

UNIVERSIDADE DE MARÍLIA

RENAN SANTIAGO PEREIRA

EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DO EXTRATO DE *VALERIANA OFFICINALIS* EM RATOS Wistar SUBMETIDOS A ESTRESSE NO MODELO MODIFICADO DE NATAÇÃO FORÇADA

MARÍLIA

2020

RENAN SANTIAGO PEREIRA

EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DO EXTRATO DE *VALERIANA OFFICINALIS* EM RATOS WISTAR SUBMETIDOS A ESTRESSE NO MODELO MODIFICADO DE NATAÇÃO FORÇADA

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Interações Estruturais e Funcionais na Reabilitação da Universidade de Marília para obtenção do título de Mestre em Interações Estruturais e Funcionais na Reabilitação, na área de concentração Bases Estruturais e Funcionais da Reabilitação

Orientadora: Profa. Dra. Elen Landgraf Guiguer

Coorientador: Prof. Dr. Adriano Cressoni Araujo

MARÍLIA

2020

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, por processos fotocopiadores e outros meios eletrônicos.

Assinatura: Renan Santiago Pereira

Data: 11 / 12 / 2020

Comitê de Ética em Uso Animal

Protocolo nº – 017/2019

Data: 26/06/2019

Pereira, Renan Santiago

Efeitos da administração aguda do extrato de Valeriana Officinalis em ratos Wistar submetidos a estresse no modelo modificado de natação forçada / Renan Santiago Pereira. - Marília: UNIMAR, 2020.

42f.

Dissertação (Mestrado Interdisciplinar em Interações Estruturais e Funcionais na Reabilitação – Arquitetura, Estrutura e suas Relações com a Reabilitação Funcional) – Universidade de Marília, Marília, 2020.

Orientação: Profa. Dra. Elen Landgraf Guiguer

1. Ansiedade 2. Modelos Animais 3. Ratos Wistar 4. Valeriana Officinalis I. Pereira, Renan Santiago

CDD – 616.8914

FOLHA DE APROVAÇÃO

RENAN SANTIAGO PEREIRA

EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DO EXTRATO DE *VALERIANA OFFICINALIS* EM RATOS WISTAR SUBMETIDOS A ESTRESSE NO MODELO MODIFICADO DE NATAÇÃO FORÇADA

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Interações Estruturais e Funcionais na Reabilitação da Universidade de Marília para obtenção do título de Mestre em Interações Estruturais e Funcionais na Reabilitação, na área de concentração Bases Estruturais e Funcionais da Reabilitação.

Orientador: Profa. Dra. Elen Landgraf Guiguer

Aprovado em: 11 / 12 / 2020

Coordenação do Programa de Mestrado em Interações Estruturais e Funcionais na Reabilitação

Considerações: _____

DEDICATÓRIA

Eu não poderia deixar de dedicar esse feito primeiramente a Deus que sempre me guardou e por linhas tortas sempre me guiou ao certo!

Em seguida e não menos importante dedicar a minha mãe Edna que sempre fez o impossível para me apoiar e sempre acreditou na minha capacidade até mesmo quando eu desacreditei. Agradecer também minha amada avó Maria que também sempre me ajudou e foi minha maior fã até muito pouco tempo, quando sua razão já está começando a lhe faltar...

Também dedico este trabalho a todos, são muitos os nomes para mencionar que direta ou indiretamente fizeram parte de todo este maravilhoso processo em minha vida!

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente, todos que puderam compartilhar comigo essa imensidão de conhecimento e troca de experiências adquiridas ao longo dessa trajetória conheci pessoas incríveis, dentre elas:

Aos professores Rogério, Daniela, Adriano, Sandra, Maricelma, Uri, Mauro e em especial a professora Elen que tenho muito orgulho em ter tido como minha orientadora, pois, além de um currículo e um dom excepcional na arte de ensinar, também conseguiu me orientar e me guiar de forma brilhante durante esse percurso, serei grato não apenas aqui mais pela vida toda!

Aos companheiros de pesquisa Annik e Airton pelo auxílio inestimável e pela amizade, meus sinceros agradecimentos.

Agradeço também a Universidade de Marília, que considero minha casa, foi aqui que comecei a aprender a sonhar, devo a esta casa muito do que aprendi ao longo da minha carreira profissional e para mim é uma honra estar novamente aqui, agora como Mestrando.

Por último mais não menos importante, agradeço o companheirismo e as amizades que ganhei aqui, pois nem só de estudo se concretiza um trabalho, as relações humanas e a troca de experiências são tão importantes quanto. Pessoas de diferentes áreas de trabalho e atuação que hoje posso chamar de amigos! Meus eternos agradecimentos!

AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS

Agradeço imensamente:

Ao Dr. Márcio Mesquita Serva, Magnífico Reitor da Universidade de Marília;

A Profa. Regina Lúcia Ottaiano Losasso Serva, Magnífica Vice-reitora da Universidade de Marília;

A Profa. Dra. Fernanda Mesquita Serva, Digníssima Pró-reitora de Pesquisa, Pós-graduação e Ação Comunitária da Universidade de Marília;

Ao Sr. Marco Antônio Teixeira, Digníssimo Pró-reitor Administrativo da Universidade de Marília;

Ao Prof. José Roberto Marques de Castro, Digníssimo Pró-reitor de Graduação da Universidade de Marília;

A Dra. Márcia Mesquita Serva Reis, Diretora Superintendente do Hospital Beneficente UNIMAR;

Ao coordenador do programa de pós-graduação Prof. Dr. Rogério Leone Buchaim;

Aos docentes do Programa de Mestrado em Interações Estruturais e Funcionais na Reabilitação;

Às secretárias da Pós-graduação Thaís Helena Camprubi Brunetti e Andréa dos Santos Infante Hermínio.

Muito obrigado a todos!

EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA DO EXTRATO DE *VALERIANA*
OFFICINALIS EM RATOS WISTAR SUBMETIDOS A ESTRESSE NO MODELO
MODIFICADO DE NATAÇÃO FORÇADA

RESUMO: O estresse é uma resposta natural que ocorre frente a situações de perigo ou ameaça, podendo produzir uma reação fisiológica acompanhada de alterações emocionais caracterizadas por medo e ansiedade, podendo estar presente nos transtornos como os de ansiedade e do estresse pós-traumático. Afetam parte considerável da população e podem levar a prejuízo psicológico, social e profissional. Para tratamento farmacológico desses transtornos podem ser utilizados fármacos pertencentes à classe dos benzodiazepínicos e dos antidepressivos. Os benzodiazepínicos apresentam potencial para abuso, dependência e abstinência e os antidepressivos podem provocar alguns efeitos indesejados como arritmias, hipotensão postural e outros. Nesse sentido, a pesquisa de tratamentos eficazes e mais seguros se faz necessária. Atualmente a *Valeriana officinalis* (*V. officinalis*) é uma planta muito utilizada para o tratamento de estresse, perturbações do sono e estados de ansiedade. Em estudos farmacológicos, os componentes de valeriana demonstraram efeitos sedativos, pois, o ácido valerênico e outros constituintes de valeriana têm sido encontrados como sendo agonistas de GABA. O presente trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos comportamentais da administração aguda do extrato de *V. officinalis* em ratos Wistar machos submetidos ao modelo modificado de natação forçada. Foram utilizados 32 ratos Wistar machos provenientes do Biotério Central da Universidade de Marília. Os animais foram divididos em 4 grupos (n = 8), tratados via gavagem, sendo: G1 e G2 – tratados com salina; G3 e G4 – tratados respectivamente com extrato de *V. officinalis* nas doses de 22 e 66 mg/Kg. Para indução de estresse, os grupos G2, G3 e G4 foram submetidos a natação na qual foram avaliados os tempos de locomoção e imobilidade. Adicionalmente, todos os grupos tiveram o comportamento avaliado no modelo de labirinto em cruz elevado (LCE). Os animais submetidos a natação apresentaram menor permanência nos braços abertos do LCE, indicando que o modelo utilizado foi adequado para induzir comportamento de ansiedade. Porém, não houve diferença significativa no tempo de imobilidade durante a natação e no tempo de permanência nos braços abertos e no índice de ansiedade, avaliados no LCE, indicando que nas doses utilizadas a administração do extrato de *V. officinalis* não foi capaz de atenuar os níveis de ansiedade.

