de Viçosa - MG (Brasil), com oito nutrizas durante dez semanas, podendo ser observado que o alto consumo de ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) pelas nutrizas refletiu em um alto conteúdo de ácido linoleico e ácido  $\alpha$ -linolênico no leite (COSTA; SABARENSE, 2010).

A pesquisa de Valenzuela e colaboradores (2015) traz dados que evidenciam a influência da composição lipídica da dieta materna em relação à composição láctea, onde os resultados obtidos através da suplementação de gestantes e lactantes com óleo de chia, que é fonte de ALA, resultou no aumento do conteúdo de ALA e DHA no leite materno.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 ANIMAIS

Foram utilizadas ratas fêmeas da linhagem *Wistar*, primíparas, provenientes do Biotério de criação da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) com idade de 90 dias para obtenção dos filhotes. Durante o acasalamento, foram mantidas três fêmeas para cada macho; os animais estavam alojados no laboratório de Nutrição Experimental (LANEX) do Centro de Educação e Saúde (CES) da UFCG – *campus* Cuité/PB. A confirmação da prenhez foi feita por meio do esfregaço vaginal.

Posteriormente, as ratas prenhas permaneceram alojadas em gaiolas-maternidade individuais de polipropileno sendo divididas em 3 grupos: Grupo Controle (GC), Grupo Chia (GS) e Grupo Banha (GB). O tratamento foi feito durante todo período de lactação e, no presente estudo, foram usados apenas os filhotes machos, contendo 15 animais nos grupos GC e GB e 14 animais no grupo GS.

Os animais foram amamentados do nascimento até o 21<sup>o</sup> dia e, após esse período, ocorreu o desmame. No Biotério, durante todo o experimento, os animais foram mantidos em gaiolas de polietileno, sob condições monitoradas de temperatura ( $21 \pm 1$  °C), umidade  $\pm 65\%$ , com sistema de exaustão de ar, e ciclo claro/escuro de 12 horas, sendo a fase clara de 6h00 as 18h00, recebendo água e ração *ad libitum*. Ao finalizar o período de lactação, as ratas mães foram sacrificadas seguindo as recomendações éticas do *National Institute of Health*, com relação aos cuidados com os animais (BETHESDA, USA). Posteriormente, todos os animais receberam dieta padrão até completarem 70 dias. Após esse período, todos os animais foram sacrificados pelo método eutanásia, seguindo as recomendações anteriormente citadas.

### 4.2 COMPOSIÇÃO DAS DIETAS EXPERIMENTAIS

Os três tipos de dietas utilizadas no experimento, tiveram as seguintes composições: Dieta Controle, com 100% de ração padrão comercial; Dieta experimental com óleo de Chia, contendo 95% de dieta padrão comercial + 5% de

óleo de chia; e Dieta experimental com banha, composta por 95% de dieta padrão comercial + 5% de banha de porco. O óleo de chia foi adquirido comercialmente no supermercado de João Pessoa-PB, enquanto que a banha de porco foi obtida na feira livre do Município de Solânea-PB. As dietas experimentais foram ofertadas somente no período de lactação.

As dietas experimentais foram confeccionadas no Laboratório de Bromatologia (LABROM) do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Campina Grande, *Campus Cuité/PB*.

### 4.3 TESTES COMPORTAMENTAIS

Os animais foram submetidos aos testes a partir dos 42 dias de vida. Antes e durante todos os testes (a cada novo animal), os aparelhos foram higienizados com álcool à 10% e ao término desses testes com álcool à 70%.

#### 4.3.1 Teste do campo aberto

O campo aberto é um instrumento utilizado para testar o comportamento de ansiedade e atividade exploratória, com o intuito de verificar os efeitos ambientais não familiares sobre o comportamento de ansiedade em ratos (HALL, 1934; SANTOS, 2008).

O aparelho campo aberto consiste em uma arena circular metálica (pintada de branco), medindo 1 m de diâmetro, circundada por uma parede de 40 cm de altura. O piso da arena é fracionado em 17 campos (com linhas pintadas de preto), sendo 3 círculos concêntricos (15, 34 e 55 cm de diâmetro, respectivamente) que, conseqüentemente, são subdivididos em um total de 16 segmentos e um círculo central. Há também uma lâmpada de 40 watts suspensa a uma altura de 46 cm do piso da arena, sendo situada no centro do aparelho (figura 2).

O emprego deste modelo na avaliação da ansiedade, possibilitou a análise das possíveis alterações de ansiedade nos animais, durante 10 minutos, observando os seguintes parâmetros: *ambulação* (número de cruzamentos dos segmentos pelo animal com as quatro patas), *rearing* (número de comportamentos de levantar), *grooming* (tempo de comportamentos de auto limpeza) e defecação (número de bolos fecais) (SANTOS, 2008).

Todo o teste foi filmado através de uma câmera de vídeo instalada no teto, para análise dos parâmetros avaliados.



**Figura 2** – Aparelho de Campo Aberto.

Fonte: Laboratório de Nutrição Experimental, LANEX/UFCG.

#### 4.3.2 Teste do Labirinto em Cruz Elevado

O Labirinto em Cruz Elevado (LCE) (figura 3) é um aparelho feito de madeira e consiste em quatro braços, sendo dois braços com paredes laterais e sem cobertura (braços fechados), medindo 30 cm de comprimento por 6 cm de largura e 16 cm de altura, colocados perpendicularmente a dois braços desprovidos de paredes laterais (braços abertos) com o mesmo comprimento e largura. Cada braço é posicionado a 90° do braço adjacente e cruzam-se numa área central onde o animal é posicionado. O labirinto estará elevado em relação ao solo, em forma de cruz (SANTOS, 2008).

Nesses testes foram avaliados os seguintes parâmetros:

- ✓ **Número de entradas nos braços abertos e fechados:** Foi considerada uma entrada quando o animal entrou com as quatro patas em cada braço;
- ✓ **Tempo gasto em cada um dos braços:** Levando em consideração o tempo total que o animal permaneceu nos braços.
- ✓ **Tempo gasto na área central:** Calculando o tempo total que o animal permaneceu no centro do labirinto.

- ✓ **Mergulho de cabeça:** Quantidade de vezes o animal mergulha a cabeça, ou seja, coloca a cabeça para fora nos braços abertos.

As sessões foram filmadas através de uma câmera de vídeo instalada no teto, onde o tempo estimado para cada sessão com duração de cinco minutos foi contabilizado por meio do uso de um cronômetro. Os vídeos serviram para uma posterior análise dos parâmetros comportamentais registrados



**Figura 3** – Aparelho Labirinto em Cruz Elevado.

Fonte: Laboratório de Nutrição Experimental, LANEX/UFCG.

#### 4.3.3 Teste de Transição claro/escuro

A caixa de transição claro-escuro é feita de madeira, com dimensões totais de: 27cm (A) x 45cm (L) x 27cm (C), e consiste em dois compartimentos, sendo o compartimento claro com dimensão maior (27 x 27 x 27), e com o piso dividido em 9 quadrados (9cm x 9cm), e o compartimento escuro com menor dimensão (27 x 18 x 27). Na divisória entre os dois compartimentos, há uma abertura central medindo 7cm x 7cm. Esta caixa possui ainda uma tampa superior, que é pintada de preto na extensão que cobre o compartimento escuro. Além disso, foi utilizada uma lâmpada (luminária) para iluminar o compartimento claro (WEHRMEISTER, 2010; SOUTO MAIOR, 2011).

Os movimentos dos animais durante o período de cinco minutos foram monitorados por uma câmera de vídeo colocado acima do centro do compartimento claro e analisados. Os dados da análise do comportamento incluem o tempo de latência para o compartimento escuro, como também o tempo gasto em cada

compartimento e o número de transições entre as duas câmaras, definida como a transição do corpo do animal a partir de uma câmara para a seguinte e a deambulação no compartimento claro (LAD et al., 2010).



**Figura 4** – Aparelho Caixa de Transição Claro/Escuro.  
Fonte: Laboratório de Nutrição Experimental, LANEX/UFCG.

#### 4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para obtenção dos resultados foi levado em consideração o nível de significância para rejeição da hipótese nula de  $p < 0,05$ , utilizando ANOVA *oneway*, seguido do pós teste de Bonferroni. As análises estatísticas foram realizadas por meio do *Graph Pad Prism* versão 5.03.

