

## ESTUDO DA ANSIEDADE EM RATOS WISTAR (*Ratus norvegicus*) EXPOSTOS AO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO E A INGESTÃO DO CHÁ *Citrus reticulata* (FOLHA DE TANGERINA)

Andréia Fernanda Zobolli Cavalheiro<sup>1</sup>, Kleber Fernando Pereira<sup>2</sup>, Fabio José Bianchi<sup>3</sup>, Larissa Renata de Oliveira<sup>4</sup>

### RESUMO

O conceito de ansiedade é complexo, sendo necessária uma visão interdisciplinar. A ansiedade refere-se a uma patologia que tem sido tratada com uso de psicofármacos e medicamentos industrializados. Neste trabalho foi pesquisado formas naturais para o tratamento da ansiedade, através de plantas medicinais utilizadas popularmente, testando o chá de folha de tangerina. Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do chá de folha de tangerina (*Citrus reticulata*) na ansiedade de ratos Wistar submetidos ao teste do labirinto em cruz elevado para verificar o poder ansiolítico da mesma. Para a avaliação da ansiedade foi utilizado o Labirinto em Cruz Elevado, um modelo validado do ponto de vista farmacológico, bioquímico e comportamental como teste de ansiedade no rato. Este se baseia na aversão do rato aos braços abertos e quando expostos em situações de perigo. Para avaliar se o chá teve efeito ansiolítico nos ratos, considerou-se o número de entradas nos braços abertos, fechados, na plataforma central e na porcentagem de tempo gasto nos braços abertos considerando o tempo total. Observamos que não houve alteração em relação ao número de entradas nos braços fechados, entre os grupos controle e experimental, desenvolvendo um comportamento oposto ao medo. Já na plataforma Central, houve maior exploração, demonstrando curiosidade e também aumento da porcentagem de exploração dos braços abertos, certificando-se que os animais estavam bem estáveis, durante a exploração do aparelho. Concluiu-se que o chá da folha de tangerina teve efeito ansiolítico em ratos expostos no teste.

**Palavras-chave:** ansiolítico; fitoterápico; produtos naturais.

### STUDY OF ANXIETY IN WISTAR RATS (*Ratus norvegicus*) EXPOSED TO THE ELEVATED PLUS AND INGESTION OF RETICULATA CITRUS TEA (TANGERINE LEAF)

### ABSTRACT

The concept of anxiety is complex and requires a multidisciplinary approach. Anxiety refers to a disease that has been treated with the use of industrialized and psychotropic drugs. This study has investigated natural forms for the treatment of anxiety by popularly medicinal plants. In this way, this study aimed to investigate the effect of Tangerine leaf tea (*Citrus reticulata*) in the anxiety of Wistar rats submitted to maze test in high cross. For assessment of anxiety Elevated Plus Maze was used, a validated model of pharmacological, biochemical and behavioral point of view as anxiety test in rat. This test is based on the rat's aversion to the open arms and exposition to danger. To evaluate whether the tea had anxiolytic effect in rat, the number of entries into the open arms, closed, central platform and percentage of time spent in the open arms considering the total time were evaluated. It was observed that there was no change in the number of closed arm entries between the control and experimental groups. In central platform, there was a greater exploration that demonstrates curiosity and also increases the percentage of exploration in open arms, what shows that the animals were very stable. It was concluded that tangerine leaf tea has anxiolytic effects in rats exposed to the Labyrinth.

**Keywords:** anxiolytic; polyherbal; natural products.

<sup>1</sup> Curso de Biomedicina da Universidade Paranaense.

<sup>2</sup> Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás – Regional Jataí.

<sup>3</sup> Curso de Odontologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná- Campus Cascavel.

<sup>4</sup> Departamento de Ciências Morfológicas da Universidade Estadual de Maringá.