Palavras-chave: *Valeriana officinallis*, ansiedade, ratos wistar, modelos animais.

EFFECTS OF ACUTE ADMINISTRATION OF VALERIANA OFFICINALIS EXTRACT
IN WISTAR RATS SUBMITTED TO STRESS IN THE MODIFIED FORCED
SWIMMING MODEL

ABSTRACT: Stress is a natural response that occurs in situations of danger or threat, and can produce a physiological reaction accompanied by emotional changes characterized by fear and anxiety. Despite being an important adaptive response, it can be exacerbated in disorders such as anxiety and post-traumatic stress disorders, which affect a considerable part of the population and can lead to psychological, social and professional damage. The pharmacological treatment of these disorders is based on drugs belonging to the class of benzodiazepines and antidepressants. Benzodiazepines have the potential for abuse, dependence and abstinence and antidepressants can cause some unwanted effects such as arrhythmias, postural hypotension and others. In this sense, the search for effective and safer treatments is necessary. Currently, *Valeriana officinalis* is a plant widely used for the treatment of stress, sleep disorders and anxiety states. In pharmacological studies, valerian components have demonstrated sedative effects, since valerianic acid and other constituents of valerian have been found to be GABA agonists. This study aimed to evaluate the behavioral effects of the acute administration of *Valeriana officinalis* extract in male Wistar rats submitted to the modified forced swimming model. Thirty two rats from the Central Vivarium of the University of Marília were used. The animals were divided into 4 groups (n = 8), treated via gavage: G1 and G2 were treated with saline solution; G3 - treated with Valerian extract at a dose of 22mg/Kg, and G4, treated with Valerian extract at a dose of 66mg/Kg. For stress induction, groups G2, G3 and G4 underwent swimming in which locomotion and immobility times were evaluated. In addition, all groups had their behavior evaluated in the elevated plus-maze model (EPM). The animals submitted to swimming showed less permanence in the open arms of the EPM, indicating that the model used was adequate to induce anxiety behavior. However, there was no significant difference in immobility time during swimming and length of stay in the open arms and in the anxiety index, assessed in the EPM, indicating that in the doses used, the administration of *V. officinalis* extract was not able to attenuate the anxiety levels.

Key-words: *Valeriana officinallis*, anxiety, Wistar rats, animals models.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Aparato para avaliação do comportamento no modelo de labirinto em cruz elevado.....20
- Figura 2.** Efeito da administração aguda do extrato de *V. officinalis* sobre o tempo de movimentação no modelo modificado de natação forçada.....22
- Figura 3.** Efeito da administração aguda do extrato de *V. officinalis* sobre o tempo de imobilidade no modelo modificado de natação forçada.....22
- Figura 4.** Efeitos da natação e da administração aguda do extrato de *V. officinalis* no tempo de permanência nos braços abertos e fechados no modelo de labirinto em cruz elevado.....23
- Figura 5.** Efeitos da natação e da administração aguda do extrato de *V. officinalis* sobre a porcentagem de tempo de permanência nos braços abertos e fechados no modelo de labirinto em cruz elevado.....24
- Figura 6.** Efeitos da natação e da administração aguda do extrato de *V. officinalis* sobre a locomoção no modelo de labirinto em cruz elevado.....24
- Figura 7.** Efeitos da natação e da administração aguda do extrato de *V. officinalis* sobre o índice de ansiedade no modelo de labirinto em cruz elevado.....25
-

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 12 |
| 2. OBJETIVO | 16 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS | 18 |
| 3.1 Material vegetal | 18 |
| 3.2 Animais e protocolo experimental..... | 18 |
| 3.2.1. Modelo modificado de natação forçada | 18 |
| 3.2.2 – Avaliação do efeito da administração aguda do extrato de <i>V. officinalis</i> | 19 |
| 3.2.3 – Teste do labirinto em cruz elevado (LCE) | 19 |
| 3.3 – Análise estatística | 20 |
| 4. RESULTADOS | 22 |
| 4.1 - Avaliação do comportamento no modelo modificado de natação forçada | 22 |
| 4.2 - Avaliação do comportamento no modelo de LCE..... | 23 |
| 6. DISCUSSÃO | 27 |
| 5. CONCLUSÃO | 33 |
| REFERÊNCIAS | 35 |
| ANEXO | 41 |

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

O estresse é um problema cada vez mais frequente na sociedade moderna estando presente em aproximadamente 90% da população mundial (KUREBAYASHI et al; 2016). Consiste em uma resposta inespecífica, na qual o organismo diante de um estressor produz uma reação fisiológica acompanhada por uma resposta emocional concomitante (CHROUSOS, 2009; De KLOET et al., 2005; KOOLHAAS, 2011). Essa resposta emocional é determinada em parte pela percepção da iminência da ameaça, ou ainda pela antecipação de uma ameaça futura, expressos como medo e ansiedade (ANDERSON e ADOLPHS, 2014; DAVIS et al., 2010; HIDE et al., 2019).

Nos últimos 50 anos, o conceito de estresse evoluiu significativamente, acompanhado de uma melhor compreensão da neurobiologia subjacente. Em vez de considerar a biologia do estresse relevante apenas sob condições incomuns e ameaçadoras, atualmente ele é compreendido como um processo contínuo e adaptativo de avaliação do ambiente, enfrentamento e capacitação do indivíduo para antecipar e lidar com os futuros desafios (McEWEN e AKIL, 2020), onde a exposição a situações aversivas pode provocar respostas complexas que influenciam o cérebro e o comportamento, além dos sistemas imune e neuroendócrino. Nesse sentido pode-se dizer que a ansiedade apresenta componentes neurocomportamentais em resposta à exposição aguda ou crônica a agentes estressores (RAY, GULATI e RAI, 2017).

A ansiedade é um estado emocional associado à percepção de ameaça, caracterizada por sentimentos de apreensão, devido à expectativa de ameaça potencial ou de resultados negativos (KRAEUTER, GUEST e SARNYAI, 2019), estando presente no quadro clínico de Transtornos relacionados a traumas e a estressores. Tais transtornos são quadros psiquiátricos que se manifestam a partir da exposição a uma condição traumática ou estressante, levando a sofrimento psicológico associado a prejuízo social, profissional e em outras áreas importantes da vida do indivíduo (APA, 2013).

O transtorno de estresse pós-traumático (TEPT), está inserido nos Transtornos relacionados a traumas e a estresse, sendo uma síndrome que resulta da exposição ou ameaça de morte, ferimentos graves ou agressão sexual. Após o evento traumático, o TEPT é comum e é uma das graves preocupações de saúde associadas à comorbidade, prejuízo funcional e aumento da mortalidade com

ideações e tentativas de suicídio. Os sintomas incluem reviver persistentemente o evento traumático, pensamentos intrusivos, pesadelos, flashbacks, dissociação (desapego de si mesmo ou da realidade) e intensa reação emocional negativa (tristeza, culpa) e fisiológica ao ser exposto ao lembrete traumático. Além disso, também ocorrem problemas de sono e concentração, irritabilidade, aumento da reatividade, hiper vigilância, evitação de gatilhos traumáticos (APA, 2013).

Afeta de 1-14% da população, sendo mais prevalente em mulheres adultas, podendo variar de acordo com a fase do desenvolvimento, profissão, risco de exposição a fatores desencadeantes. (MARTINS-MONTEVERDE et al., 2017; VALENTE et al., 2011).

Nas pessoas com TEPT, o risco de comorbidades chega a 80%, com destaque para transtornos por abuso de substância, depressão, transtorno de conduta e transtornos de ansiedade (MARGIS, 2003; JOWETT et al., 2019).

