

Análise da ansiedade em ratos submetidos ao efeito de *Erythrina velutina*

Anxiety analysis in rats submitted to the *Erythrina velutina* effects

Julliani Brustolin Pezenti

Fabio José Bianchi

Larissa Renata de Oliveira Bianchi

larissarenataoliveira@yahoo.com.br

Resumo

Este trabalho teve como objetivo avaliar a ansiedade e a atividade locomotora (AL), em ratos machos adultos, Wistar, com 90 dias, submetidos ao experimento por 30 dias. Os animais foram divididos em dois grupos, sendo que os animais do grupo experimental (n 10) receberam *ad libitum* ração comercial e chá de *Erythrina velutina*, os animais do grupo controle (n 10) receberam *ad libitum* ração comercial e água. A ansiedade e a atividade locomotora foram avaliadas por meio do labirinto em cruz elevado. O tempo de permanência dos animais nos braços abertos (BA) foi utilizado como índice de ansiedade, e a atividade locomotora medida pelo número de entradas nos braços fechados (NEBF) e pelo total de entradas (TE) nos BA e BF. Os resultados foram avaliados pelo teste de t de Student a 5%, e constatou que o tratamento com o chá de *Erythrina velutina* provocou um aumento na ansiedade nos ratos que fizeram a ingesta durante o período de 30 dias, caracterizando que a planta com ansiogênica.

Palavras-chave:

Ansiogênico, Mulungu, Labirinto em cruz elevado,

Abstract

This study aimed to assess anxiety and locomotor activity (LA) in adult male rats, Wistar, 90 days, undergoing trial for 30 days. The animals were divided into two groups, and the animals in the experimental group (n 10) received *ad libitum* commercial chow and tea *Erythrina velutina*, animals in the control group (n 10) received *ad libitum* commercial chow and water. The anxiety and locomotor activity were evaluated using the elevated plus maze. The time spent in the open arms (BA) was used as an index of anxiety, and locomotor activity measured by the number of closed arm entries (NEBF) and total entries (TE) in the BA and BF. The results were assessed by Student's t-test at 5%, and found that treatment with tea

Erythrina velutina caused an increase in anxiety in mice that had intake during the 30 day period, characterized in that the plant anxiogenic.

Key words:

Anxiogenic, Mulungu, Plus maze

INTRODUÇÃO

Para Carlini (2003) a ansiedade é um dos transtornos mentais mais comuns que cometem a humanidade. Discussões apontam a possibilidade de que a ansiedade poderia não consistir de uma manifestação única, mas de que se trataria de subtipos de ansiedade que se manifestariam sob exposições a determinados estímulos ou condições (GONZALES; FILE & OVERSTREET, 1997). Outras considerações sugerem que a ansiedade estaria associada a outras psicopatologias como, por exemplo, a depressão (BUENO, 1997).

Segundo Barlow et al., (1996) o medo é uma reação de alarme imediata produzida pela presença de um estímulo aversivo real. Ele é caracterizado por impulsos de luta/fuga e uma excitação do sistema nervoso simpático. Enquanto isso, a ansiedade é caracterizada por uma sensação desagradável de apreensão e antecipação a um estímulo aversivo em potencial, e resulta em aumento da vigilância e da tensão somática. Estas alterações causam um aumento atencional (somático e ambiental) que facilita a receptividade sensorial. Maier (1993) argumenta que o medo e a ansiedade representam qualitativamente estados emocionais distintos. Gray & Mcnaughton (1996) acreditam que estes podem envolver diferentes circuitos neurais.

De acordo com Pellow et. al., (1985) o labirinto em cruz elevado é um modelo animal validado do ponto de vista farmacológico, bioquímico e comportamental como teste de ansiedade no rato. Sua funcionalidade baseia-se na atividade exploratória espontânea e na aversão natural do animal pelos braços abertos. O teste consiste em colocar o animal no centro do aparato, dando a ele total liberdade de explorá-lo por cinco minutos. O número de entradas e tempo gasto nos braços abertos é usado como indicadores inversamente relacionados à ansiedade (PELLOW ET. AL., 1985; HOGG, 1996).

