UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

MESTRADO

CRISTIANE TAVARES MACHADO

EFEITO DE *Cymbopogon citratus* (D.C.) STAPF SOBRE O SISTEMA CARDIOVASCULAR DE RATOS OBESOS

São Luís
2009

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

CRISTIANE TAVARES MACHADO

EFEITO DE *Cymbopogon citratus* (D.C.) STAPF SOBRE O SISTEMA CARDIOVASCULAR DE RATOS OBESOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Profª. Drª. Marilene Oliveira da Rocha Borges

São Luís
2009

Machado, Cristiane Tavares

Efeito de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf sobre o sistema cardiovascular de ratos obesos/ Cristiane Tavares Machado. – São Luís, 2009.

69f.

Impresso por computador (Fotocópia).

Orientador: Profª. Drª. Marilene Oliveira da Rocha Borges

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2009.

1. Obesidade – utilização – planta medicinal 2. Obesidade 3. *Cymbopogon citratus* 4. Capim-limão I. Título.

CDU 615.322

Ao meu marido, Enrique Osvaldo Toledo Aldunate, o anjo que Deus colocou na minha vida.

AGRADECIMENTO

Agradeço a Vida, por todas as experiências pelas quais passo e que permitem que eu amadureça espiritualmente.

Ao meu marido, pela perserverança em construir uma história ao meu lado, por tanto amor a mim dedicado, por cada gesto terno, gentil e altruísta, por existir!

A toda minha família, razão da minha existência, pelo amor incondicional, pela orientação segura e por acreditarem em mim.

À Professora Marilene Oliveira da Rocha Borges, pelo aceite, orientação e incentivo para o desenvolvimento deste trabalho.

Às Professoras Maria do Socorro de Sousa Cartágenes e Selma Silva, pela amizade nobre, pela mão sempre estendida, pelas palavras de esperança nos momentos de recaída e pelos conhecimentos a mim proporcionados.

À Professora Denise Coutinho e aos amigos Dênis Furtado, Lucas França e Rachel Melo, pelo aprendizado adquirido.

A Ahirlan Silva Castro e aos meus queridos pupilos Thaís Tavares Farah, Jonas Rodrigues Sanches, Rosa Helena Moraes Silva e Gustavo Pereira Calado, pela amizade e contribuição direta na realização deste trabalho.

Ao Laboratório de Pesquisa e Pós-Graduação em Farmacologia – UFMA, por todas as amizades construídas e aprendizado adquirido.

"Para empezar un gran proyecto, hace falta valentia.
Para terminar un gran proyecto, hace falta perseverancia."

Socorro Cartágenes

RESUMO

Cymbopogon citratus Stapf, espécie da família Poaceae, é uma erva perene originária da Ásia bastante cultivada nos países tropicais, conhecida no Brasil como capim-limão, capim-cidró e capim-santo, dentre outras sinonímias, e utilizada pela população como calmante, espasmolítico, analgésico, antiinflamatório, antipirético e diurético, na forma de chá, xarope ou inalação. O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do extrato hidroalcoólico (EH) de *Cymbopogon citratus* sobre o sistema cardiovascular de ratos obesos. As folhas da planta foram coletadas no horto medicinal Profª. Drª. Berta Lange de Morretes, da Universidade Federal do Maranhão, para subseqüente obtenção e realização do screening fitoquímico do EH. A obesidade foi induzida em filhotes de ratos da espécie *Rattus norvegicus*, durante os 5 primeiros dias de vida, pela injeção subcutânea de glutamato monossódico (MSG), na dose de 4,0 g/Kg/dia e o Índice de Lee avaliado antes, durante e após o tratamento dos animais obesos, que iniciou com 9 semanas de idade. A pressão arterial média (PAM), freqüência cardíaca (FC) e peso corporal foram determinados durante os 60 dias de tratamento, em uma periodicidade de duas vezes por semana. Após o período de tratamento foi realizada a análise bioquímica e do hemograma, a avaliação do peso relativo do fígado e a análise morfométrica do coração. Anéis da artéria mesentérica foram isolados e colocados entre fios de aço inoxidável, suspendidos em uma câmara de órgão isolado e as variações de tensão medidas com um transdutor de força isométrico e registradas em um polígrafo. Após 60 dias de tratamento, o EH não alterou o perfil hematológico, no entanto, normalizou as concentrações de alanina amino-transferase (ALT) que apresentaram-se aumentadas nos animais obesos induzidos pelo MSG. Na análise dos parâmetros bioquímicos do lipidograma e glicose, os animais obesos (MSG) apresentaram um aumento significativo dos valores de glicose, colesterol total, lipoproteina de baixa densidade (LDL), lipoproteina de muito baixa densidade (VLDL) e triglicérides, quando comparados aos animais não obesos (CTRL) e, o EH reduziu os valores de glicose e LDL e aumentou a lipoproteina de alta densidade (HDL) nas doses de 0,5 e 1,0 g/Kg; bem como reduziu o colesterol total, VLDL e triglicérides na dose de 1,0 g/Kg. Não houve alteração da morfometria cardíaca entre todos os grupos experimentais. Os animais do grupo MSG apresentaram aumento da PAM em relação aos animais do grupo CTRL e o EH não alterou a PAM dos animais obesos tratados cronicamente. Os resultados sugerem que o EH de *Cymbopogon citratus* promoveu a redução dos depósitos de gorduras e peso corporal, normalizou as concentrações séricas de ALT, impediu o aumento da PAM, o efeito máximo da noradrenalina e as concentrações de glicose, colesterol total, LDL, VLDL e triglicérides, e ainda possa promover a elevação da concentração de HDL nos animais obesos, tornando-se um grande potencial terapêutico para os casos de complicações cardiovasculares decorrentes de desordens metabólicas como a obesidade.

Palavras-chave: Obesidade, *Cymbopogon citratus*, capim-limão, sistema cardiovascular, *Rattus norvegicus*

ABSTRACT

Cymbopogon citratus Stapf, species of the Poaceae family, is a perennial shrub originated from Asia and cultivated in tropical countries, popurlaly known in Brazil as “capim-limão”, “capim-cidró” and “capim-santo”, among other synonyms, and “lemongrass”, “citronella”, “zacate” and “caña santa” in other countries, it is used by the population as sedative, spasmolytic, analgesic, anti-inflammatory, antipyretic and diuretic agents, as a herbal tea, shrub and by the inhalation.This study aimed to evaluate the effect of the hydroalcoholic extract (HE) *Cymbopogon citratus* on the cardiovascular system of obese rats. The leaves of the plant were collected in the medicinal garden Prof ª. Dr. Berta Lange de Morretes, of the Federal University of Maranhão, for subsequent HE obtaining and phytochemical screening. Obesity was induced in rats of the species *Rattus norvegicus*, during the first 5 days of life, by subcutaneous injection of monosodium glutamate (MSG) at a dose of 4.0 g/kg/day and Lee Index assessed before, during and after the treatment of obese animals, which started with 9 weeks of age. Blood pressure, heart rate and body weight were determined during the 60 days of treatment, in a frequency of twice a week. Biochemical analysis and blood count, liver index and heart morphometric analysis was done after the treatment period. Rings of mesenteric artery were isolated and placed between stainless steel wire suspended in an isolated organ chamber and the voltage variation measured using an isometric force transducer and recorded on a polygraph. After 60 days of treatment, the HE did not alter the blood profile, however, normalized alanine aminotransferase (ALT) concentrations that were increased in obese animals induced by MSG. The obese animals (MSG) had increased mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR) compared to non-obese animals (CTRL) and the HE (0.5 and 1.0 g / kg) reduced the HR of obese animals treated chronically. There was no change in cardiac morphology among all experimental groups. In the biochemical analysis of lipid and glucose, the MSG group animals showed a significant increase in glucose, total cholesterol, low density lipoprotein (LDL), very low density lipoprotein (VLDL) and triglycerides, when compared with CTRL group animals, and the HE induced a glucose and LDL reduction and increase the high density lipoprotein (HDL) in both doses, as well as reduction the total cholesterol, VLDL and triglycerides in the highest dose. The results suggests that HE *Cymbopogon citratus* should promoted the reduction of the fat deposits and body weight, normalized the ALT serum, reduced the increase of MAP, the maximum effect of noradrenaline and the glucose, total cholesterol, LDL, VLDL and triglycerides concentrations, and also promoted the elevation of HDL levels in obese animals, as a potencial therapeutic for the cardiovascular complications from metabolic desordens as the obesity.

Keywords: Obesity, *Cymbopogon citratus*, lemon grass, cardiovascular system, *Rattus norvegicus*

LISTA DE FIGURAS

p.

Figura 1 Índice de Lee de ratos não obesos (CTRL) e obesos (MSG, MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0), antes e após 30 e 60 dias do tratamento com o EH das folhas de *Cymbopogon citratus*. Os valores representam a média ± e.p.m. (n= 5-10). * p< 0,05 vs. CTRL e # p< 0,05 vs. MSG (ANOVA, Newman-Keuls)..... 25

Figura 2 Gordura retroperitoneal de ratos não obesos (CTRL) e obesos (MSG, MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0), após 60 dias do tratamento com o EH das folhas de *Cymbopogon citratus*. Os valores representam a média ± e.p.m. (n= 5-10). * p< 0,05 vs. CTRL e # p< 0,05 vs. MSG (ANOVA, Newman-Keuls)..... 26

Figura 3 Gordura periepididimal de ratos não obesos (CTRL) e obesos (MSG, MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0), após 60 dias do tratamento com o EH das folhas de *Cymbopogon citratus*. Os valores representam a média ± e.p.m. (n= 5-10). * p< 0,05 vs. CTRL e # p< 0,05 vs. MSG (ANOVA, Newman-Keuls)..... 26

Figura 4 Desenvolvimento ponderal de ratos não obesos (CTRL) e obesos (MSG, MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0), durante 60 dias do tratamento com o EH das folhas de *Cymbopogon citratus*. Os valores representam a média ± e.p.m. (n= 5-10). * p< 0,05 vs. CTRL e # p< 0,05 vs. MSG (ANOVA, Newman-Keuls)..... 27

Figura 5 Peso proporcional do fígado de ratos não obesos (CTRL) e obesos (MSG, MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0), após 60 dias do tratamento com o EH das folhas de *Cymbopogon citratus*. Os valores representam a média ± e.p.m. (n= 5-10). * p< 0,05 vs. CTRL e # p< 0,05 vs. MSG (ANOVA, Newman-Keuls)..... 30

Figura 6 Pressão arterial média (PAM) de ratos não obesos (CTRL) e obesos (MSG, MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0), durante 60 dias do tratamento com o EH das folhas de *Cymbopogon citratus*. Os símbolos e linhas verticais expressam a média ± e.p.m. (n= 5-10). * p< 0,05 vs. CTRL e (ANOVA, Newman-Keuls)..... 31

Figura 7 Curvas de contração concentração-resposta de noradrenalina (Nor) em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos não obesos (CTRL) e obesos (MSG, MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0), após 60 dias do tratamento com o EH das folhas de *Cymbopogon citratus*. Os símbolos e linhas verticais expressam a média ± e.p.m. (n= 5-10). * p< 0,05 vs. CTRL e # p< 0,05 vs. MSG (ANOVA, Newman-Keuls)..... 32

LISTA DE TABELAS

		p.
Tabela 1	Parâmetros bioquímicos do lipidograma e glicemia de ratos não obesos (CTRL) e obesos (MSG, MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0), após 60 dias do tratamento com o EH das folhas de *Cymbopogon citratus*.....	28
Tabela 2	Parâmetros hematológicos de ratos não obesos (CTRL) e obesos (MSG, MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0), após 60 dias do tratamento com o EH das folhas de *Cymbopogon citratus*.....	29
Tabela 3	Parâmetros bioquímicos séricos hepáticos e renais de ratos não obesos (CTRL) e obesos (MSG, MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0), após 60 dias do tratamento com o EH das folhas de *Cymbopogon citratus*.....	29
Tabela 4	Parâmetros morfométricos da musculatura cardíaca de ratos não obesos (CTRL) e obesos (MSG, MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0), após 60 dias do tratamento com o EH das folhas de *Cymbopogon citratus*.....	30

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACh	Acetilcolina
Ca^{2+}	Íon Cálcio
$CaCl_2$	Cloreto de Cálcio
CO_2	Dióxido de Carbono
CE_{50}	Concentração efetiva 50%
DcVE	Diâmetro da cavidade do ventrículo esquerdo
Dex	Diâmetro horizontal externo do coração
EMáx	Efeito máximo
e.p.m.	Erro padrão da média
EspVE	Espessura da parede do ventrículo esquerdo
g	Gramas
i.p.	Intraperitoneal
K^+	Íons Potássio
KCl	Cloreto de Potássio
Kg	Quilograma
mg	Miligrama
$MgCl_2$	Cloreto de Magnésio
mL	Mililitro
mmHg	Milímetro de mercúrio
mm	Milímetro
mM	Milimolar
MSG	Glutamato monossódico
µL	Microlitro
µg	Micrograma
µM	Micromolar
n	Número experimental
Na^+	Íon sódio
NaCl	Cloreto de Sódio
$NaHCO_3$	Bicarbonato de Sódio
NaH_2PO_4	Fosfato Monobásico de Sódio
O_2	Oxigênio molecular
PAM	Pressão arterial Média

SUMÁRIO

RESUMO vii
ABSTRACT viii
LISTA DE FIGURAS ix
LISTA DE TABELAS x
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS xi
1 INTRODUÇÃO 14
2 OBJETIVOS 19
2.1. Geral 19
2.2. Específicos 19
3 CAPÍTULO I 20
ABSTRACT 20
1 Introdução 20
2 Materiais e métodos 21
2.1. Material botânico 21
2.2. Obtenção do extrato hidroalcoólico 21
2.3. Animais experimentais 22
2.4. Protocolo experimental de indução neonatal de obesidade 22
2.5. Avaliação do desenvolvimento ponderal 23
2.6. Determinação do lipidograma e glicemia 23
2.7. Avaliação da toxicidade crônica 23
2.7.1. Análise hematológica e bioquímica sérica 23
2.7.2. Avaliação do peso do fígado 23
2.8. Avaliação de parâmetros cardiovasculares 24
2.8.1. Análise morfométrica da musculatura cardíaca 24
2.8.2. Avaliação da pressão arterial 24
2.8.3. Avaliação da reatividade vascular 24
2.9. Análise estatística dos resultados 24
3 Resultados 25
3.1 Obtenção do extrato hidroalcoólico 25
3.2 Protocolo experimental de indução neonatal de obesidade 25
3.3 Avaliação do desenvolvimento ponderal 27

3.4 Determinação do lipidograma e glicemia 27
3.5 Análise hematológica, bioquímica hepática e renal e avaliação do peso do fígado 28
3.6 Avaliação dos parâmetros cardiovasculares 30
3.6.1 Análise morfométrica da musculatura cardíaca 30
3.6.2 Avaliação da pressão arterial 31
3.6.3 Avaliação da reatividade vascular à adição de noradrenalina (Nor) em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos obesos – MSG 31
4 Discussão 32
Agradecimentos 35
Referencias 36
CONSIDERAÇÕES FINAIS 42
REFERÊNCIAS 43
APÊNDICE A 50
APÊNDICE B 51
APÊNDICE C 52
APÊNDICE D 53
APÊNDICE E 56

1 INTRODUÇÃO

A síndrome metabólica (SM) é um fator de risco para doença arterial coronariana (ALBERT et al., 2009). Representada por uma combinação de eventos cardiovasculares determinantes de riscos, incluindo a obesidade, em especial a adiposidade central, intolerância à glicose, resistência à insulina, dislipidemia e hipertensão (ALBERT et al., 2009; HUANG, 2009). Além disso, também foi recentemente associada a manifestações clínicas como a síndrome do ovário policístico (SOP), aterosclerose, estado pró-inflamatório, estresse oxidativo e esteatose hepática não-alcoólica. Assim, essa combinação de múltiplos determinantes dá a essa síndrome o dobro de risco de aterosclerose e doença cardiovascular que, em adição à epidemia mundial da obesidade, vêm aumentando rapidamente a sua prevalência, fornecendo-lhe um resultado de considerável impacto sobre a incidência global das doenças cardiovasculares e diabetes tipo 2 (ESCOBEDO et al., 2009; ALBERT et al., 2009).