O tratamento farmacológico do TEPT é baseado no uso de fármacos para controlar os sintomas e incluem antidepressivos tricíclicos, inibidores seletivos da recaptura de serotonina, estabilizadores de humor, antipsicóticos tradicionais e atípicos e ansiolíticos como os benzodiazepínicos (BERNIK et al., 2003).

No entanto os últimos apresentam potencial para abuso, dependência e abstinência e os antidepressivos e antipsicóticos podem causar efeitos indesejados como arritmias, priapismo e hipotensão postural dentre outros (AKINNUSI e EI SOLH, 2019). Dessa forma, a busca por novas abordagens terapêuticas é importante.

Nesse sentido, as terapias complementares, especialmente o uso de plantas medicinais tratamento de transtornos de ansiedade tem sido crescente nos últimos anos (DANTAS et al., 2017; LIU, et al., 2015; SARRIS, 2017), com destaque para as espécies do gênero *Valeriana*.

O gênero *Valeriana* inclui várias espécies amplamente utilizadas, dentre as quais se destaca a *V. officinalis* (SHINJYO, WADDELL e GREEN, 2020; THOMAS et al., 2016). Esta planta tem sido utilizada desde a antiguidade para diversos problemas de saúde. Existem evidências de efeitos antiespasmódicos, hipnóticos, sedativos, anticonvulsivantes, ansiolíticos e antidepressivos. Atualmente tem sido usada principalmente para distúrbios do sono e ansiedade (LANS, 2019; GUADAGNA et al., 2020).

Foram identificados mais de 150 constituintes na *Valeriana*, dentre os quais podemos destacar alcalóides, flavononas, sequiterpenos como o ácido valerênico,

valepotriatos (SAVAGE et al, 2018; NANDHINI et al., 2018) e aminoácidos como ácido aminobutírico (GABA), tirosina, arginina, glutamina e hidrocarbonetos (YAO et al., 2007). Seus efeitos ansiolíticos e sedativos avaliados em ensaios pré-clínicos têm sido atribuídos a interações dos valepotriatos, ácido valerênico e outros componentes com o Sistema GABAérgico (BECKER et al., 2014; SAVAGE et al, 2018).

Muitos ensaios pré-clínicos podem ser realizados utilizando modelos animais, que proporcionam vantagens como análise neurobiológica, manipulação experimental de componentes cerebrais específicos e a possibilidade de rastrear novas drogas com potencial clínico (HARRO, 2018).

Esses modelos devem ser capazes de reproduzir os sintomas, tanto biológicos quanto comportamentais observados em humanos (KRAEUTER, GUEST e SARNYAI, 2019).

Nesse sentido, uma das alternativas é avaliar a resposta intensificada de ansiedade condicionada, onde o animal é exposto a um evento traumático já vivenciado através da utilização modelos que utilizem estressores físicos como choque elétrico, trauma subaquático e contensão física ou ainda estressores sociais ou psicológicos (WHITAKER et al., 2014).

Nos roedores, a avaliação do comportamento de ansiedade, componente presente no TEPT pode ser realizada através do modelo do labirinto em cruz elevado (LCE), que consiste em um aparato de quatro braços elevados saindo de uma plataforma central, dos quais dois braços opostos apresentam uma parede e os dois restantes devem ser abertos (Figura 1). Assim, esse teste é útil na descoberta e seleção de novos compostos com propriedades ansiolíticas, capazes de minimizar essa manifestação presente no TEPT. (CAMPOS et al., 2013; PELLOW e FILE, 1986; KRAEUTER, GUEST e SARNYAI, 2019).

Diante do exposto, a *V. officinalis* é utilizada no controle da ansiedade, sendo importante sua avaliação em modelos animais como os de natação forçada e de LCE.



2. OBJETIVO



2. OBJETIVO

Avaliar os efeitos da administração aguda do extrato de *V. officinalis* sobre o comportamento de ratos Wistar submetidos a estresse através do modelo modificado de natação forçada.



3. MATERIAL E MÉTODOS



3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - Material vegetal

Foi utilizado o extrato seco da raiz de *V. officinalis*, adquirido em estabelecimento comercial no município de Marília/SP. Para administração via gavagem, o extrato seco foi diluído em solução salina 0,9% nas concentrações de 22 e 66mg/mL.

3.2 - Animais e protocolo experimental

Foram utilizados 32 ratos Wistar machos, pesando entre 180 - 220g, fornecidos pelo Biotério Central da Universidade de Marília, aprovado pelo comitê de ética em Uso Animal (CEUA) da Universidade de Marília (Protocolo 17/2019).

Previamente à experimentação, os animais foram divididos aleatoriamente em 4 grupos (n=8), acondicionados em caixas plásticas (40x30x17cm), 4 animais por caixa e em seguida aclimatados por um período de dez dias às condições do laboratório em sala com temperatura (22°C - 25°C) e ciclo de claro/escuro (12/12 horas) controlados.

Durante a execução do protocolo experimental, os animais receberam água e ração *ad libitum*.

3.2.1 - Modelo modificado de natação forçada

O teste de natação forçada foi realizado através de uma modificação do modelo de Porsolt (1978), no qual é feito um pré-teste onde os animais são submetidos a natação por 15 minutos em recipiente com água na altura de 15cm e temperatura entre 25-27°C, sendo esse o primeiro contato do animal com a situação estressora. No protocolo experimental, a coluna de água foi modificada para 30cm.

Após 23 horas os animais foram tratados conforme descrito no item 3.2.2 e, após 60 minutos, foi realizado o teste nas mesmas condições anteriores, mas por um período de 5 minutos, o qual foi filmado para posterior avaliação do tempo de imobilidade de cada animal (ausência de movimento adicional àqueles necessários para manter a cabeça do animal fora da água).

3.2.2 – Avaliação do efeito da administração aguda do extrato de *V. officinalis*

Os grupos experimentais, tratados via gavagem foram:

G1 (Salina): tratado com solução salina, 1mL/kg;

G2 (Salina + natação): tratado com solução salina, 1mL/kg;

G3 (Tratado + natação): tratado com *V. officinalis* na dose de 22mg/kg;

G4 (Tratado + natação): tratado com *V. officinalis* na dose de 66mg/kg e

Os animais dos grupos G2, G3 e G4 foram submetidos a estresse por meio do teste de natação forçada descrito no item 3.2.1 sendo:

- ✓ Natação por 15 minutos (pré-teste);
- ✓ Tratamento (conforme os grupos), 23 horas após o pré-teste e
- ✓ Natação por 5 minutos, 60 minutos após o tratamento.

Após a natação, os animais foram secos e transferidos para sala isolada para avaliação do comportamento utilizando-se o teste do LCE, conforme descrito no item 3.2.3.