#### 4.5 ASPECTOS ÉTICOS

O projeto experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Campina Grande (CEP-UFCG), cujo protocolo é o CEP 045/2016 (Anexo A).

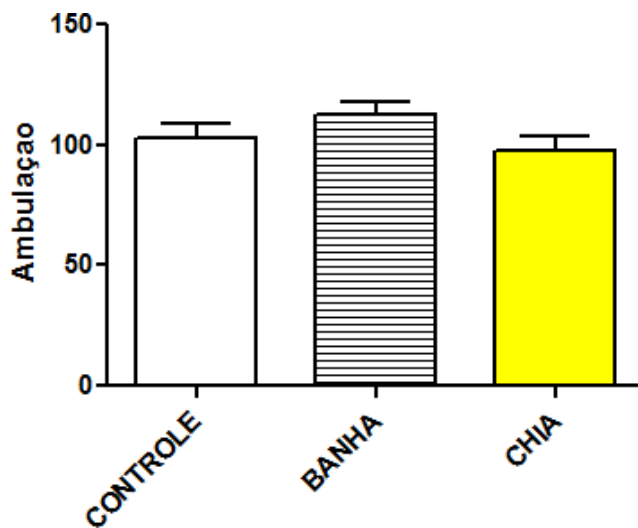
Tendo seguido as recomendações éticas do *National Institute of Health Bethesda* (Bethesda, USA) que nortearam o protocolo experimental, em relação aos cuidados com animais, levando em consideração o bem-estar dos animais no laboratório, minimizando o sofrimento e o estresse dos animais experimentais ao máximo.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 TESTE DO CAMPO ABERTO

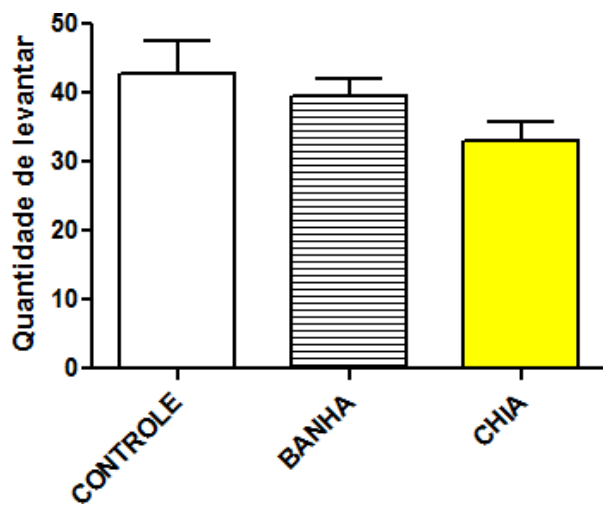
Os animais foram submetidos ao Teste do Campo Aberto, onde foram avaliados a cerca da ambulação, quantidade de levantar, tempo de autolimpeza e número de bolos fecais.

Os dados obtidos sobre o parâmetro de ambulação do grupo Controle ( $103,1 \pm 5,6$ ), grupo Banha ( $112,4 \pm 5,8$ ) e grupo Chia ( $97,8 \pm 6,2$ ) não apresentaram quaisquer diferenças significativas entre eles (Gráfico 1).



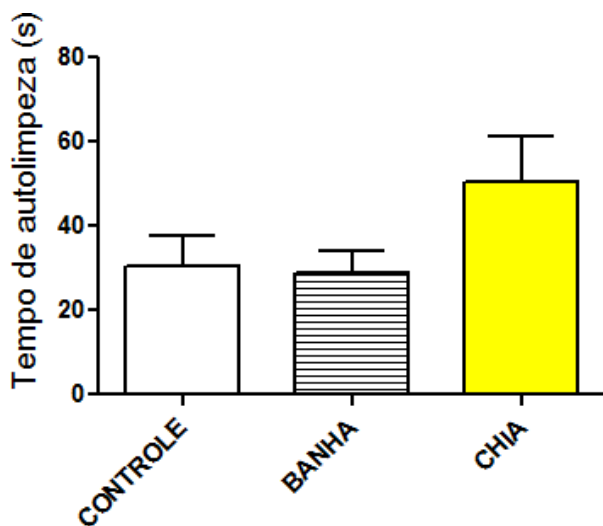
**Gráfico 1** – Efeito do óleo de chia suplementado no período de lactação sobre a ambulação no teste do campo aberto em ratos. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (ANOVA one-way seguido do pós teste de Bonferroni).

Para o parâmetro *rearing* ou quantas vezes o animal se levanta, obteve-se os seguintes dados: grupo Controle ( $42,8 \pm 4,7$ ), grupo Banha ( $39,5 \pm 2,5$ ) e grupo Chia ( $32,8 \pm 3,0$ ) não demonstrando resultados significativos entre grupos (Gráfico 2).



**Gráfico 2** – Efeito do óleo de chia suplementado no período de lactação sobre o teste *rearing* do campo aberto em ratos. Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (ANOVA one-way seguido do pós teste de Bonferroni).

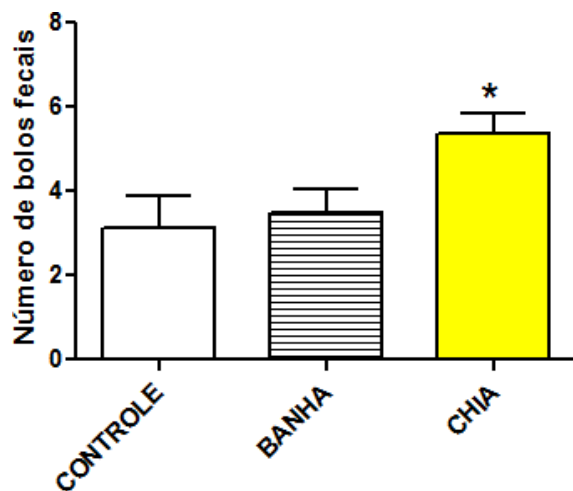
De acordo com o parâmetro de *grooming* (autolimpeza), o grupo Controle (30,5 ± 7,3) grupo Banha (28,9 ± 5,1) e o grupo Chia (50,6 ± 10,6) não apresentaram diferenças significativas entre si (Gráfico 3).



**Gráfico 3** – Efeito do óleo de chia suplementado no período de lactação sobre o teste *grooming* do campo aberto em ratos. Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (ANOVA one-way seguido do pós teste de Bonferroni).

Em relação ao número de bolos fecais, o grupo Chia (5,4 ± 0,5) apresentou um aumento significativo ( $p < 0,05$ ), em relação ao grupo Controle (3,1 ± 0,8), mas os dois grupos *versus* o grupo banha (3,5 ± 0,6), não apresentaram diferenças significativas (Gráfico 4).



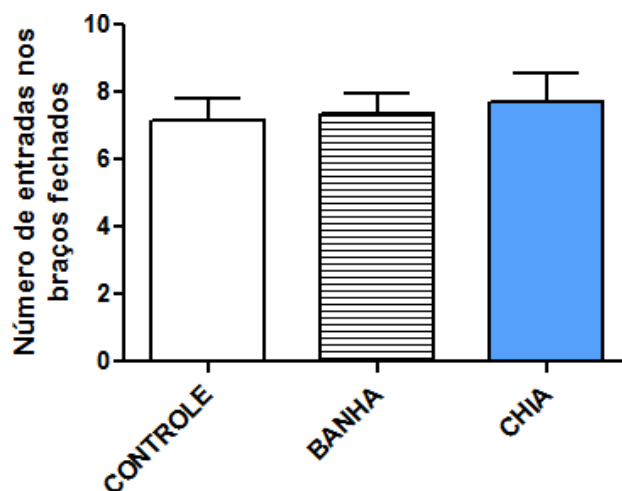


**Gráfico 4** – Efeito do óleo de chia suplementado no período de lactação sobre número de bolos fecais no teste do campo aberto em ratos. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (ANOVA one-way seguido do pós teste de Bonferroni).

