

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE

UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE

CURSO DE BACHARELADO EM NUTRIÇÃO

RENALLY DE LIMA MOURA

**AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DE ANSIEDADE NA
PROLE DE RATAS SUPLEMENTADAS COM ÓLEO E
POLPA DE ABACATE (*Persea americana* Mill.) DURANTE A
GESTAÇÃO E LACTAÇÃO**

CUITÉ - PB

2019

RENALLY DE LIMA MOURA

**AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DE ANSIEDADE NA PROLE DE RATAS
SUPLEMENTADAS COM ÓLEO E POLPA DE ABACATE (*Persea americana*
Mill.) DURANTE A GESTAÇÃO E LACTAÇÃO**

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

Orientador: Prof. Me. Diego Elias Pereira.

Cuité - PB

2019

M929a

Moura, Renally de Lima.

Avaliação do comportamento de ansiedade na prole de ratas suplementadas com óleo e polpa de abacate (*Persea americana* Mill.) durante a gestação e lactação / Renally de Lima Moura. – Cuité, 2019.
55 f. : il. color.

Monografia (Bacharelado em Nutrição) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, 2019.

"Orientação: Prof. Me. Diego Elias Pereira".

Referências.

1. Ratas - Comportamento Animal. 2. Ratas - Aleitamento Materno e Gestação – Efeitos Ansiogênicos. 3. Ratas – Abacate – Polpa e Óleo – Efeitos Ansiogênicos. I. Pereira, Diego Elias. II. Título.

CDU 599.323(043)

RENALLY DE LIMA MOURA

AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DE ANSIEDADE NA PROLE DE RATAS
SUPLEMENTADAS COM ÓLEO E POLPA DE ABACATE (*Persea americana* Mill.)
DURANTE A GESTAÇÃO E LACTAÇÃO

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

Aprovado em 12 de Junho de 2019.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Me. Diego Elias Pereira

Universidade Federal de Campina Grande

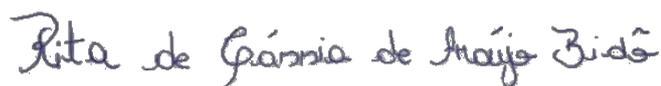
Orientador



Prof. Dra. Marília Ferreira Frazão Tavares de Melo

Universidade Federal de Campina Grande

Examinadora



Prof. Me. Rita de Cassia Araújo Bidô

Universidade Federal de Campina Grande

Examinadora

Cuité – PB
2019

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer e dedicar este trabalho as seguintes pessoas:

Primeiramente a Deus, por me ensinar que nada é impossível, que diante qualquer dificuldade quem tem fé e acredita no seu amor encontrará o caminho da superação. Minha gratidão será infinita para com Ele por se fazer presente em cada instante dessa caminhada.

Aos meus pais que tanto se sacrificaram, se dedicaram, abdicaram de muitos sonhos pessoais para que eu tivesse a oportunidade de estudar e de ter uma excelente formação profissional e pessoal. Tudo que sou hoje devo a vocês, que nunca mediram esforços para minha formação acadêmica. Minha eterna gratidão. Também gostaria de agradecer ao meu irmão Hygor Ramon por todo companheirismo, paciência e afeto, durante esses quatro anos, eu te amo mais que tudo. Não poderia deixar de agradecer a minha babá que sempre cuidou tão bem de mim na ausência de minha, Ditinha, minha gratidão a senhora por todo cuidado e ensinamento, a senhora é meu exemplo.

À minha família por toda força e motivação, um agradecimento especial a tia Tonha e a madrinha Eliane por sempre me incluírem em suas orações, por toda força dada e todo carinho ao longo desses anos. Aos meus primos que na verdade são uns irmãos que Deus me deu, Layse, Janailson, Deyse, Denise e Monique, o meu muito obrigada a vocês por todo companheirismo e afeto, vocês são anjos que Deus me presenteou. Ao meu afilhado Nathan, por tornar os meus dias mais fáceis, por todos os carinhos trocados depois dos dias cansativos, você me motiva a ser uma pessoa melhor. Aos dois anjos que me protegem lá do céu, minha avó Adalgiza e meu tio/padrinho Zezé, sei que vocês estão extremamente felizes por essa conquista, afinal era o sonho de vocês me ver formada, não foi fácil seguir essa caminhada sem vocês, busquei forças de onde não tinha pra superar essa ausência que tanto me machuca, a vocês minha eterna gratidão.

Aos meus segundos pais tio Augusto e tia Dora, por todo amor, oração, companheirismo, por entenderem minha ausência em momentos especiais, por sempre me motivarem, pela força dada nos momentos difíceis, por vibrarem comigo

cada conquista. Com vocês passei enxergar a vida de outra maneira. A vocês toda a minha gratidão e o meu amor.

A equipe do laboratório de Nutrição Experimental, vocês foram fundamentais para o desenvolvimento dessa pesquisa. Meu agradecimento especial a professora Marília Frazão, que foi e é uma verdadeira mãe, que sempre me apoiou, me ajudou, me aconselhou e acima e tudo me ensinou a ser uma pessoa melhor, você foi um anjo que Deus colocou na minha vida, muito obrigada por tudo. Ao técnico do laboratório, Jaciel, por toda ajuda e companheirismo ao longo da pesquisa, sei que não foi nada fácil me aturar todos os dias durante um ano rrsrs, sua ajuda foi de suma importância. À minha dupla de laboratório Elisiane Beatriz por se fazer presente todos os dias durante essa pesquisa, obrigada por toda ajuda, companheirismo e paciência, nenhuma palavra será capaz de expressar minha gratidão a você. Meu muito obrigada a Ritinha, Maciel, Diego, Suedna e Jaielison por toda ajuda durante esse tempo.

À minha amiga, irmã e dupla da graduação, Natália Dantas, minha gratidão a você que está presente comigo desde o primeiro período me dando forças nos momentos difíceis e compartilhando as minhas alegrias e conquistas. Sou muito grata por tudo que fizestes e faz por mim, principalmente por ter segurando minha mão quando o que eu mais queria era desistir. Essa conquista é nossa. A você toda a minha admiração, carinho e gratidão.

Ao meu irmão da graduação Davi Aires, por tornar meus dias melhores, por cada palavra de conforto nos dias difíceis, por cada ajuda ofertada ao longo dessa jornada. Você sem sombra de dúvidas foi o meu melhor presente dessa graduação, o meu muito obrigada por tudo. A minha dupla e irmã Idelly Larissa, por toda ajuda, companheirismo e afeto. Você me ensinou a ver a vida com outros olhos, encheu meus dias de alegria, me ajudou nos momentos difíceis, ofereceu-me seu ombro amigo e me ofertou colo nas horas de desespero. Você é um presente de Deus na minha vida, gratidão por tudo minha duplinha da vida. Eu te amo minha pandinha.

Às minhas três meninas na verdade três anjos que Deus colocou na minha vida, Jéssica, Amanda e Dayane, vocês três foram fundamentais para a conclusão dessa etapa da minha vida. Me falta palavras para expressar todo meu amor e gratidão a vocês. Obrigada pela amizade incondicional e por toda força dada nesses

quatro anos juntas. É muito reconfortante chegar ao fim de uma jornada e perceber que não está sozinha. Obrigada por tudo, estarei sempre aqui para o que for preciso. Nós quatro de sempre para sempre.

Gratidão a pessoa que mais me entendeu ao longo do curso, na verdade a minha irmã de coração, Emelly, serei sempre grata por tudo que fizestes e faz por mim. Obrigada pelas risadas, por enxugar cada lágrima, por fazer cara feia nas horas que precisava rrsr, pelo carinho ofertado e ombro amigo. Tu és um daqueles presentes que a graduação me deu e que levarei para toda vida. Meu muito obrigada também aos meus amigos da graduação Camila, Joany, Kallyny, Fidel e Jéssyca Talyta, vocês são muito especiais, gratidão por tudo.

Aos meus amigos Ismael Rodrigues e Gabriel Gomes que mesmo distantes, sempre me dão forças e me motivam a ser uma pessoa melhor. A João Paulo que me acompanha desde a infância, obrigada por ser esse irmão maravilhoso, por dividir comigo todos os momentos difíceis, por vibrar cada conquista minha, a você toda minha gratidão. A Raquel, por ser essa amiga carinhosa, fofa, que sempre está disposta a me ajudar, gratidão por te ter em minha vida.

Ao meu orientador Diego, por todo apoio e paciência. Sua ajuda foi de suma importância para elaboração desse projeto final, muito obrigada por tudo. Ao corpo docente dessa instituição, muito obrigada por todos os ensinamentos e conhecimentos compartilhados. Um agradecimento especial a professora Juliana Késsia, por todo incentivo desde o primeiro período, obrigada por cada oportunidade que você me deu. Meu muito obrigada a minha mãe da graduação professora Vanessa Bordin, que com seu jeito meigo me adotou como uma filha, me ensinou muito sobre vida profissional e pessoal, gratidão por tudo, levarei você comigo para sempre.

Enfim, obrigada a todos que me ajudaram de alguma forma e acreditaram em mim, o meu muito obrigada.

“Nenhum obstáculo é grande demais quando confiamos em Deus.”

(Aristóteles)

RESUMO

MOURA, R. L. **Avaliação do comportamento de ansiedade na prole de ratas suplementadas com óleo e polpa de abacate (*Persea americana* mill.) durante a gestação e lactação.** 2019. 55f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) – Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, 2019.

A importância do consumo de alimentos fontes de ácidos graxos essenciais têm sido amplamente difundida dada a importância desses nutrientes na formação e maturação cerebral, durante o período crítico do desenvolvimento. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o comportamento da ansiedade de filhotes provenientes de ratas suplementadas com óleo e polpa de abacate durante o período de gestação e lactação. Os parâmetros de ansiedade foram mensurados através dos testes do campo aberto, onde era analisado: ambulação, rearing e grooming. O labirinto em cruz elevado, no qual era observado o tempo de permanência nos braços abertos e fechados e na área central, como também o número de entradas e mergulho de cabeça. E por fim, o teste da caixa claro escuro, que verificava o tempo de permanência nos compartimentos claro e escuro, número de comportamentos espreitar e número de transições entre compartimentos. Diante dos dados analisados, observou-se que os animais suplementados com o óleo e a polpa de abacate apresentaram um efeito ansiogênico. Portanto, o consumo materno tanto do óleo como da polpa de abacate tende a induzir efeitos ansiogênicos, tanto a curto quanto a longo prazo, logo, essa suplementação tende a aumentar a ansiedade na prole de ratas tratadas durante a gestação e lactação.

Palavras-chave: Lipídios; comportamento do animal; aleitamento materno.

ABSTRACT

MOURA, R. L. **Evaluation of anxiety behavior in the prole of supplemented rats with oil and harvest powder (*Persea americana* mill.) during gestation and lactation.** 2019. 55f. Course Completion Work (Graduation in Nutrition) - Federal University of Campina Grande, Cuité, 2019.

The importance of the consumption of essential fatty acids food sources has been widely diffused given the importance of these nutrients in formation and brain maturation during the critical development period. The present study had as objective to evaluate the behavior of the supplemented rats with avocado pulps and oil during the gestation and lactation period. The parameters of anxiety were measured through the open field tests, where it was analyzed: ambulation, rearing and grooming. The raised labyrinth cross which was observed time of permanence in open and closed arms, and in central area, also the number of entrances and diving head was observed. And finally, the dark light box test, which verified the permanency time in light and dark compartments, number of peek behaviors and number of transitions between compartments. Considering the analyzed data, it was observed that supplemented animals with avocado oil and pulp had an anxiogenic effect. Therefore, maternal consumption of both avocado oil and pulp tends to induce anxiogenic effects both in short and long term, so this supplementation tends to increase the anxiety in rats offspring treated during pregnancy and lactation.