3.2.3 – Teste do labirinto em cruz elevado (LCE)

O comportamento dos animais foi avaliado utilizando-se o modelo do LCE. O mesmo consiste em um aparato (Figura 1) formado por dois braços abertos e opostos, e dois braços fechados, também opostos, cada braço medindo 30cm de comprimento por 10cm de largura. Os braços abertos e fechados cruzam-se perpendicularmente, delimitando uma área central de 10 cm². Todo o aparato fica a uma distância de 100cm do solo. Os testes foram realizados em uma sala isolada com som atenuado, controle de temperatura e luminosidade e exaustão de ar, na qual nenhuma outra atividade foi realizada no momento do experimento. Os índices avaliados nesse modelo foram a frequência de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos e fechados. A partir desses parâmetros também foi calculado o índice de ansiedade (IC), conforme descrito por HUYNH et al., 2011:

$$IC = 1 - [(tempo\ no\ braço\ aberto/300) + (entradas\ no\ braço\ aberto/total\ de\ entradas/2)]$$

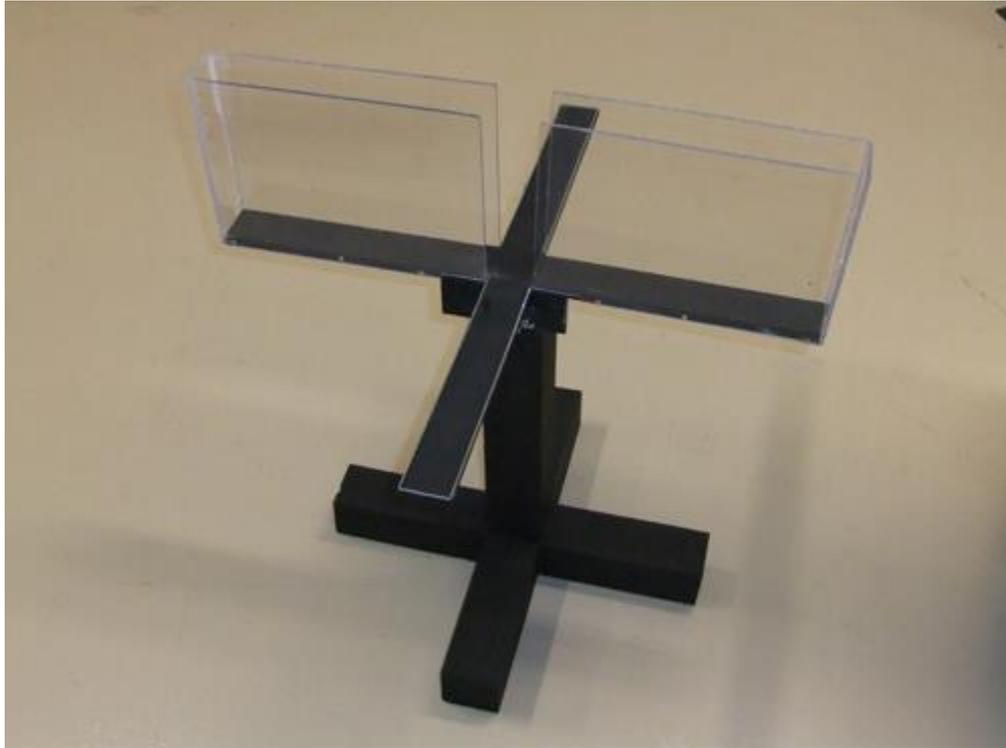


Figura 1. Aparado para avaliação do comportamento no modelo de labirinto em cruz elevado. Disponível em <https://www.jove.com/t/2705?language=Portuguese>

3.3 – Análise estatística

Os resultados foram expressos em Média \pm Erro Padrão da Média (EPM) e foram submetidos ao teste de normalidade e posteriormente submetidos a análise de variância complementada pelo teste de Tukey. O nível de significância considerado foi de 5% ($p < 0,05$).



4. RESULTADOS



4. RESULTADOS

4.1 - Avaliação do comportamento no modelo modificado de natação forçada

As Figuras 2 e 3 mostram, respectivamente, os tempos de movimentação e imobilidade dos animais submetidos ao teste de natação. Para ambos os parâmetros não foram observadas diferenças significativas entre os grupos.

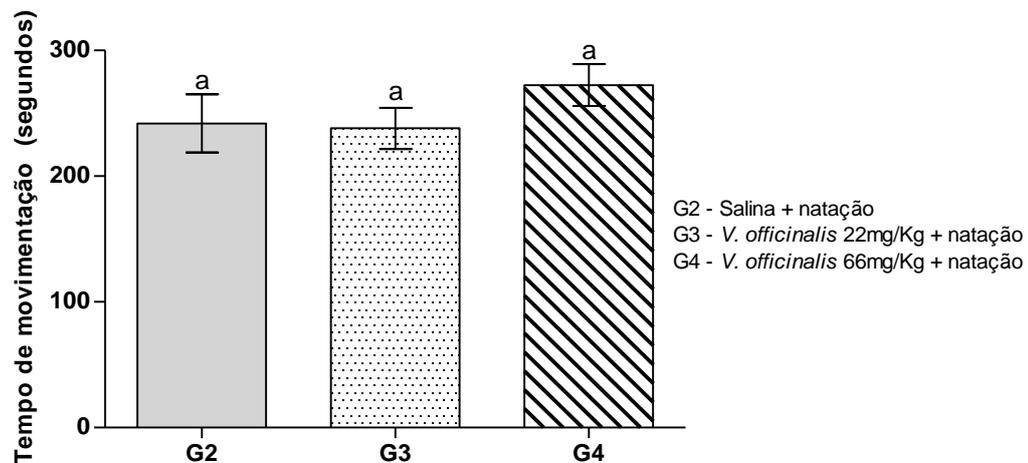


Figura 2. Efeito da administração aguda do extrato de *V. officinalis* sobre o tempo de movimentação no modelo modificado de natação forçada. Resultados expressos em Média \pm EPM. Não houve diferença estatisticamente significativa segundo o teste de Tukey ($p > 0,05$).

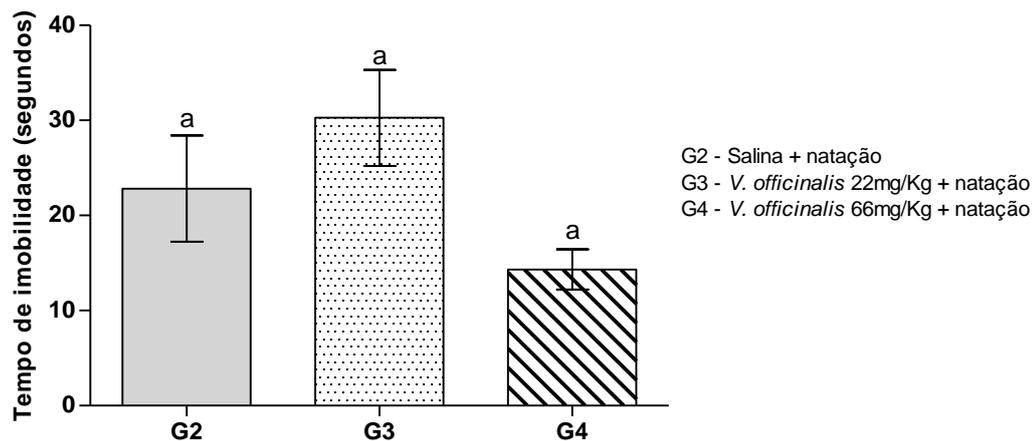


Figura 3. Efeito da administração aguda do extrato de *V. officinalis* sobre o tempo de imobilidade no modelo modificado de natação forçada. Resultados expressos em Média \pm EPM. Não houve diferença estatisticamente significativa segundo o teste de Tukey ($p > 0,05$).

4.2 - Avaliação do comportamento no modelo de LCE

As Figuras 4 e 5 mostram o tempo de permanência dos animais nos braços abertos e fechados em segundos e porcentagem de tempo, respectivamente. Os resultados obtidos mostram que o tempo de permanência do grupo G1 (salina, sem natação) nos braços abertos foi significativamente maior quando comparados aos grupos G2 (salina + natação), G3 (*V. officinalis* 22mg/kg + natação) e G4 (*V. officinalis* 66mg/kg + natação), indicando um comportamento menos ansioso em relação aos demais. Esse fato é corroborado pelo maior tempo de permanência dos grupos G2, G3 e G4 nos braços fechados ($p < 0,05$) em relação ao G1.