## INTRODUÇÃO

O conceito de ansiedade é complexo e estudado sobre diferentes visões, tendo definições complexas que tentam ser únicas. Portanto, é necessária uma abordagem interdisciplinar que inclua os componentes psicológico, fisiológico e social. A exposição do organismo a estímulos aversivos e pré-aversivos, controláveis ou incontrolláveis, produz uma condição fisiológica concomitante a uma mudança na forma de resposta do organismo (1).

O termo ansiedade vem do grego (*anseiem*) e significa estrangular, sufocar, oprimir, termo esse que se refere à experiência subjetiva característica da condição. A desordem da ansiedade compreende um estado de apreensão que perdura por longo tempo, cuja causa não é identificada, sendo geralmente acompanhada de tensão motora e hiperatividade neurovegetativa, manifestações autonômicas, tais como palpitação, dificuldade de respirar, transpiração, micção e aumento de peristaltismo (2).

Levando em conta o aspecto técnico, deve-se entender a ansiedade como um fenômeno animal que ora beneficia ora prejudica, dependendo de sua intensidade, podendo se tornar patológica, isto é prejudicial ao funcionamento psico e somático (3). Quando a ansiedade se torna patológica passa-se a considerá-la um sintoma ou um transtorno, podendo ser incluída num grupo de distúrbios, denominados transtornos ansiosos (4).

No plano cognitivo, a ansiedade manifesta-se por pensamentos de que alguma coisa ruim vai acontecer, estas manifestações são designadas como preocupação, podendo ser tão intensa que interfere na capacidade de concentração e no desempenho de tarefas intelectuais. O nível de vigilância está aumentado, dificultando a conciliação do sono, que se torna agitado e entrecortado por períodos de despertar, além de manifestações psicológicas, a ansiedade e o medo produzem mudanças fisiológicas (3-4).

Esta patologia tem sido tratada com o uso de psicofármacos, testados e comprovados cientificamente, mas existem formas conhecidas popularmente, com plantas medicinais que diminuem seus sintomas (5).

O emprego das plantas medicinais na recuperação da saúde tem evoluído ao longo dos tempos desde as formas mais simples de tratamento local, provavelmente utilizada pelos antepassados ancestrais até as formas tecnologicamente sofisticadas da fabricação industrial utilizadas pelo homem moderno. Mas apesar das enormes diferenças entre duas maneiras de uso, existe um fato comum entre elas: em ambos os casos o homem percebeu, de alguma forma, que o uso de misturas, chás, tinturas, tem propriedade de provocar reações benéficas no organismo capaz de resultar na recuperação da saúde (6).

É importante conhecer as propriedades dessas plantas, para a administração adequada, determinando a quantidade e a dosagem para o efeito esperado. Por exemplo, plantas usadas para induzir a sonolência, seriam capazes de acalmar, se usada em dosagens menores (5). Plantas cujos frutos usualmente tinham efeito laxante poderiam ser usadas com parcimônia para regularizar o intestino preguiçoso (5). Todo esse conhecimento foi passado oralmente de gerações, que juntamente com mitos e rituais, formavam parte importante das culturas locais (6).

A tangerina é considerada uma variedade de citrus, cujo nome científico *Citrus reticulata*, pertencente à família Rutaceae, conhecida popularmente como mandarina, bergamota, mexerica, mandarino, laranja-cravo. Sua árvore atinge 4 a 5m de altura, com folhas alternas, elípticas, pontudas, aromáticas, flores brancas isoladas ou reunidas nas axilas das folhas, muito perfumadas; fruto de casca solta amarela, suco abundante, sementes claras. Contém óleo, essências cítricas, ferro, vitaminas A, B, C, sendo indicada como diurética, calmante, antiparasítica (6).