Key-words: Lipids; animal behavior; breastfeeding.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 - Protocolo experimental..... | 30 |
| Figura 2 - Efeito da suplementação no aparato do campo aberto (T45).. | 33 |
| Figura 3 - Efeito da suplementação no aparato do campo aberto (T90).. | 34 |
| Figura 4 - Efeito da suplementação no teste do Labirinto em Cruz Elevado (T45) | 35 |
| Figura 5 - Efeito da suplementação no teste do Labirinto em Cruz Elevado (T90) | 36 |
| Figura 6 - Efeito da suplementação no aparato da caixa Claro – Escuro (T45)..... | 38 |
| Figura 7 - Efeito da suplementação no aparato da caixa Claro – Escuro (T90) | 38 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 - Composição do ácido graxo do óleo de abacate e polpa liofilizada (Persea americana Mill.): Variedade Hass | 27 |
| Tabela 2 - Teor total de fenólicos, flavonóides e atividade antioxidante do óleo e da polpa de abacate..... | 29 |

LISTA DE SÍMBOLOS

| | |
|-------------|------------|
| g | Gramas |
| h | Horas |
| ml | Mililitro |
| m | Metro |
| mm | Milímetro |
| um | Micrometro |
| min. | Minuto |
| mg | Micrograma |
| cm | Centímetro |
| nm | Nanômetro |
| ml | Microlitro |

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

| | |
|--------------|----------------------------------------|
| AGE | Ácidos graxos essenciais |
| SNC | Sistema nervoso central |
| AGPI | Ácidos graxos poliinsaturados |
| AG | Ácidos graxos |
| w-9 | Oléico |
| w-7 | Palmítico |
| w-6 | Ácido linoléico |
| w-3 | Linolênico |
| HPA | Hipotálamo – hipófise – adrenal |
| MCPD | Matéria cinzenta periaquedutal dorsal |
| GABA | Ácido gama-aminobutírico |
| SFA | Ácido graxo saturado |
| MUFA | Ácido graxo monoinsaturado |
| PUFA | Ácido graxo polinsaturado |
| LANEX | Laboratório de Nutrição Experimental |
| UFCG | Universidade Federal de Campina Grande |
| CG | Controle |
| OA | Óleo de Abacate |
| PA | Polpa de Abacate |
| T45 | Adolescência |
| T90 | Adulto |
| ARA | Araquidônico |
| DHA | Ácido docosaheptaenóico |
| LCE | Labirinto em Cruz Elevado |
| 5HT | 5 – hidroxitriptamina |
| FRAP | Atividade redutora férrica |
| RL | Radicais Livres |
| SN | Sistema Nervoso |

SUMÁRIO

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 15 |
| 2 OBJETIVOS | 17 |
| 2.1 OBJETIVO GERAL..... | 17 |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 17 |
| 3 REFERENCIAL TEÓRICO | 18 |
| 3.1 MECANISMOS NEUROBIOLÓGICOS DA ANSIEDADE..... | 18 |
| 3.2 MODELOS EXPERIMENTAIS PARA AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DE ANSIEDADE..... | 19 |
| 3.3 IMPACTO DOS LIPÍDIOS DIETÉTICOS NO SISTEMA NERVOSO..... | 21 |
| 3.4 ABACATE COMO FONTE DE NUTRIENTES ESSENCIAIS..... | 22 |
| 4 MATERIAL E MÉTODOS | 24 |
| 4.1 ABACATE (<i>PERSEA AMERICANA</i> MILL.)..... | 24 |
| 4.2 ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS PRESENTES NO ÓLEO E NA POLPA DO ABACATE (<i>PERSEA AMERICANA</i> MILL.) | 24 |
| 4.2.1 Extração lipídica | 25 |
| 4.2.2 Transesterificação de ácidos graxos | 25 |
| 4.2.3 Análise em cromatografia gasosa | 26 |
| 4.3 ANÁLISE DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES PRESENTES NO ÓLEO E NA POLPA DO ABACATE (<i>PERSEA AMERICANA</i> MILL.)..... | 27 |
| 4.3.1 Extração | 28 |
| 4.3.2 Determinação do teor de compostos fenólicos totais | 28 |
| 4.3.3 Determinação de flavonoides totais | 28 |
| 4.3.4 Atividade antioxidante – método frap | 28 |
| 4.3.5 Atividade antioxidante – método abts | 28 |
| 4.4 ANIMAIS E GRUPOS EXPERIMENTAIS..... | 29 |
| 4.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL | 30 |
| 4.6 TESTES COMPORTAMENTAIS..... | 30 |
| 4.6.1 Teste do Campo Aberto | 30 |
| 4.6.2 Teste do labirinto em cruz elevado (LCE) | 31 |
| 4.6.3 Teste da caixa claro-escuro | 31 |
| 4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA..... | 32 |
| 4.8 ASPECTOS ÉTICOS..... | 32 |

| | |
|------------------------------------------|----|
| 5 RESULTADOS | 33 |
| 5.1 CAMPO ABERTO..... | 33 |
| 5.1.1 Campo Aberto - T45..... | 33 |
| 5.1.2 Fase Adulta (T90) | 34 |
| 5.2 LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO – LCE..... | 34 |
| 5.2.1 Fase da adolescência (T45)..... | 34 |
| 5.2.2. Fase Adulta (T90)..... | 36 |
| 5.3 CAIXA CLARO-ESCURO | 37 |
| 5.3.1 Fase da adolescência (T45)..... | 37 |
| 5.3.2 Fase da Adulta (T90)..... | 38 |
| 6 DISCUSSÃO | 40 |
| 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS | 44 |
| REFERÊNCIAS | 45 |
| ANEXOS | 55 |

1 INTRODUÇÃO

A nutrição desempenha papel de suma importância na formação e desenvolvimento das estruturas e funções cerebrais, atuando nas atividades cognitivas, psíquicas e motoras (CUNHA, 2014).

Para o desenvolvimento adequado deste sistema, se faz necessário a ingestão de nutrientes essenciais, desde a concepção até os primeiros anos de vida. Dentre tais nutrientes, destacam-se os lipídios dietéticos que podem interferir, de forma positiva na neogênese e na prevenção de distúrbios neuropsiquiátricos (SALEM et al., 2001), bem como os compostos bioativos com potencial antioxidante, que atuam na preservação de estruturas do Sistema Nervoso (SN) contra o ataque dos Radicais Livres (RL) (CHISTÉ et al, 2014).

Durante o período intrauterino a necessidade de tais nutrientes se torna aumentada em decorrência do desenvolvimento dos tecidos fetais, incluído a formação do sistema nervoso central. Os ácidos graxos essenciais (AGE) fazem parte deste grupo e, corroboram com diversos fenômenos relacionados à neurogênese, incluindo crescimento celular, migração, diferenciação, crescimento de prolongamentos neurais e formação de sinapses (VELASCO, 2009; MADORE, 2014). Dentre os AGE de maior importância durante o período crítico de desenvolvimento estão os ácidos graxos poliinsaturados (AGPI), capazes de conferir as membranas das células neurais maior fluidez, potencializando a função de enzimas relacionadas à transdução de sinais nervosos (RACHETTI, 2012).

Por outro lado, dietas deficientes em AGE podem comprometer o desenvolvimento/funcionamento do SNC implicando em alterações físicas, cognitivas e comportamentais que podem perdurar durante a vida adulta (INNIS; ELIAS, 2014; SOARES et al., 2014; RACHETTI, 2012). Dentre essas alterações, está a ansiedade que pode ser definida como uma resposta condicionada ao medo (SYLVERS; LILIENFELD; LAPREIRIE, 2011).

Apesar de possuir fisiopatologia desconhecida, sabe-se que esta pode ser modulada pela 5-hidroxitriptamina (5-HT) e pelo ácido γ -aminobutírico (GABA), podendo também ser decorrente da deficiência de AGE, sobre as membranas celulares que compõem o sistema nervoso central (MAGRINELLI, 2014).

Neste contexto, diversos estudos têm buscado compreender como os AG podem influenciar o comportamento de ansiedade em modelos experimentais.

Alguns autores têm demonstrado através de pesquisas com roedores que a composição lipídica do cérebro interfere substancialmente na percepção subjetiva, humor e no comportamento emocional e as evidências apoiam que a suplementação dietética de AGE modulam positivamente tais desordens, podendo ser utilizadas como coadjuvantes no tratamento e/ou até mesmo prevenindo o surgimento desta patologia (MULLER et al., 2015; NIELSEN & PENLAND, 2006).

Das diversas fontes dietéticas de AGE, o abacate (*Persea americana* Mill.), se destaca pelo perfil lipídico, uma vez que possui quantidades importantes de ácidos graxos monoinsaturados (MUFAs), como ácido oleico (w-9), e quantidades significativas de ácido graxo polinsaturados do tipo linoléico (w-6), e em menor quantidade, o ácido linolênico (w-3) (USDA 2015; DREHER; DAVENPORT, 2013).

Levando em consideração que a ingestão de AGE durante a gestação e lactação favorece a formação adequada do SNC da prole, questiona-se, será que o perfil lipídico e antioxidante presente no abacate poderia influenciar o comportamento de ansiedade em uma prole tratada durante a gestação e lactação?

A literatura científica traz diversos estudos evidenciando que a suplementação de AG pode proporcionar efeito ansiolítico (SOARES et al., 2012; SOARES et al., 2014; LIN et al.2015; LI et al, 2015), além disso, alguns autores sugerem que compostos bioativos com capacidade antioxidante presentes em alimentos de origem vegetal também possam contribuir com a melhora e/ou prevenção da ansiedade, por reduzir o estresse oxidativo, que é outro possível mecanismo relacionado a esta patologia (FERNANDES, 2017).

Diante disso, hipostenizou-se que o perfil de AG provenientes do abacate, bem como, os compostos bioativos presentes nesta matriz quando consumidos durante a gestação e lactação podem favorecer o desenvolvimento adequado do cérebro e induzir um comportamento ansiolítico na prole.

Tendo em vista que tais nutrientes são repassados para o feto via placenta (período intrauterino) e posteriormente via leite materno (extrauterino), objetivou-se com este estudo avaliar o impacto da suplementação materna com óleo e polpa de abacate sobre o comportamento de ansiedade na prole de ratas tratadas durante a gestação e lactação.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o comportamento de ansiedade de filhotes provenientes de ratas suplementadas com óleo e polpa de abacate durante o período de gestação e lactação.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o perfil de ácidos graxos do óleo e da polpa liofilizada do abacate;
- Determinar o perfil de compostos fenólicos e flavonoides do óleo e da polpa liofilizada do abacate;
- Verificar a atividade antioxidante *in vitro* do óleo e da polpa liofilizada do abacate, através dos métodos FRAP e ABTS;
- Investigar o efeito do óleo e polpa de abacate sobre o comportamento de ansiedade na prole aos 45 e 90 dias de vida.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 MECANISMOS NEUROBIOLÓGICOS DA ANSIEDADE

A ansiedade é compreendida como uma resposta condicionada ao medo. A ansiedade e o medo são classificados como de caráter adaptativo, tendo em vista que estes possibilitam uma proteção ao organismo contra distúrbios físicos e de ordem psicológica (SYLVERS; LILIENFELD; LAPREIRIE, 2011).

O mecanismo neural envolvido no medo/ansiedade envolve a concepção e integração das informações sensoriais provenientes dos estímulos sinalizadores de perigo. Durante e depois do processamento sensorial, as mensagens são enviadas ao tálamo, e projetadas para amígdala. Esse processo pode ocorrer de duas maneiras: tálamo – amígdala (via direta) e tálamo – córtex – amígdala (via indireta). As informações oriundas da via direta organizam-se em série de reações fisiológicas e comportamentais para a proteção do organismo, já as mensagens provenientes da via indireta, são encaminhadas para o córtex cerebral, e projetadas para a amígdala, estando relacionadas com o processamento dos aspectos emotivos e mnemônicos (FANSELOW; LEDOUX, 1999).

Os transtornos de ansiedade estão intimamente relacionados com a ativação do eixo hipotálamo – hipófise – adrenal (HPA), sendo este um dos principais componentes do sistema de estresse e responsável pela associação precoce e a progressão de transtornos de humor (BORTOLUZZI, 2015).

Este mecanismo envolve o hipotálamo paraventricular, o qual é responsável pela liberação de corticotropina que por sua vez atua a nível de hipófise, com consequente liberação do hormônio adrenocorticotrópico que ao atuar sobre as glândulas suprarrenais, estimula a liberação de glicocorticoides, como o cortisol. A presença do cortisol ativa o eixo HPA elevando os níveis de ansiedade e medo (SALVIANO, 2013).

Outros componentes como os neurotransmissores também possuem implicação direta na gênese desta patologia. São caracterizados por serem pequenas moléculas que possibilitam a comunicação entre as células do SN. Dentre os principais neurotransmissores estão a serotonina 5-HT e o ácido gama-aminobutírico (GABA), sendo o primeiro responsável por desenvolver efeitos ansiogênicos na amígdala e ansiolítico na matéria cinzenta periaquedutal dorsal

(MCPD) (MAGRINELLI, 2014) e o segundo responsável pela redução do funcionamento dos grupos neurais, conferindo menos excitação ao sistema (MAGRINELLI, 2014). Alguns autores têm evidenciado através de seus estudos que os níveis de serotonina e GABA são alterados em roedores com comportamento ansiogênico. (SILVA, 2018)

Algumas drogas e nutrientes a exemplo dos ácidos graxos são capazes de amenizar os sintomas de ansiedade, por ocasionarem alteração sináptica no encéfalo. Estudo desenvolvido por Bernal-Morales e colaboradores (2017), demonstrou que os ácidos láurico, mirístico, palmítico, palmitoleico, esteárico, oleico, elaidico e linoleico são capazes de alterar o canal de cloro e promover hiperpolarização da membrana pós-sináptica, impossibilitando por sua vez os disparos dos neurônios pós-sinápticos com consequente redução dos sintomas de ansiedade.

A composição da membrana celular também desempenha papel crucial na fisiopatologia da ansiedade, sendo sua fluidez e funcionamento dependentes dentre outros fatores, dos ácidos graxos que a compõe (MOREIRA, et al. 2002). Os ácidos graxos poliinsaturados (AGPI), conferem a estas, integridade, além de permitirem melhor atividade de enzimas neurais, síntese e liberação de neurotransmissores, sendo seu consumo indispensável durante a fase crítica de desenvolvimento, onde ocorre intensa formação do SN (MULLER et al. 2015).

3.2 MODELOS EXPERIMENTAIS PARA AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DE ANSIEDADE

A ansiedade é caracterizada por um sentimento de medo e apreensão, a qual ocasiona uma tensão ou incomodidade a exposição do ser humano a algo estranho ou desconhecido (FERNANDES et al., 2017). No que diz respeito aos modelos experimentais, os roedores são condicionados a sentirem o mesmo estímulo e, para tanto, são utilizados testes específicos para mensuração do comportamento, a exemplo do campo aberto, labirinto em cruz elevado e caixa claro escuro (Allen, 1995; Swedo, 1994).

O teste do Campo Aberto (CA) tem como objetivo verificar a resposta dos roedores frente à novidade, através do comportamento exploratório (HALL, 1934). Neste tipo de teste, os roedores são expostos a uma arena delimitada com

quadrantes, sendo os parâmetros analisados: a ambulação, que é verificada através do número de cruzamentos que o animal faz com as quatro patas (quanto maior o número de ambulações menor o nível de ansiedade do animal); o rearing que corresponde ao número de vezes que o animal realiza o comportamento de levantar, comportamento este caracterizado como exploratório (quanto maior o número de rearing menor o nível de ansiedade do animal); e por fim o grooming, caracterizado como comportamento de auto limpeza, sendo este comportamento mais evidente em animais ansiosos (WHIMBEY & DENENBERG, 1967; ASANO, 1986; CRUSIO et al., 1989).