Como revisto recentemente, a prevalência mundial da síndrome metabólica está entre 10 % e 84 %, dependendo da idade, região, contexto urbano ou rural, etnia, e a definição de síndrome metabólica utilizada (ESCOBEDO et al., 2009). De acordo com o estudo "Avaliação de Múltiplos Fatores de Riscos Cardiovasculares na America Latina" – CARMELA, regiões desenvolvidas da América Latina vêm passando por mudança no estilo de vida que contribuem para o desenvolvimento da SM, existindo uma alta prevalência desta síndrome nas cidades estudadas e, embora as taxas difiram entre as cidades, há um aumento marcante com a idade, especialmente em mulheres (ESCOBEDO et al., 2009).

No Brasil, de acordo com o estudo anual "Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico" – VIGITEL (BRASIL, 2009), há um aumento progressivo da obesidade entre os brasileiros, com atualmente 43 % da população adulta das capitais com excesso de peso e 13 % obesas. Esta realidade é preocupante, uma vez que as conseqüências da obesidade para a saúde variam do risco aumentado de morte prematura a doenças graves não letais, mas debilitantes e que afetam diretamente a qualidade de vida destes indivíduos, como a hipertensão arterial (GUS, 1998), o diabetes mellitus tipo 2 (ZANELLA, KOHLMANN, RIBEIRO, 2001), as dislipidemias, a síndrome metabólica (ROSA et al, 2005) e a doença aterosclerótica (ECKEL, GRUNDY, ZIMENET, 2005).

Segundo PEREIRA et al. (2003), estudos experimentais em humanos são de grande importância na resolução de diversos questionamentos para a comunidade científica, mas, devido a óbvias limitações éticas e financeiras, utiliza-se modelos experimentais de

obesidade e dislipidemias em animais de laboratório, facilitando a pesquisa científica e, assim, contribuindo para o conhecimento dos fatores causais e suas conseqüências endócrinas e metabólicas (CESARETTI, KOHLMANN, 2006).

Os modelos de obesidade em animais são obtidos, principalmente após indução de alterações neuroendócrinas (OLNEY, 1969; HOLZWARTH-MCBRIDE et al., 1976), anormalidades genéticas (KEEN RHINEHART, KALRA, KALRA, 2004) ou alterações alimentares (SCLAFANI, SPRINGER, 1976). Dentre as causas de obesidade neuroendócrina, existem as provocadas por lesões no hipotálamo (BRAY, 1979), que determinam a denominada obesidade hipotalâmica, desenvolvida após diversas alterações metabólicas como hiperfagia, hiperinsulinemia, prejuízo da termogênese, além de desordens funcionais no sistema nervoso autônomo (INQUE, 1992).

Pode-se induzir experimentalmente a obesidade utilizando a administração de L-Glutamato Monossódico (MSG) no período neonatal em ratos, pois, nesta faixa etária, a barreira hematoencefálica não se apresenta totalmente formada e, assim, os animais são mais sensíveis à ação do MSG (KIZER et al., 1977). O aminoácido neurotransmissor glutamato possui propriedades neurotóxicas no sistema nervoso central (SNC), uma vez que ao associar-se a receptores específicos provoca um aumento do influxo de Ca^{+2}, o qual é o responsável direto pela lesão dos neurônios desta região (OLNEY, 1969; HOLZWARTH-MCBRIDE et al., 1976).

Este modelo experimental de obesidade, inicialmente descrito por Olney (1969), consiste no desenvolvimento neonatal de obesidade em ratos após o lesionamento hipotalâmico induzido pela administração parenteral de MSG, que provoca a destruição de 80 a 90 % dos neurônios glutamatérgicos localizados principalmente na área pré-óptica e do núcleo arqueado (ARC) do hipotálamo e dos neurônios colinérgicos do ARC, bem como outras estruturas centrais, como a eminência mediana do hipotálamo, prejudicando a sinalização de leptina e insulina nesta região e resultando em sérias anormalidades neuroendócrinas e metabólicas (OLNEY, 1969; HOLZWARTH-MCBRIDE et al., 1976; KIZER et al., 1977; SARTIN et al., 1985; MAITER et al., 1991; MACHO et al., 2000).

O ARC é um local de secreção de neurotransmissores, peptídeos e de hormônios liberadores hipofisários como o hormônio liberador do hormônio do crescimento (GHRH), hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), neuropeptídeo Y (NPY), corticotropina, somatostatina, substância P, prolactina, β-endorfina, dopamina, galamina, neurotensina, polipeptídeo pancreático e pró-encefalina (REMKE, WILSDORF, MULLER, 1988; MISKOWIAK, PARTIKA, 1993).

Além disso, sabe-se que os animais apresentam significativa diminuição dos hormônios de crescimento (GH), hipogonadismo, esterilidade, hipercorticosteronemia (OLNEY, 1969), hiperleptinemia, resistência à insulina, menor atividade da proteína tranlocadora de glicose (GLUT-4), menor atividade do tecido adiposo marrom e maior acúmulo de gordura (HIRATA et al., 1997). Dentre as hipóteses sugeridas na gênese destas alterações está o desajuste do sistema nervoso autônomo (SNA), com a hiperatividade parassimpática (ROHNER-JEANRENAUD, 1995; LUCINEI-BALBO et al., 2000) e hipoatividade simpática para vários tecidos (DULLOO, YOUNG, 1991; ROHNER-JEANRENAUD, 1995; MORRIS et al., 1998) e, ainda, a diminuição na termogênese (MESSINA et al., 2005).

Estes distúrbios resultam em acúmulo de tecido adiposo, como conseqüência do aumento da atividade lipolítica nos adipócitos (CHEUNG et al., 1988), do aumento da atividade da lipoproteína lipase (NASCIMENTO CURI et al., 1991) e da elevação da sensibilidade do tecido adiposo para a insulina (MARMO et al., 1994), causando a obesidade nos animais, geralmente a partir dos 30 dias de vida, tornando-se mais significativa após os 80 dias (LUCINEI BALBO et al., 2000; MACHO, 2000; DOLNIKOFF et al., 2001), resultando em animais curtos e com redução do peso da hipófise, gônadas, útero e próstata (BAKKE et al., 1978) e com aumento dos níveis plasmáticos de insulina, triglicérides (ABE et al., 1990) e corticosteróides (SKULTÉTYOVÁ et al., 1998; MACHO et al., 1999).

No que diz respeito à adequação de modelos experimentais para o estudo da obesidade, embora nenhum deles simule com exatidão a obesidade humana em virtude da grande complexidade desta desordem, o modelo de obesidade induzido pelo MSG, apresenta características que são encontradas na obesidade humana, tais como resistência à insulina, dislipidemia e acúmulo de gordura, podendo assim ser considerado como modelo adequado de obesidade experimental (MARMO et al., 1994; HIRATA et al., 1997).

Estudos desenvolvidos pela Organização Mundial de Saúde (OMS) demonstraram que 85 % da população em países em desenvolvimento fazem uso de plantas medicinais, ou seus derivados, no tratamento de diversas patologias. Assim, as plantas são fontes importantes de moléculas biologicamente ativas que podem ser utilizadas, não apenas como modelo para a síntese e obtenção de novos fármacos, mas também como uma nova modalidade terapêutica (CAÑIGUERAL, DELLACASSA, BANDONI, 2003). No entanto, a OMS recomenda que sejam exigidas comprovação de eficácia, segurança e qualidade dos fitoterápicos, visto que, a população somente tem condições de reconhecer sintomas e sinais agudos e muito evidentes de toxicidade (RATES, 2001).

A flora brasileira é extremamente rica em matéria prima para a produção de fitofármacos, porém apenas 8 % desta flora foi objeto de estudo. Assim é de suma importância que os pesquisadores brasileiros priorizem seus estudos nestas plantas, buscando uma fonte alternativa de medicamentos e visando no futuro a obtenção de novos fármacos mais eficazes e específicos (SIMÕES et al., 2000).

A ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), na Portaria n.º 13, de 16 de janeiro de 2004, determina que um fitoterápico deva ter a eficácia e a segurança validadas através de levantamentos etnofarmacológicos, documentações tecnocientíficas em bibliografia e/ou publicações indexadas e/ou estudos farmacológicos e toxicológicos pré-clínicos e clínicos, de acordo com as exigências estipuladas na Resolução-RE nº 90, de 16 de março de 2004. São, portanto, obrigatórias as investigações sobre a toxicidade e os efeitos farmacológicas do fitoterápico para que o mesmo seja registrado na ANVISA.

No Brasil, diversas plantas medicinais são utilizadas no tratamento de doenças cardiovasculares (MASHOUR, LIM, FRISHMAN, 1998), diabetes mellitus (ADENEY, AGBAJE, 2007) e hiperlipidemias (WANG, NG, 1999). Dentre estas plantas encontram-se o *Croton cajucara* B. (Euphorbiaceae) (DI STASI et al.,1989) e as cidreiras *Lippia alba, Melissa officinalis* e *Cymbopogon citratus*, as quais ainda, são conferidas atividades digestivas, carminativas e antiespasmódicas (TAVARES et al, 2005). Além destas, já foram estudadas *Camellia sinensis* (L.) Kuntze (Theaceae), *Citrus aurantium* L. (Rutaceae), *Panax ginseng* C.A. Meyer (Araliaceae), *Salix matsudana* K.(Salicaceae), *Nelumbo nucifera* G. (Nymphaeaceae) e *Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae), as quais foi indicada atividade anti-obesidade (CALAPAI et al., 1999; HAN et al., 2003; HIDAKA, OKAMOTO, ARITA, 2004; ONO et al., 2006).

Cymbopogon citratus (D.C.) Stapf (APÊNDICE A) é uma erva perene, com folhas longas, estreitas e aromáticas e, quando recentemente amassadas têm forte cheiro de limão. De flores raras e estéreis em condições de clima úmido e quente, é originária da Ásia e muito cultivada em quase todos os países tropicais, inclusive no Brasil, tanto para fins industriais como em hortas caseiras para uso em medicina tradicional (LORENZI, MATOS, 2008).

Descrito inicialmente como *Andropogon citratus* por De Candolle e re-classificado por Otto Stapf, *Cymbopogon citratus* pertence à Poaceae (Graminae), uma das maiores famílias de plantas que engloba cerca de 500 gêneros e aproximadamente 8.000 espécies essencialmente herbáceas, denominadas genericamente de gramíneas. O gênero *Cymbopogon* inclue cerca de 30 espécies de gramíneas perenes aromáticas, sendo a maioria

destas nativas da região tropical da Ásia (PIO CORRÊA, 1984). O nome deste gênero, *Cymbopogon*, deriva de kymbe (barco) e pogon (barba); em referência ao arranjo da sua inflorescência (espiga).

Conhecida em diversos países como "citronella", "lemongras", "zacate", "té de limón", "caña santa", "limoncillo", "verveine des indes", "será" e "limonit", dentre outras sinonímias, é largamente difundido do norte ao sul do Brasil como "capim-limão", "cana-cidreira", "cana-cidreira-do-reino", "cana-limão", "caninha-limão", "capim-cidrão", "capim-barata", "capim-cheiroso", "capim-cidreira", "capim-cidrilho", "capim-cidró", "capim-jossá", "capim-santo", "chá-de-estrada", "erva-cidreira", "facapé", "falso-patchuli", "jaçapé", "patchulli" e "verbena-da-índia", e utilizado na forma de um chá de aroma e sabor agradáveis e de ação calmante e espasmolítica suaves (LORENZI; MATOS, 2008). Contém óleo essencial, constituído principalmente por citral, ao qual se atribui atividade calmante e espasmolítica, β-mirceno, princípio ativo de ação analgésica (SOUSA et al., 1991; MATOS, 2000) e geraniol, sendo estes indicados, em estudos recentes, como sedativos (COSTA, MARQUES, COSTA, 2006), anticancerígenos (DUDAI et al., 2005) e com diversas outras propriedades como bactericidas e fungicidas (OHNO et al*,* 2003).

Em estudos farmacológicos, realizados com o extrato hidroalcoólico, obtido das folhas de *Cymbopogon citratus*, foi demonstrada ação hipotensora em ratos Wistar não obesos (SINGI et al., 2005). O extrato aquoso da planta apresentou ação redutora dos batimentos cardíacos (GAZOLA et al., 2004), além de atividades hipoglicemiante e hipolipemiante com redução de colesterol, LDL e glicose, em ratos não obesos (ADENEYE, AGBAJE, 2007). Efeito vasorelaxante (RUNNIE et al., 2004) e atividade antioxidante (CHEEL et al*.,* 2005) foram observados com o extrato metanólico.

Assim, considerando a tradição no uso desta espécie vegetal pela população maranhense e os poucos estudos científicos descritos na literatura sobre os seus efeitos no sistema cardiovascular, bem como a ausência de estudos em modelos experimentais de obesidade e, ainda, baseando-se na necessidade de investigações sobre novas alternativas farmacológicas que possam ser utilizadas para o controle das complicações cardiovasculares associadas à obesidade, foi que o presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade do extrato de *Cymbopogon citratus* no sistema cardiovascular de ratos obesos.

2 OBJETIVOS

2.1. Geral

Avaliar a atividade do extrato hidroalcoólico de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf no sistema cardiovascular de ratos com obesidade induzida pelo L-glutamato monossódico.

2.2. Específicos

- Realizar a avaliação farmacognóstica de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf;
- Avaliar o efeito da administração crônica do extrato hidroalcoólico de *Cymbopogon citratus* S. sobre o acúmulo de gordura e o desenvolvimento ponderal de ratos obesos;
- Investigar a toxicidade crônica do extrato hidroalcoólico de *Cymbopogon citratus* S.;
- Investigar o efeito da administração crônica do extrato hidroalcoólico de *Cymbopogon citratus* S. sobre os parâmetros cardiovasculares de ratos obesos;
- Avaliar o efeito da administração crônica do extrato hidroalcoólico de *Cymbopogon citratus* S. sobre o lipidograma e glicose de ratos obesos.

3 CAPÍTULO I

Effects of *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf hydroalcoholic extract on cardiovascular system of obese rats

Machado, C. T. M.[a], Borges, M. O. R.[a,]*
[a]*Laboratory of Pharmacology, Department of Physiological Sciences, Federal University of Maranhão, São Luís, Maranhão, Brazil.*

ABSTRACT
Ethnopharmacological relevance: *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf (Poaceae) has been used in Brazilian folk medicine for treatment of various diseases, such as sedative, spasmolytic, analgesic, anti-inflammatory, antipyretic and diuretic agents.
Aim of the study: Our aim was to evaluate the effects of *Cymbopogon citratus* extract (HE) on cardiovascular system of monosodium glutamate (MSG) induced obese rats.
Materials and methods: Obesity was induced in rats during the first 5 days of life. The HE (0.5 g/kg and 1.0 g/Kg) was administrated via gavage once a day, starting with 9 weeks of age of animals, for subsequent 60 days. Evaluated with Lee index, fat deposits, body weight, serum levels of glucose, total cholesterol (TC), high density lipoprotein (HDL), low density lipoprotein (LDL), very low density lipoprotein (VLDL), triglycerides (TG), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), urea, creatinin, blood count, liver index, cardiac morphometric, blood pressure and mesenteric artery reactivity.
Results: HE effectively reduced the Lee index, retroperitoneal fat deposit, body weight, elevated levels of serum ALT, glucose, TC, LDL, VLDL, TG and the rings of mesenteric artery maximum contraction produced by noradrenaline. HE also promoted the elevation of serum HDL. There was no change in blood count and cardiac morphometric of obese animals.
Conclusions: Those results suggest HE has protective and therapeutic effects on cardiovascular system of monosodium glutamate (MSG) induced obese rats.