O labirinto em cruz elevado é um modelo validado do ponto de vista farmacológico, bioquímico e comportamental como teste de ansiedade no rato (7). Este teste baseia-se na verificação de que o rato e outros roedores evitam os braços abertos e elevados. Quando neles confinados, mostram sinais de medo e aumenta o nível plasmático do hormônio de estresse, cortisona. Baseando-se nessas evidências, a pesquisadora inglesa Sheila Handley criou o labirinto em cruz elevado. Este é constituído de dois braços cercados por paredes, colocados perpendicularmente a dois braços abertos,

estando o conjunto elevado em relação ao assoalho. O rato é colocado na região central, permitindo-se que o animal explore o aparelho por 5 a 10 minutos (4).

Sendo assim, esta pesquisa tem como objetivo avaliar o efeito do chá de folha de tangerina (*Citrus reticulata*) na ansiedade, em ratos Wistar submetidos ao teste do labirinto em cruz elevado para verificar o poder ansiolítico da mesma.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 20 ratos Wistar (*Ratus novicergus*) 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.

Todos os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com o Comitê de ética em Experimentação Animal e aprovação sob o n. 054/2011.

Os animais foram divididos em dois grupos:

- Grupo controle – 10 animais receberam ração comercial *ad libitum* - Nuvilab - CR1 (National Research Council & National Health Institute – USA) e água.

- Grupo experimental – 10 animais receberam ração comercial *ad libitum* - Nuvilab - CR1 e 5 g/mL em infusão na forma de chá de *Citrus reticulata* colocadas nos bebedouros dos animais.

Utilizou-se um labirinto em cruz elevado, cujo 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. 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 (7).

Para o teste comportamental, cada animal foi colocado 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 o aparato foi higienizado com uma solução de etanol de 20%. Registraram-se as medidas convencionais (número de entradas e tempo gasto nos braços), assim como a frequência de permanência na plataforma central.

Para análise dos dados foi utilizado câmera fotográfica (Sony  $\alpha$ 200 - 10.2 mpx), onde foi possível registrar durante 5 minutos o comportamento do animal para posterior análise. Para maior confiabilidade dos resultados os avaliadores não sabiam o tratamento que o animal havia exposto e todos os dados foram analisados por dois observadores previamente treinados. Os dados foram analisados por meio do teste t de Student, através do programa computadorizado Prisma 2.0, com nível de significância de 5%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para avaliar se o chá influenciou na ansiedade, considerou-se 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.

Na figura 1, que representa o número de entradas nos braços fechados não foi observado diferença estatística, o que permite inferir que o chá não interferiu com a atividade locomotora dos animais.

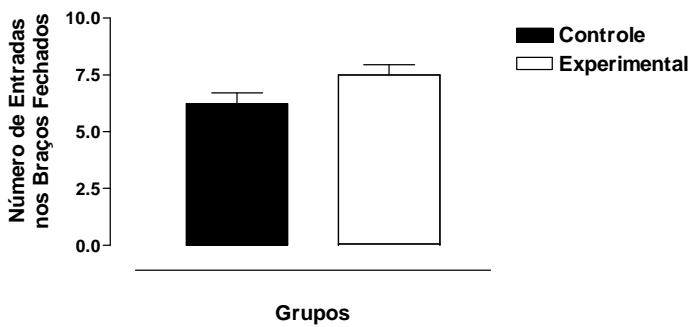


Figura 1. Número de entradas nos braços fechados de ratos do grupo controle e experimental.

A figura 2. Apresenta-se a porcentagem de entradas nos braços abertos. Não houve diferença estatística entre os grupos analisados.

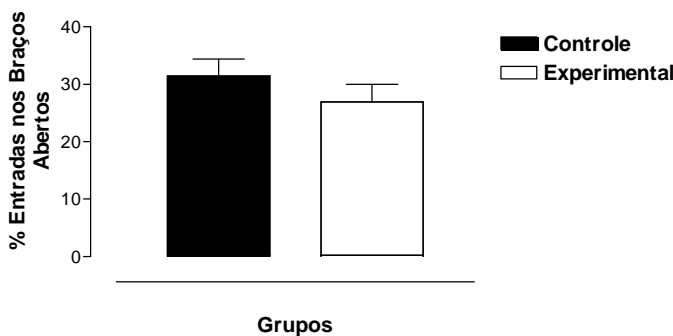


Figura 2. Porcentagem de entradas nos braços abertos de ratos do grupo controle e experimental.