Quanto ao Labirinto em Cruz Elevado (LCE), este é um teste comumente utilizado para aferir a ansiedade de ratos ou camundongos e consiste em um labirinto em forma de cruz com 4 braços de tamanhos iguais, sendo dois deles delimitados por paredes os quais recebem o nome de braços fechados e dois deles sem as paredes, sendo estes os braços abertos. Além das características citadas, este aparato é posicionado a 50 centímetros do chão, sendo este dispositivo totalmente aversivo para o animal (HOGG, 1996; CAROBREZ; BERTOGLIO, 2005). A verificação da ansiedade no LCE é estabelecida pelo número de entradas e permanência dos animais em ambos os braços (FILE, 2001). A entrada e permanência dos roedores nos braços abertos, por exemplo, refletem uma diminuição da ansiedade, tendo em vista que esses animais possuem preferência por lugares fechados e escuros (ARANTES, 2016). Outro parâmetro relacionado ao efeito ansiolítico é a capacidade do animal em explorar o precipício, sendo este efeito mensurado através do parâmetro mergulho de cabeça (MARTINEZ, 2005).

Em relação ao efeito ansiogênico, uma das características que esses roedores apresentam quando expostos ao LCE é o tempo de permanência e número de entradas nos braços fechados. Este estímulo ocorre, devido ao ambiente fechado proporcionar ao animal maior segurança (MORATO, 2006). Já o tempo de permanência do animal na área central se configura como um comportamento de verificação de risco, o que é comum para o animal exposto a um ambiente/aparelho novo (RODGERS, et al. 1997; MOBBS, et al. 2007).

Comportamentos ansiolíticos/ansiogênicos podem também ser mensurados através do teste da Caixa claro-escuro que consiste em uma caixa dividida em dois compartimentos, sendo um claro e outro escuro, delimitado por uma parede com uma pequena abertura no meio à qual permite que haja a transição do animal entre

os compartimentos (WEHRMEISTER, 2010; SOUTO MAIOR, 2011). Roedores tem como preferência lugares escuros, como citado no teste do LCE, porém, quando a dieta/droga exerce efeito ansiolítico no organismo do animal, o tempo de permanência no compartimento claro aumenta significativamente (PELLOW, et al., 1985).

Diante do exposto, todos os testes citados permitem avaliar, entre outros fatores, as respostas dos animais à novidade e a emocionalidade, podendo estes parâmetros serem correlacionados com comportamentos de ansiedade (BECERRA, 2004).

3.3 IMPACTO DOS LIPÍDIOS DIETÉTICOS NO SISTEMA NERVOSO

A gênese do sistema nervoso inicia-se no período do desenvolvimento embrionário, através de diferenciação das células do ectoderma (LAGERCRANTZ, 2016). Este período é crítico para a formação do tecido nervoso e depende de nutrientes específicos como os lipídios para a formação das membranas celulares que compõem este sistema (MENNINTTI, 2015).

Esta fase é descrita por alguns autores como período crítico de desenvolvimento, onde ocorre intensa atividade neuronal que compreende a neurogênese, gliogênese, migração e diferenciação celular, mielinogênese, formação das sinapses e a síntese e liberação de neurotransmissores (CLANDININ, 1999; SCHIEFERMEIER, YAVIN, 2002), de modo que a limitação/deficiência da ingestão materna de lipídios dietéticos podem ocasionar danos irreparáveis no desenvolvimento de algumas estruturas do feto, com consequências que podem perdurar até a vida adulta (KUS; MANCINI-FILHO, 2010).

O tipo de ácido graxo ofertado durante esse período interfere também de forma direta na saúde do feto. Diversos estudos têm evidenciado, por exemplo, que a ingestão de ácidos graxos saturados e trans durante a gestação e lactação estão correlacionados a efeito ansiogênico na prole (BAKHTIYARI, et al. 2012; YANNAKOULIA, 2008). Sendo assim, importa ressaltar que a qualidade dos lipídios ingeridos pela mãe determinará o tipo de ácido graxo que irá se acumular no tecido fetal (YETIMLER, 2012; INNIS, 2014).

Dentre os lipídios que participam do desenvolvimento cerebral, estão os AG saturados como o ácido graxo palmítico (C16:0) da série ômega 7; os AG

monoinsaturado como o ácido oleico (C18:1) da série ômega 9 e os AG poliinsaturados como o α -linolênico (18:3 ω -3) e α -linoléico (18:2 ω -6), que são precursores dos ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa (AGPI-CL), e originam os ácidos araquidônico - ARA (20:4 ω -6), eicosapentaenoico - EPA (20:5 ω -3) e docosahexaenóico - DHA (22:6 ω -3), sendo estes sintetizados no retículo endoplasmático liso, especialmente no fígado, através de biorreações de alongamento da cadeia de carbono e dessaturação (ANDRADE, CARMO, 2006).

Já é fortemente reconhecido na literatura o papel do DHA na fisiologia do cérebro, este, desempenha papel crucial na neurogênese, formação e transmissão de sinapses, integridade neuronal, expressão gênica e metabolismo da glicose no cérebro, além do desenvolvimento cognitivo (SALEM et al., 2001). Estudos em roedores têm demonstrado que o esgotamento desse ácido graxo juntamente com o do ácido araquidônico (ARA) está correlacionado com distúrbios psíquicos (CHEN; SU, 2012). Por outro lado, a oferta adequada de AG do tipo ômega 3 parece modular positivamente o funcionamento cerebral, sendo um importante fator na redução da síntese de citocinas pró-inflamatórias, sendo estes um dos componentes envolvidos na gênese da ansiedade e depressão (FERNANDES, 2017).

Diante dos fatos, entende-se que a composição lipídica do tecido cerebral influencia substancialmente a percepção subjetiva, comportamento emocional e humor (MULLER et al., 2015) e, que esta composição pode ser modulada durante a fase intra e extrauterina (MENNINTTI, 2015).

3.4 ABACATE COMO FONTE DE NUTRIENTES ESSENCIAIS

O abacate (*Persea americana* Mill) é considerado uma fruta energética de alto valor nutricional, pertence à família Lauraceae, gênero *Persea*. Destaca-se por ser rico em macro e micronutrientes, apresentado em sua composição cerca de 15,4% de lipídeos, 8,64% de carboidratos, 1,96% de proteína, além de vitaminas A, C, E, K1, B2, B3, B5 e B6 (DREHER, 2013; USDA, 2015). Por possuir quantidades significativas de lipídios, da sua polpa é possível extrair o óleo, que é composto principalmente de ácido graxo monoinsaturado oleico (ω -9), ácido graxo saturado palmítico (ω -7) e o ácido graxo poli-insaturado linoléico (LA, ω -6) (FLORES et al., 2014).

Muitas são as evidências que conferem ao fruto potencial medicinal, sendo os benefícios a saúde conferidos pelos ácidos graxos, tocoferóis e fitoesteróis presentes em sua composição (SANTOS et al., 2014). Dentre o perfil de antioxidantes que a matriz apresenta, os carotenoides estão em maior proporção. Pesquisas tem apontado influência deste componente na função cognitiva, devendo ser ofertado durante a fase crítica do desenvolvimento (LIMA et al., 2019). Na lactação, as concentrações de carotenoides encontram-se reduzidas, devendo a demanda ser aumentada através da suplementação materna (COMERFORD et al., 2016; JOHNSON, 2014).

O fruto do abacateiro também apresenta quantidades significativas de folato/ácido fólico, sendo este um nutriente indispensável para a formação do sistema nervoso fetal e redução dos riscos de defeitos congênitos. Durante o período intrauterino ocorre um aumento nos requerimentos de folato, devido a formação e diferenciação celular para a síntese do tecido nervoso (DREHER; DAVENPORT, 2013; FULGONI; DREHER; DAVENPORT, 2013).

Diante disso, estudos recentes têm sugerido o abacate como fonte de nutrição em potencial para gestantes e lactantes, uma vez que possui em sua composição quantidades significativas de antioxidantes e gorduras monoinsaturadas (CZEIZEL et al., 2000; PEREIRA, 2018). Segundo Ammer (2016) e Comerford e colaboradores (2016), a ingestão materna destes componentes apresentam impactos positivos na pré e pós concepção, modulando não só o SN da prole, como também o perfil fisiológico e bioquímico (MENNITTI, 2015).

Apesar de todas as evidencias citadas, na literatura existe ainda uma escassez de estudos que investiguem de forma minuciosa o impacto do consumo materno do abacate na saúde da prole a curto e longo prazo, devendo ser realizado mais estudos a fim de se compreender a atuação dos seus principais nutrientes na formação do SN, bem como, na modulação do comportamento de ansiedade.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ABACATE (*Persea americana* mill.)

O abacate (*Persea americana* Mill.), da variedade Hass, foi escolhido devido seu conteúdo lipídico e por ser a variedade mais utilizada para exportação. Os frutos utilizados na pesquisa foram colhidos em março de 2017, na Fazenda Jaguacy Avocado Brasil®, localizada no município de Bauru, São Paulo, de acordo com as coordenadas geográficas de latitude 22°19'18``S, longitude 49°04'13``W e 526 m de altitude. Do mesmo lote coletado, parte dos frutos foi utilizada para extração do óleo, na própria fazenda, e outra parte foi transportada para a Empresa Terroni Liofilização®, localizada em São Carlos, São Paulo, para obtenção do pó liofilizado da polpa.

O óleo foi extraído da polpa do abacate com a utilização de uma centrífuga de três fases (Centrífuga Gratt modelo GMT 400, Capinzal/SC, Brasil), na rotação de 3500 rpm, onde o óleo, água e os sólidos foram separados. Em seguida, a fase óleo passou por decantador e filtro prensa (Ecirtec - modelo FPE 25/10, Baurú/SP, Brasil), envase à vácuo em vidro âmbar e armazenado sob temperatura ambiente.

Para transformação da polpa em pó liofilizado, esta foi inicialmente removida e levemente amassada com as mãos e ultracongelada por 24 h sob temperatura de -5 a -25 °C e posteriormente liofilizada durante 44 h no Liofilizador Modelo LH0601-B (Terroni®, São Carlos, SP/Brasil), em etapas sequenciais e distintas de descongelamento e pressão a vácuo. A pressão inicial foi de 200 a 300 µHg e o vácuo final foi de 8µHg. A temperatura do condensador variou entre -50 a -57° C. Após liofilização o pó foi embalado em embalagens individuais metalizadas e laminadas com capacidade para 100 g.

Após a obtenção do óleo e do pó liofilizado do abacate, ambos foram enviados para o Laboratório de Nutrição Experimental da Universidade Federal de Campina Grande - LANEX / UFCG, os quais foram administrados nos animais através de gavagem.

4.2 ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS PRESENTES NO ÓLEO E NA POLPA DO ABACATE (*Persea americana* mill.)

Os perfis de ácidos graxos de do óleo e da polpa do abacate foram analisados conforme metodologia descrita por Folch, Less e Stanley (1957) e Hartman e Lago (1973).

4.2.1 Extração lipídica

Foram pesados 2g de cada amostra em béquer de 50 mL (amostra úmida) e adicionado 30 mL da mistura clorofórmio:metanol (2:1). Após essa adição foi feita a transferência do conteúdo para um recipiente de vidro fundo com as laterais cobertas com papel alumínio e foi feita a agitação por 2 minutos com auxílio do triturador. O triturado foi filtrado em papel de filtro qualitativo para uma proveta de 100 mL com boca esmerilhada. Em seguida, as paredes do recipiente foram lavadas com mais 10 mL da mistura clorofórmio:metanol que também foi filtrado junto com o volume anterior.

Com a proveta tampada, foi anotado o volume do extrato filtrado da proveta e, posteriormente foi adicionado 20% do volume final do extrato filtrado, de sulfato de sódio a 1,5%. Em seguida a proveta foi fechada, a mistura agitada e se deixou separar as fases.

Observou-se que a fase superior ficou com aproximadamente 40% e a inferior com 60% do volume total. O volume da fase inferior foi anotado e, em seguida, a fase superior foi descartada por sucção com pipeta graduada. Para quantificação dos lipídeos, foi tomada uma alíquota de 5 mL do extrato (fase inferior) com pipeta volumétrica e transferida para um béquer previamente tarado. Esse béquer foi posto em estufa a 105°C para que a mistura de solventes fosse evaporada, tendo cuidado para que a gordura não fosse degradada pelo calor. Aguardou-se o resfriamento em dessecador, o béquer foi pesado e obteve-se, por diferença, o peso do resíduo de gordura (FOLCH; LESS; STANLEY, 1957).

4.2.2 Transesterificação de ácidos graxos

No tratamento das amostras, a metilação dos ácidos graxos presentes nos extratos lipídicos foi realizada seguindo a metodologia descrita por Hartman e Lago (1973). Tomou-se uma alíquota do extrato lipídico, calculada para cada amostra, de acordo com a concentração de gordura encontrada na quantificação lipídica, realizada pelo método de Folch, Less e Stanley (1957), adicionando-se 1 ml do

padrão interno (C19:0) e a solução de saponificação (KOH). Posteriormente, essa solução foi levada para aquecimento em refluxo por 4 minutos. Imediatamente após esse tempo, foi adicionada a solução de esterificação, deixando a solução por mais 3 minutos em aquecimento e refluxo. Logo após, deixou-se a amostra esfriar para as subseqüentes lavagens com éter, hexano e água destilada, obtendo-se, ao final, um extrato (com os ésteres metílicos e os solventes), que foi acondicionado em vidro âmbar, devidamente codificado até secagem completa dos solventes. Após a secagem, fez-se a suspensão em 1 ml de hexano e o acondicionamento no vial para cromatografia gasosa, para posteriores análises cromatográficas. As alíquotas das soluções de saponificação e esterificação foram determinadas conforme metodologia descrita por Hartman e Lago (1973).