Uma vez que os ratos têm medo inato de lugares elevados e sem paredes laterais entram menos e ficam por menor tempo nos braços abertos, podendo assim ser avaliado o nível de ansiedade, ou seja, quanto maior for à ansiedade menos a porcentagem de entradas nos braços abertos, e tempo gasto no mesmo (PELLOW & FILE, 1986).

Para Camargo (1997) dentre as plantas usadas pela população para o combate aos sintomas de ansiedade, encontram-se as do gênero *Erythrina*, conhecidas popularmente sob diversas nomenclaturas, tais como bico-de-papagaio, comedoi, molongo-branco, muchocho, mulungu, murungu, pau-coral, pau-imortal, sananduva, suinã, e sapatinho-de-judeu (Figura 01).

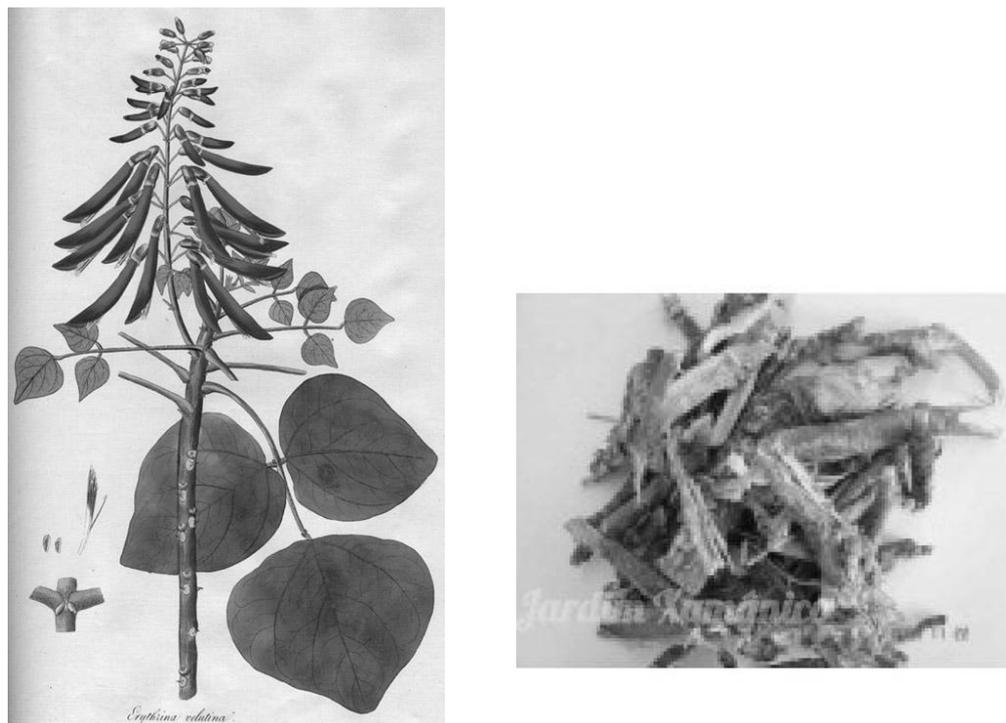


Figura 1: Imagens de plantas do gênero *Erythrina*, utilizada no combate a ansiedade. Fonte: <http://digi.azz.cz/showpage.php?BookID=7&PageID=66&lng=2>

Em relação à *Erythrina velutina*, seu potencial ansiolítico tem sido avaliado através de modelos animais de ansiedade (VASCONCELOS et al., 2004; RAUPP, 2006; RIBEIRO et al., 2006). É utilizada na medicina tradicional por seus efeitos no sistema nervoso central como calmante e sedativo (RAUPP, 2008). Na medicina popular, sua casca é utilizada como sudorípara, calmante e no tratamento de verminoses. Ao fruto seco, atribui-se ação anestésica local (LORENZI & MATOS, 2002).

Segundo Lorenzi e Matos (2002), nos Estados Unidos é usada por praticos e herbalistas para acalmar as crises de histeria proveniente de trauma ou choque, como sedativo hipnótico brando, calmante do sistema nervoso, inclusive para eliminar palpitações do coração, insônia e contra problemas hepáticos e hepatite.