Figura 3. Representa a porcentagem de tempo gasto nos braços abertos. Os ratos do grupo experimental apresentaram uma porcentagem estatisticamente maior quando comparado ao grupo controle.

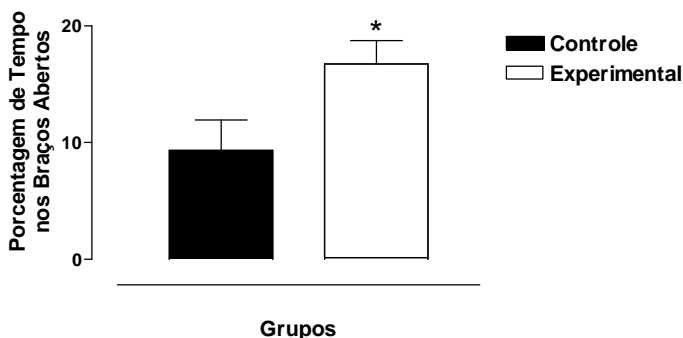


Figura 3. Porcentagem de tempo nos braços abertos de ratos do grupo controle e experimental. \* Indica diferença estatística ( $p=0.0463$ ).

Figura 4. Representa o número de vezes em que o rato foi até a plataforma central, porém não atravessou o braço.

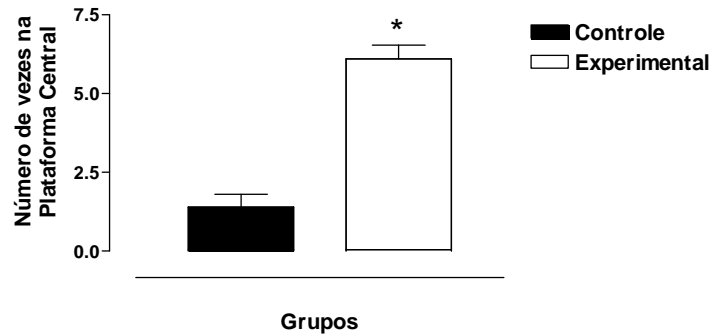


Figura 4. Número de vezes na plataforma central do grupo controle e experimental ( $p<0.0001$ ).

## DISCUSSÃO

O que levou este trabalho a avaliar o comportamento de ratos expostos ao Labirinto em Cruz Elevado, para comprovar o efeito ansiolítico da *Citrus Reticulata* foi o fato dela ser popularmente indicada como diurético, antiparasítica e inclusive com propriedades calmantes. Os resultados mostram que não houve alteração em relação ao número de entradas nos braços fechados do grupo controle e experimental, desta forma não houve alteração da atividade locomotora, que muitos ansiolíticos causam (10).

O teste se baseia na exposição do animal a um ambiente novo, o que por sua vez provoca reação de medo e diminuição do comportamento exploratório (9). Na exploração dos braços fechados, verificou-se que o animal do grupo experimental desenvolveu um comportamento oposto ao medo.

Vale ressaltar que houve aumento no tempo gasto nos braços abertos, que de acordo com HANDLEY e McBLANE (11), este pode ser especialmente aumentado por ansiolíticos, o que comprova a diminuição da ansiedade dos animais do grupo experimental em relação ao grupo controle. Assim, sugere-se que o chá de folha de tangerina tem efeito ansiolítico.

No presente estudo os resultados se mostraram satisfatórios, pois em curto período de tempo (30 dias), a administração do chá teve efeito ansiolítico em se tratando de uma

planta pouco estudada até então, não encontrado relatos ou estudos no tratamento da ansiedade, com chá ou extrato da folha de *Citrus Reticulata*.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

É relevante evidenciar que o chá não alterou a locomoção dos animais, pois alguns fármacos utilizados no mercado têm efeitos como a: sonolência, lentidão, além de diminuir a capacidade de atenção dos usuários, oposto ao desempenho mostrado nos resultados que indicaram aumento de locomoção motora dos animais que, além disso, exploraram o labirinto

de maneira, apresentando curiosidade, sem representação de medo ou esquiva. Desta forma, o produto testado pode ativar vias cerebrais que diminuem a ansiedade sem diminuir a atenção.