4.2.3 Análise em cromatografia gasosa

Foi utilizado um cromatógrafo gasoso (VARIAN 430-GC, Califórnia, EUA), acoplado com coluna capilar de sílica fundida (CP WAX 52 CB, VARIAN, Califórnia, EUA) com dimensões de 60 m x 0,25 mm e 0,25 µm de espessura do filme. Foi utilizado o hélio como gás de arraste (vazão de 1mL/min). A temperatura inicial do forno foi de 100 °C, com programação para atingir 240 °C, aumentando 2,5 °C por minuto, permanecendo por 30 minutos, totalizando 86 minutos de corrida. A temperatura do injetor foi mantida em 250 °C e a do detector em 260 °C. Alíquotas de 1,0 µl do extrato esterificado foram injetadas em injetor tipo Split/Splitless. Os cromatogramas foram registrados em software tipo Galaxie Chromatography Data System.

Os resultados dos ácidos graxos foram quantificados por integração das áreas dos ésteres metílicos e expressos em percentual de área.

Tabela 1: Composição do ácido graxo do óleo de abacate e polpa liofilizada (*Persea americana* Mill.): Variedade Hass.

| ÁCIDOS GRAXOS 100g¹ | | |
|-----------------------------------------------|---------------------|----------------------|
| | Abacate Óleo | Abacate Polpa |
| SATURADOS | | |
| Ácido palmítico (C16:0) | 22,80 | 22,41 |
| Ácido esteárico (C18:00)) | 0,60 | 0,64 |
| Ácido araquidônico (C20:0) | 0,07 | 0,06 |
| Ácido Lignocerico (C20:4) | 0,07 | 0,08 |
| Total | 23,54 | 23,19 |
| MONOINSATURADOS | | |
| Ácido palmitoleico (C16:1 ω -7) | 12,98 | 13,40 |
| Ácido heptadeacenoico (C17:1 ω -7) | 0,10 | 0,09 |
| Ácido oleico (C18:1 ω -9) | 45,92 | 41,66 |
| Ácido gondósico (C20:1 ω -9) | 0,16 | 0,14 |
| Total | 59,16 | 55,29 |
| POLINSATURADOS | | |
| Ácido linoleico (C18:2 ω -6) | 12,10 | 13,11 |
| Ácido α -linolênico (18:3 ω -3) | 0,72 | 0,81 |
| Total | 12,82 | 13,93 |

4.3 ANÁLISE DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES PRESENTES NO ÓLEO E NA POLPA DO ABACATE (*Persea americana* mill.)

4.3.1 Extração

Os constituintes do óleo e da polpa do abacate foram extraídos com 80:20 MEtOH:H₂O v/v e avaliados quanto à capacidade de remoção de ABTS•, atividade redutora férrica (FRAP), flavonoides e fenólicos totais. Foi colocado em um tubo de ensaio um grama de abacate triturado e posteriormente adicionado 10 mL de solvente. O tubo de ensaio foi submetido à temperatura ambiente durante 24 horas e após a filtração, o volume foi completado para 10 mL com o solvente de extração e armazenado em um congelador (-18° C) até o momento da análise. Todas as extrações foram realizadas em triplicata.

4.3.2 Determinação do Teor de Compostos Fenólicos Totais

Para mensurar o total de compostos fenólicos presentes na amostra, utilizou-se metodologia descrita por Liu et al. (2002) com pequenas adaptações. A absorvância do extrato foi comparada com uma curva padrão de ácido gálico para estimar a concentração do teor de compostos fenólicos na amostra. Os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico/100g do abacate (mg EAG/100g).

4.3.3 Determinação de flavonóides totais

O teor de flavonóides totais foi medido utilizando o ensaio colorimétrico desenvolvido por Zhishen; Mengcheng; Jianming (1999). A absorvância do extrato foi comparada com uma curva padrão de catequina para estimar a concentração dos teores de flavonóides na amostra. O teor de flavonoides totais foi expresso em mg equivalente de catequina/100g do abacate (mg EC/ 100g).

4.3.4 Atividade antioxidante - método FRAP

O método FRAP foi realizado de acordo com Benzie & Strain (1999), com modificações propostas por Pulido, Bravo e Saura Calixto (2000). A solução de FRAP foi usada como reagente de referência e a absorvância foi lida a nm. Os resultados foram expressos em μmol de equivalentes de trolox por grama do abacate em base seca ($\mu\text{mol TE / g-1}$).

4.3.5 Atividade antioxidante - método ABTS

O método ABTS foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Surveswaran et al. (2007), com modificações. Os resultados foram expressos em μmol de equivalente de trolox por grama do abacate em base seca ($\mu\text{mol TE / g-1}$). Onde A_0 é a absorvância do controle e como é a absorvância da amostra. A concentração efetiva apresentou 50% de atividade de inibição radical (IC50), expressa em mg extrato / mL, a qual foi determinada a partir do gráfico da atividade sequestradora de radicais livres (%) contra a concentração do extrato.

Tabela 2. Teor total de fenólicos, flavonóides e atividade antioxidante do óleo e da polpa de abacate.

| | Abacate Polpa | Abacate Óleo |
|---------------------------------|----------------------|---------------------|
| Fenólicos totais (mg GAE/100g) | 64.61 (\pm 4.71) | 49.50 (\pm 0.00) |
| Flavonóides totais (mg CE/100g) | 39.38 (\pm 0.00) | 33.75 (\pm 0.00) |
| Carotenóides totais (mg/100g) | 84.00 (\pm 0.00) | 9.87 (\pm 0.83) |
| Atividade Antioxidante | | |
| FRAP (μ mol TE/g) | 0.08 (\pm 0.00) | 0.03 (\pm 0.00) |
| ABTS (μ mol TE/g) | 2.02 (\pm 0.66) | 0.17 (\pm 0.06) |
| IC ₅₀ (mg/mL) | 59.86 (22.03) | 443.99 (78.82) |

GAE: Equivalente de ácido gálico; CE: equivalente a catequina; FRAP: atividade redutora de ferro; ABTS: capacidade de eliminação de radicais; TEAC: equivalente Trolox; DP: desvio padrão

4.4 ANIMAIS E GRUPOS EXPERIMENTAIS

Foram utilizadas 24 fêmeas da linhagem Wistar, provenientes do Laboratório de Nutrição Experimental da Universidade Federal de Campina Grande - LANEX / UFCG, com idade de 90 dias e peso de 250 ± 50 g para obtenção da prole. As fêmeas foram acasaladas na proporção de duas fêmeas para cada macho. Após confirmação da prenhez, os animais foram alojados em gaiolas individuais de polipropileno (60 cm de comprimento, 50 cm de largura e 22 cm de altura), mantidos em condições padrão de laboratório (temperatura 22 ± 1 ° C, umidade $65 \pm 5\%$, luz / ciclo escuro de 12/12 horas - luz artificial das 6:00 às 18:00) e divididos em três grupos: Controle (CG) - suplementado com água destilada; Grupo Óleo de Abacate (OA) – suplementado com 3.000 mg de óleo de abacate / kg de peso de animal; e Grupo Polpa de Abacate (PA) - tratado 3.000 mg da polpa de abacate liofilizada / kg de peso de animal. A Gavagem foi administrada a partir do 7º dia de gestação até o 21º dia de lactação. A ração padrão (Presence Purina®, São Paulo, Brasil) e a água foram oferecidas *ad libitum*. Após o desmame, a prole também passou a receber ração padrão até a idade adulta.

4.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os animais foram submetidos aos testes de comportamento de ansiedade aos 42 (fase da adolescência) e 87 (fase adulta) dias de vida, conforme indicado na figura 1.

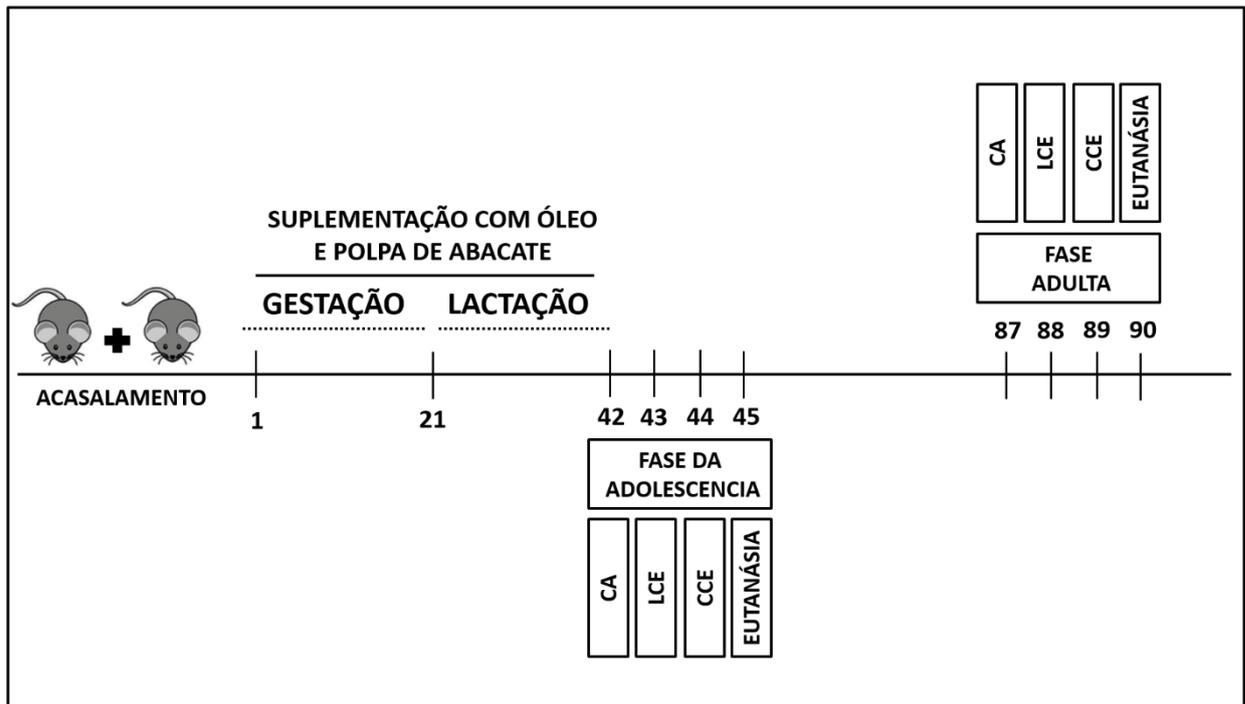


Figura 1. Protocolo experimental. Sequência dos testes experimentais realizados com a prole de ratas Wistar suplementadas com óleo e polpa de abacate (3.000 mg de óleo de abacate / kg de peso de animal) durante a gestação e lactação. CA: Teste de Habituação ao Campo aberto; LCE: Labirinto em Cruz Elevado; CCE: Caixa Claro-escuro.

4.6 TESTES COMPORTAMENTAIS

4.6.1 Teste do Campo Aberto

O campo aberto é um instrumento para testar comportamento de ansiedade e atividade exploratória, a fim de verificar os efeitos de ambientes não familiares sobre a emocionalidade em ratos (PRUT; BELZUNG, 2003; SANTOS, 2008). O teste foi realizado com ratas Wistar no período pós-lactação. Cada animal foi inserido no centro do aparelho e observado durante 10 minutos. Foram avaliados parâmetros como: ambulação (número de cruzamentos dos segmentos pelo animal com as quatro patas), número de comportamentos de levantar (rearing) e tempo de comportamentos de autolimpeza (grooming) (MONTGOMERY, 1955 apud SANTOS, 2008, RACHETTI et al., 2012). As sessões foram filmadas e posteriormente analisadas. O aparelho foi higienizado com uma solução de 10% de álcool após cada sessão de comportamento.

4.6.2 Teste do Labirinto em Cruz Elevado (LCE)

O LCE é comumente usado como modelo não condicionado de ansiedade em roedores (FLINT, 2003; BRADLEY et al., 2007). O LCE constitui um aparato formado por dois braços fechados e dois braços abertos perpendiculares aos primeiros, uma área central, sendo este elevado do solo. O animal foi posto no centro do aparelho, sempre pelo mesmo pesquisador, com o focinho voltado para o braço fechado direito. Durante 5 minutos, analisou-se a frequência de entradas nos braços fechados e abertos, o tempo gasto em cada braço e no centro do aparelho.

Além disso, também foi contabilizada a quantidade de mergulhos da cabeça do animal nos braços abertos. A cada animal testado, o labirinto foi higienizado com álcool a 10%. As sessões foram filmadas e posteriormente analisadas. O aparelho foi higienizado com uma solução de 10% de álcool após cada sessão de comportamento.

4.6.3 Teste da Caixa Claro-escuro

A caixa de transição claro-escuro mede a ansiedade incondicionada e comportamento exploratório em roedores (BOURIN; HASCOËT, 2003). O aparato feito de acrílico (45 X 27 X 27cm) é dividido em dois compartimentos, sendo um escuro (18 X 27cm) e outro claro (27 X 27cm). Os animais foram colocados no centro do compartimento claro, com o focinho voltado para o compartimento escuro, sendo mantidos no aparelho por 5 min para livre exploração. As sessões foram filmadas e posteriormente analisadas. Os comportamentos avaliados foram o tempo de permanência do animal em cada um dos compartimentos. Ao fim de cada sessão o aparelho foi higienizado com uma solução de 10% de álcool, uma vez que a sujeira na caixa claro-escuro compromete o componente neofóbico associado ao aparato.