O presente trabalho objetivou avaliar o feito da casca de *Erythrina velutina* (mulungu) em ratos machos submetidos ao labirinto em cruz elevado.

MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos deste estudo envolvendo animais estão de acordo com os princípios éticos adotados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Experimentação Animal (CEPEEA) da Universidade Paranaense – UNIPAR, protocolo no. 19331/ 2010.

Foram utilizados 20 ratos machos adultos com 90 dias de idade procedentes do Biotério da Universidade Paranaense, campus sede. Cada animal foi mantido em gaiola individual sob temperatura constante e alternância de ciclos de claro e escuro de 12 horas. Os

animais foram divididos em dois grupos:

Grupo controle – 10 animais receberão ração (National Research Council & National Health Institute – USA) e água.

Grupo experimental – 10 animais receberão à vontade a ração para roedores comercializada pela NUVITAL (recomendada pela National Research Council & National Health Institute – USA) e 5 g/ml em infusão na forma de chá do casca do caule de *Erythrina velutina* à vontade. O chá era trocado todos os dias, pelo período de 30 dias.

Utilizou-se um labirinto em cruz elevado, descrito detalhadamente por Lamprea, Cardenas, Silveira, Morato, & Walsh, 2000. O aparato consiste de duas superfícies horizontais de madeira com piso de fórmica, medindo 50x10 cm, justapostas pelas pontas com bordas de acrílico de 1 cm de altura (braços abertos), cruzados em ângulo reto com duas superfícies de igual tamanho, circundadas por paredes de 40 cm de altura (braços fechados) exceto na parte central onde os braços se cruzam. Todo o aparato eleva-se a 50 cm do piso. Circundando os braços abertos havia uma borda de acrílico de 1 cm de altura com a finalidade de evitar que os ratos caíssem (Figura 02).



Figura 2: Imagem da borda de acrílico utilizada para evitar que os ratos caíssem. Fonte: <http://nucleotavola.com.br/revista/ansiedade-o-que-os-ratos-tem-a-nos-dizer/>

Após o período de 30 dias de tratamento, os animais controle e experimental foram submetidos uma única vez no labirinto por 5 minutos, para evitar que eles aprendam ou acostumem com instrumento, interferindo nos resultados.

As sessões experimentais foram gravadas por uma câmera de vídeo que se encontrava na sala adjacente ligada a um monitor e a um aparelho de vídeo cassete. Para o registro do deslocamento de outros comportamentos do animal, sobre a tela da televisão, colocou-se uma transparência na qual se podia dividir a imagem do piso do labirinto em quadrados de 10 cm. Posteriormente, registrou-se o número de quadrados atravessados pelo animal e o local exato onde ocorreram os comportamentos gravados.

Para o teste comportamental, colocaram-se gentilmente cada animal na área central do labirinto com o focinho voltado para um dos braços fechados e se permitiu a livre exploração por 5 minutos. Depois de testar cada animal e aparato era limpo com uma solução de etanol de 20%. Registraram-se as medidas convencionais (número de entradas e tempo gasto nos braços), assim como a frequência e o tempo gasto nas categorias comportamentais descritas a seguir. (a) Mergulhar a cabeça: dirigir a cabeça abaixo do nível do piso do labirinto. Registraram-se também o número de entradas e o tempo gasto nas extremidades (20 cm distais) dos braços abertos e fechados.

RESULTADOS

Para avaliar se o chá influenciou na ansiedade, considerou-se que o número de entradas nos braços abertos e fechados, a porcentagem de tempo gasto nos braços abertos, o número de vezes que este passou na plataforma central, e seu comportamento dentro do labirinto.

No gráfico 1 que representa o número de entradas nos braços fechados não foi observado diferença estatística.