## 5.2 TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO

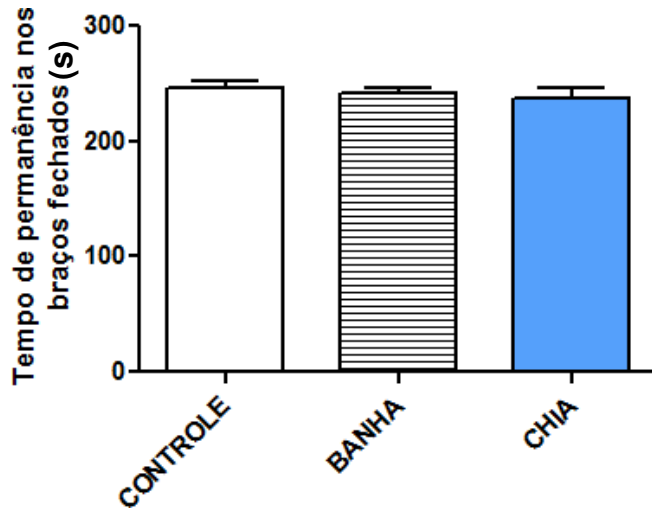
Os animais foram submetidos ao teste de LCE, no qual foram avaliados os seguintes parâmetros: número de entradas e permanência nos braços abertos assim como nos braços fechados, tempo na área central e mergulho de cabeça.

Em relação ao número de entradas nos braços fechados não houve diferenças significativas entre o grupo Controle ( $7,1 \pm 0,7$ ), grupo Banha ( $7,4 \pm 0,6$ ) e grupo Chia ( $7,7 \pm 0,8$ ) (Gráfico 5).



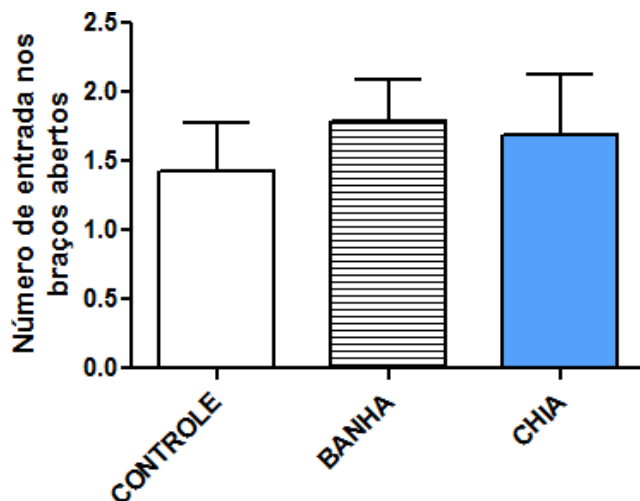
**Gráfico 5** – Efeito do óleo de chia suplementado no período de lactação sobre número de entradas nos braços fechados no teste LCE em ratos. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (ANOVA one-way seguido do pós teste de Bonferroni).

De acordo com o parâmetro de tempo de permanência nos braços fechados, o grupo Controle ( $246,4 \pm 6,4$ ), grupo Banha ( $241,1 \pm 5,1$ ) e grupo Chia ( $237,2 \pm 9,4$ ), também não apresentaram quaisquer diferenças significativas (Gráfico 6).



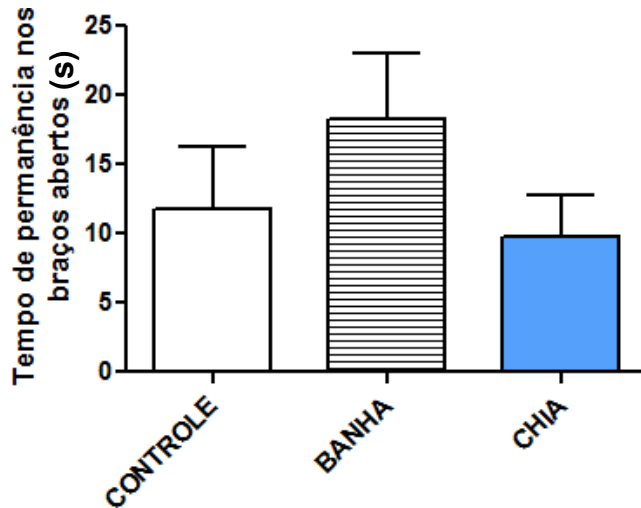
**Gráfico 6** – Efeito do óleo de chia suplementado no período de lactação sobre tempo de permanência nos braços fechados no teste LCE em ratos. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (ANOVA one-way seguido do pós teste de Bonferroni).

Em relação ao número de entradas nos braços abertos, não houve diferenças significativas entre os grupos: Controle ( $1,4 \pm 0,3$ ), Banha ( $1,8 \pm 0,3$ ) e Chia ( $1,7 \pm 0,4$ ) (Gráfico 7).



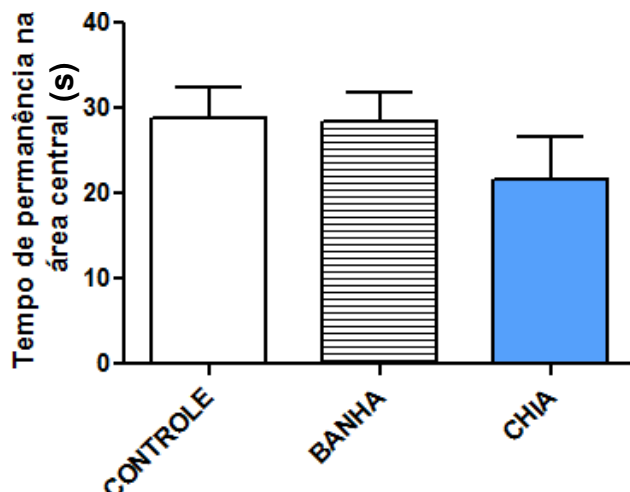
**Gráfico 7** – Efeito do óleo de chia suplementado no período de lactação sobre número de entradas nos braços abertos no teste LCE em ratos. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (ANOVA one-way seguido do pós teste de Bonferroni).

Os dados obtidos na análise de tempo de permanência nos braços abertos, também não mostraram diferenças significativas entre os grupos: Controle ( $11,8 \pm 4,4$ ), Banha ( $18,3 \pm 4,8$ ) e Chia ( $9,8 \pm 2,9$ ) (Gráfico 8).



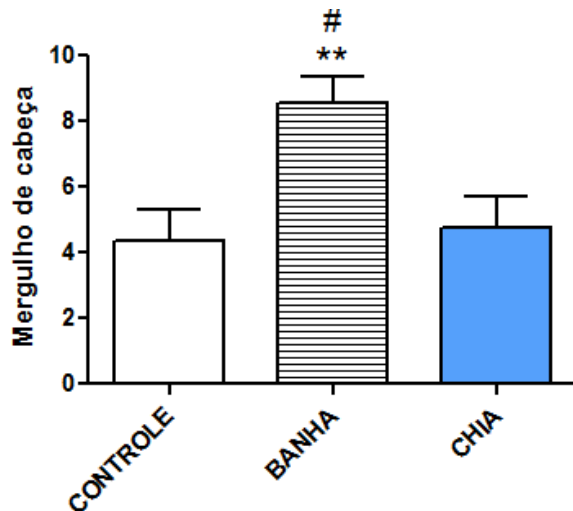
**Gráfico 8** – Efeito do óleo de chia suplementado no período de lactação sobre tempo de permanência nos braços fechados no teste LCE em ratos. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (ANOVA one-way seguido do pós teste de Bonferroni).

De acordo com o parâmetro de tempo de permanência na área central, os grupos: Controle ( $28,9 \pm 3,7$ ), Banha ( $28,5 \pm 3,4$ ) e Chia ( $21,7 \pm 5,0$ ), não apresentaram diferenças significativas entre eles (Gráfico 9).



**Gráfico 9** – Efeito do óleo de chia suplementado no período de lactação sobre tempo de permanência na área central no teste LCE em ratos. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (ANOVA one-way seguido do pós teste de Bonferroni).

Avaliando o parâmetro mergulho de cabeça, o grupo Banha ( $8,5 \pm 0,8$ ) aumentou significativamente em relação ao grupo Chia ( $p < 0,05$ ) ( $4,8 \pm 0,9$ ) e ao grupo Controle ( $p < 0,01$ ) ( $4,4 \pm 1,0$ ), porém o grupo chia e controle não demonstraram diferenças significativas entre si (Gráfico 10).