Keywords: *Cymbopogon citratus*, Obesity, Cardiovascular System, Monosodium glutamate.
Artigo será submetido à revista Journal of Ethnopharmacology

1 Introdução

Cymbopogon citratus (D.C.) Stapf, espécie da família Poaceae (Gramineae), é uma erva perene muito cultivada em países tropicais, cuja origem pode ser da Malásia, Indochina e Sirilanka (Adeneye e Agbaje, 2007). Quase acaule, com folhas longas, estreitas e aromáticas e flores raras e estéreis em nossas condições climáticas, quando recentemente amassadas têm forte cheiro de limão (Lorenzi e Matos, 2008). Conhecido vulgarmente no Brasil e em outros países como capim-limão, capim-cheiroso, capim-cidreira, capim-santo, capim-cidró, citronela-de-java, capim-catinga e capim-cidrilho, dentre outras sinonímias, é muito cultivado tanto para fins industriais como em hortas caseiras para uso em medicina tradicional (Lorenzi e Matos, 2008).

Largamente difundido de norte a sul do Brasil na forma de um chá de aroma e sabor agradáveis, é popurlamente usado como espasmolítico, analgésico, antiinflamatório, antipirético, diurético e tranquilizante (Ferreira, 1984).

Contém óleo essencial, cujas atividades antimicrobiana (Onawunmi et al., 1984; Cimanga et al., 2002), hipnótica, ansiolítica (Leite et al., 1986) e antinociceptiva (Lorenzetti et al., 1991; Viana et al., 2000) já foi comprovada por diversos autores, constituído

principalmente por citral, uma mistura natural de dois aldeídos isoméricos, nerol e geraniol (Viana et al., 2000), ao qual se atribui atividade calmante e espasmolítica e o mirceno, princípio ativo de ação analgésica (Sousa et al., 1991; Matos, 2000), indicados em estudos recentes como sedativos (Costa et al., 2006), anticancerígenos (Dudai et al., 2005) e com diversas outras propriedades como bactericidas e fungicidas (Ohno et al, 2003). Estudos fitoquímicos com extrato aquoso das folhas mostrou a presença de alcalóides, saponinas, taninos e açúcares simples (Onabanjo et al., 1993)

Em estudos farmacológicos, realizados com o extrato hidroalcoólico, obtido das folhas de *Cymbopogon citratus*, foi demonstrada ação hipotensora em ratos (Singi et al., 2005). O extrato aquoso da planta apresentou atividade hipotensora, diurética e antiinflamatória (Carbajal et al., 1989), redutora de batimentos cardíacos (Gazola et al., 2004), além de atividades hipoglicemiante e hipolipemiante com redução de colesterol, LDL e glicose, exceto triglicerídeos, em ratos não obesos (Adeneye e Agbaje, 2007). Efeito vasorelaxante (Runnie et al., 2004) e também atividade antioxidante (Cheel et al., 2005) foram observados com o extrato metanólico.

A obesidade é uma doença crônica multifatorial definida como estado nutricional com balanço energético positivo e acúmulo excessivo de gordura no organismo (Lameu, 2005), caracterizada pelo índice de massa corporal (IMC) superior a 30 kg/m^2 (Bernal-Pacheco e Román, 2007; Arena et al., 2009), é reconhecida como fator de risco para doenças metabólicas e cardiovasculares como síndrome metabólica (Rosa et al., 2005; Albert et al., 2009; Huang, 2009; Escobedo et al., 2009), diabetes mellitus tipo 2 (Zanella et al., 2001), hipertensão arterial (Gus, 1998), doença coronariana e aterosclerótica (Eckel et al., 2005), sendo estas últimas a maior causa de mortalidade na população (Giusti, 2007). O padrão conservador dos tratamentos da obesidade, como a dieta, atividade física, terapia cognitiva e medicamentos convencionais, torna-os ineficazes à longo prazo em torno de 95 % dos pacientes (Giusti, 2007) e, assim, a utilização de plantas medicinais nos programas de atenção primária à saúde pode se constituir uma alternativa terapêutica muito útil devido a sua eficácia aliada a um baixo custo operacional, a facilidade para aquisição das plantas e a compatibilidade cultural do programa com a população atendida (Matos, 1994).

Este estudo tem como objetivo avaliar a atividade do extrato hidroalcoólico de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf no sistema cardiovascular de ratos com obesidade induzida pelo L-glutamato monossódico.

2 Materiais e métodos

2.1. Material botânico

Para a realização deste trabalho foram utilizadas folhas da espécie vegetal *Cymbopogon citratus*, coletadas no horto Profª. Drª Berta Lange de Morretes, nos meses de setembro de 2007 e 2008. Uma amostra foi retirada para a preparação da exsicata, a qual foi enviada ao Herbário Ático Seabra da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), onde foi identificada como *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf e registrada sob o nº 537.

2.2. Obtenção do extrato hidroalcoólico

As folhas de *Cymbopogon citratus* coletadas e secas em local arejado e sob temperatura ambiente e, em seguida, o material vegetal foi pulverizado em moinho elétrico para obtenção do pó. A extração foi obtida pelo processo de maceração com álcool etílico 70 % (1:3). A mistura foi mantida em recipiente de vidro, fechado, protegido da luz e sob

temperatura ambiente, durante o período de 72 horas, no qual foi submetido à agitação ocasional. Esta operação é repetida três vezes, utilizando o mesmo material vegetal, renovando apenas o líquido extrator (Simões et al*.,* 2000).

O macerado hidroalcoólico extraído foi filtrado e concentrado em rotaevaporador à pressão reduzida e sob uma temperatura de 50 ºC (± 2º C). O extrato concentrado final obtido foi denominado de extrato hidroalcoólico (EH) de *Cymbopogon citratus*, que foi acondicionado em frasco âmbar e conservado sob refrigeração de aproximadamente 4ºC.

Para determinação do peso seco e do rendimento, foram utilizadas 3 alíquotas de 1 mL do EH, colocadas em béqueres secos e previamente tarados. As alíquotas foram evaporadas sob corrente de ar quente e os recipientes, após resfriamento, pesados em balança analítica para determinação do peso seco dos resíduos. Esta operação foi repetida até obtenção dos pesos secos constantes. Para cálculo do rendimento (%) utilizou-se o peso total do pó, o peso seco obtido e o volume final total do extrato concentrado.

O screening fitoquímico do EH de *Cymbopogon citratus* foi realizado de acordo com Matos (1997), a fim de verificar a presença das seguintes classes de metabólitos secundários: fenóis, taninos, antocianinas, antocianidinas, chalconas, auronas, flavonas, flavonóis, xantonas, flavononóis, flavonononas, leucoantocianidinas, catequinas, esteróides, triterpenóides, saponinas, alcalóides e glicosideos crianogênicos. A intensidade destes compostos foi notificada como (+++) para fortemente positivo, (++) para moderadamente positivo, (+) para fracamente positivo, (-) traços e (0) para não detectados.

2.3. Animais experimentais

Todos os procedimentos descritos no presente estudo foram aprovados pela Comissão de Ética e Experimentação Animal da Universidade Estadual do Maranhão, sob o parecer nº 01/09.

Para a execução dos testes foram utilizados ratos machos Wistar da espécie *Rattus norvegicus*, na fase adulta (9 semanas de idade) de ambos os sexos, provenientes do Biotério da Universidade Federal do Maranhão (UFMA).

Todos os animais foram mantidos em caixas padrões e em sala com temperatura constante (25±3ºC), sob condições padronizadas de iluminação (ciclo claro/escuro de 12/12 h) e com fornecimento de água e ração *ad libtum*. O desmame foi realizado aos 21 dias de vida dos filhotes.

2.4. Protocolo experimental de indução neonatal de obesidade

Durante os 5 primeiros dias de vida, filhotes de ratos Wistar, machos, foram injetados por via subcutânea, na região cervical, com solução de glutamato monossódico (MSG) na dose de 4,0 g/Kg/dia (Dolnikoff et al., 1988). Os animais que não tiveram a obesidade induzida (CTRL) foram injetados com solução salina hiperosmótica (NaCl 1,25 %, 0,1 ml/mg), por via subcutânea, na mesma região.

Aos 21 dias foi realizado o desmame e a randomização dos animais obesos em três grupos (n= 5-10): MSG, MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0.

Os animais iniciaram o tratamento com 9 semanas de vida, recebendo, diariamente, durante 60 dias, por via oral (v.o), solução fisiológica de NaCl 0,9 % (CTRL e MSG) ou extrato hidroalcoólico (EH) de *Cymbopogon citratus* na dose de 0,5 g/Kg (MSG-EH0,5) e EH na dose de 1,0 g/Kg (MSG-EH1,0).

Para a caracterização da obesidade induzida pelo MSG, foi determinado o Índice de Lee e o peso das gorduras retroperitoneal e periepididimal dos animais.

O Índice de Lee [$\sqrt[3]{}$peso(g)/comprimento naso-anal (cm) x 1000] foi avaliado antes, aos 30 dias e ao final do tratamento dos animais (Bernardis e Patterson, 1968) e, após a eutanásia dos ratos, a gordura foi retirada, lavada com solução salina e pesada para avaliação do acúmulo de gordura.

2.5. Avaliação do desenvolvimento ponderal

Durante todo o período de tratamento, os animais foram pesados semanalmente para avaliação do desenvolvimento ponderal. Foi avaliado também o consumo de ração semanal, que foi expresso como a média diária da quantidade consumida por animal.

2.6. Determinação do lipidograma e glicemia

Para determinação do lipidograma e glicemia, as amostras de sangue coletadas foram centrifugadas a 3500 rpm durante 15 minutos e, em seguida, determinadas as concentrações de glicose, colesterol total (CT), triglicérides (TGL), lipoproteina de alta densidade (HDL), lipoproteina de baixa densidade (LDL) e lipoproteína de muita baixa densidade (VLDL). Os ensaios foram realizados em aparelho automático e as análises feitas conforme os procedimentos descritos nos kits comerciais (Soares-Mota et al., 2009).

2.7. Avaliação da toxicidade crônica

Para avaliação da toxicidade crônica foram realizadas as análises hematológica e bioquímica sérica dos marcadores renais e das enzimas precursoras (hepatograma), assim como a avaliação do peso do fígado de todos os grupos experimentais (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2004).

2.7.1. Análise hematológica e bioquímica sérica

A contagem para eritrócitos, leucócitos, plaquetas, hemoglobina, hematócrito e os índices hematimétricos volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) foram determinados imediatamente após a coleta do sangue total, através do analisador automático de células hematológicas Coulter STKS. A contagem diferencial de leucócitos foi realizada em extensões coradas com May-Grünwald-Giemsa. Em cada ensaio, 100 campos foram analisadas e contadas (Soares-Mota et al., 2009)

Foram realizadas as análises bioquímicas séricas dos parâmetros aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), uréia e creatinina, conforme metodologia descrita no item 2.6.

2.7.2. Avaliação do peso do fígado

Após a eutanásia dos animais, o fígado foi retirado e imediatamente pesado em balança analítica de alta precisão. O peso do fígado foi calculado em proporção ao peso corporal de cada animal correspondente (Wang et al., 2009)

2.8. Avaliação de parâmetros cardiovasculares

2.8.1. Análise morfométrica da musculatura cardíaca

Depois da eutanásia dos animais, o coração foi retirado e fixado em formol a 10% e posteriormente, pesado em balança digital de alta precisão. O diâmetro horizontal externo do coração (Dex), o diâmetro horizontal externo do ventrículo esquerdo e o da cavidade do ventrículo esquerdo (DcVE) foram medidos no sentido látero-lateral, na maior circunferência, enquanto a espessura da parede do ventrículo esquerdo (EspVE) foi medida do seu lado esquerdo, com o uso de um paquímetro digital. Posteriormente, o ventrículo esquerdo foi isolado e também pesado em balança digital de alta precisão.

2.8.2. Avaliação da pressão arterial

Durante o período de 60 dias de tratamento com o EH de *Cymbopogon citratus* S. a pressão média (PAM) dos animais foi aferida, duas vezes por semana, pelo método de registro indireto da pressão arterial em ratos acordados (Abreu, 2003). Para medição das pulsações arteriais, os animais não anestesiados foram previamente aquecidos à 45 ºC, durante 10 minutos e, imediatamente, colocados em contensores individuais, deixando a cauda livre para a adaptação do manguito de pressão e do transdutor acoplado ao fisiógrafo (LE 5001 Pressure Meter). Uma vez adaptado ao sistema, os animais foram deixados sem manipulação durante 4 minutos, evitando-se assim as reações pressóricas ao aquecimento e à contensão (Alexander, 1957; Abreu, 2003).

2.8.3. Avaliação da reatividade vascular

Após 60 dias de tratamento com o EH, os animais foram anestesiados e eutanasiados por hipovolemia decorrente à exsanguinação. Foi realizada a laparotomia para a identificação e isolamento da artéria mesentérica que foi lavada e mantida em placa de Petri contendo Líquido Nutitivo de Krebs (composição em mM: NaCl 118, KCl 5, $CaCl_2$ 2, $MgCl_2$ 1,2, $NaHCO_3$ 15,5, NaH_2PO_4 1,2 e glicose 11), aquecido à 37 ºC para a retirada de anéis de aproximadamente 0,5 cm de comprimento. Estes anéis foram cuidadosamente colocados entre fios de aço inoxidável (50 μm de diâmetro), suspendidos em uma câmara de órgão isolado (5,0 ml), contendo solução de Krebs (pH 7,4; 37°C) e equilibrados com mistura carbogênica (CO_2 5% e O_2 95%). As variações de tensão das preparações foram medidas com um transdutor de força isométrico (MLT 0202, 0-25 g) e registradas em um fisiógrafo (QuadBridge, PowerLab 4/30 ADInstruments) (APÊNDICE B). Os anéis da artéria foram inicialmente equilibrados por 1 hora, sob tensão de repouso ótima de 1,0 g e lavados a cada 10 minutos (Abreu, 2003).

Após a estabilização das preparações, curvas concentração-resposta para noradrenalina foram realizadas nos anéis da artéria mesentérica dos animais e determinadas as concentrações dos agonistas necessárias para produzir 50% da concentração efetiva (CE_{50}) e o efeito máximo de contração (EMáx) (Van Rossum, 1963).

2.9. Análise estatística dos resultados

Os resultados foram expressos como média ± erro padrão das médias (e.p.m.). As diferenças entre os grupos experimentais foram detectadas pela análise de variância (one-way ANOVA) seguida pelo teste de Newman-Keuls. Diferenças foram consideradas com $p \leq 0,05$.

3 Resultados

3.1 Obtenção do extrato hidroalcoólico

O extrato hidroalcoólico (EH) das folhas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf, preparado a partir das folhas secas e pulverizadas, apresentou coloração marrom esverdeado, odor característico, peso seco de 78,5 mg/mL e rendimento de 28,6 %. Na análise fitoquímica do EH foram detectadas as seguintes classes de metabólitos secundários: fenóis, taninos condensados, flavonas, flavonóis, xantonas, flavanonóis, esteróides e saponinas (APÊNDICE C).

3.2 Indução neonatal de obesidade

A obesidade foi caracterizada pela determinação do Índice de Lee e peso das gorduras retroperitoneal e periepididimal.

De acordo com o Índice de Lee, os animais do grupo obeso (MSG) obtiveram um aumento médio significativo de 13 % (332,96 ± 3,83), durante todo o período de tratamento, quando comparados aos animais do grupo não obeso (CTRL). Os animais obesos tratados durante 60 dias com o EH de *Cymbopogon citratus* (0,5 e 1,0 g/Kg) apresentaram redução do Índice de Lee de 11 % e 9 %, respectivamente, a partir de 30 dias de tratamento, quando comparados aos animais do grupo MSG, atingindo valores semelhantes aos dos animais do grupo CTRL (296,03 ± 0,99) (Figura 1).