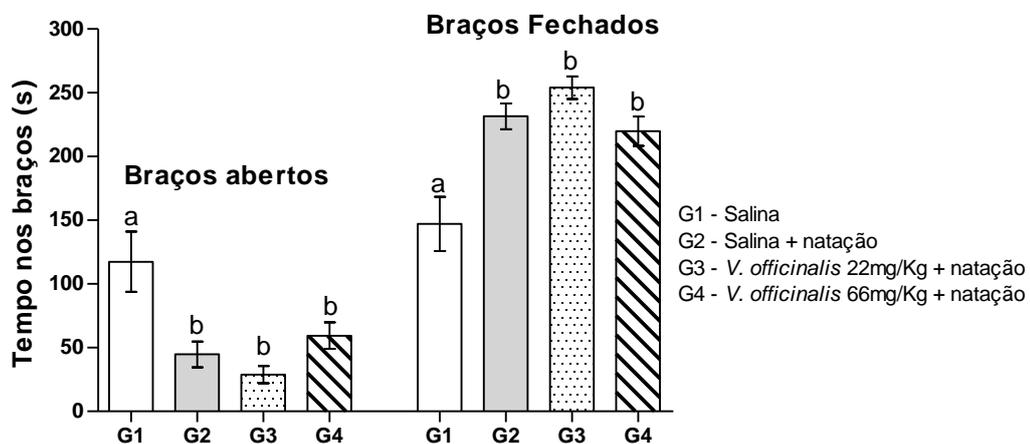


Figura 4. Efeitos da natação e da administração aguda do extrato de *V. officinalis* no tempo de permanência nos braços abertos e fechados no modelo de labirinto em cruz elevado. Resultados expressos em Média \pm EPM. Letras diferentes para grupos estatisticamente diferentes segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$).

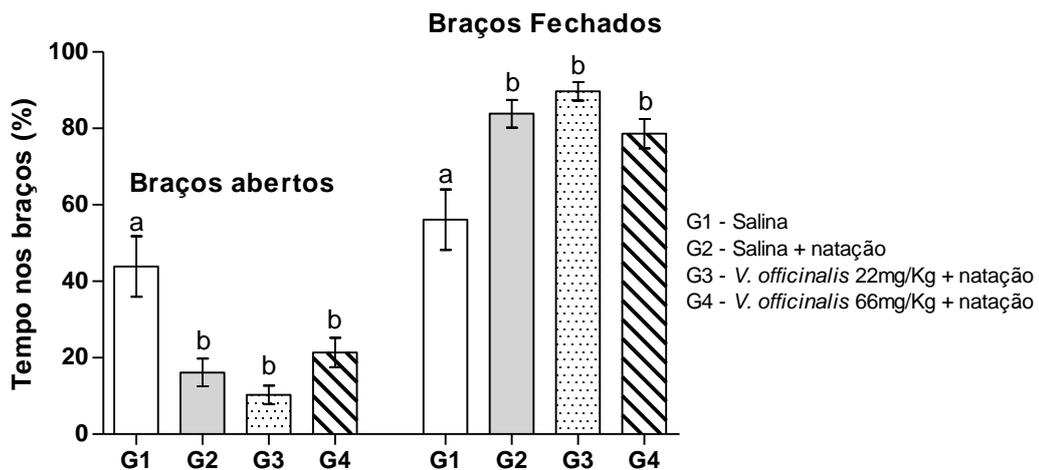


Figura 5. Efeitos da natação e da administração aguda do extrato de *Valeriana officinalis* sobre a porcentagem de tempo de permanência nos braços abertos e fechados no modelo de labirinto em cruz elevado. Resultados expressos em Média \pm EPM. Letras diferentes para grupos estatisticamente diferentes segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$).

O número de vezes que o animal passa pelo centro do labirinto em cruz, bem como o total de entradas nos braços abertos e fechados podem estar relacionados à capacidade exploratória, que por sua vez pode ser um indicador da atividade locomotora, mas também de ansiedade. A Figura 6 demonstra que os animais que não foram submetidos à natação se movimentaram mais e com maior número de entrada nos braços abertos.

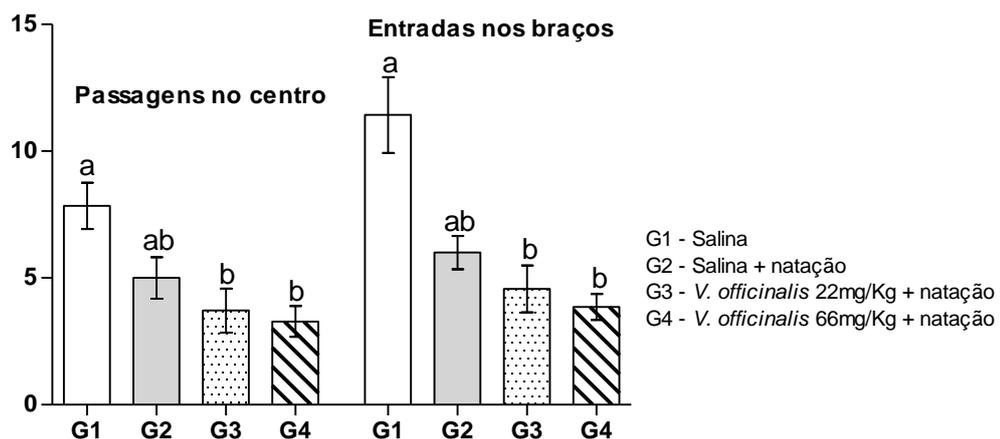


Figura 6. Efeitos da natação e da administração aguda do extrato de *V. officinalis* sobre locomoção no modelo de labirinto em cruz elevado, avaliada através do número de passagens pelo centro e número total de entradas nos braços abertos e fechados. Resultados expressos em Média \pm EPM. Letras diferentes para grupos estatisticamente diferentes segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Pode-se observar na Figura 7 que o índice de ansiedade foi estatisticamente maior ($p < 0,05$) para os grupos G2 e G3 em relação ao G1, o mesmo não sendo observado para G4.

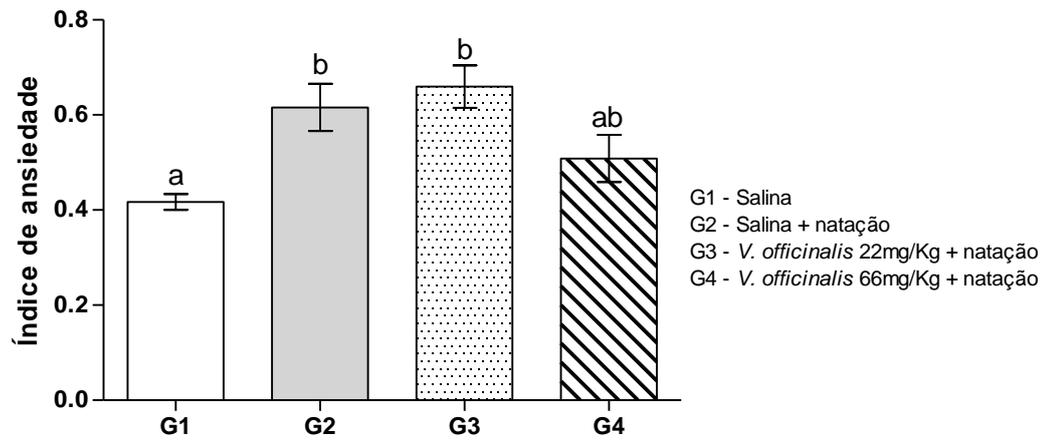


Figura 7. Efeitos da natação e da administração aguda do extrato de *V. officinalis* sobre o índice de ansiedade. Resultados expressos em Média ± EPM. Letras diferentes para grupos estatisticamente diferentes segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$).



6. DISCUSSÃO



6. DISCUSSÃO

Os modelos animais têm sido de extrema importância para o estudo da fisiopatologia das doenças neuropsiquiátricas bem como para a descoberta de novas terapias farmacológicas utilizadas para essas doenças (PINTO et al., 2012). Nesse sentido, os modelos comportamentais não irão necessariamente avaliar uma doença psiquiátrica específica, mas sim os sintomas presentes nas mesmas (KRAEUTER, GUEST e SARNYAI, 2019).