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise dos resultados, foram levados em consideração os valores de média e erro padrão da média, tendo sido usado o teste *T-student*, levando em consideração o nível de significância para rejeição da hipótese nula de $p < 0,05$. O programa estatístico usado foi o *GraphPad Prism*, versão 7.0.

4.8 ASPECTOS ÉTICOS

O estudo recebeu a aprovação do Comitê de Ética para Uso Animal da UFCG sob certificação de nº 006 – 2017. Toda a pesquisa foi conduzida estritamente de acordo com as recomendações éticas do Instituto Nacional de Saúde Bethesda (Bethesda, EUA) sobre cuidados com animais. O abacate utilizado na suplementação foi registrado no SisGen, sob protocolo de nº A737D56.

5 RESULTADOS

5.1 CAMPO ABERTO (CA)

5.1.1 T45 (Fase da adolescência)

Aos 45 dias de vida, os animais foram submetidos ao teste do campo aberto para análise da ambulação, que se refere ao número de cruzamentos que o animal realiza com as quatro patas sobre o quadrante; rearing que é o número de vezes que o animal realiza o comportamento de levantar e grooming que consiste no tempo de autolimpeza do animal (MONTGOMERY, 1955 apud SANTOS, 2008, RACHETTI et al., 2012). Conforme os resultados expressos no gráfico A não se observou diferença estatística significativa entre os grupos quanto ao número de cruzamentos na plataforma (ambulação). Em relação ao tempo de autolimpeza (grooming), pode-se perceber que os animais pertencentes ao grupo óleo (15,25 \pm 3,33) e polpa (14,72; \pm 1,62) apresentaram resultados menores, quando comparados aos animais do grupo controle (24,5 \pm 2,54) (Figura 1B) ($p < 0.05$). Quanto ao número de levantadas (rearing), foi possível observar diferença estatística entre os animais do grupo óleo (21,44 \pm 1,94) e polpa (21,18 \pm 3,28) quando comparados ao grupo controle (29,9 \pm 4,84) (Figura 1C) ($p < 0,05$).

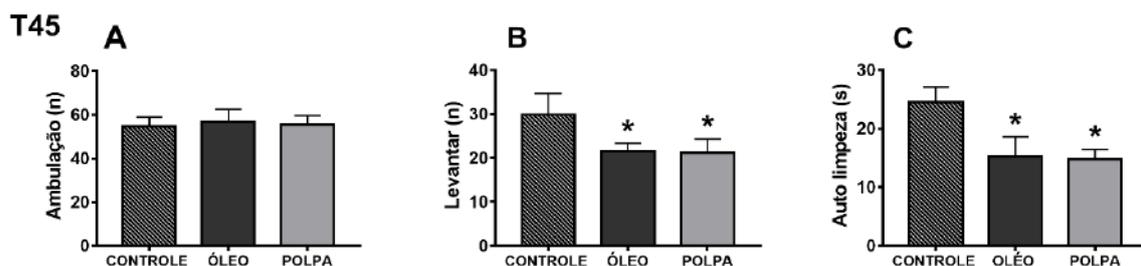


Figura 2 - Teste do Campo Aberto (CA) realizado com animais em fase de adolescência (T45), provenientes de ratas tratadas durante a gestação e lactação com óleo e polpa de abacate. Grupo controle (GC) - suplementado com água destilada (n=14); Grupo óleo de Abacate (OA) – suplementado com 3.000 mg de óleo de abacate / kg de peso de animal (n=15); e Grupo Polpa de Abacate (PA) - tratado 3.000 mg da polpa de abacate liofilizada / kg de peso de animal (n=15). Figura A: ambulação - número de cruzamentos do animal pelos quadrantes do aparato. Figura B: levantadas (rearing) – número de vezes que o animal ficou com as patas dianteiras levantadas. Figura C: autolimpeza (grooming): tempo que o animal passou se auto limpando. Valores expressos em média e erro padrão (EP). Teste estatístico Anova One Way seguido por Tukey, ($p < 0,05$). *versus o grupo controle #versus grupo óleo.

5.1.2 T90 (Fase Adulta)

Na fase adulta pode-se observar diferença estatística significativa em relação a ambulação, onde os animais pertencentes ao grupo polpa apresentaram maior número de cruzamentos na plataforma ($60,2 \pm 5,79$) em relação aos animais dos grupos óleo ($38,67 \pm 6,48$) e controle ($51,64 \pm 5,57$) (Figura 2A) ($p < 0,05$). Quando analisados os parâmetros de autolimpeza e número de levantadas não se observou diferença estatística entre os grupos.

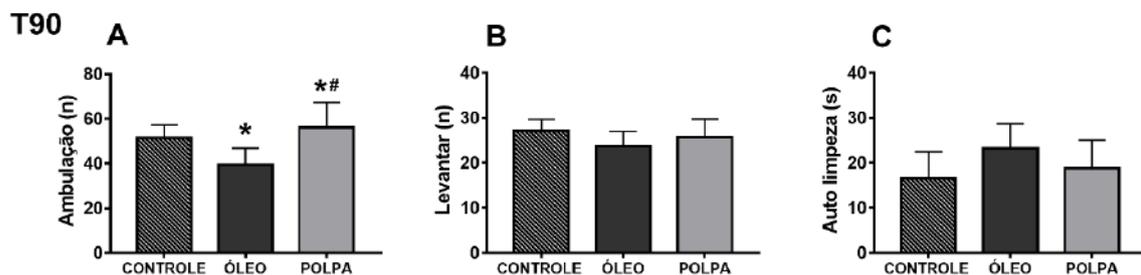


Figura 3 - Teste do Campo Aberto (CA) realizado com animais em fase adulta (T90), provenientes de ratas tratadas durante a gestação e lactação com óleo e polpa de abacate. Grupo controle (GC) - suplementado com água destilada ($n=14$); Grupo óleo de Abacate (OA) – suplementado com 3.000 mg de óleo de abacate / kg de peso de animal ($n=15$); e Grupo Polpa de Abacate (PA) - tratado 3.000 mg da polpa de abacate liofilizada / kg de peso de animal ($n=15$). Figura A: ambulação - número de cruzamentos do animal pelos quadrantes do aparato. Figura B: levantadas (rearing) – número de vezes que o animal ficou com as patas dianteiras levantadas. Figura C: autolimpeza (grooming): tempo que o animal passou se auto limpando. Valores expressos em média e erro padrão (EP). Teste estatístico Anova One Way seguido por Tukey, ($p < 0,05$). *versus o grupo controle #versus grupo óleo.

5.2 LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO (LCE)

5.2.1 T45 (Fase da adolescência)

O LCE é comumente utilizado como modelo não-condicionado de ansiedade em roedores (FLINT, 2003; BRADLEY et al., 2007). Na fase da adolescência os animais foram expostos a este aparato para avaliação dos seguintes parâmetros: tempo gasto e a frequência de entradas nos braços abertos, tempo na área central e mergulho de cabeça. Ao analisarmos os dados pode-se observar que não houve diferença estatística em relação ao número de entradas pelos animais no braço aberto do aparato (Figura 3A). No que se refere ao tempo de permanência nos braços abertos, os animais do grupo óleo ($11,43 \pm 3,99$) e polpa ($9,43 \pm 4,08$) apresentam resultados inferiores quando comparados ao grupo controle ($30,67$

$\pm 16,72$) (Figura 3B) ($p < 0,05$). Quanto ao tempo de permanência na área central, verificou-se que os animais do grupo óleo ($68 \pm 15,47$) e polpa ($26,6 \pm 8,14$) permaneceram por menos tempo em relação aos animais do grupo controle ($60,2 \pm 5,79$). Quando avaliados os grupos experimentais entre si, observou-se diferença significativa entre o grupo polpa ($26,6 \pm 8,14$) que permaneceu por menos tempo na área central quando comparado ao grupo óleo ($68 \pm 15,47$) (Figura 3C) ($p < 0,05$). No que diz respeito ao mergulho de cabeça não se observou diferença estatística entre os animais dos grupos óleo e polpa quando comparados ao grupo controle. Porém, ao avaliarmos o grupo óleo e polpa, observamos redução significativa deste parâmetro nos animais tratada com polpa de abacate ($11,72 \pm 1,10$) em relação aos animais tratados com óleo ($13,08 \pm 2,31$) (Figura 3D) ($p < 0,05$).

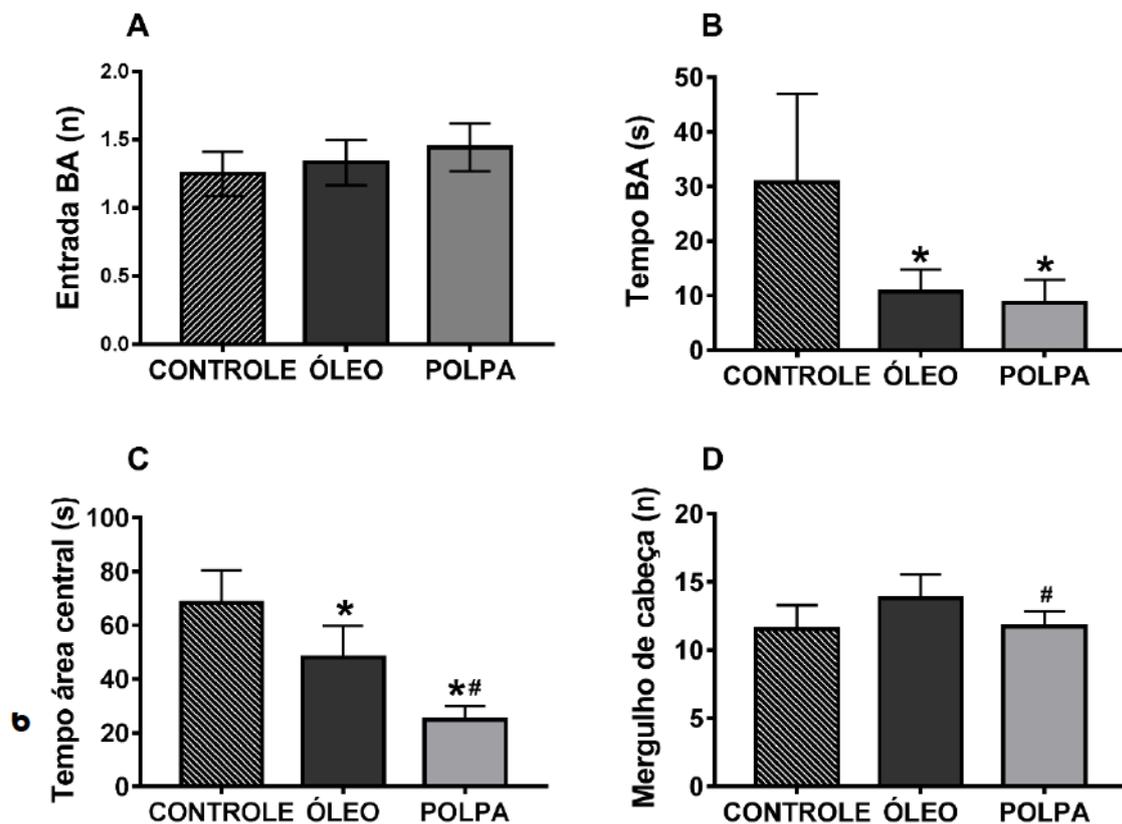
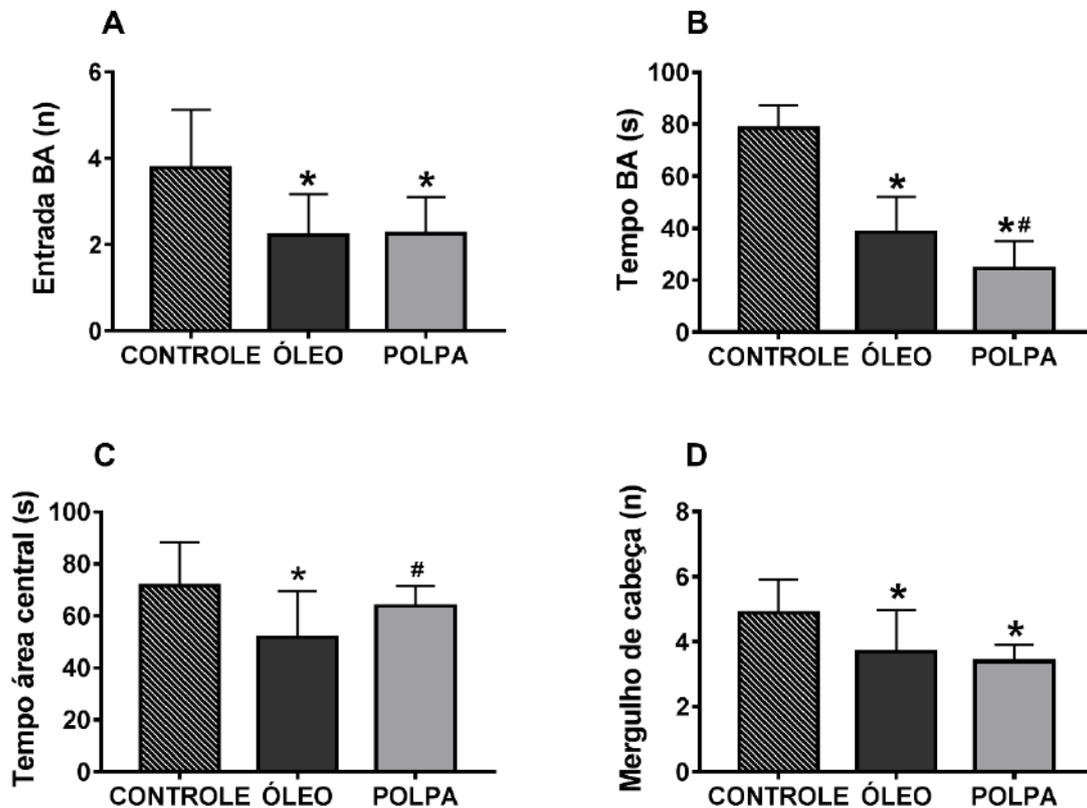


FIGURA 4 – Teste do Labirinto em Cruz Elevado (LCE) realizado com animais em fase de adolescência (T45), provenientes de ratas tratadas durante a gestação e lactação com óleo e polpa de abacate. Grupo controle (GC) - suplementado com água destilada ($n=14$); Grupo óleo de Abacate (OA) – suplementado com 3.000 mg de óleo de abacate / kg de peso de animal ($n=15$); e Grupo Polpa de Abacate (PA) - tratado 3.000 mg da polpa de abacate liofilizada / kg de peso de animal ($n=15$). Figura A: número de entradas nos braços abertos. Figura B: tempo de permanência dos roedores nos braços abertos. Figura C: tempo dos animais na área central. Figura D: mergulhos de cabeça dos animais nos braços abertos. Valores expressos em média e erro padrão (EP). Teste estatístico Anova One Way seguido por Tukey, ($p < 0,05$). *versus o grupo controle #versus grupo óleo.