Na avaliação do acúmulo de gordura, o grupo MSG apresentou um aumento significativo dos depósitos de gordura tanto retroperitoneal como periepididimal em 507 % e 374 %, respectivamente, quando comparados ao grupo CTRL (Figuras 2 e 3). Porém, os animais obesos tratados durante 60 dias com o EH de *Cymbopogon citratus* (0,5 e 1,0 g/Kg) obtiveram uma redução significativa da gordura retroperitoneal em 31 % e 39 % em relação ao grupo MSG (Figura 2).

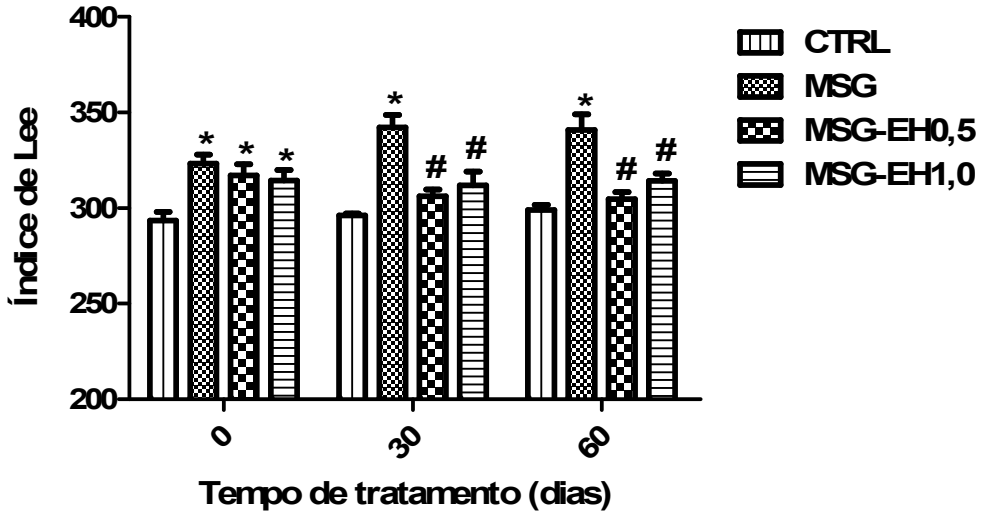

Fig. 1. Índice de Lee de ratos não obesos (CTRL) e obesos (MSG, MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0), antes e após 30 e 60 dias do tratamento com o EH das folhas de *Cymbopogon citratus*. Os valores representam a média ± e.p.m. (n= 5-10). * p< 0,05 vs. CTRL e # p< 0,05 vs. MSG (ANOVA, Newman-Keuls).

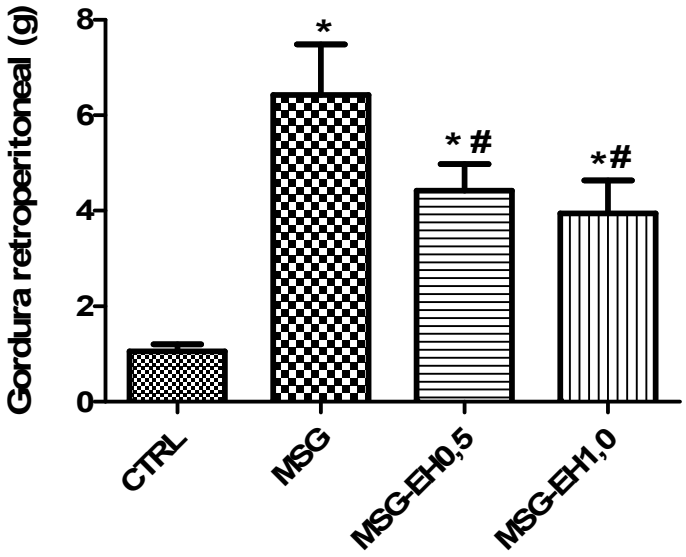

Fig. 2. Gordura retroperitoneal de ratos não obesos (CTRL) e obesos (MSG, MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0), após 60 dias do tratamento com o EH das folhas de *Cymbopogon citratus*. Os valores representam a média ± e.p.m. (n= 5-10). * p< 0,05 vs. CTRL e # p< 0,05 vs. MSG (ANOVA, Newman-Keuls).

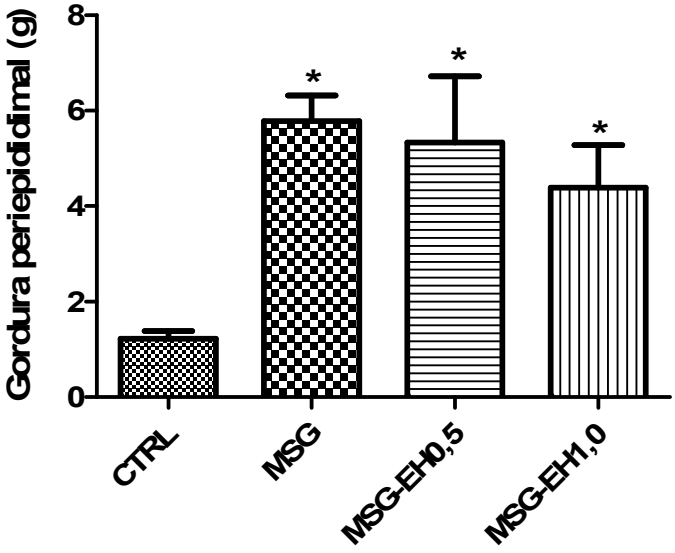

Fig. 3. Gordura periepididimal de ratos não obesos (CTRL) e obesos (MSG, MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0), após 60 dias do tratamento com o EH das folhas de *Cymbopogon citratus*. Os valores representam a média ± e.p.m. (n= 5-10). * p< 0,05 vs. CTRL e # p< 0,05 vs. MSG (ANOVA, Newman-Keuls).

3.3 Avaliação do desenvolvimento ponderal

Na avaliação do desenvolvimento ponderal evidenciou-se uma tendência à estabilização do peso corporal dos animais obesos (MSG, MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0) durante os 60 dias de tratamento, apresentando diminuição na evolução ponderal de 22 %, 21 % e 31 %, respectivamente, na 8ª semana, quando comparados ao grupo não obeso (CTRL). Os animais tratados com extrato na dose de 1,0 g/Kg apresentaram menor peso corporal em relação ao grupo CTRL, desde a 3ª semana de tratamento (Figura 4).

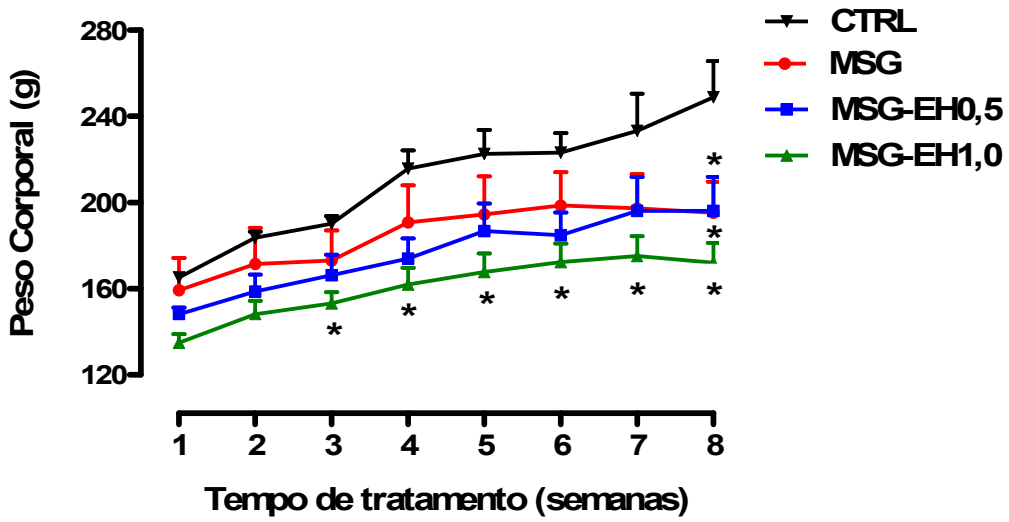

Fig. 4. Desenvolvimento ponderal de ratos não obesos (CTRL) e obesos (MSG, MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0), durante 60 dias do tratamento com o EH das folhas de *Cymbopogon citratus*. Os valores representam a média ± e.p.m. (n= 5-10). * p< 0,05 vs. CTRL e # p< 0,05 vs. MSG (ANOVA, Newman-Keuls).

3.4 Determinação do lipidograma e glicemia

Em relação aos parâmetros bioquímicos, os animais obesos (MSG) apresentaram um aumento significativo dos valores de glicose (137,8 ± 7,40 mg/dL, 36%), colesterol total (CT) (117,10 ± 11,41 mg/dL, 63 %), lipoproteína de baixa densidade (LDL) (58,71 ± 8,27 mg/dL, 105 %), lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) (22,95 ± 1,31 mg/dL, 166 %) e triglicérides (TGL) (119,60 ± 5,82 mg/dL, 168 %), quando comparados aos animais não obesos (CTRL) (101,6 ± 5,39 mg/dL, 71,78 ± 5,27 mg/dL, 28,60 ± 2,95 mg/dL, 8,62 ± 0,86 mg/dL, 44,67 ± 3,70 mg/dL, respectivamente) (Tabela 1).

O grupo obeso tratado com o extrato hidroalcoólico de *Cymbopogon citratus* na dose 0,5 g/Kg, apresentou uma redução significativa dos valores de glicose em 40 % e LDL em 41 %, bem como também um aumento significativo de HDL em 50%, quando comparados aos animais do grupo MSG.

Os animais obesos tratados cronicamente com o EH na maior dose (1,0 g/Kg) apresentaram uma redução dos valores de glicose (29 %), CT (24 %), LDL (59 %), VLDL (26 %) e TGL (29 %), bem como um aumento significativo de HDL (52 %), quando comparados aos animais do grupo MSG.

Houve ainda uma diminuição, dependente de dose, dos valores de VLDL e triglicérides entre animais do grupo MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0.

Os parâmetros bioquímicos determinados no soro dos animais estão dispostos na Tabela 1 e APÊNDICE D.

Tabela 1. Parâmetros bioquímicos do lipidograma e glicemia em ratos não obesos (CTRL) e obesos (MSG, MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0) após 60 dias do tratamento com EH das folhas de *Cymbopogon citratus*.

PARÂMETROS BIOQUÍMICOS	**GRUPOS**			
	CTRL	**MSG**	**MSG-EH0,5**	**MSG-EH1,0**
Glicose (mg/dL)	101,6 ± 5,39	**137,8 ± 7,40 ***	**82,40 ± 12,11 #**	**98,13 ± 12,26 #**
CT (mg/dL)	71,78 ± 5,27	**117,1 ± 11,41 ***	104,6 ± 3,25 *	**88,75 ± 8,83 #**
HDL (mg/dL)	34,56 ± 2,58	31,38 ± 4,22	**47,00 ± 2,47 * #**	**47,63 ± 4,50 * #**
LDL (mg/dL)	28,60 ± 2,95	**58,71 ± 8,27***	**34,36 ± 3,92 #**	**24,23 ± 5,17 #**
VLDL (mg/dL)	8,62 ± 0,86	**22,95 ± 1,31***	23,24 ± 0,83 *	**16,90 ± 0,74 * #**
TGL (mg/dL)	44,67 ± 3,70	**119,60 ± 5,82***	116,2 ± 4,17 *	**84,50 ± 3,71* #**

Os valores representam a média ± e.p.m. (n= 5-10). CT: Colesterol Total, HDL: Lipoproteina de Alta Densidade, LDL: Lipoproteina de Baixa Densidade, VLDL: Lipoproteina de Muito Baixa Densidade, TGL: Triglicérides. * p< 0,05 vs. CTRL e # p< 0,05 vs. MSG (ANOVA, Newman-Keuls).

3.5 Análise hematológica, bioquímica hepática e renal e avaliação do peso do fígado

Na análise hematológica, a indução da obesidade, bem como o tratamento crônico realizado durante 60 dias com o extrato hidroalcoólico de *Cymbopogon citratus*, não induziu modificações no perfil hematológico, exceto para os valores de VCM que no grupo MSG apresentou-se aumentado em 14 % em relação ao grupo CTRL (Tabela 2). Os parâmetros hematológicos dos animais dos grupos MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0 mantiveram-se semelhantes aos valores dos animais do grupo CTRL.

A análise dos parâmetros bioquímicos de avaliação hepática revelou que os animais obesos (MSG) apresentaram um aumento significativo de 69 % e 35 % em relação aos valores de aspartato amino-transferase (AST) e alanina amino-transferase (ALT) obtidos para os animais do grupo não obeso (CTRL) e, ainda, que o tratamento dos animais obesos com o EH (0,5 e 1,0 g/Kg) promoveu uma redução dos valores de ALT em 24 % e 33 %, respectivamente, quando comparados ao grupo MSG, tornando-se semelhantes aos valores determinados no grupo CTRL (Tabela 3, APÊNDICE E). Os valores de uréia e creatinina não apresentaram diferença entre os grupos avaliados.

Na avaliação do peso do fígado, a obesidade nos animais não induziu alterações no peso proporcional do fígado dos animais do grupo MSG em comparação ao grupo CTRL (Figura 5), porém o EH, nas doses 0,5 e 1,0 g/Kg, reduziu o peso proporcional do fígado em 23 % e 21 %, quando comparados ao grupo MSG (0,3233 ± 0,003) e 16 % e 14 % quando comparados ao grupo CTRL (0,2971 ± 0,008), respectivamente.

Tabela 2. Parâmetros hematológicos de ratos não obesos (CTRL) e obesos (MSG, MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0), após 60 dias do tratamento com o EH das folhas de *Cymbopogon citratus*.

PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS	**GRUPOS**			
	CTRL	**MSG**	**MSG-EH0,5**	**MSG-EH 1,0**
Eritrócito ($x10^6$ cells/mm^3)	8,00 ± 0,23	7,28 ± 0,34	7,80 ± 0,48	7,99 ± 0,55
Hemoglobina (g/dL)	14,80 ± 0,55	14,81 ± 0,40	13,85 ± 0,81	14,58 ± 1,08
Hematócrito (%)	41,87 ± 1,55	43,09 ± 1,58	40,20 ± 2,56	40,92 ± 2,79
VCM (fl)	52,44 ± 1,63	59,85 ± 1,79 *	52,73 ± 2,43 #	51,21 ± 0,55 #
HCM (pg)	18,96 ± 1,03	17,63 ± 1,52	17,94 ± 0,39	18,22 ± 0,24
CHCM g/dL	35,17 ± 0,23	30,18 ± 2,66	34,14 ± 0,79	35,56 ± 0,31
LEU ($x10^3$ cells/mm^3)	8,24 ± 0,52	6,92 ± 0,38	7,82 ± 0,58	8,46 ± 0,80
Neutrófilos (%)	13,68 ± 0,98	22,71 ± 2,55	29,70 ± 8,92	22,40 ± 6,22
Linfócitos (%)	70,87 ± 1,03	72,18 ± 2,81	59,73 ± 8,08	64,88 ± 5,56
Monócitos (%)	16,33 ± 2,72	2,29 ± 1,85 *	8,18 ± 3,73	15,27 ± 2,13 #
Eosinófilos (%)	3,04 ± 0,60	2,47 ± 0,44	2,33 ± 0,30	1,76 ± 0,51
Basófilos (%)	0,70 ± 0,24	1,36 ± 0,29	1,93 ± 0,55	0,55 ± 0,12
Plaquetas	552,22 ± 61,03	644,00 ± 38,90	560,33 ± 66,53	469,33 ± 27,59

Os valores representam a média ± e.p.m. (n= 5-10). VCM: Volume Corpuscular Médio, HCM: Hemoglobina Corpuscular Média, CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média, LEU: Leucócitos. A contagem diferencial dos leucócitos foi realizada sobre extensões sanguíneas coradas com May-Grünwald-Giemsa, onde 100 células foram analisadas para cada experimento. * p< 0,05 vs. CTRL e # p< 0,05 vs. MSG (ANOVA, Newman-Keuls).