Para a indução de medo e ansiedade, sintomas presentes nos transtornos de estresse pós traumático (TEPT), podem ser utilizados modelos nos quais o animal é exposto a situações estressoras ou traumáticas como estressores psicológicos (exposição ao predador ou ao seu odor), físicos (trauma subaquático, choque elétrico e contenção física), sociais como instabilidade da “habitação ou ainda a retirada materna precoce (CAMPOS, et al., 2013; WHITAKER, GILPIN e EDWARDS, 2014). O modelo utilizado para indução de estresse nesse trabalho foi uma modificação no modelo de natação descrito por PORSOLT (1978), no qual originalmente expunha o animal a uma coluna de água de 15cm. No presente estudo, a coluna de água foi aumentada para 30 cm, não permitindo o apoio da cauda do animal no fundo do recipiente.

A natação pode ser utilizada como agente estressor visto que o exercício físico realizado pelo animal em consequência da altura da coluna de água, associado a um ambiente novo com impossibilidade de fuga, irá provocar um conjunto de respostas comportamentais simultâneas que induzem a uma situação conflitante (KRAEUTER, GUEST e SARNYAI, 2019).

MICHELAN et al. (2006) relataram que imobilidade do teste de natação forçada reflete um comportamento de defesa, pois ocorre após a emissão de comportamentos desencadeados por uma situação de estresse, sendo observada em roedores, principalmente ratos e camundongos, quando colocados para nadarem em um ambiente inescapável. A imobilidade se instala após período inicial de emissão intensa de tentativas de evasão da situação estressante e aversiva.

CALIL et al. (2002), descreveram que o tempo de movimentação e imobilidade estão relacionados com o nível de ansiedade visto que a imobilidade representaria

uma melhor resposta adaptativa do animal a uma situação estressante, significando um menor grau de ansiedade.

Os resultados do presente estudo mostraram que a administração do extrato de *V. officinalis* não foi capaz de modificar de maneira significativa os tempos de movimentação e imobilidade nos animais expostos a natação, sugerindo que nas doses utilizadas não apresentou efeito ansiolítico (Figuras 2 e 3).

Além da imobilidade como parâmetro de ansiedade, estudos têm demonstrado que o labirinto em cruz elevado (EPM) é o padrão ouro para realizar essas avaliações. Esse modelo gera um conflito de sobrevivência no animal ao expor dois comportamentos distintos, sendo a tendência natural de explorar novos ambientes contrastando com as características aversivas de um espaço aberto e elevado. Este conflito resulta em comportamentos correlacionados à ansiedade, sendo que o aumento na exploração e permanência nos braços abertos, são indicativos de menor nível de ansiedade ao passo que uma maior permanência e exploração dos braços fechados (evitando os braços abertos) pode ser interpretado como maior nível de ansiedade (ARANTES et al., 2013; CAMPOS et al., 2013; RIUL e ALMEIDA, 2020). Dessa forma, o tempo gasto nos braços abertos frequentemente é utilizado como medida de ansiedade (CRUZ e CAROBREZ, 2006).

No presente trabalho, os resultados obtidos no labirinto em cruz elevado demonstraram que os animais submetidos ao agente estressor (G2) apresentaram uma maior permanência nos braços abertos (tempo e porcentagem de tempo) em comparação ao grupo controle (G1), o que demonstra um maior nível de ansiedade. Esses dados são confirmados quando analisado o tempo de permanência nos braços visto que os animais submetidos a natação permaneceram por mais tempo nos mesmos.

STURMAN, GERMAIN e BOHACEK (2018) descreveram que experiências estressantes em roedores estão associadas à transtorno de ansiedade, fato que pode ser observado em modelos animais nos quais aqueles menos ansiosos tendem a explorar mais o ambiente. O presente estudo avaliou a capacidade exploratória dos animais no modelo de LCE utilizando como parâmetros o número total de entradas nos braços e o número de passagens pelo centro. Conforme mostra a Figura 6, o número total de entradas nos braços e o número de passagens pelo centro do LCE nos animais submetidos a natação (G2) foi significativamente menor ($p < 0,05$) quando comparado ao grupo controle (G1), indicando menor comportamento exploratório, o

que sugere comportamento ansioso. De fato, o índice de ansiedade (Figura 7) foi maior no grupo G2.

No entanto os grupos tratados com *V. officinalis* nas doses de 22mg/kg e 66mg/kg não apresentaram diferença estatisticamente significativa no tempo e na porcentagem de tempo de permanência nos braços abertos e fechados em relação ao grupo submetido à natação (G2) mas significativa em relação ao grupo controle (G1), conforme demonstrado nas Figuras 4 e 5. Isso demonstra que, nas doses utilizadas a administração do extrato desta planta não foi capaz de diminuir o comportamento de ansiedade nos animais. A ausência de efeito ansiolítico também é demonstrada pela capacidade exploratória e pelo índice de ansiedade (Figuras 6 e 7), que não apresentaram diferença entre os grupos submetidos a natação tratados com solução salina (G2) e com extrato de *V. officinalis* (G3 e G4). Porém, é importante destacar que não houve diferença significativa no índice de ansiedade entre os grupos G2 e G4, o que poderia ser indicativo de atividade ansiolítica em doses maiores.

A *V. officinalis* tem sido historicamente utilizada para transtornos de ansiedade e distúrbios do sono. Mais de 150 fitoconstituintes foram identificados os quais incluem alcalóides piridínicos, álcoois terpênicos e ácidos orgânicos, como ácido valerênico (DIETZ et al., 2016; FIEBICH et al., 2011).

Os efeitos sedativos das espécies de *Valeriana* são atribuídos a álcoois terpênicos denominados valepotriatos e óleos voláteis (que incluem monoterpenos e sesquiterpenos). Os compostos ativos presentes no extrato aquoso da raiz são os aminoácidos, o glutamato e o ácido valerênico. Foi sugerido que os compostos bioativos desta planta interferem com o receptor GABA (Ácido Gama Amino Butírico) de forma semelhante aos benzodiazepínicos. Extratos de *V. officinalis* atuam em componentes pré-sinápticos de neurônios GABAérgicos e podem reduzir o catabolismo GABA (LANS, 2019; GUADAGNA et al., 2020).

YOU et al. (2012) investigaram os efeitos de diferentes doses de um composto contendo a espécie *Valeriana jatamansi* em camundongos submetidos ao teste de LCE e observaram mudanças significativas no tempo gasto nos braços abertos e na porcentagem de entradas nos braços abertos nas doses maiores utilizadas (2,4 e 4,8mg/Kg por via oral).

Estudo conduzido por BECKER et al. (2014) demonstrou o efeito ansiolítico do extrato de *Valeriana* na dose de 0,5mg/Kg administrados por via oral, no modelo de LCE. Os animais que receberam extrato apresentaram tempos prolongados no

braço aberto, o que evidencia um efeito ansiolítico significativo. Os autores também avaliaram o efeito do extrato de *Valeriana* com diferentes proporções de ácido valerênico e observaram que ao incluir o ácido acetoxi valerênico houve abolição da ação ansiolítica, sugerindo que o efeito ansiolítico do extrato de *Valeriana* está associado ao seu teor de ácido valerênico.

MURPHY et al., 2010 investigam os efeitos de *V. officinalis* em ratos que receberam diazepam (1mg/kg), etanol (1ml/kg), ácido valerênico (3mg/kg), extrato de raiz de *V. officinalis* (3mg/kg), ou solução de ácido valerênico e GABA exógeno (respectivamente 75µg/kg e 3,6µg/kg). Todos os animais submetidos ao LCE apresentaram diminuição significativa nos níveis de ansiedade quando tratados com valeriana ou ácido valerênico em relação ao grupo de controle com etanol, sugerindo que a *Valeriana officinalis* é uma alternativa potencial para tratar a ansiedade.