5.2.2 T90 (Fase Adulta)



FIGURA

5 – Teste do Labirinto em Cruz Elevado (LCE) realizado com animais em fase adulta (T90), provenientes de ratas tratadas durante a gestação e lactação com óleo e polpa de abacate. Grupo controle (GC) - suplementado com água destilada (n=14); Grupo óleo de Abacate (OA) – suplementado com 3.000 mg de óleo de abacate / kg de peso de animal (n=15); e Grupo Polpa de Abacate (PA) - tratado 3.000 mg da polpa de abacate liofilizada / kg de peso de animal (n=15). Figura A: número de entradas nos braços abertos. Figura B: tempo de permanência dos roedores nos braços abertos. Figura C: tempo dos animais na área central. Figura D: mergulhos de cabeça dos animais nos braços abertos. Valores expressos em média e erro padrão (EP). Teste estatístico Anova One Way seguido por Tukey, (p <0,05). *versus o grupo controle #versus grupo óleo.

Como mostrado na figura, na fase adulta (90 dias de vida), os animais foram expostos aos LCE e foram analisados os mesmos parâmetros citados na fase da adolescência. Quanto ao número de entradas dos animais nos braços abertos, foi possível verificar que os animais pertencentes aos grupos óleo ($2,22 \pm 0,97$) e polpa ($2,18 \pm 0,87$) obtiveram redução deste parâmetro quando comparados ao grupo controle ($3,78 \pm 1,39$) (Figura 4A) ($p < 0,05$). Para o tempo de permanência dos animais nos braços abertos observamos menor tempo para os animais pertencentes aos grupos óleo ($38,57 \pm 13,96$) e polpa ($24,55 \pm 10,92$) em relação ao grupo controle ($78,50 \pm 9,18$) (Figura 4B) ($p < 0,05$). Quanto ao tempo do animal na área central do aparato, pode-se observar que o grupo polpa ($63,89 \pm 7,86$) permaneceu mais tempo na área central, quando comparada ao grupo óleo ($50,7 \pm 18,86$) e ambos os grupos

experimentais permaneceram menos tempo, quando comparados ao grupo controle ($71,6 \pm 17,13$) (Figura 4C) ($p < 0,05$). No que se refere ao mergulho de cabeça, os animais pertencentes aos grupos óleo ($3,69 \pm 1,31$) e polpa ($3,4 \pm 0,52$) obtiveram menor número, quando comparados aos animais do grupo controle ($4,89 \pm 1,05$) (Figura 4D) ($p < 0,05$).

5.3 CAIXA CLARO-ESCURO (CCE)

5.3.1 T45 (Fase da adolescência)

O CCE também é um teste comumente utilizado para medir o comportamento de ansiedade incondicionada e exploratória em roedores através da análise dos seguintes parâmetros: permanência no compartimento claro, número de transição e número do comportamento de espreitar. Na fase da adolescência os animais foram expostos e diante da análise dos resultados pode-se observar que em relação ao tempo de permanência no compartimento claro os animais dos grupos grupo óleo ($93,6 \pm 11,8$) e polpa ($71,4 \pm 10,3$) permaneceram por menos tempo quando comparados ao grupo controle ($114,5 \pm 10,7$). Ao analisarmos apenas os grupos experimentais, foi possível identificar que os animais do grupo óleo apresentaram menor tempo em relação aos animais do grupo polpa (Figura 5A) ($p < 0,05$). Quanto ao número de transição entre os compartimentos claros e escuros, não se observou diferença estatística ao compararmos o grupo óleo e controle, porém ao avaliarmos os animais do grupo polpa ($14,6 \pm 1,3$) observamos redução significativa deste parâmetro em relação aos animais do grupo controle ($17,5 \pm 2,0$) (Figura 5B) ($p < 0,05$). Em relação ao comportamento de espreitar, também não se observou diferença estatística em relação aos animais pertencentes ao grupo óleo quando comparados aos animais do grupo controle. Contudo, ao avaliarmos este comportamento comparando apenas os animais do grupo polpa e controle, foi possível observarmos um número maior do comportamento de espreitar nos animais do grupo polpa ($10,1 \pm 1,8$); ($8,5 \pm 0,9$) (Figura 5B) ($p < 0,05$).

T45

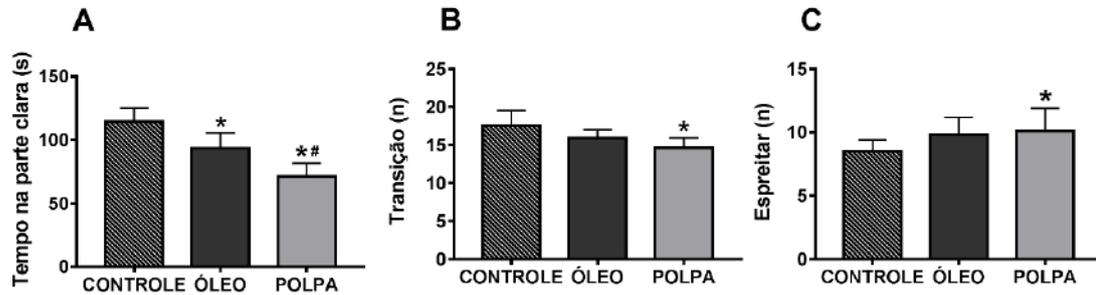


FIGURA 6 – Teste Caixa Claro-escuro (CCE) realizado com animais em fase de adolescência (T45), provenientes de ratas tratadas durante a gestação e lactação com óleo e polpa de abacate. Grupo controle (GC) - suplementado com água destilada (n=14); Grupo óleo de Abacate (OA) – suplementado com 3.000 mg de óleo de abacate / kg de peso de animal (n=15); e Grupo Polpa de Abacate (PA) - tratado 3.000 mg da polpa de abacate liofilizada / kg de peso de animal (n=15). Figura A: tempo de permanência dos animais no compartimento claro da caixa. Figura B - número de transições dos animais. Figura C - número de espreitar. Valores expressos em média e erro padrão (EP). Teste estatístico Anova One Way seguido por Tukey, ($p < 0,05$). *versus o grupo controle #versus grupo óleo.

5.3.2 T90 (Fase Adulta)

T90

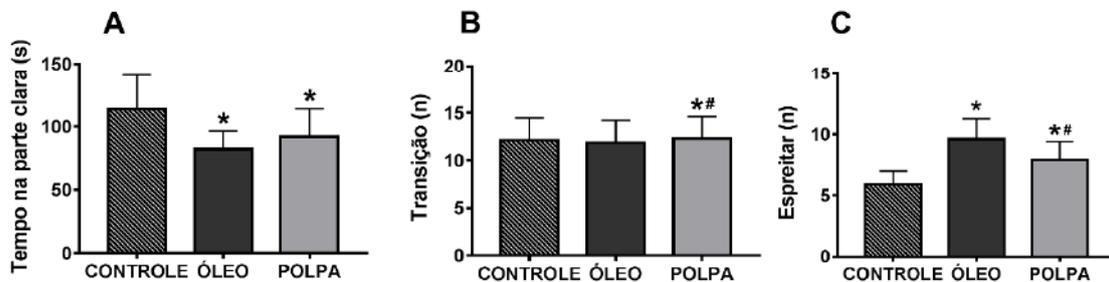


FIGURA 7 – Teste Caixa Claro-escuro (CCE) realizado com animais em fase adulta (T90), provenientes de ratas tratadas durante a gestação e lactação com óleo e polpa de abacate. Grupo controle (GC) - suplementado com água destilada (n=14); Grupo óleo de Abacate (OA) – suplementado com 3.000 mg de óleo de abacate / kg de peso de animal (n=15); e Grupo Polpa de Abacate (PA) - tratado 3.000 mg da polpa de abacate liofilizada / kg de peso de animal (n=15). Figura A: tempo de permanência dos animais no compartimento claro da caixa. Figura B - número de transições dos animais. Figura C - número de espreitar. Valores expressos em média e erro padrão (EP). Teste estatístico Anova One Way seguido por Tukey, ($p < 0,05$). *versus o grupo controle #versus grupo óleo.

De acordo com a figura 6, na fase adulta, pode-se observar diferença estatística significativa em relação ao tempo de permanência dos animais no compartimento claro da caixa, onde, o grupo óleo ($84,6 \pm 13,7$) e o grupo polpa ($92,1 \pm 27,7$) apresentaram menor tempo quando comparados aos animais do grupo controle ($114,0 \pm 27,7$) (Figura 6A) ($p < 0,05$). Quanto ao parâmetro de transição, os

animais pertencentes ao grupo polpa ($12,3 \pm 2,4$) apresentaram maior número deste comportamento quando comparados aos animais dos grupos óleo ($11,9 \pm 2,4$) e controle ($12,1 \pm 2,5$) (Figura 6B) ($p < 0,05$). Em relação ao comportamento de espreitar, os animais dos grupos experimentais apresentaram um maior número deste parâmetro quando comparados aos animais do grupo controle ($p < 0,05$). Ao avaliarmos apenas os animais dos grupos polpa e óleo foi possível verificar redução significativa deste comportamento nos animais pertencentes ao grupo polpa (Figura 6C) ($p < 0,05$).

6 DISCUSSÃO

Vários são os estudos à cerca do impacto da suplementação de diversos tipos de ácidos graxos e seu efeito sobre a ansiedade em roedores, porém, nota-se na literatura uma lacuna em relação a administração desses nutrientes na fase gestacional e verificação de seus efeitos na prole. Neste sentido, com este estudo objetivamos investigar o comportamento de ansiedade de filhotes cujo as mães foram suplementadas com óleo e polpa de abacate durante o período de gestação e lactação.

Na literatura foram identificadas inúmeras pesquisas que buscaram avaliar a suplementação de diversos tipos e doses de óleos em roedores, no entanto não foram encontrados estudos relacionados a utilização do óleo e da polpa de abacate nesta fase da vida. O abacate (*Persea americana* Mill.) destaca-se pelo seu conteúdo lipídico, sendo majoritariamente constituído por ácidos graxos monoinsaturados, e em menor proporção por ácidos graxos saturados e poliinsaturados (USDA 2015; DREHER; DAVENPORT, 2013).

A quantidade e qualidade dos lipídios dietéticos ofertados durante o período intra e extrauterino é de extrema importância, pois, determinará o tipo de ácido graxo a se depositar no tecido fetal (YETIMLER, et al. 2012; INNIS, et al., 2014). A transferência desses nutrientes se faz via placenta e leite materno, através de processos que envolvem mecanismos de difusão simples e facilitada (INNIS, 2007; YETIMLER, 2012).

Ao analisarmos os dados referentes ao nosso estudo, pode-se observar que os animais suplementados com óleo e com polpa de abacate apresentaram comportamento ansiogênico na fase da adolescência e na fase adulta (T45 e T90) quando comparados aos animais do grupo controle, sendo uma justificativa plausível, a quantidade limitada do ácido graxo linolênico (w-3), presente tanto no óleo quanto na polpa de abacate, ofertado as mães durante o período crítico de desenvolvimento.

De acordo com Müller e colaboradores (2015), a redução do suprimento dietético de ácidos graxos poliinsaturados do tipo w-3, reduz conseqüentemente os níveis deste componente do tecido cerebral, estando esta diminuição relacionada a desordens neuropsiquiátricas, incluindo transtornos de ansiedade. Corroborando

com tais achados, alguns estudos pré-clínicos utilizando modelos animais evidenciaram que dietas deficientes em PUFAS na gestação e lactação possui relação direta com sintomas ansiogênicos, bem como com comportamento social anormal, na prole adulta (LAFOURCADE et al., 2011; LARRIEU et al., 2012, 2014, 2015; BONDI et al., 2014).

Uma das hipóteses que norteiam os estudos em relação a ansiedade são as variações abruptas nos níveis de serotonina. Segundo Graeff (1996), na substância cinzenta periaquedutal (SCP), essas variações estão relacionadas à emissão de comportamento do tipo ansiogênico. Em estudo desenvolvido por Barbosa e colaboradores (2018), cujo objetivo foi avaliar o efeito do óleo de peixe sobre a síntese de serotonina na SCP, foi possível verificar que a suplementação esteve correlacionada com a redução dos níveis deste neurotransmissor, com consequente diminuição do comportamento de ansiedade pelo animal, sugerindo assim, que os ácidos graxos poliinsaturados (ω -3) podem modular o sistema serotoninérgico.