Tabela 3. Parâmetros bioquímicos séricos hepáticos e renais de ratos não obesos (CTRL) e obesos (MSG, MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0), após 60 dias do tratamento com o EH das folhas de *Cymbopogon citratus*.

PARÂMETROS BIOQUÍMICOS	**GRUPOS**			
	CTRL	**MSG**	**MSG-EH0,5**	**MSG-EH1,0**
AST (U/L)	96,17 ± 5,61	**162,30 ± 24,43 ***	142,8 ± 15,48	127,00 ± 10,54
ALT (U/L)	70,56 ± 8,87	**95,25 ± 2,53 ***	**72,00 ± 4,18 #**	**63,83 ± 6,71 #**
Uréia (mg/dL)	44,06 ± 2,79	37,14 ± 1,45	49,34 ± 5,07	42,55 ± 5,50
Creatinina (mg/dL)	0,45 ± 0,04	0,40 ± 0,04	0,58 ± 0,04	0,47 ± 0,07

Os valores representam a média ± e.p.m. (n= 5-10). AST: aspartato amino-transferase, ALT: alanina amino-transferase. * p< 0,05 vs. CTRL e # p< 0,05 vs. MSG (ANOVA, Newman-Keuls).

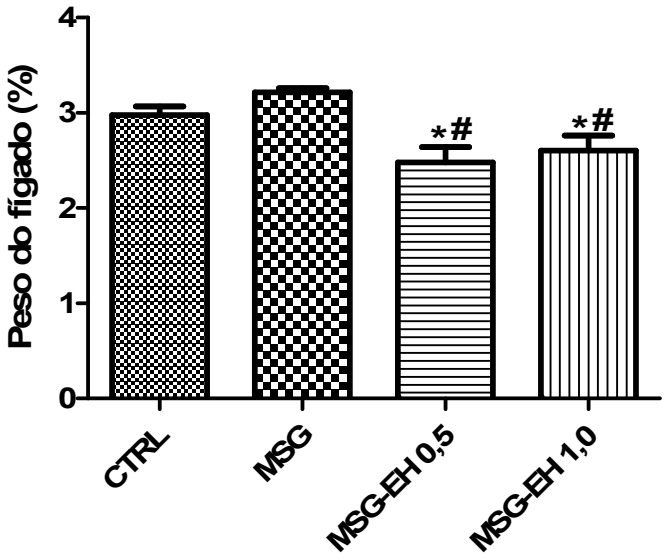

Fig. 5. Peso proporcional do fígado de ratos não obesos (CTRL) e obesos (MSG, MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0), após 60 dias do tratamento com o EH das folhas de *Cymbopogon citratus*. Os valores representam a média ± e.p.m. (n= 5-10). * p< 0,05 vs. CTRL e # p< 0,05 vs. MSG (ANOVA, Newman-Keuls).

3.6 Avaliação dos parâmetros cardiovasculares

3.6.1 Análise morfométrica da musculatura cardíaca

Na análise morfométrica da musculatura cardíaca, a obesidade nos animais, bem como o tratamento crônico realizado durante 60 dias com o extrato hidroalcoólico de *Cymbopogon citratus*, não induziu alterações no tamanho e diâmetro do coração em relação aos animais do grupo não obesos (CTRL) (Tabela 4).

Tabela 4. Parâmetros morfométricos da musculatura cardíaca de ratos não obesos (CTRL) e obesos (MSG, MSG-EH0,5 e MSG-1,0), após 60 dias do tratamento com o EH das folhas de *Cymbopogon citratus*

.**PARÂMETROS**	**GRUPOS**			
MORFOMÉTRICOS	**CTRL**	**MSG**	**MSG-EH0,5**	**MSG-EH1,0**
Peso do coração (g)	1,13 ± 0,13	1,05 ± 0,14	0,74 ± 0,05	1,00 ± 0,12
Dex (mm)	11,25 ± 0,68	10,74 ± 0,85	9,73 ± 0,17	10,72 ± 0,68
DVE (mm)	8,40 ± 0,34	7,30 ± 0,50	7,09 ± 0,18	8,00 ± 0,28
Esp. VE (mm)	3,42 ± 0,17	3,70 ± 0,16	2,95 ± 0,34	3,32 ± 0,29
Esp. VE / DVE	0,41 ± 0,01	0,52 ± 0,03	0,42 ± 0,05	0,42 ± 0,04
DcVE (mm)	1,66 ± 0,18	1,52 ± 0,15	1,58 ± 0,14	1,41 ± 0,08
Peso do VE (g)	0,48 ± 0,04	0,45 ± 0,04	0,43 ± 0,13	0,41 ± 0,03

Os valores representam a média ± e.p.m. (n= 5-10). Dex: Diâmetro horizontal do coração, DVE: Diâmetro horizontal do Ventriculo Esquerdo, Esp. VE: Espessura da Parede do Ventriculo esquerdo, DcVE: Diâmetro da Cavidade do Ventriculo Esquerdo.

3.6.2 Avaliação da pressão arterial

Na avaliação da pressão arterial média (PAM), o grupo MSG apresentou um aumento significativo dos valores de PAM, quando comparados ao grupo CTRL, a partir da 4ª semana (19 %) até o final do tratamento (20 %). O extrato hidroalcoólico (EH) de *Cymbopogon citratus* não alterou a PAM dos animais obesos (Figura 6).

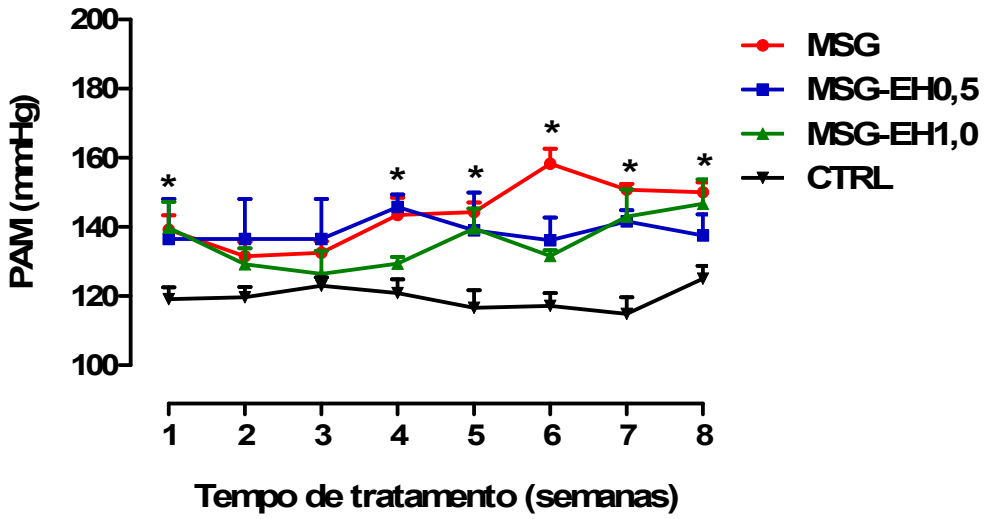

Fig. 6. Pressão arterial média (PAM) de ratos não obesos (CTRL) e obesos (MSG, MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0), durante 60 dias do tratamento com o EH das folhas de *Cymbopogon citratus*. Os símbolos e linhas verticais expressam a média ± e.p.m. (n= 5-10). * p< 0,05 vs. CTRL e (ANOVA, Newman-Keuls).

3.6.3 Avaliação da reatividade vascular à adição de noradrenalina (Nor) em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos obesos – MSG

Na avaliação do efeito do tratamento crônico com o extrato hidroalcoólico (EH) das folhas de *Cymbopogon citratus* sobre a reatividade vascular, a adição cumulativa de noradrenalina (Nor= 10^{-9} – 10^{-4} M) promoveu contrações crescentes, dependentes de concentração, em todos os grupos, com amplitudes similares entre os grupos de animais obesos tratados com EH 0,5 g/Kg e 1,0 g/Kg e o grupo de animais não obesos (CTRL). Porém, houve um aumento significante na sensibilidade à Nor em anéis de artéria mesentérica de animais MSG, cujo Emáx foi 230 % maior que o controle não obeso (CTRL) (Figura 7)

Portanto, o tratamento crônico com o EH (0,5 e 1,0 g/Kg) normalizou a sensibilidade das artérias à Nor, em relação ao valor máximo de contração, que foram semelhantes ao do grupo CTRL.

Não houve diferença em relação aos valores de PD_2 obtidos nas curvas de Nor dos grupos de animais.

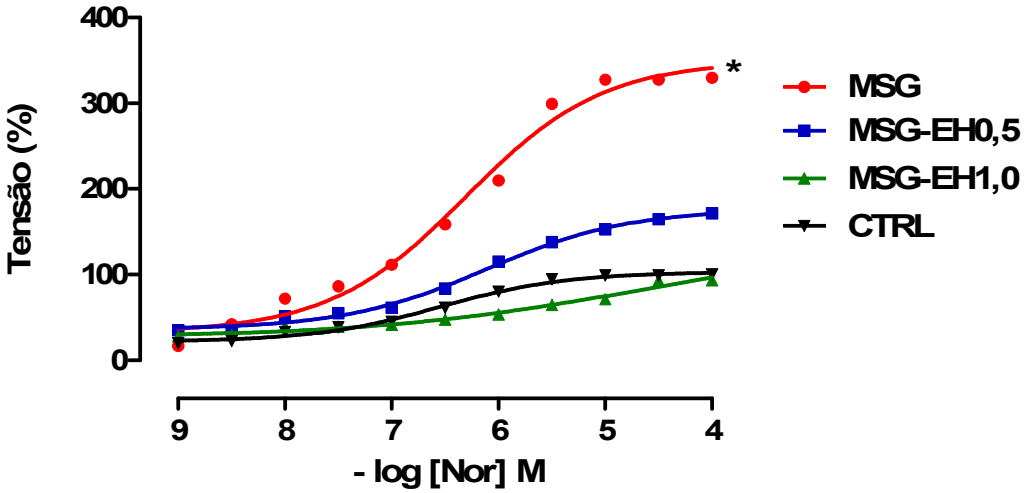

Fig. 7. Curvas de contração concentração-resposta de noradrenalina (Nor) em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos não obesos (CTRL) e obesos (MSG, MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0), após 60 dias do tratamento com o EH das folhas de *Cymbopogon citratus*. Os símbolos e linhas verticais expressam a média ± e.p.m. (n= 5-10). * p< 0,05 vs. CTRL e # p< 0,05 vs. MSG (ANOVA, Newman-Keuls).

4 Discussão

Cymbopogon citratus é utilizado tradicionalmente como espasmolítico, analgésico, antiinflamatório, antipirético, diurético e tranquilizante e, apesar de haver alguns estudos relatando as atividades hipoglicemiante e hipolipidêmica desta espécie vegetal em ratos, nenhum trabalho utilizou animais obesos – MSG como foi empregado neste estudo.

A aplicação neonatal de L-glutamato monossódico induziu a obesidade nos animais MSG, caracterizada pelo aumento do índice de Lee (Figura 1) e do peso das gorduras retroperitoneal (Figura 2) e periepididimal (Figura 3), em comparação aos animais não obesos (CTRL). Entretanto, os animais obesos tratados com o EH (0,5 e 1,0 g/Kg) também tenham apresentado um aumento significativo destes parâmetros, em relação aos animais CTRL, há uma redução significante do Índice de Lee e do peso da gordura retroperitoneal, em comparação aos animais MSG.

O aumento do Índice de Lee e do acúmulo de gordura nos animais obesos induzidos pelo L-glutamato monossódico é caracterizado como bastante efetivo na indução da obesidade (Kanarek e Marks-Kaufman, 1981; Balbo et al., 2000; Iwase et al., 2000; Nakagawa et al., 2000; Voltera et al., 2008), podendo ser atribuído à hipercorticosterolemia, hiperinsulinemia/resistência à insulina e hiperleptinemia já descritas para esse modelo, além de menor atividade do tecido adiposo marrom (Kizer et al., 1977). Desta forma, os resultados encontrados nos animais obesos tratados com extrato hidroalcoólico (EH 0,5 e 1,0 g/Kg) de *Cymbopogon citratus* sobre a redução do Índice de Lee e redução da gordura retroperitoneal sugerem um efeito anti-obesidade do EH desta epécie vegetal.

Na avaliação da evolução ponderal foi observado que até a 7ª semana de tratamento, quando os animais se apresentaram com aproximadamente 110 dias de idade, o desenvolvimento do grupo MSG apresentou-se semelhante ao CTRL, mas com uma tendência à estabilidade das curvas de crescimento, evidente a partir da 8ª semana quando o peso dos animais obesos é diferente do controle (Figura 4).

Apesar de ser conhecido na literatura como um modelo de obesidade neuroendócrina, nossos dados confirmam que não se verifica aumento do peso corporal, mas,

sim, grande acúmulo de gordura quando se administra o MSG na fase neonatal de ratos (Kizer et al., 1977) e ainda que o ganho ponderal desses animais também é mantido dentro da faixa de normalidade e semelhantes àquele observado nos ratos não obesos. Vale a pena comentar que o menor peso final dos ratos obesos - MSG provavelmente se deva ao menor tamanho desses animais (ver Índice de Lee), uma vez que entre as alterações endócrinas descritas nesse modelo está a menor secreção de hormônio de crescimento (GH) (Remke et al., 1988) e em nossos experimentos não houve diferença de consumo de ração entre estes animais e o grupo controle (dados não apresentados). Por outro lado, apesar de o tratamento com o EH 0,5 g/Kg de *C. citratus* não ter alterado o padrão do desenvolvimento do animal obeso, o extrato na dose de 1,0 g/Kg promoveu a redução do peso corporal dos animais de forma sustentada, desde a 3ª semana até o final do tratamento (Figura 4), demonstrando o efeito da planta na redução do ganho do peso corporal, assim como confirmando o seu efeito anti-obesidade, sugerido pela redução do Índice de Lee e acúmulo de gordura dos animais.

A análise do lipidograma e glicemia dos animais obesos (MSG) mostrou um aumento significativo dos valores de glicose, colesterol total, LDL, VLDL e triglicérides, quando comparados aos animais não obesos (CTRL). Os animais obesos tratados com EH (0,5 e 1,0 g/Kg) apresentaram uma redução dos valores de glicose, LDL e aumento de HDL, quando comparados aos animais do grupo MSG; bem como o grupo de animais obesos tratados cronicamente com o EH na maior dose (1,0 g/Kg) apresentou ainda uma redução dos valores de colesterol total, VLDL e triglicérides (Tabela 1).

Estudos relatam que animais obesos – MSG apresentam níveis máximos de glicose, colesterol e proteína total em horários de picos e amplitudes diferentes a animais não obesos (Manivasagam e Subramanian, 2004), tornando-os, portanto, hiperglicêmicos e hiperlipidêmicos (Nagata et al., 2006). São animais que têm redução dos níveis do hormônio do crescimento (GH), principal fator responsável pela obesidade e facilitador, em níveis normais, de mecanismos de quebra dos lipídeos, como a lipólise e anabolismo; assim, sua deficiência na fase adulta, acarreta em falha na mobilização das gorduras, contribuindo para redução da capacidade termogênica do tecido adiposo e menor taxa metabólica basal, o que também favorece o acúmulo de gordura, além de aumento de triglicerídeos e ácidos graxos no plasma (Bakke et al., 1978; Remke et al., 1988).