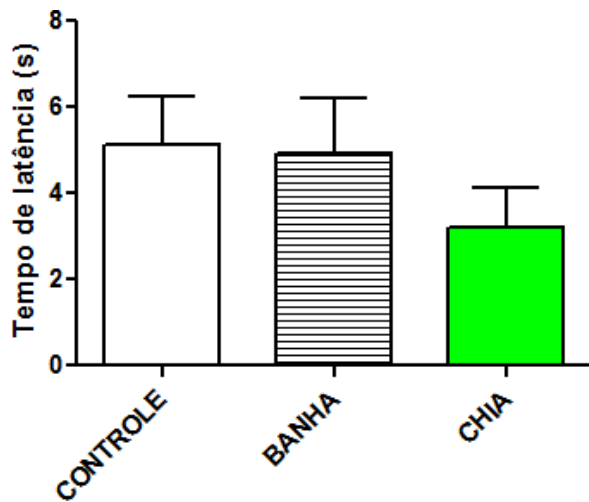


**Gráfico 10** – Efeito do óleo de chia suplementado no período de lactação sobre o mergulho de cabeça central teste LCE em ratos. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (ANOVA one-way seguido do pós teste de Bonferroni). \*\* $p < 0,01$  versus controle; # $p < 0,05$  versus chia.

### 5.3 TESTE DE TRANSIÇÃO CLARO/ESCURO

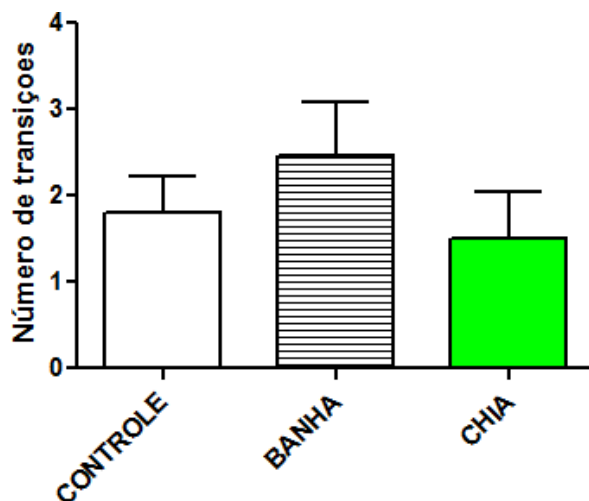
Os animais foram submetidos ao teste de transição claro/escuro, no qual foram avaliados os seguintes parâmetros: tempo de latência para o compartimento escuro, número de transição entre os dois compartimentos, permanência no compartimento claro e escuro, ambulação.

A partir da análise do tempo de latência para o compartimento escuro (tempo que o animal gasta para entrar no compartimento escuro pela primeira vez), os grupos apresentaram os seguintes resultados: Controle ( $5,1 \pm 1,2$ ), Banha ( $4,9 \pm 1,3$ ) e Chia ( $3,2 \pm 0,9$ ), não apresentando diferenças significativas entre eles (Gráfico 11).



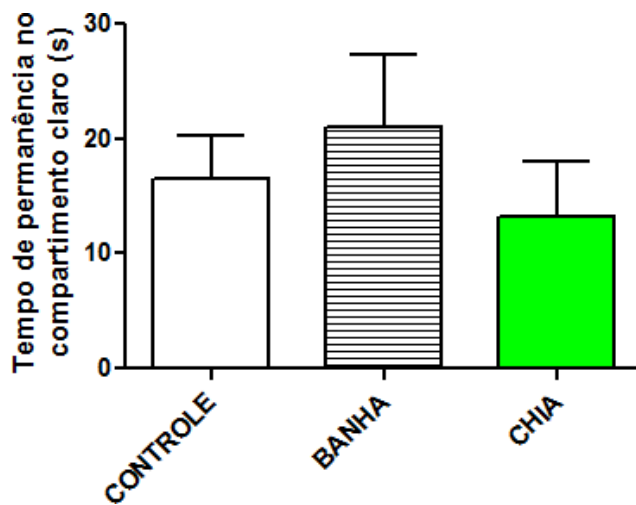
**Gráfico 11** – Efeito do óleo de chia suplementado no período de lactação em relação ao tempo de latência para o compartimento escuro no teste transição claro-escuro em ratos. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (ANOVA one-way seguido do pós teste de Bonferroni).

Avaliando o parâmetro de número de transições entre os dois compartimentos, os grupos não apresentaram diferenças significativas entre eles, obtendo-se os seguintes valores: grupo Controle ( $1,8 \pm 0,4$ ), grupo Banha ( $2,5 \pm 0,6$ ) e grupo Chia ( $1,5 \pm 0,5$ ) (Gráfico 12).



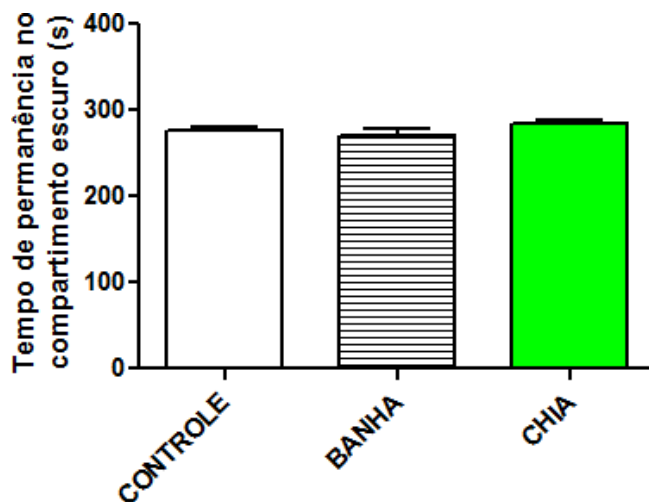
**Gráfico 12** – Efeito do óleo de chia suplementado no período de lactação para número de transição entre os dois compartimentos no teste transição claro-escuro em ratos. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (ANOVA one-way seguido do pós teste de Bonferroni).

De acordo com o parâmetro de tempo de permanência no compartimento claro, os grupos Controle ( $16,5 \pm 3,8$ ), Banha ( $21,1 \pm 6,3$ ) e Chia ( $13,2 \pm 4,8$ ), não apresentaram diferenças significativas entre si (Gráfico 13).



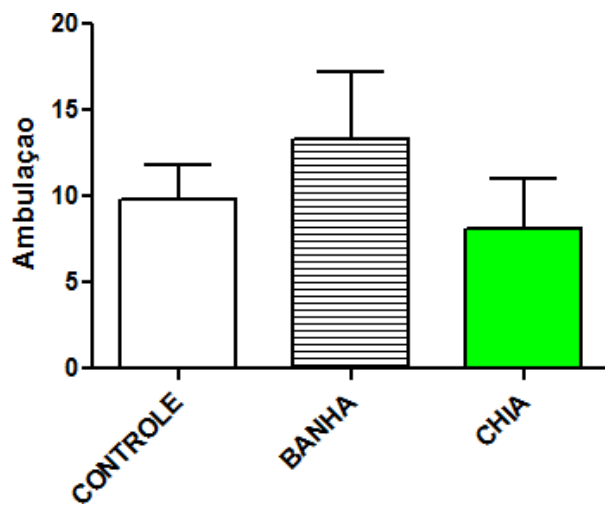
**Gráfico 13** – Efeito do óleo de chia suplementado no período de lactação para o tempo de permanência no compartimento claro no teste transição claro-escuro em ratos. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (ANOVA one-way seguido do pós teste de Bonferroni).

De acordo com o parâmetro de tempo de permanência no compartimento escuro, os grupos Controle ( $276,7 \pm 4,1$ ), Banha ( $269,9 \pm 8$ ) e Chia ( $283,6 \pm 4,8$ ) também não apresentaram resultados significativos (Gráfico 14).



**Gráfico 14** – Efeito do óleo de chia suplementado no período de lactação para o tempo de permanência no compartimento escuro no teste transição claro-escuro em ratos. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (ANOVA one-way seguido do pós teste de Bonferroni).

Os dados para o parâmetro de ambulações dos grupo Controle ( $9,8 \pm 2,1$ ), grupo Banha ( $13,3 \pm 4,0$ ) e grupo Chia ( $8,1 \pm 3,0$ ) não apresentaram resultados significativos (Gráfico 15).