Liu et al., (2013), em estudo de revisão constatou que diversas pesquisas apontam que os PUFAs (ω -3) e seus metabólitos desempenham funções fisiológicas significativas no organismo, dentre estas, regulação da expressão genica e a responsividade da membrana celular, agindo como segundos mensageiros e equilibrando processos pró e anti-inflamatórios. Corroborando com tais achados, pesquisa desenvolvida por Figueiredo (2009), revelou que o ácido graxo linolênico (ω -3) reduz a produção de citocinas pró-inflamatórias, estando estas relacionadas com sintomas característicos de ansiedade e depressão. Todos os aspectos abordados até o momento coincidem com os resultados encontrados em nosso estudo (efeito ansiogênico na prole), uma vez que a fonte lipídica ofertada as mães, durante o período crítico de desenvolvimento apresentam teores insuficientes de ácido graxo linolênico (ω -3).

Vale ressaltar que a deficiência de PUFAs (ω 3) no período intrauterino, juntamente a outros fatores estressores pode favorecer a gênese da ansiedade materna (MATHIEU et al., 2011). Este comportamento durante a gestação favorece a liberação de glicocorticoides pelo eixo Hipotálamo Pituitária Adrenal (HPA), sendo os componentes formados transferidos ao feto, através da via transplacentária, ocasionando assim comportamento ansiogênico na prole (PINTO et al., 2017).

O Sistema Nervoso é constituído majoritariamente pelos lipídios que compõe as células deste sistema (MONTANARI, 2016). Estes por sua vez, podem ao longo

do tempo sofrer ação das espécies reativas de oxigênio (EROs), comprometendo a integridade e fluidez da membrana celular, além de ocasionar danos a nível de DNA e proteínas (MAGDER, 2006; VALKO et al. 2007). Todos os aspectos mencionados parecem contribuir de forma significativa para gênese da ansiedade (DA SILVEIRA, et al. 2016). Neste sentido, o consumo de compostos bioativos com potencial antioxidante também se faz necessário durante a gestação, lactação e ao longo da vida.

Diante do exposto, decidimos analisar o conteúdo de compostos bioativos presentes no óleo e na polpa de abacate. De acordo com os dados obtidos pode-se observar quantidade significativas de fenólicos totais e carotenoides presente na polpa desta matriz. Tais resultados possivelmente estão relacionados com a redução do comportamento de ansiedade nos animais do grupo polpa quando comparados aos animais do grupo óleo ($p < 0.05$). Porém, importa ressaltar que os efeitos encontrados foram casos isolados e não refletem um efeito ansiolítico significativo.

LIMA et al., (2019) ao estudarem o efeito do óleo da polpa de frutos de *Attalea phalerata* Mart. (matriz rica em carotenoides) em modelos experimentais de ansiedade e depressão, verificaram efeito ansiolítico ao expor os animais aos testes de Labirinto em Cruz Elevado e Esconder Esferas. Os carotenóides são classificados como os compostos naturais mais reativos frente ao oxigênio singlete 1O_2 (forma mais deletéria do oxigênio ao organismo). Possui efeito protetor as membranas celulares por impedirem a ação desse radical sobre as estruturas fosfolipídicas presentes na membrana, garantindo assim sua integridade, dinâmica e fluidez (BARREIROS, et al. 2006).

De acordo com Muller (2015), alterações na fluidez da membrana celular exerce efeito direto nos sistemas biológicos orgânicos e podem comprometer a atividade de proteínas e transdução do sinal. Quando tais alterações ocorrem nas membranas neuronais de células como oligodendrócitos, astrócitos, mielina e terminações nervosas, podem provocar a perturbações neurosensoriais e comportamentais, como no caso da ansiedade (BOURRE, 2005).

Segundo Chisté e colaboradores (2014), os fitoquímicos dietéticos que são responsáveis pela proteção do sistema nervoso central contra o ataque das EROS, também podem agir como agentes pró-oxidantes moderados, estes, impõem leve estresse nas células neurais, induzindo assim respostas antioxidantes positivas, aumentando a capacidade dos tecidos neurais em lidar com o estresse oxidativo.

Apesar da quantidade significativa de carotenoides e compostos fenólicos totais presentes na polpa do abacate, ao realizarmos as análises de perfil de ácidos graxos tanto do óleo quanto da polpa deste fruto, foi possível verificar um percentual elevado de ácidos graxos do tipo saturado, que confere efeito inverso aos benefícios proporcionados pelos ácidos graxos mono e poliinsaturados. Em síntese a quantidade elevada de ácidos graxos saturados, bem como, a escassez de ácido graxo linolênico (w-3) pode ter contribuído para os resultados encontrados no presente estudo.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conforme os dados obtidos na análise de cromatografia gasosa, a fim de identificar o perfil de ácidos graxos presentes no óleo e na polpa de abacate, pode-se notar que, apesar da matriz possuir majoritariamente ácidos graxos do tipo monoinsaturado, o percentual de saturado se sobressaiu em relação a quantidade de poli-insaturado, sendo possível também detectar a escassez do ácido α -linolênico (ω -3), componente de grande importância no período crítico de desenvolvimento.

Diante dos resultados encontrados neste estudo, pode-se observar que a oferta do óleo e da polpa de abacate durante a fase de gestação e lactação, induziu um comportamento ansiogênico na prole, tanto na fase da adolescência (T45) quanto na fase adulta (T90), sendo estes resultados possivelmente reflexo do tipo de ácido graxo ofertado.

Por outro lado, quando avaliamos o perfil antioxidante do fruto, observamos quantidades significativas de compostos fenólicos totais e carotenoides na polpa, ambos, com função protetora ao tecido cerebral quanto ao ataque de espécies reativas de oxigênio. A presença destes componentes na polpa inferiu em um menor comportamento ansiogênico na prole provenientes de mães pertencentes a este grupo, porém estes resultados se deram de forma isolada e não conferem ao produto característica ansiolítica.

Sendo assim, estudos eletrofisiológicos, histológicos e bioquímicos devem ser realizados, a fim de sanar todas as lacunas referentes a ação ansiolítica/ansiogênica do óleo e da polpa de abacate neste período específico da vida.

REFERÊNCIAS

ALLEN AJ, LEONARD H, SWEDO SE. Current knowledge of medications for the treatment of childhood anxiety disorders. **J Am Acad Child Adolesc Psychiatry** , v. 34, n.9, p. 76-86, 1995.

AMEER, K. Avocado as a Major Dietary Source of Antioxidants and Its Preventive Role in Neurodegenerative Diseases. **Advances in Neurobiology**, v. 12, n. p. 337-54, 2016.

ANDERSON, M. E. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. **Methods in Enzymology**, v. 113, p. 548-555, 1985.

ANDRADE, P.M.M.; CARMO, M.G.T. Ácidos graxos n-3: um link entre eicosanoides, inflamação e imunidade, **mn metabólica**, v.8, n.3, 2006.

ARANTES, RAFAEL. **Modelagem Estocástica do Labirinto em Cruz Elevada**. 2016.133f. Tese de Doutorado – Faculdade de Filosofia, Ciência e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

ASANO, Y. Characteristics of open field behavior of Wistar and Sprague-Dawley rats. Jikken Dobutsu. **Experimental Animals**, v. 35, n. 4, p. 505-508, 1986.

BAKHTIYARI, M.; EHRAMPOUSH, E.; EENAYATI.;N. Anxiety as a consequence of modern dietary pattern in adults in Tehran Iran.. **Eat Behav**, v. 14, p. 107-112, 2012.

BARREIROS, André Luís Bacelar Silva; DAVID, Jorge Mauricio; DAVID, Juceni Pereira de Lima. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. 2006.

BECERRA, A. M. G. Efeitos Farmacológicos de Drogas Ditas Ansiolíticas e Asiogênicas Administradas em Ratos Testados no Labirinto em Cruz Elevado na Presença e Ausência de Luminosidade. **Tese de Mestrado** (Mestrado em Ciências) -USP, Ribeirão Preto, p.1-23, 2004.

BENZIE, I. F., AND STRAIN, J. J. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. **Methods Enzymol.** v. 299, p. 15–27, 1999.

BERNAL-MORALES, Blandina et al. A fatty acids mixture reduces anxiety-like behaviors in infant rats mediated by GABAA receptors. **BioMed research international**, v. 2017, 2017.

BORTOLUZZI, A. What can HPA axis-linked genes tell us about anxiety disorders in adolescents? **Trends Psychiatry Psychother.** v, 37 n, 4 Porto, p.1-6, 2015.

BOURIN, M.; HASCOET, M. The mouse light/dark box test. **European Journal Pharmacology**, v. 28, n. 463 (1-3), p. 55-65, 2003.

BOURRE, J. M.: Effects of nutrients (in food) on the structure and function of the nervous system: update on dietary requirements for brain. Part II: macronutrients. **Journal Nutrition Health Aging.** 2006; 10(5):386-399.

BOURRE, J. M.: Acides gras ω -3 et troubles psychiatriques. **Medicine Sciences.** 2005; 21:216-21.

BRADLEY, B. F; STARKEY, N. J; BROWN, S. L; LEA, R. W. Anxiolytic effects of *Lavandula angustifolia* odour on the Mongolian gerbil elevated plus maze. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 3, p. 517-525, 2007.

CAROBREZ, A.P.; BERTOGLIO, L. J. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the elevated plus-maze model 20 years on. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, v. 29, n. 8, p. 1193-1205, 2005.

CHEN, H., SU, H. Fish oil supplementation of maternal rats on an n-3 fatty acid-deficient diet prevents depletion of maternal brain regional docosahexaenoic acid levels and has a postpartum anxiolytic effect. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 23, n. 3, p. 299-305, 2012.

CHISTÉ, R, C.; FREITAS, M.; MERCADANTE, A. Z.; FERNANDES, E.; Carotenoids inhibit lipid peroxidation and hemoglobin oxidation, but not the depletion of glutathione induced by ROS in human erythrocytes. **Life Sciences**, v. 99, p. 52-60, 2014.

CLANDININ, M.T. Brain development and assessing the supply of polyunsaturated fatty acid. **Lipids**, v. 34, p. 131 – 137, 1999.

COMERFORD, K. B.; AYOUB, K. T.; MURRAY, R. D.; ATKINSON, S. A. The Role of Avocados in Maternal Diets during the Periconceptional Period, Pregnancy, and Lactation. **Nutrientes**, v. 8, n. 313, p. 2-20, 2016.

CRUSIO, W.E.; SCHWEGLER, H., & VAN ABELEN, J.H. Behavioral responses to novelty and structural variation of the hippocampus in mice. I. Quantitative-genetic analysis of behavior in the open-field. **Behavioural Brain Research**, v. 32, n.1, p. 75-80, 1989.

CUNHA, L. F. A Importância de uma Alimentação Adequada na Educação Infantil. 2014. p.1-32. **Monografia** (Especialização em Ensino de Ciências). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2013.

CZEIZEL, Dr. A.; YAZLLE, Dra. M. E. H. D.; VÍTOLO, Dra. M. R.; RONDÓ, Dra. P. H.; GOULART, Prof. Dra. R. M. M.; Novas Recomendações Nutricionais para Gestante, 2000.

DA SILVEIRA, C. C. S.; FERNANDES, L. M. P; SILVA, L. M.; LUZ, D. A.; GOMES, A. R. Q., MONTEIRO, M. C.; MACHADO, C. S.; TORRES, Y. R.; LIRA, T. O.; FERREIRA, A. G.; FONTES-JÚNIOR, E. A.; MAIA, C. S. F. Neurobehavioral and antioxidant effects of ethanolic extract of yellow propolis. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2016, 2016.

DREHER, M. L.; DAVENPORT, A. J. Hass Avocado Composition and Potential Health Effects. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 53, n.7 p. 738-750, 2013.

ESTERBAUER, M.; CHEESEMAN, K. H. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonyldialdehyde and 4-hydroxynonenal. **Methods in Enzymology**, v. 186, p. 407-421, 1990.

FANSELOW, M. S., & Ledoux, J. E. (1999). Why we think plasticity underlying Pavlovian fear conditioning occurs in the basolateral amygdala. **Neuron**, v. 23, p. 229-232, 1999.

FERNANDES, M. F. S. et al. Efeito da ingestão de ômega-3 sobre a ansiedade em estudantes universitários. **Braspen J**, v. 32, n. 2, p. 140-143, 2017.

FIGUEIREDO, R.M.S. Influência do ômega 3 na depressão (**Monografia**). Porto: Universidade do Porto; 2009.

FILE, S. Factores controlling measures of anxiety and responses to novelty in the mouse. **Behav Brain Res**, v. 125, p.151-157, 2001.

FLINT, J. Animal models of anxiety and their molecular dissection. **Seminars in Cell Developmental Biology**, v. 14, p. 37-42, 2003.

FLORES, M. A.; PEREZ-CAMINO, M. D. C.; TROCA, J. Preliminary studies on composition, quality and oxidative stability of commercial avocado oil produced in Chile. **Journal of Food Science and Engineering**, v. 4, p. 21-26, 2014.

FOLCH, J., LEES, M., AND SLOANE STANLEY, G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipids. **J. Biol. Chem.** v. 226, p. 497–509, 1957.

FULGONI, V. L., DRHER, M.; DAVENPORT, A. J. Avocado consumption is associated with better diet quality and nutrient intake, and lower metabolic syndrome risk in US adults: Results from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). **Nutr. J**, v. 12, n.1 p. 2001-2008, 2013.