Algumas plantas apresentam efeitos sobre o perfil lipídico de animais hiperlipidêmicos. Gomathi et al (2008) relatou que após o tratamento de 2 meses com pétalas das flores de *Hibiscus Rosa-Sinensis* o consumo de ração e ganho de peso foram normalizados nos animais, bem como também os níveis de ácidos graxos livres, triglicérides, fosfolipídios, colesterol total, colesterol VLDL, colesterol LDL e HDL colesterol foram revertidos para próximo dos níveis normais. Segundo Cardozo et al. (2008), o tratamento com o extrato alcoólico de *Cordia salcifolia,* durante 15 dias, por via oral, reduziu os níveis de colesterol e triglicerídeos em camundongos hiperlipidêmicos; Xie et al. (2007), também demonstraram que o tratamento, por via oral, com o extrato hidroalcoólico de *Ananas comosus* reduz os níveis de colesterol e trilgicerideos em camundongos hiperlipidêmicos. Stein et al. (2005), relaciona a atividade hipocolesterolêmica de determinadas plantas, como, por exemplo, *Ilex paraguariensis*, à atividade antioxidante dos seus constituintes, como flavonóides e cafeína, por reduzirem a lipoperoxidação e aumentarem a atividade das enzimas antioxidantes (Stein et al, 2005).

Considerando o importante papel do estresse oxidativo na patogênese de várias doenças crônico-degenerativas e a crescente evidência da presença de compostos com propriedades antioxidantes nos extratos de plantas, Pereira et al. (2009) analisou o efeito antioxidante de compostos fenólicos encontrados no *Cymbopogon citratus*, *Melissa Officinalis* e *Matricaria recutita*, concluindo que estes extratos vegetais podem inibir a geração de espécies reativas que, posteriormente, desencadearam o processo de peroxidação

lipídica ou, alternativamente, podem bloquear os mecanismos fisiopatológicos comuns no processo de peroxidação de ácidos graxos poliinsaturados. Adeneye e Agbaje (2007) demonstraram o efeito hipoglicemiante e hipolipidêmico no extrato aquoso de *Cymbopogon citratus,* com a redução dos parâmetros lipidicos, embora sem diminuição dos níveis de triglicérides, e o aumento de HDL em ratos Wistar não obesos. Desta forma, a atividade hipocolesterolêmica do EH observada neste estudo, aliada à elevação da concentração de HDL em animais obesos tratados durante 60 dias é favorável no que se refere à redução dos fatores de riscos associados às doenças cardiovasculares, como por exemplo, a aterosclerose e a disfunção endotelial.

Na investigação de uma possível toxicidade ao tratamento crônico com o EH da espécie vegetal em estudo e considerando os relatos na literatura em que o glutamato monossódico (MSG) induz a hepatotoxicidade (Diniz et al. 2003; Onyema et al., 2006; Nakanishi et al., 2008) foi realizada a avaliação dos parâmetros hematológicos, marcadores bioquímicos hepáticos e renais e análise do peso relativo do fígado em ratos obesos após o período de 60 dias de tratamento.

Na análise hematológica, os animais obesos (MSG) não apresentaram modificações no perfil hematológico, exceto para o valor de VCM que apresentou-se aumentado em relação ao grupo CTRL e parâmetros dos animais dos grupos MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0 mantiveram-se semelhantes aos valores dos animais do grupo CTRL, sugerindo uma normalização do VCM, alterado nos animais obesos (Tabela 2). Os parâmetros bioquímicos confirmaram os achados na literatura e revelaram uma hepatotoxicidade nos animais obesos, com um aumento significativo dos valores de aspartato amino-transferase (AST) e alanina amino-transferase (ALT), em relação aos animais CTRL. Porém, nos animais obesos tratados cronicamente com o EH (0,5 e 1,0 g/Kg) houve redução significativa dos valores de ALT, tornando-se semelhantes aos valores obtidos nos animais não obesos (Tabela 3) e ainda promoveu uma redução do índice do peso relativo do fígado quando comparados ao grupo MSG (Figura 5).

Considerando que as análises destas enzimas são importantes indicadores de lesões nas células hepáticas (Martin et al.,1981) e que uma droga não provoca dano algum no fígado sem interferir com a atividade normal dessas enzimas (Vijayalakshmi et al., 2000), os dados obtidos sugerem que o tratamento crônico por 60 dias com o extrato hidroalcoólico (EH) das folhas de *Cymbopogon citratus*, nas doses de 0,5 g/Kg e 1,0 g/Kg, normalizou as concentrações séricas de ALT, aumentadas nos animais do grupo MSG – provavelmente devido à própria ação do MSG –, e em acréscimo a redução do peso do fígado nestes grupos experimentais, sugerimos que esta planta apresenta um efeito hepatoprotetor sobre os animais obesos induzidos pelo MSG. Estes dados também corroboram com a literatura que demonstra que a administração diária durante 60 dias com o extrato de *Cymbopogon citratus* não apresentou efeito tóxico em ratos (Formigoni et al., 1986).

Em relação à avaliação cardiovascular, foram analisados os efeitos do EH na morfologia cardíaca, pressão arterial média e reatividade vascular.

Na avaliação da morfometria cardíaca, não houve diferença entre os grupos de animais obesos (MSG), obesos tratados com EH (0,5 e 1,0 g/Kg) e animais não obesos (CTRL) (Tabela 4). Este resultado não foi observado por Hamaoka e Kusunoki (1986) que apresentou em seus estudos uma diminuição do peso do coração de animais obesos – MSG, durante todo o seu crescimento, e, aparentemente, células musculares hipertróficas após 8 semanas de idade, tornando-se significativamente hipoplásico devido à produção diminuída de células, como foi revelado pela supressão contínua da atividade mitótica e síntese de DNA em autoradiografia.

Os animais obesos apresentaram aumento da pressão arterial em relação ao CTRL, a partir da 4ª semana e a administração do EH de *Cymbopogon citratus* (0,5 – 1,0

g/Kg) não alterou os valores da pressão arterial média dos animais obesos (Figura 6). Sabe-se que os níveis aumentados de cortisol decorrentes da lesão hipotalâmica, assim como da leptina, decorrentes do acúmulo de gordura visceral e da insulina, conseqüente à resistência à insulina, podem determinar aumento da atividade simpática, com maior liberação de catecolaminas na terminação nervosa, facilitando o efluxo simpático central. O aumento da atividade do sistema nervoso simpático nos animais com a obesidade neonatal induzida pelo MSG poderia explicar os aumentos na freqüência cardíaca (tônus simpático cardíaco aumentado), conseqüente a aumentos tanto da pós-carga quanto da pré-carga. Assim, apesar de não termos determinado efetivamente a atividade do sistema nervoso simpático nos animais deste estudo, nossos resultados são sugestivos de que os animais obesos - MSG apresentam hiperatividade simpática, atenuada com o tratamento com o EH de *C. citratus*, durante 60 dias.

Os vasos de resistência constituem o principal local de geração de resistência vascular (Schiffrin, 1992) e apresentam um papel dominante na regulação da pressão arterial e perfusão de órgãos (Kwan et al., 2004). Com o intuito de se investigar a ação periférica vascular do EH (0,5 e 1,0 g/Kg) nos animais obesos, foram realizados experimentos em anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato. Os estudos monstraram que o EH promoveu a redução significativa do efeito máximo da noradrenalina em anéis de artérias mesentéricas de ratos obesos – MSG que apresentaram maior reatividade à noradrenalina (Figura 7).

O tecido adiposo é uma fábrica secretora: pode produzir uma quantidade significativa de compostos capazes de afetar a função endotelial, nos quais dentre os mais importantes estão: resistência à leptina, fator de necrose tumoral (TNF-α), interleucina (IL-6), proteína quimiotática de monócitos (MCP-1), inibidor do ativador de plasminogênio (PAI-1), adiponectina e as proteínas do sistema renina-angiotensina; bem como a obesidade central está associada com um aumento dos volumes plasmáticos e de ácidos graxos livres (AGL) circulantes. Recentes dados mostraram que a exposição a concentrações fisiopatológicas AGL pode prejudicar a função endotelial mensurada pela estimulação de agonistas e pela vasodilatação mediada pelo fluxo sanguíneo (Avogaro e Kreutzenberg, 2005). Estudos com animais MSG indicam que esse modelo experimental pode ser útil para o estudo de diversos fatores de risco para o desenvolvimento de doenças macrovasculares, devido a que estes animais apresentam o grau de obesidade intimamente relacionado às desordens metabólicas, embora inversamente correlacionado com o nível da pressão arterial (Iwase et al., 1998; 2000). Assim de acordo com os resultados apresentados na avaliação da reatividade vascular de ratos obesos tratados com extrato hidroalcoólico de *Cymbopogon citratus*, podemos sugerir que o EH promoveu uma proteção aos danos vasculares característicos dos animais obesos - MSG.

Assim, considerando a tradição no uso desta espécie vegetal pela população e diante dos efeitos adversos dos principais fármacos utilizados para o tratamento da obesidade e suas complicações cardiovasculares, o que leva à dificuldade na manutenção da terapia por tempo prolongado (Vanegas e Jaramillo, 2008) e a função hepatoprotetora do EH, com a redução dos níveis de ALT, bem como os efeitos benéficos apresentados pelo EH sobre a função cardiovascular, além da segurança e eficácia em sua administração, ressalta-se a grande relevância dos resultados obtidos com o extrato hidroalcoólico de *Cymbopogon citratus*, podendo sugerir esta espécie vegetal como grande potencial terapêutico para os casos de complicações cardiovasculares decorrentes de desordens metabólicas como a obesidade.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro do CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de

Pessoal de Nível Superior e FAPEMA – Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão; assim como, o suporte técnico oferecido pelos Laboratórios de Pesquisa e Pós-Graduação em Farmacologia e de Farmacognosia II, da Universidade Federal do Maranhão.

Referencias

Abreu, I. C., Marinho, A., Paes, A. M. A., Freire, S. M. F. F., Olea, R. S. G., Borges, M. O. R. B., Borges, A. C. R. B., 2003. Hypotensive and vasorelaxant effects of ethanolic extracts from Jatropha gossypiifolia in rats. Fitoterapia 74, 650-657.

Adeneye, A. A., Agbaje, E. O., 2007. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of fresh leaf aqueos extract of *Cymbopogon citratus* Stapf in rats. Journal of Ethnopharmacology 112, 440-444.

Albert, K. G. M. M., Eckel, R. H., Grundy, S. M., Zimmet, P. Z., Cleeman, J. I., Donato, K. A., Fruchart, J., James, W. P. T., Loria, C. M., Smith Jr, S. C., 2009. Harmonizing the Metabolic Syndrome. Circulation, 120, 1640-1645.

Alexander, C. S., 1957. A new simple method for indirect determination of blood pleasure in the rat. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 94, 368-37.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2004. Resolução-RE nº 90, de 16 de março de 2004.

Arena, R., Myers, J., Abella, J., Pinkstaff, S., Brubaker, P., Moore, B., Kitzman, D., Peberdy, M. A., Bensimhon, D., Chase, P., Forman, D., West, E., Guazzi, M., 2009. Influence of etiology of heart failure on the obesity paradox. American Journal of Cardiology, 104(8), 1116-21.

Avogaro, A., Kreutzenberg, S. V., 2005. Mechanisms of endothelial disfunction in obesity. Clinica Chimica Acta, 360 (12), 9-16.

Bakke, J. L., Lawrence, N., Bennett, J., Robinson, S., Bowers, C.Y., 1978. Late endocrine effects of administering monosodium glutamate to neonatal rats. Neuroendocrinology 26, 220-228.

Balbo, S. L., Mathias, P. C., Bonfleur, M. L., Alves, H. F., Siroti, F. J., Monteiro, O. G., Ribeiro, F. B., Souza, A. C., 2000. Vagotomy reduces obesity in MSG-treated rats. Research Communications in Molecular Pathology & Pharmacology. 108(5-6), 291-6.

Bernardis, L. L., Patterson, B. D., 1968. Correlation between 'Lee Index' and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. Journal of Endocrinology 40(4), 527-528.

Bernal-Pacheco, O., Román, G. C., 2007. Environmental vascular risk factors: new perspectives for stroke prevention. Journal of the Neurological Sciences 262, 60-70.

Carbajal, D., Casaco, A., Arruzazabala, L., Gonzalez, R., Tolon, Z., 1989. Pharmacological study of *Cymbopogon citratus* leaves. Journal of Ethnopharmacology 25 (1), 103-107.

Cardozo, S., De Bona, L. R., Barboza, L. R., Andreolla, H. F., Boeck, R., Vieira, V., Frantz, M. A., Morisso, F. D. P., Coitinho, A. S., Tavares, R. G., 2008. Atividade hipolipidêmica do extrato de *Cordia salicifolia* em camundongos submetidos a dieta hiperlipêmica. Revista da AMRIGS, 52(3), 182-186.

Cheel, J., Theoduloz, C., Rodríguez, J., Schmeda-Hirschmann, G., 2005. Free radical scavengers and antioxidants from lemongrass (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.). Journal of Agriculture and Food Chemistry, 53(7), 2511-2517.

Cimanga, K., Kambu, K., Tona, L., Apers, S., De Bruyne, T., Hermans, N., Totté, J., Pieters, L., Vlietinck, A. J., 2002. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. Journal of Ethnopharmacology 79 (2), 213-220.

Costa, C. A. R. A., Marques, M. O. M., Costa. M., 2006. Atividade sedativa do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (D. C.) Stapf e de seus compostos majoritários. Anais da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, 2006.

Diniz, Y. S., Fernandes, A. A. H., Campos, K. E., Mani, F., Ribas, B. O., Novelli, E. L. B., 2003. Toxicity of hypercaloric diet and monosodium glutamate: oxidative stress and metabolic shifting in hepatic tissue. Food and Chemical Toxicology, 42 (2), 313-319.

Dolnikoff, M. S., Kater, C. E., Egami, M., Andrade, I. S., Marmo M. R., 1988. Neonatal treatment with Monosodium Glutamate increases plasma corticosterone in the rat. International Journal for Basic and Clinical Studies on Neuroendocrine Relationships, 48(6), 645 –649.

Dudai, N., Weinstein, Y., Krup, M., Rabinski, T., Ofir, R., 2005. Citral is a new inducer of Caspase-3 in tumor cell lines. Planta Medica 71, 484-488.

Eckel, R. H., Grundy, S. M., Zimmet, P. Z., 2005. The metabolic syndrome. Lancet, 365, 1415-1428.

Escobedo, J., Schargrodsky, H., Champagne, B., Silva, H., Boissonnet, C. P., Vinueza, R., Torres, M., Hernandez, R., Wilson, E., 2009. Prevalence of the Metabolic Syndrome in Latin America and its association with sub-clinical carotid atherosclerosis: the CARMELA cross sectional study. Cardiovascular Diabetology, 8, 52 – 60.

Ferreira, M.S.C., 1984. Estudo farmacológico de *Cymbopogon citratus* (D.C.). Stapf. Master's Thesis. Federal University of Ceará, Brazil.

Formigoni, M. L. O. S., Lodder, M. M., Gianotti Filho, O., Ferreira, T. M. S., Carlini, E. A., 1986. Pharmacology of lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf). II. Effects of daily two month administration in male and female rats and in offspring exposed "in utero". Journal of Ethnopharmacology 17 (1), 65-74.

Gazola, R., Machado, D., Ruggiero, C., Singi, G., Alexandre, M. M., 2004. *Lippia alba, Melissa officinalis* and *Cymbopogon citratus*: effects of the aqueous extracts on the isolated hearts of rats. Pharmacological Research, 50(5), 477-480.

Giusti, V., 2007. Management of obesity in patients with peripheral arterial disease. European Society for Vacular Surgery, 34, 576-582.

Gomathi, N., Malarvili, T., Mahesh, R., Begum, V. H., 2008. Lipids lowering effect of *Hibiscus Rosa-Sinensis* flower petals on Monosodium glutamate (MSG) induced obese rats. Pharmacology online, 1, 400-404

Gus, M., 1998. Associação entre diferentes indicadores de obesidade e prevalência de hipertensão arterial. Arquivo brasileiro de cardiologia. 70(2), 111-114.

Hamaoka, K., Kusunoki, T., 1986. Morphological and cell proliferative study on the growth of visceral organs in monosodium L-glutamate-treated obese mice. Journal of Nutritional Science and Vitaminology 32(4), 395-411.

Huang, P. L., 2009. A comprehensive definition for metabolic syndrome. Disease Moldels & Mechanisms, 2(5-6), 231–237.