Os resultados obtidos no presente trabalho fornecem relevantes informações para futuros estudos clínicos voltados a avaliar o potencial efeito ansiolítico de preparações fitoterápicas de *Citrus Reticulata* sobre o distúrbio de ansiedade. Assim, concluí-se que o chá de folha de tangerina é eficaz na redução da ansiedade neste teste aplicado.

**Larissa Renata de Oliveira:**

*Endereço para correspondência:* Rua João Domingues  
Valadares, 53B, CEP 87060-060, Maringá - Pr,  
larissarenataoliveira@yahoo.com.br

Recebido em 03/04/2012

Revisado em 27/05/2012

Aceito em 24/10/2012

## REFERÊNCIAS

- (1) OLIVEIRA, M.A.; DUARTE A.M.M. Controle de respostas de ansiedade em universitários em situações de exposições orais. **Rev. Bras. de Terapia Comportamental e Cognitiva**, v. 6, p. 183-19, 2004.
- (2) PEDRASSA, E.L.; RIBOLDI, G.P.; PEREIRA, G.S.; IZQUIERDO, I.A.; BONAN, C.D. Habituation to an open field alters ecto-nucleotidase activities in rat hippocampal synaptosomes. **Neurosci Lett.**, v. 11, p. 212-225, 2006.
- (3) SILVA, A.L.P. O tratamento da ansiedade por intermédio da acupuntura: um estudo de caso. **Psicol. cienc. prof.**, v. 30, P. 148-52, 2010.
- (4) GRAFF F.G. SILVEIRA F. Fundamentos de psicofarmacologia. In: KAPCZINSKI F. QUEVEDO J. IZQUIERDO I. **Bases biológicas dos transtornos psiquiátricos**. 2004.
- (5) CRAVO, A. B. **Frutas e ervas que curam**. Hemus Editora, 2003.
- (6) LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil nativas e exóticas**. Plantarum, 2002.
- (7) MARTINEZ, R.; GARCIA, B.M.A.; MORATO, S. Papel da luminosidade do biotério no comportamento do rato no labirinto em cruz elevado. **Revista Estudos de Psicologia**, v.10, p. 239-245, 2005.
- (8) 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**. v. 117, p. 97-105, 2000.
- (9) BELZUNG, C.; LE PAPE, G. Comparison of Different Behavioral Test Situations Used in Psychopharmacology for Measurement of Anxiety. **Rev. Physiology and Behavior**, v. 56 p. 623-628, 1994
- (10) PINHEIRO, A.G. Envolvimento dos receptores – HT da Amígdala nos níveis de Ansiedade Induzidos pela Exposição de Ratos ao Labirinto Cruz Elevado. **Rev Psicologia: Teoria e Pesquisa**. v.18, p.329-395, 2002.
- (11) HANDLEY, S.L.; McBLANE, J.W. An assessment of the elevated X-maze for studying anxiety and anxiety-modulating drugs. **J. Pharmacol. Toxicol. Meth.**, v.29.p.129-138, 1993.
- (12) PELLOW, S.; CHOPIN, P.; FILE, S. E.; BRILEY, M. Validation of open, closed arms entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **J. Neurosci. Meth.**, v.14 p.149-167. 1985.
- (13) TREIT, D. Animal models for the study of anti-anxiety agents, a review. **Rev Neurosci.**, v. 9, p.203-222, 1985.
- (14) MONTGOMERY, K. C. The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory behavior. **J. Comp. Physiol. Psychol.**, v. 48, p. 254-260, 1955.