**Gráfico 15** – Efeito do óleo de chia suplementado no período de lactação para o parâmetro de ambulações no teste transição claro-escuro em ratos. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (ANOVA one-way seguido do pós teste de Bonferroni).

## 6 DISCUSSÃO

Devido à considerável incidência dos sintomas de ansiedade (BAXTER, 2013), estes têm sido alvo de muitos estudos, principalmente, baseados na busca por agentes ansiolíticos capazes de auxiliar no tratamento ou prevenção dessa desordem mental. Nesse cenário, os fatores dietéticos, incluindo os ácidos graxos poli-insaturados ( $\omega$ -3) estão ganhando reconhecimento especial como importantes modificadores da função cerebral e saúde mental (GÓMEZ-PINILLA, 2008 *apud* BHATIA et al., 2011).

Tendo em vista que a modificação cerebral acontece com maior intensidade nas fases iniciais da vida, como a lactação (LIMA et al., 2004; BORLOZO et al., 2013), para que esse processo morfogênico aconteça, o cérebro requer uma demanda de DHA e AA fornecidos a partir de fontes de  $\omega$ -3 (VENEZUELANA et al., 2003; SILVA, 2007). Há décadas, já vem se investigado a importância desses componentes na alimentação do recém-nascido para obter o máximo potencial de desenvolvimento e função neurológica em relação ao comportamento (SCHMEITS et al., 1999; VENEZUELANA; NIETO, 2001; CASTRO-GONZÁLEZ, 2002; HONSTRA, 2002; VENEZUELANA et al., 2003; SILVA, 2007).

No intuito de comprovar a ação do ômega 3 sobre a ansiedade, alguns autores têm mostrado através de pesquisas experimentais que ratos com deficiência de  $\omega$ -3 apresentaram sinais significativos de ansiedade, principalmente quando confrontados a estímulos ansiogênicos (FEDOROVA; SALEM, 2006; VINOT et al., 2011). Em contrapartida, colaborando com essas evidências, outros estudos experimentais realizados em modelos animais mostraram que a suplementação de  $\omega$ -3 em fases iniciais do desenvolvimento cerebral de ratos é capaz de reduzir efeitos ansiogênicos frente a eventos estressores (FERRAZ et al., 2011; CORTES et al., 2013).

Levando em consideração as evidências da influência do ômega 3 sobre sintomas de ansiedade, foi investigado o efeito do óleo de chia, uma fonte desse ômega, e da banha de porco, uma fonte de gordura saturada, suplementados na dieta das ratas mães durante o período de lactação sobre o comportamento de ansiedade em suas proles.

Foram realizados três tipos de testes: o Teste do Campo Aberto, o Teste do Labirinto em Cruz Elevado e o Teste de transição claro-escuro.



O campo aberto é o método mais usado para realizar análises comportamentais de ansiedade (PRUT; BELZUNG, 2003). Foi inicialmente descrito por Hall (1934), para testar os efeitos de ambientes não familiares sobre as reações emocionais de ratos. O teste consiste em introduzir os animais em ambientes estranhos, que eliciam neles reações naturais de medo. Como a estrutura física trata-se de um ambiente maior do que as gaiolas, além de ser um local aberto, permite a avaliação de alguns parâmetros como a locomoção/ambulação (número cruzamentos na arena realizados pelo animal), frequência de levantar, tempo de autolimpeza e número de bolos fecais (SESTAKOVA et al., 2013; VIANA et al., 2016).

A ambulação ocorre quando o animal atravessa os campos com as quatro patas, proporcionando a análise de sua atividade locomotora (VIANA et al., 2016). Segundo Choleris et al. (2001) e Lister (1990), um aumento na ambulação (número de cruzamentos) indica redução da ansiedade (MEZADRI et al., 2011). No presente estudo, não houve diferenças significativas entre o grupo chia, grupo banha e grupo controle em relação a este parâmetro (Gráfico 4).

O comportamento de *rearing* (quantas vezes o animal se levanta) é um tipo de comportamento exploratório, onde o animal encontra-se de pé apoiado nas patas traseiras (RANJBAR et al., 2017). É um aspecto do comportamento exploratório estreitamente relacionado com o nível de ansiedade e, geralmente, diminui quando um animal é colocado em um ambiente estressante, e pode aumentar quando compostos ansiolíticos são suplementados (JOHANSSON; AHLENIUS, 1989; SHAW et al., 2007). Para esse parâmetro, também não houve diferenças significativas entre os grupos (Gráfico 5).

A autolimpeza (*grooming*) é caracterizada como a análise do tempo gasto pelo animal para reproduzir repetidamente ações de autolimpeza, como movimentos das patas superiores em direção à cabeça e ao corpo, e movimentos com a cabeça lambendo ou coçando outras regiões corporais (AL MUKHTAR; SELMAN; NAJI, 2016). O aumento da autolimpeza pode ser associado a maiores índices de ansiedade (KALUEFF; TUOHIMAA, 2005; VOIGT et al., 2005 apud LI; LUND; VOIGT, 2016). Para esse parâmetro, também não houve diferenças significativas entre os grupos (Gráfico 6).

A quantidade de bolos fecais (defecação) é um bom indicador para avaliar o estado comportamental de roedores, onde o aumento do número de bolos fecais

indica que o componente está associado à ansiedade (ANGRINI; LESLIE; SHEPHARD, 1998; SHAW et al., 2007). A partir dos dados obtidos nesse estudo, pode-se perceber que os animais do grupo Chia apresentaram aumento na defecação quando comparados ao grupo Controle, como visto no Gráfico 4, o que pode estar associado a um efeito ansiogênico desse composto, mas que pode ser considerado um efeito isolado, visto que nenhum dos outros parâmetros confirmaram tal efeito.

O labirinto em cruz elevado é um método clássico e amplamente utilizado para medir a ansiedade em ratos (HANDLEY; MCBLANE, 1994; CHENG; SHEEN; CHANG, 2015). Atualmente, o LCE é um dos testes mais amplamente aceitos para analisar os efeitos ansiogênicos ou ansiolíticos de drogas e nutrientes (HANDLEY; MCBLANE, 1993; LIU et al., 2015). Quando os animais aumentam o número de entradas e gastam mais tempo dentro dos braços fechados, onde se sentem menos ameaçados, estes são classificados com maiores índices de ansiedade. Em contraste, os ratos que gastam tempo aproximadamente igual nos braços abertos e fechados, apresentam menores índices de ansiedade (FOUNTAIN et al., 2008). Os dados obtidos a partir do presente estudo não demonstraram diferenças significativas entre os grupos em relação à entrada e permanência nos braços abertos e fechados, descritos nos gráficos 5, 6, 7 e 8. Nem em relação ao tempo na área central descrito no Gráfico 9.

A frequência e duração do comportamento de mergulhar a cabeça são consideradas um movimento exploratório e está inversamente associado à ansiedade (COLE RODGERS, 1993; ANSELONI; BRANDÃO, 1997; MARTINEZ; GARCIA; MORATO, 2005). No presente estudo, o grupo Banha aumentou significativamente em relação ao grupo Chia e ao grupo Controle, indicando que esta gordura proporciona um efeito ansiolítico nesses animais, mas também pode ser considerado um efeito isolado, visto que de tantos parâmetros observados, apenas este deu significativo.

O teste de transição claro/escuro é baseado na aversão inata dos roedores a ambientes iluminados, por isso é um modelo animal bastante utilizado para identificar efeitos relacionados à ansiedade nesses animais. Geralmente, os animais se sentem seguros em áreas escuras, mas isso não ocorre na área iluminada. O período em que os animais permanecem na área clara é, geralmente, utilizado para

identificar efeitos ansiolíticos (CRAWLEY; GOODWIN, 1980; COSTALL et al., 1989; SÁNCHEZ, 1995 *apud* CHENG; SHEEN; CHANG, 2015).