Iwase, M., Yamamoto, M., Iino, K., Ichikawa, K., Shinohara, N., Yoshinari, M., Fujishima, M., 1998. Obesity induced by neonatal monosodium glutamate treatment in spontaneously hypertensive rats: an animal model of multiple risk factors. Hypertension research, 21(1), 1-6.

Iwase, M., Ichikawa, K., Tashiro, K., Iino, K., Shinohara, N., Ibayashi, S., Yoshinari, M., Fujishima, M. 2000. Effects of monosodium glutamate-induced obesity in spontaneously hypertensive rats vs. Wistar Kyoto rats: serum leptin and blood flow to brown adipose tissue. Hypertension Research, 23(5), 503-10.

Kanarek R, B., Marks-Kaufman R., 1981. Increased carbohydrate consumption induced by neonatal administration of monosodium glutamate to rats. Neurobehavioral Toxicology & Teratology, 3(3), 343-50.

Kizer, J. S., Nemeroff, C. B., Youngblood, W. W., 1977. Neurotoxic amino acids and structurally related analogs. Pharmacology Review, 29 (4), 301-318.

Kwan, C.Y., Zhang, W.B., Deyama, S. M. S. T., Nishibe, S., 2004. Vascular effects of *Siberian ginseng* (Eleutherococcus senticosus): endothelium-dependent NO- and EDHF-mediated relaxation depending on vessel size. Naunyn-Schmiedeberg´s. Archives of Pharmacology, 369, 473-480.

Lameu, E., 2005. Clinica nutricional, Revinter, Rio de Janeiro.

Leite, J. R., Seabra, M. L. V., Maluf, E., Assolant, K., Suchecki, D., Tufik, S., Klepacz, S., Calil, H. M., Carlini, E. A., 1986. Pharmacology of lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf). III. Assessment of eventual toxic, hipnotic and anxiolytic effects on humans. Journal of Ethnopharmacology 17 (1), 75-83.

Lorenzetti, B. B., Souza, G. E. P., Sarti, S. J., Santos Filho, D., Ferreira, S. H., 1991. Myrcene mimics the peripheral analgesic activity of lemongrass tea. Journal of ethnopharmacology 34 (1), 43-48.

Lorenzi, H., Matos, F. J. A., 2008. Plantas Medicinais no Brasil. Instituto Plantarum, 511.

Manivasagam, T., Subramanian, P., 2004. Monosodium glutamate affects the temporal characteristics of biochemical variables in Wistar rats. Polish Journal of Pharmacology 56 (1), 79-84.

Martin, D. W., Mayes, P. A., Rodwell, Y. W., 1981. HARPER'S Review of Biochemistry, Lange Medical, California.

Matos F. J., 1994. Farmácias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades.

Matos, F. J. A., 1997. Introdução à fitoquímica experimental, EUFC, Fortaleza.

Matos, F. J. A., 2000. Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no nordeste do Brasil. Imprensa Universitária, Fortaleza.

.

Nagata, M., Suzuki, W., Iizuka, S., Tabuchi, M., Maruyama, H., Takeda, S., Aburada, M., Miyamoto, K., 2006. Type 2 diabetes mellitus in obese mouse model induced by monosodium glutamate. Experimental Animal, 55, 109–115.

Nakagawa, T., Ukai, K., Ohyama, T., Gomita, Y., Okamura, H., 2000. Effects of chronic administration of sibutramine on body weight, food intake and motor activity in neonatally monosodium glutamate-treated obese female rats: relationship of antiobesity effect with monoamines. Experimental Animal, 49(4), 239-49.

Nakanishi, Y., Tsuneyama, K., Fujimoto, M., Salunga, T. L., Nomoto, K., An, J., Takano, Y., Iizuka, S., Nagata, M., Suzuki, W., Shimada, T., Aburada, M., Nakano, M., Selmi, C., Gershwin, E., 2008. Monosodium glutamate (MSG): a villain and promoter of liver inflammation and dysplasia. Journal of Autoimmunity, 30(1-2), 42-50.

Ohno, T., 2003. Antimicrobial activity of essential oils against Helicobacter pylori. Helicobacter 8, 207-215.

Onabanjo, A.O., Agbaje, E.O., Odusote, O.O., 1993. Effects of aqueous extracts of *Cymbopogon citratus* in Malaria. Journal of Protozoological Research 3, 40–45.

Onawunmi, G. O., Yisak, W., Ogunlana, E. O., 1984. Antibacterial constituents in the essential oil from *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf. 12 (3), 279-286.

Onyema O. O., Farombi E. O., Emerole G. O., Ukoha A. I., Onyeze G. O., 2006. Effect of vitamin E on monosodium glutamate induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats. Indian Journal of Biochemistry & Biophysics, 43(1), 20-24.

Pereira, R. P., Fachinetto, R., Prestes, A. S., Puntel, R. L., Silva, G. N. S., Heinzmann, B. M., Boschetti, T. K., Athayde, M. L., Burger, M. E., Morel, A. F., Morsch, V. M., Rocha, J. B. T., 2009. Antioxidant Effects of Different Extracts from *Melissa officinalis*, *Matricaria recutita* and *Cymbopogon citratus*. Neurochemical Research, 34, 973-983.

Remke, H., Wilsdorf, A., Muller, F., 1988. Development of hypothalamic obesity in growing rats. Exp Pathol., 33(4), 223-232.

Rosa, E., 2005. Obesidade visceral, hipertensão arterial e risco cárdio-renal: Uma revisão. Arquivo Brasileiro de Endocrinologia, 49, 169-204.

Runnie, I., Salleh, M. N., Mohamed, S., Head, R. J., Abeywardena, M. Y., 2004. Vasorelaxation induced by common edible tropical plant extracts in isolated rat aorta and mesenteric vascular bed. Journal of Ethnopharmacology, 92, 311-316.

Schiffrin, E. L., 1992. Reactivity of small blood vessels in hypertension: relation with structural changes. State of the art lecture. Hypertension, 19(2), 1-9.

Simões, C. M. O., Mentz, L. A., Schenkel, E. P., Gosmann, G., De Melo, J. C. P., Petrovick, P. R., 2000. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre: Editora da Universidade, UFRGS.

Singi, G., Damasceno, D. D., D'Andréa, E. D. D., Silva, G. A., 2005. Efeitos agudos dos extratos hidroalcóolicos do alho (*Allium sativum*) e do capim-limão (*Cymbopogon citratus* D. C. Stapf) sobre a pressão arterial média de ratos anestesiados. Revista Brasileira de Farmacognosia, 15(2), 94-97.

Soares-Mota, M. R., Schwarz, A., Bernardi, M. M., Maiorka, P. C., Spinosa, H. S., 2009. Toxicological evaluation of 10% *Solanum lycocarpum* St. Hill fruit consumption in the diet of growing rats: Hematological, biochemical and histopathological effects. Experimental and Toxicologic Pathology. Article in press

Sousa, M. P., Matos, M. E. O, Matos, F. J. A., Machado, M. I. L, Craveiro, A. A., 1991. Constituintes químicos ativos de plantas medicinais brasileiras. Editora da UFC, 207-213.

Stein, F. L. P., Schmidt, B., Furlong, E. B., Souza-Soares, L. A., Soares, M. C. F., Vaz, M. R. C., Baisch, A. L. M., 2005. Vascular responses to extractable fractions of *Ilex paraguariensis* in rats fed standard and high-cholesterol diets. Biological Research For Nursing, 7(2), 146-156.

Van Rossum, 1963. Archives of International Pharmacodynamic Therapy, 143-299.

Vanegas, A. L., Jaramillo, N., 2008. Intolerancia a las estatinas, un reto en la práctica clínica. Revista Colombiana de Cardiologia, 15(2).

Viana, G. S. B., Vale, T. G., Pinho, R. S. N., Matos, F. J. A., 2000. Antinociceptive effect of the essential oil from *Cymbopogon citratus* in mice. Journal of Ethnopharmacology 70(3), 323-327.

Vijayalakshmi, T., Muthulakshmi, V., Sachdanandam, P., 2000. Toxic studies on biochemical parameters carried out in rats with Serankottai nei, a siddha drug–Milk extract of *Semecarpus anacardium* nut. Journal of Ethnopharmacology, 69(1), 9-15.

Voltera, A. F., Cesaretti, M. L. R., Ginoza, M., Kohlmann Jr., O., 2008. Efeito da Indução de Obesidade Neuroendócrina sobre a Hemodinâmica Sistêmica e a Função Ventricular Esquerda de Ratos Normotensos. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia, 52(1), 47-54.

Wang, H. X., Ng, T. B., 1999. Natural products with hypoglycemic, hypotensive, hypocholesterolemic, antatherosclerotic and antithrombotic activities. Life Science, 65, 2663-2677.

Xie, W., Wang, W., Su, H., Xing, D., Cai, G., Du, L., 2007. Hypolipidemic mechanisms of *Ananas comosus* L. leaves in mice: different from fibrates but similar to statins. Journal of Pharmacology Science, 103(3), 267–274.

Zanella, M. T., Kohlmann, J. R. O., Ribeiro, A. B., 2001. Treatment of obesity hypertension and diabetes syndrome. Hypertension, 38, 705-708.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A avaliação farmacológica pré-clínica da espécie vegetal *Cymbopogon citratus* foi realizada com o objetivo de investigar os efeitos do extrato hidroalcoólico (EH) desta espécie vegetal sobre o sistema cardiovascular em modelo experimental de obesidade.

Os resultados obtidos neste trabalho indicam que o extrato hidroalcoólico (EH) de *Cymbopogon citratus* apresenta efeito hipoglicemiante e hipolipidêmico em animais obesos. Também foi mostrado que o EH não apresentou sinais de toxicidade e ainda apresenta efeito hepatoprotetor neste modelo animal.

Visto que os tratamentos convencionais nem sempre são acessíveis às inúmeras pessoas que apresentam distúrbios metabólicos e os medicamentos utilizados apresentam importantes efeitos colaterais quando administrados em terapia prolongada, o uso de fitoterápicos das folhas desta espécie vegetal seria uma alternativa segura e acessível à população no combate às complicações cardiovasculares decorrentes da obesidade.

REFERÊNCIAS

ABE, M. et al. Neuropeptide Y in the specific hypothalamic nuclei of rats treated neonatally with monosodium glutamate. **Brain Res. Bull.** v. 24, p. 289-291, 1990.

ADENEYE, A. A.; AGBAJE, E. O. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of fresh leaf aqueos extract of *Cymbopogon citratus* Stapf in rats. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 112, p. 440-444, 2007.

ALBERT, K. G. M. M., ECKEL, R. H., GRUNDY, S. M., ZIMMET, P. Z., CLEEMAN, J. I., DONATO, K. A., FRUCHART, J., JAMES, W. P. T., LORIA, C. M., SMITH Jr, S. C.. Harmonizing the Metabolic Syndrome. **Circulation**, v. 120, p. 1640-1645, 2009.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução-RE nº 90**, **de 16 de março de 2004**.

BAKKE, J. L. *et al*. Late endocrine effects of administering monosodium glutamate to neonatal rats. **Neuroendocrinology**, v. 26, p. 220–228, 1978.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Secretaria de Gestão Estratégica e Participativa. Vigitel Brasil 2008: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. Brasília: **Série G. Estatística e Informação em Saúde**, 112 p.: il., 2009.

BRAY, G. A. Obesity. **Dis. Mon.**, v. 26, n. 1, p. 1-85, 1979.

CAÑIGUERAL, S.; DELLACASSA, E.; BANDONI, A. L. Plantas Medicinales y Fitoterapia: ¿ indicadores de dependência o factores de desarrollo? **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 22, n. 3, p. 265-278, 2003.

CALAPAI, G. *et al.* Antiobesity and cardiovascular toxic effects of *Citrus aurantium* extracts in the rat: a preliminary report. **Fitoterapia**, v. 70, p. 586–592, 1999.

CESARETTI, M. L. R.; KOHLMANN J. R. O. Modelos experimentais de resistência à insulina e obesidade: lições apreendidas. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 50, n. 2, p. 190-197, 2006.

CHEEL, J. *et al*. Free radical scavengers and antioxidants from lemongrass (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf.). **J. Agric. Food Chem**. v. 53, p. 2511-2517, 2005.

CHEUNG, W. T. *et al*. Neonatal monosodium-L-glutamate treatment reduced lipolytic response of rat epididymal adipose tissue. **Gen. Pharmacol.**, v. 19, p. 1507-1512, 1988.

COSTA, C. A. R. A.; MARQUES, M. O. M.; COSTA. M. Atividade Sedativa do Óleo Essencial de *Cymbopogon citratus* (D. C.) Stapf e de seus Compostos Majoritários. In: **Anais da Federação de Sociedades de Biologia Experimental**, 2006.

DI STASI, L. C. *et al*. **Plantas Medicinais da Amazônia**. São Paulo: Unesp, p. 127–128, 1989.

DOLNIKOFF, M. *et al*. Decreased lipolysis and enhanced glycerol and glucose utilization by adipose tissue prior to development of obesity in monosodium glutamate (MSG) treated-rats. **Int. J. Obes.** v. 25, p. 426-433, 2001.

DUDAI, N. *et al*. Citral is a New Inducer of Caspase-3 in Tumor Cell Lines. **Planta Med**. v. 71, p. 484-488, 2005.

DULLOO, A. G.; YOUNG, J. B.; Effects of monosodium glutamate and gold thioglucose on dietary regulation of sympathetic nervous system activity in rodents. **Metabolism.** v. 40, n. 2, p.113-121, 1991.

ECKEL, R. H.; GRUNDY, S. M.; ZIMMET, P. Z. The metabolic syndrome. **Lancet**. v. 365, p. 1415-1428, 2005.

ESCOBEDO, J., SCHARGRODSKY, H., CHAMPAGNE, B., SILVA, H., BOISSONNET, C. P., VINUEZA, R., TORRES, M., HERNANDEZ, R., WILSON, E. Prevalence of the Metabolic Syndrome in Latin America and its association with sub-clinical carotid

atherosclerosis: the CARMELA cross sectional study. **Cardiovascular Diabetology**, 8, 52-60, 2009.

GAZOLA, R. *et al*. *Lippia alba*, *Melissa officinalis* and *Cymbopogon citratus*: effects of the aqueous extracts on the isolated hearts of rats. **Pharmacological Research**. v. 50, p. 477-480, 2004.

GUS, M. Associação entre diferentes indicadores de obesidade e prevalência de hipertensão arterial. **Arquivo brasileiro de cardiologia**. v. 70, n. 2, p. 111-114, 1998.

HAN, L. K. *et al*. Anti-obesity action of *Salix matsudana* leaves (Part 1). Anti-obesity action by polyphenols of *Salix matsudana* in high fat-diet treated rodent animals. **Phytotherapy Research.** v. 17, p. 1188–1194, 2003.

HIDAKA, S.; OKAMOTO, Y.; ARITA, M. A hot water extract of *Chlorella pyrenoidosa* reduces body weight and serum lipids in ovariectomized rats. **Phytotherapy Research.** v. 18, p. 164–168, 2004.

HIRATA, A. E.; ANDRADE, I. E.; VASKEVICIUS, P.; DOLNIKOFF, M. S. Monosodium glutamate (MSG)-obese rats develop glucose intolerance and insuline resistence to peripheral glucose uptake. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 30, p. 671-674, 1997.

HOLZWARTH-McBRIDE, M. A. *et al*. Monosodium glutamate induced lesions of the arcuate nucleus. I. Endocrine deficiency and ultrastructure of the median eminence. **Anat. Rec.** v. 186, n. 2, p. 185-205, 1976.

HUANG, P. L. A comprehensive definition for metabolic syndrome. **Disease Moldels & Mechanisms**, v. 2, n. 5-6, p. 231–237, 2009.

INQUE, S. Animal models of obesity: hypothalamic lesions. In: Björntorp, P.; Brodoff, B. N. **Obesity**. Philadelphia: J.B. Lippincott Company. p. 266-277, 1992.