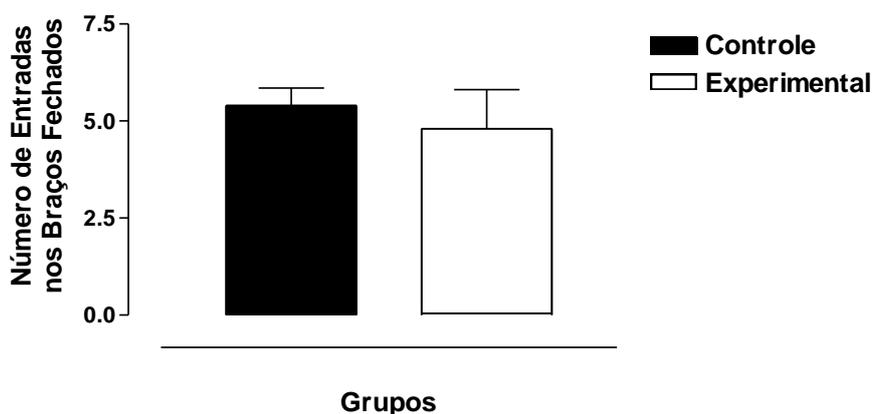


Gráfico 1. Número de entradas nos Braços Fechados de ratos do grupo controle e experimental. Não houve diferença estatística ($p=0.59$).

No gráfico 2 apresenta-se a porcentagem de entradas nos braços abertos. Os ratos do grupo experimental apresentaram uma porcentagem estatisticamente menor quando comparado ao grupo controle.

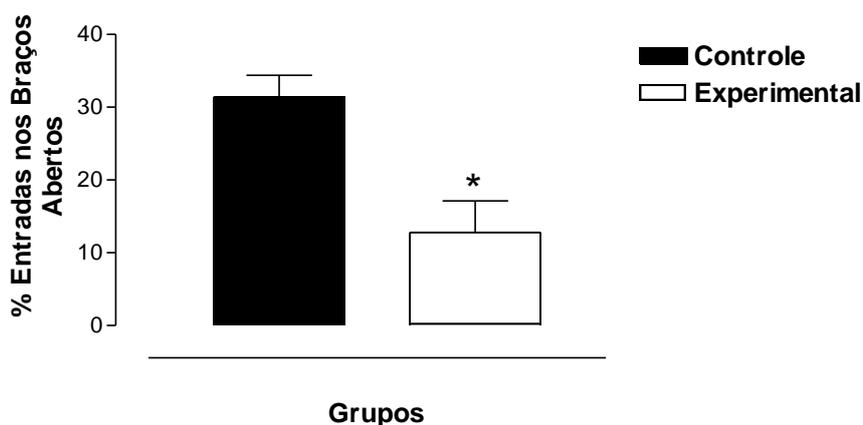


Gráfico 2. Porcentagem de Entradas nos Braços Abertos de ratos do grupo controle e experimental. * Indica diferença estatística ($p=0.0023$).

No gráfico 3 esta representado a percentagem de tempo gasto nos braços abertos. Os ratos do grupo experimental apresentaram uma percentagem estatisticamente menor quando comparado ao grupo controle.

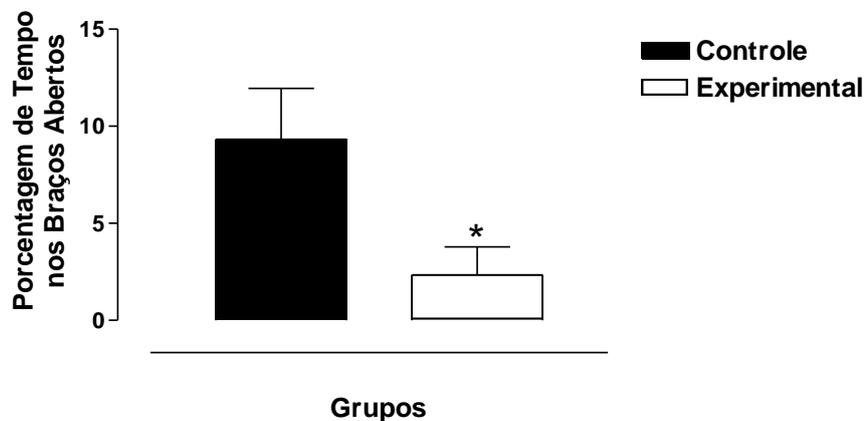


Gráfico 3. Porcentagem de Tempo nos Braços Abertos de ratos do grupo controle e experimental. * Indica diferença estatística ($p=0.0299$).