Um aumento no tempo de latência para o primeiro cruzamento é caracterizado como um comportamento desinibido e ansiolítico. Além disso, o aumento no número de transições entre os dois compartimentos do aparelho é sugerido também como um índice de atividade ansiolítica. Já em relação ao tempo de permanência nos compartimentos, os animais com altos níveis de ansiedade tendem a passar mais tempo no ambiente escuro e ter aversão ao compartimento iluminado (CRAWLEY, GOODWIN, 1980; RODGERS; SHEPHERD, 1993; CRAWLEY et al., 1997; HASCOËT; BOURIN, 1998; BOURIN; HASCOËT, 2003). Em contrapartida, o tempo no compartimento claro, juntamente com a ambulação nesse compartimento, são indicativos de ações ansiolíticas (VAN MEER; RABER, 2005; POST, et al., 2011; HEREDIA et al., 2014). Os dados obtidos neste estudo mostraram que não houve diferenças significativas em relação a todos os parâmetros analisados nesse modelo, descritos nos gráficos 11-15.

Tendo em vista que a chia é rica em ALA precursor dietético para o EPA e DHA (COATES et al., 2011), esperava-se que a partir do consumo do mesmo houvesse o aumento desses compostos responsáveis pela modificação da função cerebral nas fases iniciais da vida e, assim, houvesse um efeito ansiolítico no grupo tratado com chia, no entanto, na presente pesquisa, em nenhum dos testes utilizados houve efeito ansiolítico nesse grupo.

O experimento realizado por Almeida, Boaventura e Silva (2013), verificou que a ração adicionada de 25% de semente de linhaça também uma fonte ALA apresentou um aumento significativo de EPA e DHA, no leite das ratas tratadas durante a lactação com linhaça, quando comparado ao de ratas alimentadas com caseína, fato que mostrou a eficiência da conversão do ALA em DHA e comprovou que a qualidade lipídica da dieta materna influencia o perfil de ácidos graxos no leite secretado. Como não houve esse tipo de análise em nosso estudo e a suplementação foi bem menor, possivelmente, os 5% oferecidos de óleo de chia, pode até ter aumentado o percentual de EPA e DHA no leite materno, mas não em quantidades suficientes para exercer influência sobre a função neurológica relacionada ao comportamento de ansiedade nesses filhotes, como também ocorreu com os ratos cujas mães foram suplementadas com uma dieta contendo 5% de

banha de porco, no qual não exerceu nenhuma influência sobre o comportamento desses filhotes.

Outros dados também mostram que a duração dessa oferta é uma variável a ser considerada. Os achados de Fan e colaboradores (2016), mostram que uma oferta adequada em  $\omega$ -3, contendo uma combinação de linhaça e os óleos de peixe com óleo de girassol forneceram 5,25% de ácido linolênico (AGPI  $\omega$ -3) e 0,47% de DHA, suplementados nos períodos de gestação, lactação e até os 2 meses de vida, mostraram que a ingestão adequada de  $\omega$ -3 na gestação e lactação podem ser benéficas para a função neurológica da prole em idade adulta, e as modificações epigenéticas podem ser um dos mecanismos que contribuem para o baixo risco de desenvolvimento de transtornos comportamentais na idade adulta. Esses achados trouxeram evidências da importância da suplementação desde o período de gestação, onde a influência no desenvolvimento e função neurológica é ainda maior que somente no período de lactação.

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados obtidos pode-se observar que a suplementação com óleo de chia e banha de porco em ratas lactantes não foram capazes de influenciar os parâmetros relacionados à ansiedade.

Contudo, levando em consideração as necessidades nutricionais aumentadas durante as fases iniciais da vida, o óleo de chia vem se mostrando uma importante matriz alimentar, pois possui uma gama de macro e micronutrientes e se destaca por sua alta concentração de ômega 3 (AGPI  $\omega$ -3), um importante modificador da função cerebral. Devido essa característica, apesar deste estudo não ter demonstrado influência do óleo de chia sobre o comportamento de roedores, novas pesquisas com maiores dosagens ou duração da suplementação deste óleo são necessárias para avaliar seu potencial.

## REFERÊNCIAS

ACCIOLY, E.; SANDERS, C.; LACERDA, E. M. A. **Nutrição em obstetrícia e pediatria**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 18, p. 233-235, 2009.

ALLEN, A. J.; LEONARD, H.; SWEDO, S. E. Current knowledge of medications for the treatment of childhood anxiety disorders. **Journal of the American Academy of child & Adolescent psychiatry**, v. 34, n. 8, p. 976-986, 1995.

AL MUKHTAR, E. J.; SELMAN, S. M.; NAJI, H. Evaluation of the anxiolytic effect of rosemary in mice. **International Journal of PharmTech Research**, v. 9, n. 11, p. 94-102, 2016.

ALMEIDA, K. C.; BOAVENTURA, G. T.; SILVA, M. A. Influence of omega-3 fatty acids from the flaxseed (*Linum usitatissimum*) on the brain development of newborn rats. **Nutricion hospitalaria**, v. 26, n. 5, p. 991-996, 2011.

ÁLVAREZ-CHÁVEZ, L. M. et al. Chemical characterization of the lipid fraction of Mexican chia seed (*Salvia hispanica* L.). **International Journal of Food Properties**, v. 11, n. 3, p. 687-697, 2008.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **DSM-5-TR: Manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais**. 5ª ed. Porto Alegre, RS: Artes Médicas. 2014.

ANGRINI, M.; LESLIE, J. C.; SHEPHARD, R. A. Effects of propranolol, buspirone, pCPA, reserpine, and chlordiazepoxide on open-field behavior. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 59, n. 2, p. 387-397, 1998.

ANSELONI, V. Z.; BRANDAO, M. L. Ethopharmacological analysis of behaviour of rats using variations of the elevated plus-maze. **Behavioural pharmacology**, v. 8, n. 6-7, p. 533-540, 1997.

BASTOS, J. C. F.; MOHALLEM, A. G. C.; FARAH, O. G. D. Ansiedade e depressão em alunos de enfermagem durante o estágio de oncologia. **Einstein**, v. 6, n. 1, p. 7-12, 2008.

BAXTER, A. J. et al. Global prevalence of anxiety disorders: a systematic review and meta-regression. **Psychological Medicine**, v. 43, n. 05, p. 897-910, 2013.

BHATIA, H. S. et al. Omega-3 fatty acid deficiency during brain maturation reduces neuronal and behavioral plasticity in adulthood. **PloS one**, v. 6, n. 12, p.1-9, 2011.

BARCELÓ-COBLIJN, G.; MURPHY, E. J. Alpha-linolenic acid and its conversion to longer chain n- 3 fatty acids: Benefits for human health and a role in maintaining tissue n- 3 fatty acid levels. **Progress in lipid research**, v. 48, n. 6, p. 355-374, 2009.

BORTOLOZO, E. A. F. Q. et al. Supplementation with the omega-3 docosahexaenoic acid: influence on the lipid composition and fatty acid profile of human milk. **Revista de Nutrição**, v. 26, n. 1, p. 27-36, 2013.

BOSTWICK, W. B. et al. Dimensions of sexual orientation and the prevalence of mood and anxiety disorders in the United States. **American journal of public health**, v. 100, n. 3, p. 468-475, 2010.

BOURIN, M.; HASCOËT, M. The mouse light/dark box test. **European journal of pharmacology**, v. 463, n. 1, p. 55-65, 2003.

CASTILLO, A. R. G. L et al. Transtornos de ansiedade. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 22, p. 20-23, 2000.

CASTRO-GONZÁLEZ, M. I. Ácidos grasos omega 3: Beneficios y Fuentes. **Interciencia**, v. 27, n. 3, p. 128-139, 2002.

CHALON, S. Omega-3 fatty acids and monoamine neurotransmission. **Prostaglandins Leukot Essential Fatty Acids**, v. 75, n. 4-5, p. 259-269, 2006.

CHEN, H.; SU, H. Exposure to a maternal n-3 fatty acid-deficient diet during brain development provokes excessive hypothalamic–pituitary–adrenal axis responses to stress and behavioral indices of depression and anxiety in male rat offspring later in life. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 24, n. 1, p. 70-80, 2013.

CHEN, Q. et al. Characteristics of chronic pain associated with sleep difficulty in older adults: the Maintenance of Balance, Independent Living, Intellect, and Zest in the Elderly (MOBILIZE) Boston study. **Journal of the American Geriatrics Society**, v. 59, n. 8, p. 1385-1392, 2011.

CHENG, B.; SHEEN, L.; CHANG, S. Evaluation of anxiolytic potency of essential oil and S-(+)-linalool from *Cinnamomum osmophloeum* ct. linalool leaves in

mice. **Journal of traditional and complementary medicine**, v. 5, n. 1, p. 27-34, 2015.