GONZALEZ, H. F.; VISENTIN, S. Nutrients and neurodevelopment: Lipids. Update. **Archivos Argentinos de Pediatría**, v. 114, n. 5, p. 472-476, 2016.

GRAEFF, F,G et al. Role of 5-HT in stress, anxiety and depression. **Pharmacology biochemistry and behavior**, v. 54, n.1, p.129-131, 1996.

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. 3p.385-403, 1934.

HANDLEY, S. L.; MITHANI, S. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a mazeexploration model of "fear"-motivated behavior. Naunyn Schmiedeberg´s. **Arhc Pharmacol**, v. 327, n. p. 1-5, 1984.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acids methyl esters. **Lab. Pract.** v. 22, p. 475–476, 1973.

HOGG, S. A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 54, n.1, p. 21-31, 1996.

INNIS, S. M. Human milk: maternal dietary lipids and infant development. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 66, n.3 p. 397-904, 2007.

INNIS, S. M. Impact of maternal diet on human milk composition and neurological development of infants. **Am Journal of Clinical Nutrition**, v. 99, n.3 p. 734–41, 2014.

JOHNSON, E. J. Papel da luteína e da zeaxantina na função visual e cognitiva ao longo da vida. **Nutr. Rev.**, v. 72, p. 605-612, 2014.

KOK, T. M. C. M; WAARD, P.; WILMS, L. C, VAN BREDA, S. G. J. Antioxidative and antigenotoxic properties of vegetables and dietary phytochemicals: the value of genomics biomarkers in molecular epidemiology. **Mol Nutr Food**, v. 54, p. 17-208, 2010.

KUS, M.M.M, Aued-Pimentel S, Mancini-Filho J. Comparação de metodologias analíticas na determinação de lipídios e ácidos graxos polinsaturados em fórmula infantil por cromatografia gasosa. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v.68, n. 1 2010.

LAGERCRANTZ, H. Connecting the brain of the child from synapses to screen-based activity. **Acta Paediatrica**, v. 105, n. 4, p.352-357, 2016.

LI, Q.; LEUNG, Y. O.; ZHOU, I.; HO, L. C. Dietary supplementation with n-3 fatty acids from weaning limits brain biochemistry and behavioural changes elicited by prenatal exposure to maternal inflammation in the mouse model. **Translational Psychiatry**, v. 5, n. 641, p. 1-10, 2015.

LIMA, F. F.; JÚNIOR, P.S.V.S; TRAESEL, G. K; MENEGATI, S. M. L. T; OESTERREICH, S. A, VIEIRA, M. C. ESTUDO DO EFEITO CENTRAL DO ÓLEO DA POLPA DE *Attalea phalerata* MART. EX SPRENG. EM MODELOS ANIMAIS DE ANSIEDADE E DEPRESSÃO. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 16, n. E, 2019.

LIN, C.; SHAO, B.; HUANG, H.; ZHOU, Y. Maternal high fat diet programs stress-induced behavioral disorder in adult offspring. **Physiology & Behavior**, v. 1, n. 152, p. 119-127, 2015.

LIU, J. J., GALFALVY, H. C., COOPER, T. B., OQUENDO, M. A., GRUNEBAUM, M. F., MANN, J. J. (2013). Omega-3 polyunsaturated fatty acid (PUFA) status in major depressive disorder with comorbid anxiety disorders. **J. Clin. Psychiatry** 74, 732–738.

LIU, M.; LI, X. Q.; WEBER, C.; LEE, C. Y., BROWN, J.; LIU, R. H. (2002). Antioxidant and antiproliferative activities of raspberries. **J. Agric. Food. Chem.** 50, 2926–2930. doi: 10.1021/jf0111209.

MADORE, C.; NADJAR, A.; DELPECH, J. C.; SERE, A. Nutritional deficiency n-3 PUFA during the perinatal period alters the innate immune system and the brain associated with neuronal plasticity genes. **Brain Behavioural Immunity**, v. 41, n. p. 22-31, 2014.

MAGDER, S. Reactive oxygen species: toxic molecules or spark of life? *Critical Care*, 10:208, 2006.

MAGRINELLI, A. B. **Bases Neurobiológicas da Ansiedade**. Cidade: UFGD, 2014.

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

MATHIEU, G.; OUALIAN, c.; DENIS, I.; LAVIALLE, M.; GISQUET-VERRIER, P.; VANCASSEL, S. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acid deprivation together with early maternal separation increases anxiety and vulnerability to stress in adult rats, **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 85, p. 129–136, 2011.

MENNINTTI, L. V.; OLIVEIURA, C. A.; MORAIS, D.; ESTADELLA, L. M.; OYAMA, C. M.; NASCIMENTO, O.; PISANI, L. P. Type of fatty acids in maternal diets during pregnancy and/or lactation and metabolic consequences of the offspring. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 26, n.2 p. 99–111, 2015.

MOBBS, Dean et al. When fear is near: threat imminence elicits prefrontal-periaqueductal gray shifts in humans. **Science**, v. 317, n. 5841, p. 1079-1083, 2007.

MONTANARI, T. **Histologia Texto, atlas e roteiro de aulas práticas**, 3ª ed. Editora da UFRGS. Porto Alegre, 2016.

MONTGOMERY, K, C. The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory behavior. **J Comp Physiol Psychol**, v. 48, n. 4, 1995.

MORATO, S. O papel da visão na aversão aos espaços abertos no labirinto em cruz elevado. **Psicologia**, n. 17, v.4, p. 159-174, 2006.

MOREIRA, N. X; CURI, R.; MANCINI FILHO, J. Ácidos graxos: uma revisão. **Nutrire**, v. 24, p. 105-123, 2002.

MULLER, C. P.; REICHEL, M.; MÜHLE, M.; RHEIN, C.; GULBINS, E.; KORNHUBER, J. Brain membrane lipids in major depression and anxiety disorders. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1851, n.8 p. 1052–1065, 2015.

MURPHY, M.; MERCER, J. G. Diet-Regulated Anxiety. **International Journal of Endocrinology**, v. 2013, p. 1-10, 2013.

NIELSEN, F.H.; PENLAND, J.G. Boron deprivation alters rat behaviour and brain mineral composition differently when fish oil instead of safflower oil is the diet fat source, **Nutritional Neuroscience**. v. 9, p. 105–112, 2006.

PELLOW, S.; CHOPIN, P.; FILE, S. E.; BRILEY, M. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **The Journal of Neuroscience Methods**, v. 14, n.3 p. 149-167, 1985.

PEREIRA, A. D. P. AVALIAÇÃO DO CULTIVO DE ERVAS AROMÁTICAS EM HIDROPONIA COM SUBSTRATO. **Relatório de Estagio**, Recife, 2018.

PINTO, T, M.; CALDAS, F.; SILVA, C, N.; FIGUEIREDO, B. Maternal depression and anxiety and fetal-neonatal growth. **Jornal de Pediatria**, v. 93, n. 5, p. 452-459, 2017.
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. 1-3, p. 3-33, 2003.

PULIDO, R., BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. **J. Agric. Food Chem.** v. 48, p. 396–402, 2000.

RACHETTI, A. L. F; ARIDA, R. M; PATTI, C. L; ZANIN, K. A; FERNADES-SANTOS, L; Fish oil supplementation and physical exercise program: Distinct effects on different memory tasks. **Behavioural Brain Research**, v. 237, n. p. 283-289, 2012.

RODGERS, R. J.; DALVI, A.; Anxiety, defence and the elevated plus-maze. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 21, n. 6, p. 801-810, 1997.

SALEM, N. Jr, LITMAN, B., KIM, H.-Y.; GAWRISCH, K. Mechanisms of action of docosahexaenoic acid in the nervous system. **Lipids** **36**, 945–959 (2001). **An**

authoritative review of the important role of the essential fatty acid DHA in neural systems.

SALVIANO, M. F. **Análise fisiológica e comportamental de modelos animais desenvolvidos geneticamente para o estudo da ansiedade e da Doença de Alzheimer.** 2013. 158f. Tese de Doutorado (Doutorado em...) -Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

SANTOS, G. M.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; COSTA, J. M.C.;FIGUEIREDO, R. W.; PRADO, G. M. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (Euterpe oleracea Mart). **Archivos Latino-americanos de Nutricion**, Caracas, v. 58, n. 2, p. 187-192, 2008.

SANTOS, M. A. Z.; ALICIEO, T.V.R; PEREIRA, C.M.P; RAMIS-RAMOS, G.; MENDONÇA, C.R.B. Profile of bioactive compounds in avocado pulp oil: influence of dehydration temperature and extraction method. **Journal of the American Oil Chemical Society**, v.91, n.1 p.19-27, 2014.

SCHIEFERMEIER, M.; YAVIN, E. Deficient and docosahexaenoic acid-enriched diets during critical periods developing prenatal rat brain, n.3, 2002.

SILVA, W. L..L. VARIACÃO TEMPORAL DOS NÍVEIS DE GABA E GLUTAMATO NO CÉREBRO DE Danio rerio (ZEBRAFISH) SUBMETIDOS A AMBIENTES ANSIOGÊNICOS.**Tese de Mestrado** .2018. 79f – Neurociência, Belém, 2018.

SOARES, J. K. B.; QUEIROGA, R. C. R. E.; BOMFIM, M. A. D.; PESSOA, D. C. N. P.; BARBOSA, E. A.; SOUZA, D. L.; CABRAL-FILHO, J. E.; MEDEIROS, M. C. Acceleration of reflex maturation and physical development in suckling rats: effects of a maternal diet containing lipids from goat milk. **Nutritional Neuroscience**, v. 17, n. 1, p. 01-06, 2014.

SOARES, J. K. B.; ROCHA-DE-MELO, A. P; MEDEIROS, M. C.; QUEIROGA, R. C. R. E.; BOMFIM, M. A. D.; SOUZA, A. F. O.; NASCIMENTO, A. L. V.; GUEDES, R. C. A. Conjugated linoleic acid in the maternal diet differentially enhances growth and cortical spreading depression in the rat progeny. **Biochimica et Biophysica Acta**. v. 1820, n. p. 1490-1495, 2012.

MAIOR, F.N. S; **Atividade Ansiolítica e antinociceptiva do óxido de linalol em modelos animais.** Tese (Doutorado), 120f., 2011.

SURVESWARAN, S., CAI, Y. Z., CORKE, H., AND SUN, M. Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. **Food Chem.** v.102, p. 938–953, 2007.

SWEDO, S. E, LEONARD, H. L, ALLEN, A. J. New developments in childhood affective and anxiety disorders. **Curr Probl Pediatr**, v. 24, n. 12, p. 12-38, 1994.

SYLVERS, P; LILIENFELD, S. O.; LAPREIRIE, J. L. Differences between trait fear and trait anxiety: Implications psychopathology. **Clinical Psychology Review**, v. 31, n.1 p. 122-137, 2011.

USDA (U.S. Department of Agriculture) (2015) Avocado, almond, pistachio and walnut Composition. Nutrient Data Laboratory. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 24. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M.T.D.; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology** 39, 44–84, 2007.

VELASCO, C. P. **Impacto da restrição de ácidos graxos essenciais na manutenção das conexões retinotectais de roedores.** 2009. 108 f. Dissertação (Mestrado em Neuroimunologia) Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, 2009.

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

WHIMBEY, A.E.; DENEBOURG, V. H. Two independent behavioral dimensions in openfield performance. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, v.63, n. 3, p.500-504, 1967.

YANNAKOULIA, M.; PANAGIOTAKOS, D.B.; PITSAVOS, C. et al. Eating habits in relations to anxiety symptoms among apparently healthy adults. **A pattern analysis from the ATTICA Study.** *Appetite*, v. 58, p. 519-525, 2008.

YEHUDA, S. Polyunsaturated fatty acids as putative cognitive enhancers. **Medical Hypotheses**, v. 79, n.4 p.456–461, 2012.

YETIMLER, B.; ULUSOY, G.; ÇELİK, T.; JAKUBOWSKA-DOĞRU, E. Differential effect of age on the brain fatty acid levels and their correlation with animal cognitive status in mice. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 103, n.1 p. 53–59, 2012.

ZHANG, Y., LI, N., YANG, J., ZHANG, T., AND YANG, Z. Effects of maternal food restriction on physical growth and neurobehavior in newborn wistar rats. **Brain. Res. Bull.** v. 83, p. 1–8, 2010.

ZHISHEN, J., MENGCHENG, T., AND JIANMING, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chem.** v. 64, p. 555–559, 1999.

ANEXOS



Universidade Federal de Campina Grande
Centro de Saúde e Tecnologia Rural
Comissão de Ética em Pesquisa
Av. Sta Cecília, s/n, Bairro Jatobá, Rodovia Patos,
CEP: 58700-970, Cx postal 64, Tel. (83) 3511-3045



A: JULIANA KÉSSIA BARBOSA SOARES (Coordenadora)

Protocolo CEP nº 027-2017

CERTIDÃO

Certificamos a V.Sa. que seu projeto intitulado "AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DE ANSIEDADE NA PROLE DE RATAS SUPLEMENTADAS COM ÓLEO E POLPA DE ABACATE (*Persea americana* Mill.)

DURANTE A GESTAÇÃO E LACTAÇÃO" teve parecer consubstanciado orientado pelo regulamento interno deste comitê e foi Aprovado, em caráter de **Ad referendum**, estando à luz das normas e regulamentos vigentes no país atendidas as especificações para a pesquisa científica.

Patos, 29 de Setembro de 2017.

Maria de Fátima de Araujo Lucena
Coordenadora do CEP