O gráfico 4 apresenta o número de vezes em que o rato foi até a plataforma central, porém não atravessou o braço. Este dado pode estar associado a um conflito entre curiosidade e o medo, não havendo diferença estatística.

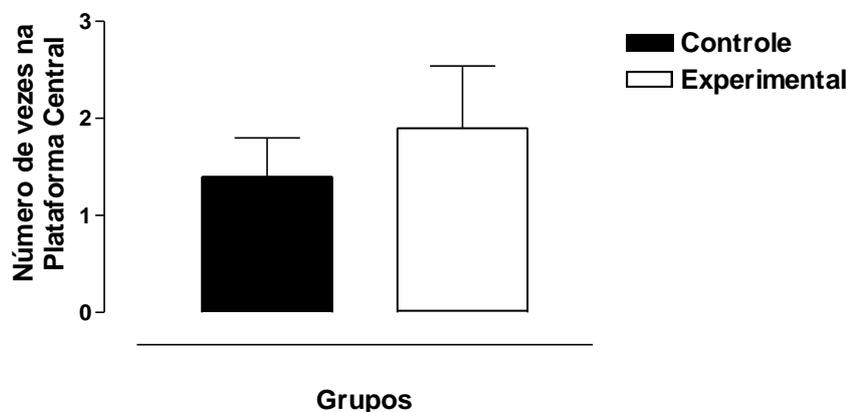


Gráfico 4. Número de vezes na plataforma central do grupo controle e experimental ($p=0.5162$).

DISCUSSÃO

O labirinto em cruz elevado é provavelmente o modelo animal de ansiedade mais empregado atualmente (CAROBREZ e BERTOGLIO, 2005). O comportamento exibido pelo animal durante o teste tem sido atribuído a aversão natural dos animais a espaços abertos, representada pela esquia dos braços abertos. Drogas ansiolíticas aumentam a exploração destas áreas sem alterarem a atividade locomotora dos animais (LISTER, 1987; CAROBREZ

e BERTOGLIO, 2005).

Handley & Macblane, (1993); Graeff et al., (1993) observaram que drogas ansiolíticas que atuam sobre o sistema serotoninérgico não apresentam efeito ansiolítico no modelo do labirinto em cruz elevado, ou podem apresentar até mesmo efeito ansiogênico. Tais evidências parecem enfraquecer a validade preditiva do modelo para drogas serotoninérgicas.

Portanto foi observado no presente estudo que o tratamento com o chá de *Erythrina velutina* não alterou a atividade locomotora dos animais, porém houve um aumento do número de entradas nos braços abertos, e a porcentagem de tempo nos braços abertos indica que houve aumento de ansiedade em função do uso do chá, o que indica que ao invés de diminuir a ansiedade, o chá aumentou a ansiedade nos animais por nós estudados durante 30 dias de tratamento.

Vasconcelos et al., (2004) observou em seus experimentos que o tratamento com as cascas de *Erythrina velutina* não apresentou efeitos ansiolíticos, o que corrobora resultados anteriores onde o extrato da casca do caule nas doses de 200 e 400 mg/kg não interferiram na atividade ansiolítica neste mesmo modelo.

Para Raupp (2008) um fator de interferência no comportamento dos animais no labirinto em cruz é a atividade locomotora, sendo que um efeito tipo ansiolítico ou ansiogênico só é considerado na ausência de alteração da atividade locomotora. Neste sentido, os tratamentos empregados no estudo não alteraram a atividade dos animais, avaliados pelo número de entradas nos braços fechados do labirinto em cruz elevado e pelo número de cruzamentos na caixa de movimentação espontânea.

Os resultados obtidos no presente trabalho fornecem importantes informações para futuros estudos clínicos voltados a avaliar o potencial efeito ansiolítico de preparações fitoterápicas de *Erythrina velutina* sobre o distúrbio de ansiedade.