CHOLERIS, E. et al. A detailed ethological analysis of the mouse open field test: effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 25, n. 3, p.235-260, 2001.

COATES, W. et al. Protein content, oil content and fatty acid profiles as potential criteria to determine the origin of commercially grown chia (*Salvia hispanica* L.). **Industrial Crops and Products**, v. 34, n. 2, p. 1366-1371, 2011.

COATES, W.; AYERZA, R. Chia (L.) seed as an n-3 fatty acid source for finishing pigs: Effects on fatty acid composition and fat stability of the meat and internal fat, growth performance, and meat sensory characteristics. **Journal of Animal Science**, v. 87, n. 11, p. 3798-3804, 2009.

COLE, J. C.; RODGERS, R. J. An ethological analysis of the effects of chlordiazepoxide and bretazenil (Ro 16-6028) in the murine elevated plus-maze. **Behavioural pharmacology**, v. 4, n. 6, p. 573-580, 1993.

CORTES, M. L. et al. Therapy with omega-3 fatty acids for patients with chronic pain and anxious and depressive symptoms. **Revista Dor**, v. 14, n. 1, p. 48-51, 2013.

COSTA, A.G. V.; SABARENSE, C. M. Modulação e composição de ácidos graxos do leite humano. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 3, p. 445-457, 2010.

COSTALL, B. et al. Exploration of mice in a black and white test box: validation as a model of anxiety. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 32, n. 3, p. 777-785, 1989.

CRAWLEY, J. N. et al. Behavioral phenotypes of inbred mouse strains: implications and recommendations for molecular studies. **Psychopharmacology**, v. 132, n. 2, p. 107-124, 1997.

CRAWLEY, J.; GOODWIN, F. K. Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 13, n. 2, p. 167-170, 1980.



FAN, C. et al. Maternal n-3 polyunsaturated fatty acid deprivation during pregnancy and lactation affects neurogenesis and apoptosis in adult offspring: associated with DNA methylation of brain-derived neurotrophic factor transcripts. **Nutrition Research**, v. 36, n. 9, p. 1013-1021, 2016.

FEDOROVA, I.; SALEM, N. Omega-3 fatty acids and rodent behavior. **Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids**, v. 75, n. 4, p. 271-289, 2006.

FERRAZ, A. C. et al. Chronic  $\omega$ -3 fatty acids supplementation promotes beneficial effects on anxiety, cognitive and depressive-like behaviors in rats subjected to a restraint stress protocol. **Behavioural Brain Research**, v. 219, n. 1, p. 116-122, 2011.

FOUNTAIN, E. D. et al. Effects of Diets Enriched in Omega-3 and Omega-6 Polyunsaturated Fatty Acids on Offspring Sex-Ratio and Maternal Behavior in Mice 1. **Biology of reproduction**, v. 78, n. 2, p. 211-217, 2008.

GÓMEZ-PINILLA, F. Brain foods: the effects of nutrients on brain function. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 9, n. 7, p. 568-578, 2008.

GONZÁLES, M. I. Ácidos grasos omega 3: beneficios y fuentes. **Revista Interciencia**, v. 27, n. 3, p. 128-136, 2002.

GRANT, B. F. et al. Prevalence and co-occurrence of substance use disorders and independent mood and anxiety disorders: Results from the national epidemiologic survey on alcohol and related conditions. **Archives of general psychiatry**, v. 61, n. 8, p. 807-816, 2004.

GUESNET, P.; ALESSANDRI, J. Docosahexaenoic acid (DHA) and the developing central nervous system (CNS)—Implications for dietary recommendations. **Biochimie**, v. 93, n. 1, p. 7-12, 2011.

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, n. 3, p. 385-403, 1934.

HANDLEY, S. L.; MCBLANE, J. W. An assessment of the elevated X-maze for studying anxiety and anxiety-modulating drugs. **Journal of pharmacological and toxicological methods**, v. 29, n. 3, p. 129-138, 1993.

HASCOËT, M.; BOURIN, M. A new approach to the light/dark test procedure in mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 60, n. 3, p. 645-653, 1998.

HEREDIA, L. et al. Assessing anxiety in C57BL/6J mice: a pharmacological characterization of the open-field and light/dark tests. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 69, n. 2, p. 108-114, 2014.

HOLMAN, R. T.; JOHNSON, S. B.; HATCH, T. F. A case of human linolenic acid deficiency involving neurological abnormalities. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 35, n. 3, p. 617-623, 1982.

HORNSTRA, G. Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids and health benefits. **Neuilly-sur-seine: Nutriscience Roche Vitamins**, v. 107, n. 2, p. 159-170, 2002.

INNIS, S. M. Dietary omega 3 fatty acids and the developing brain. **Brain research**, v. 1237, n.1, p. 35-43, 2008.

JOHANSSON, C.; AHLENIUS, S. Evidence for the involvement of 5-HT<sub>1A</sub> receptors in the mediation of exploratory locomotor activity in the rat. **Journal of Psychopharmacology**, v. 3, n. 1, p. 32-35, 1989.

KALUEFF, A. V.; TUOHIMAA, P. The grooming analysis algorithm discriminates between different levels of anxiety in rats: potential utility for neurobehavioural stress research. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 143, n. 2, p. 169-177, 2005.

KESSLER, R. C. et al. Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. **Archives of general psychiatry**, v. 62, n. 6, p. 593-602, 2005.

KHATTAB, R. Y.; ZEITOUN, M. A. Quality evaluation of flaxseed oil obtained by different extraction techniques. **Food Science and Technology**, v. 53, n. 1, p. 338-345, 2013.

KAPLAN, H. I.; SADOCK, B. J.; GREBB, J. A. **Compêndio de psiquiatria: ciências do comportamento e psiquiatria clínica**. 7. ed. Porto Alegre: Artes médicas, 1997.

KLINGLER, M. et al. Analysis of FA contents in individual lipid fractions from human placental tissue. **Lipids**, v. 38, n. 5, p. 561-566, 2003.

KOLETZKO, B.; CETIN, I.; BRENNAN, J. T. Dietary fat intakes for pregnant and lactating women. **British Journal of Nutrition**, v. 98, n. 05, p. 873-877, 2007.

LAD, H. V. et al. Behavioural battery testing: evaluation and behavioural outcomes in 8 inbred mouse strains. **Physiology & behavior**, v. 99, n. 3, p. 301-316, 2010.

LEMOS JÚNIOR, H. P.; LEMOS, A. L. A. Chia (Salvia hispanica). **Diagnóstico e tratamento**, v. 17, n. 4, p. 180-182, 2012.

LI, K. A.; LUND, E. T.; VOIGT, J. W. The impact of early postnatal environmental enrichment on maternal care and offspring behaviour following weaning. **Behavioural processes**, v. 122, n.3, p. 51-58, 2016.

LIMA, M. F. et al. Ácido graxo ômega 3 docosahexaenóico (DHA: C22: 6 n-3) e desenvolvimento neonatal: aspectos relacionados a sua essencialidade e suplementação. **Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v. 28, n.1, p. 65-77, 2004.

LISTER, R. G. Ethologically-based animal models of anxiety disorders. **Pharmacology & therapeutics**, v. 46, n. 3, p. 321-340, 1990.

LIU, A. et al. Anxiolytic effect of essential oils of Salvia miltiorrhiza in rats. **International journal of clinical and experimental medicine**, v. 8, n. 8, p. 12756-1764, 2015.

LOURDU-JAFRIN, A. et al. Anxiolytic Effect of Ondansetron, a 5-HT<sub>3</sub> Antagonist on male albino mice in the Elevated Plus Maze. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v. 4, n. 2, p. 1665-1675, 2013.

MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S.; RAYMOND, J. L. **Krause, Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**. 13. ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 2012. 1228 p.

MARTIN, C. A. et al. Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: importance and occurrence in foods. **Revista de Nutrição**, 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.

MCLEAN, C. P. et al. Gender differences in anxiety disorders: prevalence, course of illness, comorbidity and burden of illness. **Journal of psychiatric research**, v. 45, n. 8, p. 1027-1035, 2011.