As ações *V. officinalis* também foram investigadas em ensaios clínicos envolvendo humanos. Em um ensaio clínico duplo-cego randomizado controlado por placebo, ROH et al. (2019) investigaram os efeitos da raiz de valeriana nas mudanças de conectividade do estado de repouso. Este estudo foi conduzido em sessenta e quatro voluntários que sofriam de estresse psicológico e receberam o extrato da planta (100mg) ou placebo três vezes ao dia. Os grupos estudados apresentaram melhora significativa na escala clínica. O grupo tratado mostrou aumento significativo na região frontal do cérebro, associada à ansiólise, indicando que o uso da raiz de *V. Officinalis* modifica a conectividade cerebral funcional associada à ansiedade.

Em outro ensaio clínico, FARAH et al. (2019) avaliaram os efeitos *V. Officinalis* (100mg) no controle da ansiedade durante a extração do terceiro molar em comparação com o midazolam (15mg), benzodiazepínico comumente usado em procedimentos odontológicos e observaram que a pressão arterial, frequência cardíaca e frequência respiratória foram menores em pacientes que usaram benzo diazepínico. No entanto, o uso da planta produziu o conforto e relaxamento necessários sem sedação e menor sonolência quando comparado ao midazolam.

MINEO et al. (2017) investigaram os efeitos da *V. Officinalis* em um estudo duplo-cego, randomizado e controlado por placebo. Os participantes foram designados para receber 900 mg de ácido valerênico a 0,8% ou placebo. Os resultados mostraram que uma única dose oral de ácido valerênico pode modular os circuitos facilitadores intracorticais.

Uma vantagem do uso de extratos ou produtos de *V. officinalis* é a ocorrência de poucos efeitos colaterais, os quais estão relacionados principalmente a tonturas leves e transitórias, sedação e sintomas de abstinência. Uma desvantagem é que esses produtos vegetais precisam ser monitorados quanto à interações com outros sedativos, anestésicos e hipnóticos (BLOCK, GYLLENHAAL e MEAD, 2004; LANS, 2019).

Ao contrário dos estudos descritos acima, no presente trabalho não foi observado efeito ansiolítico da *V. Officinalis*, fato que pode estar relacionado à dose utilizada, aos animais ou mesmo à concentração de seus constituintes no extrato vegetal utilizado visto que não foi feita uma análise fitoquímica do mesmo. É importante salientar que ao contrário do presente estudo, o efeito ansiolítico da *V. Officinalis* não foi avaliado em modelos animais que utilizam a natação para indução de estresse. Em virtude do potencial efeito ansiolítico de *V. officinalis* e de seus compostos, já demonstrados em diversos trabalhos, novos estudos devem ser realizados a fim de se avaliar esse efeito utilizando-se a natação para indução de estresse, bem como doses maiores do que as utilizadas no presente trabalho.



5. CONCLUSÃO



5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitem concluir que:

- O modelo modificado de natação forçado foi capaz de provocar comportamento de ansiedade nos animais
 - A *V. officinallis* nas doses utilizadas não foi capaz de diminuir a ansiedade induzido por esse modelo.
-



REFERÊNCIAS



REFERÊNCIAS

- AKINNUSI, M.; EL SOLH, A.A. Drug treatment strategies for insomnia in patients with post-traumatic stress disorder, *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, v. 20, n.6, p. 691-699, 2019. doi: 10.1080/14656566.2019.1574745
- ANDERSON, D.J.; ADOLPHS, R. A Framework for Studying emotions Across species. *Cell*, v. 157, n. 1, p. 187-200, 2014. doi: 10.1016/j.cell.2014.03.003
- APA - American Psychiatry Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental disorders - DSM-5. 5th.ed. Washington: American Psychiatric Association, 2013.
- ARANTES, R. et al. Mathematical methods to model rodent behavior in the elevated plus-maze. *J Neurosci Methods*. v. 222, n.2, p. 141-148, 2013.
- BECKER, A. et al. The anxiolytic effects of a Valerian extract is based on valerianic acid. *BMC Complement Altern Med.*, v. 28, p. 267 2014. doi: 10.1186/1472-6882-14-267
- BERNIK, M.; LARANJEIRAS, M.; CORREGIARI, F. Tratamento farmacológico do Tratamento farmacológico do transtorno de estresse pós-traumático. *Rev. Bras. Psiquiatr.*, v. 25 (Supl I), p. 46-50, 2003.
- BLOCK, K. I.; GYLLENHAAL, C.; MEAD, M. N. Safety and efficacy of herbal sedatives in cancer care. *Integr Cancer Ther*, v. 3, n. 2, p. 128-48, 2004.
- CALIL, C.M. et al. Análise do significado do tempo de imobilidade em modelos experimentais de natação. *Ver Bras Cienc Farm.*, v. 38, n. 4, p. 479-485, 2002
- CAMPOS, A.C. et al. Animal models of anxiety disorders and stress. *Rev. Bras. Psiquiatria*, v. 35, S101–S111. 2013. doi:10.1590/1516-4446-2013-1139
- CHROUSOS, G.P. Stress and Disorders of the Stress System. *Nat. Rev. Endocrinol.*, v. 5, n. 7, p. 374-381, 2009. doi: 10.1038/nrendo.2009.106
- CRUZ, J.G.P.; CAROBREZ, A.P. Anxiolytic effect of spermine microinjected into the dorsal periaqueductal grey in rats. *Acta. Scient. Health Sci.*, v. 28, n. 1, p. 43-47, 2006.
- DANTAS, L.P.; de OLIVEIRA RIBEIRO, A.; SOUZA, L.M.A.; GROPPPO, F.C. Effects of *passiflora incarnata* and midazolam for control of anxiety in patients undergoing dental extraction. *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal*, v. 22, n. 1. p. 95-101, 2017. doi: 10.4317/medoral.21140
-

DAVIS, M.; WALKER, D.L.; MILES, L.; GRILLON, C. Phasic vs sustained fear in rats and humans: role of the extended amygdala in fear vs anxiety. *Neuropsychopharmacology*, v. 35, p. 103–135, 2010

de KLOET, E.R.; JOELS, M.; HOLSBOER, F. Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat. Rev. Neurosci.*, v. 6, p. 463–475, 2005. <https://doi.org/10.1038/nrn1683>

DIETZ, B.M. et al. Botanicals and Their Bioactive Phytochemicals for Women's Health. *Pharmacol Rev.*, v. 68, n. 4, p. 1026-1073, 2016. doi: 10.1124/pr.115.010843

FARAH, G.J. et al. Assessment of *Valeriana officinalis* L. (Valerian) for Conscious Sedation of Patients During the Extraction of Impacted Mandibular Third Molars: A Randomized, Split-Mouth, Double-Blind, Crossover Study. *J Oral Maxillofac Surg.*, v. 77, n. 9, 1796.e1-1796.e8, 2019. doi: 10.1016/j.joms.2019.05.003

FIEBICH, B.L. et al. Pharmacological studies in an herbal drug combination of St. John's Wort (*Hypericum perforatum*) and passion flower (*Passiflora incarnata*): in vitro and in vivo evidence of synergy between *Hypericum* and *Passiflora* in antidepressant pharmacological models. *Fitoterapia*, v. 82, n. 3, p. 474-480, 2011. doi: 10.1016/j.fitote.2010.12.006

GUADAGNA, S. Plant Extracts for Sleep Disturbances: A Systematic Review. *Evid Based Complement Alternat Med.*, abril, p. 1-9, 2020. doi: 10.1155/2020/3792390

HARRO, J. Animals, anxiety, and anxiety disorders: How to measure anxiety in rodents and why. *Behav Brain Res.*, v. 15, p. 81-93, 2018. doi: 10.1016/j.bbr.2017.10.016

HUYNH, T.N. et al. Sex differences and phase of light cycle modify chronic stress effects on anxiety and depressive-like behavior. *Behavioural Brain Research*, v. 222, p. 212–222, 2011. doi:10.1016/j.bbr.2011.03.038

HYDE, H.; RYAN, K.M.; WATERS, A.M. Psychophysiological Markers of Fear and Anxiety. *Current Psychiatry Reports*, v. 21, n. 7, 2019. <https://doi.org/10.1007/s11920-019-1036-x>

JOWETT, S.; KARATZIAS, T.; ALBERT, I. Multiple and Interpersonal Trauma Are Risk Factors for Both Post-Traumatic Stress Disorder and Borderline Personality Disorder: A Systematic Review on The Traumatic Backgrounds and Clinical Characteristics of Comorbid Post-Traumatic Stress Disorder/Borderline Personality Disorder Groups Versus Single-Disorder Groups. *Psychol. Psychother.*, v. 352, p.1-18, 2019. doi: 10.1111/papt.12248.