CONCLUSÃO

A pesquisa indica que houve aumento de ansiedade nos ratos que fizeram uso do chá *Erythrina velutina* (mulungu), indicando que a planta tem efeito ansiogênico.

REFERÊNCIAS

BARLOW, D.H.; et al. Perspectives on anxiety, panic, and fear. Current theory and research in motivation. Lincoln, NE: University of Nebraska Press.1996;43: 251-328.

BERTOGLIO, L.; CAROBREZ, A.P. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the elevated plus-maze model 20 years on. Neuroscience and Biobehavioral Reviews. 2005; 29: 1193-1205.

BUENO, J.R.; Ansiedade e Transtornos de Ansiedade. Rio de Janeiro: Científica Nacional;1997. p. 388-399.

CAMARGO, M.T; Contribuição ao estudo etnobotânico de plantas do gênero *Erythrina* usadas em rituais de religiões afro-brasileiras. Revista do Instituto de Estudos Brasileiros, (IEB/USP), Universidade de São Paulo. 1997; 42: 179-189.

CARLINI, E.A.; Plants and the central nervous system. *Pharmacol Biochem Behav.* 2003; 75(3): 501-512.

GONZALES, L.E; FILE, S; OVERSTREET, D.H. Selectively bred lines of rats differ in social interaction and hippocampal 5-HT_{1A} receptor function: a link between anxiety and depression? *Pharmacology Biochemistry and Behavior.* 1997; 59: 787-792.

GRAY, J.A; MCNAUGHTON, N. *The Neuropsychology of Anxiety.* Lincoln, NE: Nebraska Press. 1996; 43:61-134.

GRAEFF, F.G.; VIANA, M.B.; TOMAZ, C. The elevated T maze, a new experimental model of anxiety and memory: effect of diazepam. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 1993; 26: 67-70.

HANDLEY, S.L.; MACBLANE, J.W. 5-HT drugs in animal models of anxiety. *Psychopharmacology.* 1993; 112: 13-2.

HOGG, S. A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety. *Pharmacology Biochemistry and Behavior,* 1996; 54 (1) : 21-30.

LAMPREA, M.R.; CARDENAS, F. P.; SILVEIRA, R.; MORATO, S.; WALSH, T. J. Dissociation of memory and anxiety in a repeated elevated plus-maze paradigm: forebrain cholinergic mechanisms. *Behavioral Brain Research.* 2000; 117:97-105.

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

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A., *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas.* Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, São Paulo. 2002.

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

PELLOW, S., CHOPIN, P. FILE, S. E., & BRILE, M. Validation of open: Closed arm entries in a elevated plus-Maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neuroscience Methods.* 1985; 14: 149-167.

PELLOW, S., & FILE, S. E. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior.* 1986; 24:525-526.

RAUPP, M. F. I. Efeito ansiolítico da administração prolongada do extrato de *Erythrina velutina* no labirinto em cruz elevado. Curitiba, 51p. 2006. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-graduação em Farmacologia, Universidade Federal do Paraná.

RAUPP, I.M. et. al. Anxiolytic-like effect of chronic treatment with *Erythrina velutina* extract in the elevated plus-maze test. J. Ethnopharmacol., 2008; 118(2) :295-299.

RIBEIRO, M.D. et. al. Effect of *Erythrina velutina* and *Erythrina mulungu* in rats submitted to animal models of anxiety and depression. Braz J Med Biol Res.2006; 39: 263-270.

VASCONCELOS, S.M. et. al. Central activity of hydroalcoholic extracts from *Erythrina velutina* and *Erythrina mulungu* in mice. J Pharm Pharmacol.2004; 56: 389-395.

VIRTUOSO, S. Estudo fitoquímico e biológico das cascas de *Erythrina velutina* Willd. – Fabaceae (Leguminosae – Papilionidae. 2005. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná. Curitiba.

ZANGROSSI JR., H.; GRAEFF, F.G. Behavioral validation of the elevated T-maze, a new animal model of anxiety. Brain Res. Bull. 1997; 44: 1-5.