MCNAMARA, R. K.; VANNEST, J. J.; VALENTINE, C. J. Role of perinatal long-chain omega-3 fatty acids in cortical circuit maturation: mechanisms and implications for psychopathology. **World journal of psychiatry**, v. 5, n. 1, p. 15-34, 2015.

MEZADRI, T. J. et al. Avaliação do comportamento de ratos alojados em caixas de cores diferentes. **Revista de Etologia**, v. 10, n. 1, p. 21-26, 2011.

MISCHOULON, D.; FREEMAN, M. P. Omega-3 fatty acids in psychiatry. **Psychiatric Clinics of North America**, v. 36, n. 1, p. 15-23, 2013.

MUÑOZ, L. A. et al. Chia seed (*Salvia hispanica*): an ancient grain and a new functional food. **Food reviews international**, v. 29, n. 4, p. 394-408, 2013.

NORTON, J. et al. Anxiety symptoms and disorder predict activity limitations in the elderly. **Journal of affective disorders**, v. 141, n. 2, p. 276-285, 2012.

PEIRETTI, P. G.; GAI, F. Fatty acid and nutritive quality of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds and plant during growth. **Animal Feed Science and Technology**, v. 148, n. 2, p. 267-275, 2009.

PERINI, J. A. L. et al. Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: metabolism in mammals and immune response. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 6, p. 1075-1086, 2010.

PIFFERI, F. Omega-3 PUFA supplementation differentially affects behavior and cognition in the young and aged non-human primate Grey mouse lemur (*Microcebus murinus*). **Oilseeds & fats Crops and Lipids**, v. 21, n. 1, p. 1-7, 2014.

POST, A. M. et al. Gene–environment interaction influences anxiety-like behavior in ethologically based mouse models. **Behavioural Brain Research**, v. 218, n. 1, p. 99-105, 2011.

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.

RAMAKRISHNAN, U. Prevalence of micronutrient malnutrition worldwide. **Nutrition reviews**, v. 60, n. 5, p. 46-52, 2002.

RANJBAR, H. et al. Effects of Electrical Lesion of Basolateral Amygdala Nucleus on Rat Anxiety-like Behavior under Acute, Sub-chronic, and Chronic Stresses. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, 2017.

RODGERS, R. J.; SHEPHERD, J. K. Influence of prior maze experience on behaviour and response to diazepam in the elevated plus-maze and light/dark tests of anxiety in mice. **Psychopharmacology**, v. 113, n. 2, p. 237-242, 1993

ROSS, B. M. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and anxiety disorders. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 81, n. 5, p. 309-312, 2009.

SÁNCHEZ, C. Serotonergic Mechanisms Involved in the Exploratory Behaviour of Mice in a Fully Automated Two-Compartment Black and White Test Box. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 77, n. 1, p. 71-78, 1995.

SANTOS, C. C. M. P. **Estudo psicofarmacológico comparativo da formracêmica, (rs)-(±)-linalol, e seus enantiômeros, (s)-(+) linalol e (r)-(-)-linalol em camundongos**. 2008. 109f. Dissertação (Mestrado em Produtos naturais e sintéticos Bioativos: Farmacologia) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2008.

SCHMEITS, B. L. et al. Fatty acid composition of the milk lipids of women in Nepal. **Nutrition research**, v. 19, n. 9, p. 1339-1348, 1999.

SESTAKOVA, N. et al. Determination of motor activity and anxiety-related behaviour in rodents: methodological aspects and role of nitric oxide. **Interdisciplinary toxicology**, v. 6, n. 3, p. 126-135, 2013.

SHAW, D. et al. Anxiolytic effects of lavender oil inhalation on open-field behaviour in rats. **Phytomedicine**, v. 14, n. 9, p. 613-620, 2007.

SILVA, B. P. et al. Chemical composition of Brazilian chia seeds grown in different places. **Food Chemistry**, v. 221, n. 5, p. 1709-1716, 2017.

SILVA, D. R. B.; JÚNIOR, P. F. M.; SOARES, E. A. A importância dos ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa na gestação e lactação. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v.7, n. 2, p.123-133, 2007.

MARINELI, R. S. et al. Chemical characterization and antioxidant potential of Chilean chia seeds and oil (*Salvia hispanica* L.). **Food Science and Technology**, v. 59, n. 2, p. 1304-1310, 2014.

SILVA, M. H. L. et al. Fatty acid composition of mature breast milk in Brazilian women. **Food chemistry**, v. 93, n. 2, p. 297-303, 2005.

SOUTO MAIOR, F. N. **Atividade ansiolítica e antinociceptiva do óxido de linalol em modelos animais**. 2011. 120f. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba João Pessoa, 2011.

STEIMER, T. Animal models of anxiety disorders in rats and mice: some conceptual issues. **Dialogues Clinical Neuroscience**, v. 13, n. 4, p. 495-506, 2011.

STOLERMAN, I; PRICE, L. H. **Encyclopedia of psychopharmacology**. Springer Science & Business Media, 2015.

TORRES, A. G.; TRUGO, N. M. F. Evidence of inadequate docosahexaenoic acid status in Brazilian pregnant and lactating women. **Revista de Saúde Pública**, v. 43, n. 2, p. 359-368, 2009.

VALENZUELA, A.; NIETO, M. S. Acido docosahexaenoico (DHA) en el desarrollo fetal y en la nutrición materno-infantil. **Revista médica de Chile**, v. 129, n. 10, p. 1203-1211, 2001.

VALENZUELA, A.B. N. Ácidos grasos omega-6 y omega-3 en la nutrición perinatal: su importância em el desarrollo del sistema nervioso y visual. **Revista Chilena de Pediatría**. v. 74, n. 2, p.149-157, 2003.

VALENZUELA, R. et al. Modification of Docosahexaenoic Acid Composition of Milk from Nursing Women Who Received Alpha Linolenic Acid from Chia Oil during Gestation and Nursing. **Nutrients**, v. 7, n. 8, p. 6405-6424, 2015.

VAN MEER, P.; RABER, J. Mouse behavioural analysis in systems biology. **Biochemical Journal**, v. 389, n. 3, p. 593-610, 2005.

VIANA, M. D. M. et al. Anxiolytic-like effect of Citrus limon (L.) Burm f. essential oil inhalation on mice. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 1, p. 96-104, 2016.

VINOT, N. et al. Omega-3 fatty acids from fish oil lower anxiety, improve cognitive functions and reduce spontaneous locomotor activity in a non-human primate. **PLoS One**, v. 6, n. 6, p. 01-08, 2011.

VOIGT, J. et al. Brain angiotensin and anxiety-related behavior: the transgenic rat TGR (ASrAOPEN) 680. **Brain research**, v. 1046, n. 1, p. 145-156, 2005.

WAITZBERG, D. L. Ômega-3: o que existe de concreto. **São Paulo: Nutrilite**, 2008.

WEHRMEISTER, T. D. **Validação farmacológica de um novo modelo comportamental integrado de ansiedade/emocionalidade em ratos**. 2010. 73f. Tese (Doutorado em Farmacologia) -Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

YEHUDA, S. et al. The role of polyunsaturated fatty acids in restoring the aging neuronal membrane. **Neurobiology of aging**, v. 23, n. 5, p. 843-853, 2002.

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.

ZAMBOM, M. A.; SANTOS, G. T.; MODESTO, E. C. Importância das gorduras poliinsaturadas da saúde humana. **Revista Sociedade Brasileira de Zootecnia, Viçosa**, v. 547, n.2, p. 553-557, 2004.

## **ANEXO**



**ANEXO A – Apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa Animal.**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE**  
**CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL**

**Comitê de Ética em Pesquisa**

Declaro a quem possa interessar que Sra. Prof<sup>a</sup>. Dra Carolina de Menezes Patrício Santos, deu entrada via eletrônica em processo para apreciação de projeto de pesquisa, como coordenadora deste, visando parecer consubstanciado, junto ao CEP/CSTR/UFCG. O projeto "AVALIAÇÃO DOS EFEITOS COMPORTAMENTAIS NA PROLE DE RATAS TRATADAS COM ÓLEO DE CHIA DURANTE A LACTAÇÃO" O referido projeto tem Nº de protocolo CEP 045/2016.

**Patos, 05 de Maio de 2016.**

**Atenciosamente**

**Thiago Oliveira**  
**Secretário do CEP**  
cep@cstr.ufcg.edu.br