KOOLHAAS, J.M. Stress revisited: a critical evaluation of the stress concept. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, v. 35, n. 5, p. 1291–1301, 2011.

KRAEUTER, A.K.; GUEST, P.C.; SARNYAI, Z. The Y-Maze for Assessment of Spatial Working and Reference Memory in Mice. *Methods Mol Biol.* v. 1916, p. 105-111, 2019. doi: 10.1007/978-1-4939-8994-2_10

KUREBAYASHI, L.F.S. Fitoterapia chinesa para redução de estresse, ansiedade e melhoria de qualidade de vida: ensaio clínico randomizado. *Rev. Esc. Enferm. USP*, v. 50, n. 5, p. 853-860, 2016.

LANS C. Do recent research studies validate the medicinal plants used in British Columbia, Canada for pet diseases and wild animals taken into temporary care? *J Ethnopharmacol.*, v. 23, n. 236, p. 366-392, 2019. doi: 10.1016/j.jep.2019.02.030.

LIU, L. et al. Herbal Medicine for Anxiety, Depression and Insomnia. *Current Neuropharmacology*, v. 13, n. 4, p. 481-493, 2015. doi: 10.2174/1570159X1304150831122734

MARGIS, R. Comorbidade no Transtorno de Estresse Pós-Traumático: Regra ou Exceção? *Re. Bras. Psiquiatr.*, v. 25, p. 17-20, 2003.

MARTINS-MONTEVERDE, C.M.; PADOVAN, T.; JURUENA, M.F. Transtornos relacionados a traumas e a estressores. *Medicina* (Ribeirão Preto, Online.) Suplemento Temático: Psiquiatria I Capítulo 4; v. 50 (Supl. 1), p. 37-50, 2017.

Mc EWEN, B.S.; AKIL, H. Revisiting the Stress Concept: Implications for Affective Disorders. *J Neurosci.*, v. 40, n.1, p. 12-21, 2020. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0733-19.2019

MICHELAN, C.M. et al. Imobilidade tônica e imobilidade do nado forçado em cobaias. *Rev. Etol.*, v. 8, n.2, p. 89-95, 2006.

MINEO, L. et al. *Valeriana officinalis* root extract modulates cortical excitatory circuits in humans. *Neuropsychobiology.*, v. 75, n. 1, p. 46-51, 2017. doi: 10.1159/000480053

MURPHY, K. et al. *Valeriana officinalis* root extracts have potent anxiolytic effects in laboratory rats. *Phytomedicine*, v. 17, n. 8-9, p. 674-678, 2010. doi: 10.1016/j.phymed.2009.10.020

NANDHINI, S.; NARAYANAN, K.B.; ILANGO, K.; *Valeriana officinalis*: a Review of Its Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacology. *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, v. 11, n. 1; p. 36-41, 2018.

PELLOW, S.; FILE, S.E.; Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. *Pharmacol Biochem Behav.*, v. 24, p. 525-529, 1986.

PINTO, W.B.V.R. et al. Teste de labirinto em cruz elevado: aplicações e contribuições no estudo de doenças neuropsiquiátricas em modelos animais. *RESBCAL.*, v. 1, n. 1, p. 102-120, 2012.

PORSOLT, R.D. et al. Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol.*, v. 47, n. 4, p. 379-391, 1978.

RAY, A.; GULATI, K.; RAI, N. Stress, Anxiety, and Immunomodulation: A Pharmacological Analysis. *Vitam Horm.* v. 103, p. 1-25, 2017; 103:1-25. doi: 10.1016/bs.vh.2016.09.007

RIUL, T.R.; ALMEIDA, S.S. Feed restriction since lactation has reduced anxiety in adult Wistar rats. *Rev Nutr.*, v. 33, e.190143, 2020. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-9865202033e190143>

ROH, D. et al. Valerian extract alters functional brain connectivity: a randomized double blind placebo-controlled trial. *Phytother Res.*, 2017. doi: 10.1002/ptr.6286

SARRIS J. Herbal medicines in the treatment of psychiatric disorders: 10-year updated review. *Phytother Res*, v. 32, n. 7, p. 1147-1162, 2018. doi: 10.1002 / ptr.6055

SAVAGE, K.; FIRTH, J.; STOUGH, C.; SARRIS, J. GABA-modulating phytomedicines for anxiety: A systematic review of preclinical and clinical evidence. *Phytother. Res.*, v. 32, p. 3-18, 2018. doi: 10.1002/ptr.5940

SHINJYO, N.; WADDELL, G.; GREEN, J. Valerian root in treating sleep problems and associated disorders – a systematic reviews and meta-nalysis. *Journal of Evidence-based integrative medicine.* v. 25, p. 1-31, 2020. doi: 10.1177/2515690X20967323

STURMAN, O.; GERMAIN, P.L.; BOHACEK, J. Exploratory rearing: a context- and stress-sensitive behavior recorded in the open-field test. *Stress*, v. 21, n. 5, p. 443-452, 2018. doi: 10.1080/10253890.2018.1438405

THOMAS, K.; CANEDO, J.; PERRY, P.J.; DOROUDGAR, S.; LOPES, I.; CHUANG, H.M.; BOHNERT, K. Effects of valerian on subjective sedation, field sobriety testing and driving simulator performance. *Accid Anal Prev.*, v. 92, p. 240-244, 2016. doi: 10.1016/j.aap.2016.01.019

VALENTE, N.L.M.; MELLO, M.F.; FIKS, J.P. Transtorno do Estresse Pós Traumático. In: Mari JdJ, Pitta JCdN, editors. *Psiquiatria por meio de casos clínicos*. p. 51-66, Manole, Barueri, 2011.

WHITAKER, A.M.; GILPIN, N.W.; EDWARDS, S. Animal Models of Post-Traumatic Stress Disorder and Recent Neurobiological Insights. *Behav Pharmacol.*, v. 25, p. 398-409, 2014. doi:10.1097/FBP.000000000000069.

YAO M.; RITCHIE, H.E.; BROWN-WOODMAN P.D. A developmental toxicity-screening test of valerian. *J Ethnopharmacol.*, v. 113, n. 2, p. 204-209, 2007.

YOU, J.S. et al., Evaluation of anxiolytic activity of compound Valeriana jatamansi Jones in mice. *BMC Complement Altern Med.*, v. 21, p. 1-9, 2012. doi: 10.1186/1472-6882-12-223



ANEXO



ANEXO



UNIVERSIDADE DE MARÍLIA



CEUA – Comitê de Ética em uso Animal

CERTIFICADO

CIAEP-01.0218.2014

Certificamos que o projeto intitulado “EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA E CRÔNICA DO EXTRATO DE *VALERIANA OFFICINALIS* EM RATOS WISTAR SUBMETIDOS A ESTRESSE NO MODELO DE NATAÇÃO FORÇADA MODIFICADO” (Protocolo 017/2019) que envolve produção, manutenção e /ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto no 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), foi aprovado pelo COMITÊ DE ÉTICA EM USO ANIMAL (CEUA) DA UNIVERSIDADE DE MARÍLIA.

| | |
|---------------------|--------------------------|
| Vigência do projeto | Abril 2019 a agosto 2020 |
| Espécie/linhagem | Ratos Wistar |
| Número de animais | 32 |
| Peso / Idade | 180-220g |
| Sexo | Machos |

Marília, 26 de junho de 2019,

Prof. Dra. Daniela Vieira Buchaim
Coordenadora do CEUA