KEEN RHINEHART, E.; KALRA, S. P.; KALRA, P. S. Neuropeptidergic characterization of the leptin receptor mutated obese Koletsky rat. **Regul Pept**. v. 119, n. 1-2, p. 3-10, 2004.

KIZER, J. S., NEMEROFF, C. B., YOUNGBLOOD, W. W. Neurotoxic amino acids and structurally related analogs. **Pharmacology Review**, v. 29, n. 4, 301-318, 1977.

LORENZI, H., MATOS, F. J. A., 2008. **Plantas Medicinais no Brasil**. Instituto Plantarum, 511.

LUCINEI BALBO, S. *et al*. Insulin secretion and acetylcholinesterase activity in monosodium L – glutamate – induced obese mice. **Hormone Research**. V. 54, p. 186-91, 2000.

MACHO, L. *et al*. Effect of postnatal monosodium glutamate treatment on adrenal cortex function. **Physiol. Res.** v. 48, p. 50, 1999.

MACHO, L. Late effects of postnatal administration of monosodium glutamate on insulin action in adult rats. **Physiol. Res.**, v. 49, p. 79-85, 2000.

MAITER, D.; UNDERWOOD, L. E.; MARTIN, J. B.; KOENIG, J. I. Neonatal treatment with monosodium glutamate: effects of prolonged growth hormone (GH)-releasing hormone deficiency on pulsatile GH secretion and growth in female rats. **Endocrinology**. v. 128, n. 2, p. 1100-1106, 1991.

MARMO, M. R. *et al*. Neonatal monosodium glutamate treatment increases epididymal adipose tissue sensitivity to insulin in three-month old rats. **Braz. J. Med. Biol. Res.** v. 27, p. 1249-1253, 1994.

MASHOUR, N. H.; LIM, G. I.; FRISHMAN, W. H. Herbal medicine for the treatment of cardiovascular disease. **Arch Int Med**. v. 158, p. 2225–2234, 1998.

MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**, EUFC, Fortaleza, 1997.

MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no nordeste do Brasil**. Imprensa Universitária, Fortaleza, 2000.

.

MESSINA, M. M.; EVANS, S. A.; SWOAP, S. J.; OVERTON, J. M. Perinatal MSG treatment attenuates fasting-induced bradycardia and metabolic suppression. **Physiol. Behav.** v. 86, n. 3, p. 324-330, 2005.

MISKOWIAK, B.; PARTIKA, M. Effects of neonatal treatment with MSG (Monosodium glutamate) on hypothalamo-pituitary-thyroid axis in adult male rats. **Histol. Histopathol.**, v. 8, p. 731-734, 1993.

MORRIS, M. J.; TORTELLI, C. F.; FILIPPIS, A.; PROIETTO, J. Reduced BAT function as a mechanism for obesity in the hypophagic, neuropeptide Y deficient monosodium glutamate-treated rats. **Regul. Pept.** v. 25, n. 75, p. 441-447, 1998.

NASCIMENTO CURI, C. M. O. *et al*. Effect of monosodium glutamate treatment during neonatal development on lipogenesis rate and lipoprotein lipase activity in adult rats. **Biochem. Int.** v. 24, p. 927 – 935, 1991.

OHNO, T. *et al*. Antimicrobial activity of essential oils against *Helicobacter pylori*. **Helicobacter**. v. 8, p. 207-215, 2003.

OLNEY, J. W. Brain lesions, obesity and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate. **Science**. v. 164, p. 719 – 721, 1969.

ONO, Y. *et al*. Anti-obesity effect of *Nelumbo nucifera* leaves extract in mice and rats. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 106, p. 238–244, 2006.

PEREIRA, L. O. *et al*. Obesidade: hábitos nutricionais, sedentarismo e resistência à insulina. **Arq. Brás. Endocrinol. Metab.** v. 47, p. 111 – 127, 2003.

PIO CORRÊA, M**. Dicionário de plantas úteis do Brasil**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, p.577, 1984.

RATES, S. M. K. Promoção do uso racional de fitoterápicos: uma abordagem no ensino de Farmacognosia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 11, n. 2, p. 57 – 69, 2001.

REMKE, H.; WILSDORF, A.; MULLER, F. Development of hypothalamic obesity in growing rats. **Exp Pathol.** v. 33, p. 223 – 232, 1988.

ROHNER-JEANRENAUD, F. A neuroendocrine reappraisal of the dual-centre hypothesis: its implications for obesity and insulin resistance. **International Journal of Obesity**. v. 19, p. 517 – 534, 1995.

ROSA, E., *et al*. Obesidade visceral, hipertensão arterial e risco cárdio-renal: Uma revisão. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia**. São Paulo. v. 49, p. 169 – 204, 2005.

RUNNIE, I. *et al*. Vasorelaxation induced by common edible tropical plant extracts in isolated rat aorta and mesenteric vascular bed. **J Ethnopharmacol**. v. 92, p. 311-316, 2004.

SARTIN, J. L.; LAMPERTI, A. A.; KEMPPAINEN, R. J. Alterations in insulin and glucagon secretion by monosodium glutamate lesions of the hypothalamic arcuate nucleus. **Endocr. Res.** v. 11, n. 3-4, p. 145-155, 1985.

SCLAFANI, A.; SPRINGER, D. Dietary obesity in adult rats: similarities to hypothalamic and human obesity syndromes. **Physiol. Behav.**, v. 17, p. 461-471, 1976.

SIMÕES, C. M. O., MENTZ, L. A., SCHENKEL, E. P., GOSMANN, G., DE MELO, J. C. P., PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Editora da Universidade, UFRGS, 2000.

SINGI, D. D. *et al*. Efeitos agudos dos extratos hidroalcóolicos do alho (*Allium sativum*) e do capim-limão (*Cymbopogon citratus* D.C. Stapf) sobre a pressão arterial média de ratos anestesiados. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 15, p. 94-97, 2005.

SKULTÉTYOVÁ, I. *et al*. Neurotoxic lesions induced by monosodium glutamate result in increased adenopituitary proopiomelanocortin gene expression and decreased corticosterone clearence in rats. **Neuroendocrinology**. v. 67, p. 412-420, 1998.

SOUSA, M. P., MATOS, M. E. O, MATOS, F. J. A., MACHADO, M. I. L, CRAVEIRO, A. A. **Constituintes químicos ativos de plantas medicinais brasileiras**. Editora da UFC, 207-213, 1991.

TAVARES, E. S. *et al*. Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 15, p. 1-5, 2005.

WANG, H. X.; NG, T. B. Natural products with hypoglycemic, hypotensive, hypocholesterolemic, antatherosclerotic and antithrombotic activities. **Life Science**. v. 65, p. 2663-2677, 1999.

ZANELLA, M. T., KOHLMANN, J. R. O., RIBEIRO, A. B. Treatment of obesity hypertension and diabetes syndrome. **Hypertension**. v. 38, p. 705-708, 2001.

APÊNDICE A

Fig. 1. *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf. Fonte: Cristiane Tavares Machado (2008).

APÊNDICE B

Fig. 1. Fisiógrafo. Fonte: Cristiane Tavares Machado (2008).

APÊNDICE C

Na análise fitoquímica do EH foram detectadas as seguintes classes de metabólitos secundários: fenóis, taninos condensados, flavonas, flavonóis, xantonas, flavanonóis, esteróides e saponinas.

Tabela 1. Metabólitos secundários encontrados no extrato hidroalcoólico das folhas de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf (Matos, 1997).

TESTES	RESULTADOS
Fenóis	+++
Taninos Condensados	++
Antocianinas e Antocianidinas	0
Chalconas e Auronas	0
Flavonas, Flavonóis e Xantonas	++
Flavanonóis	-
Flavonononas	0
Leucoantocianidinas	0
Catequinas	0
Esteróides	++
Triterpenos	0
Saponinas	+
Alcalóides	0
Glicosídeos Crianogênicos	0

(0) não detectado, (-) traços, (+) fracamente positivo, (++) moderadamente positivo, (+++) fortemente positivo.

APÊNDICE D

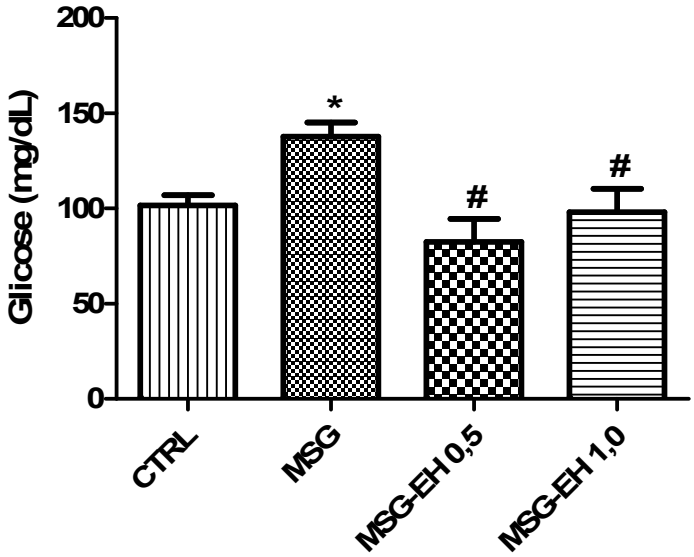

Fig. 1. Concentrações de glicose de ratos não obesos (CTRL) e obesos (MSG, MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0), após 60 dias do tratamento com o EH das folhas de *Cymbopogon citratus*. Os valores representam a média ± e.p.m. (n= 8 - 12). * p< 0,05 vs. CTRL e # p< 0,05 vs. MSG (ANOVA, Newman-Keuls).

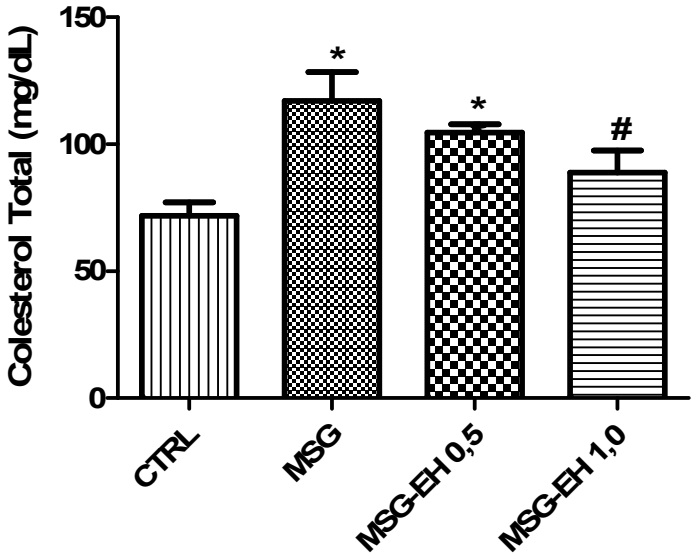

Fig. 2. Concentrações de colesterol total de ratos não obesos (CTRL) e obesos (MSG, MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0), após 60 dias do tratamento com o EH das folhas de *Cymbopogon citratus*. Os valores representam a média ± e.p.m. (n= 8 - 12). * p< 0,05 vs. CTRL e # p< 0,05 vs. MSG (ANOVA, Newman-Keuls).

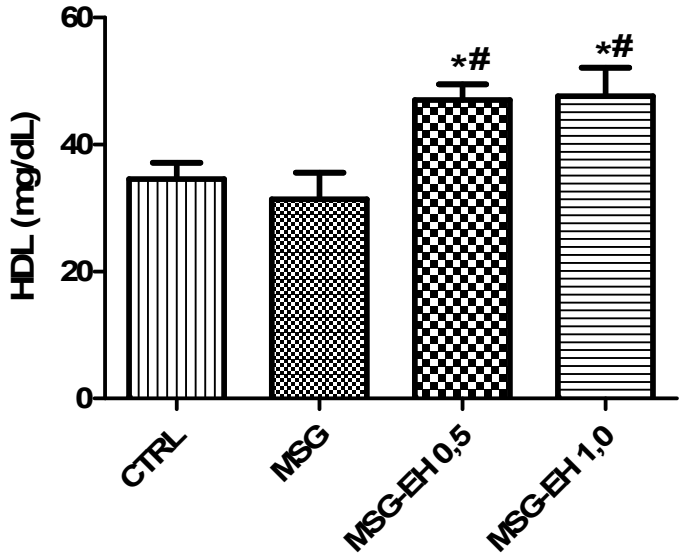

Fig. 3. Concentrações de HDL de ratos não obesos (CTRL) e obesos (MSG, MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0), após 60 dias do tratamento com o EH das folhas de *Cymbopogon citratus*. Os valores representam a média ± e.p.m. (n= 8 - 12). * p< 0,05 vs. CTRL e # p< 0,05 vs. MSG (ANOVA, Newman-Keuls).

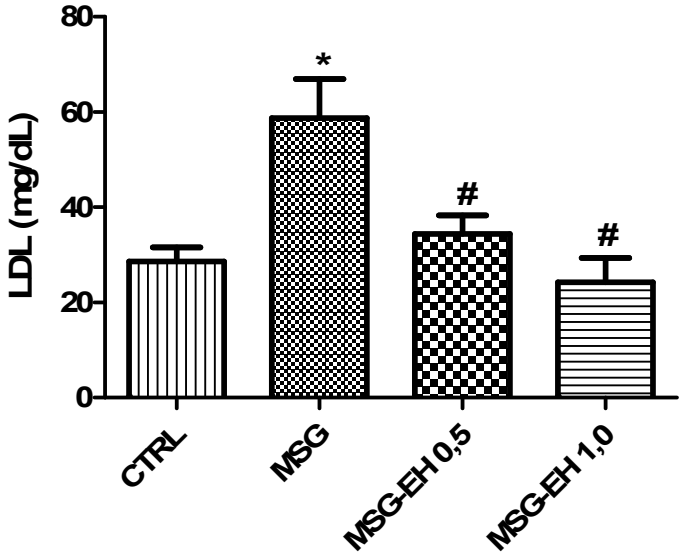

Fig. 4. Concentrações de LDL de ratos não obesos (CTRL) e obesos (MSG, MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0), após 60 dias do tratamento com o EH das folhas de *Cymbopogon citratus*. Os valores representam a média ± e.p.m. (n= 8 - 12). * p< 0,05 vs. CTRL e # p< 0,05 vs. MSG (ANOVA, Newman-Keuls).

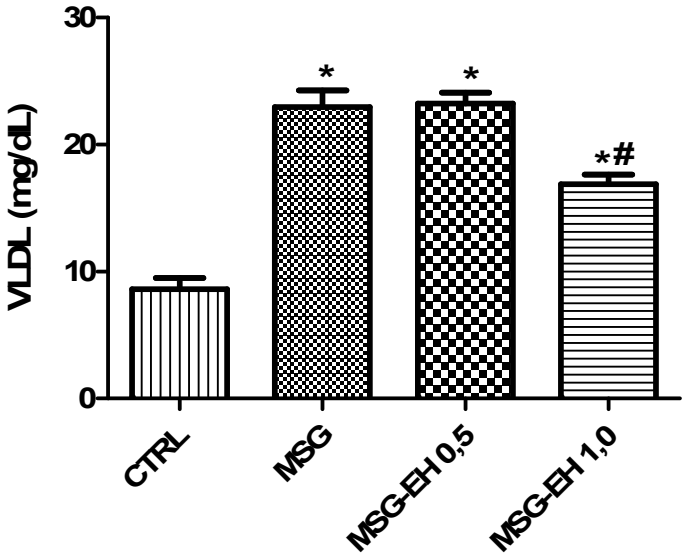

Fig. 5. Concentrações de VLDL de ratos não obesos (CTRL) e obesos (MSG, MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0), após 60 dias do tratamento com o EH das folhas de *Cymbopogon citratus*. Os valores representam a média ± e.p.m. (n= 8 - 12). * p< 0,05 vs. CTRL e # p< 0,05 vs. MSG (ANOVA, Newman-Keuls).

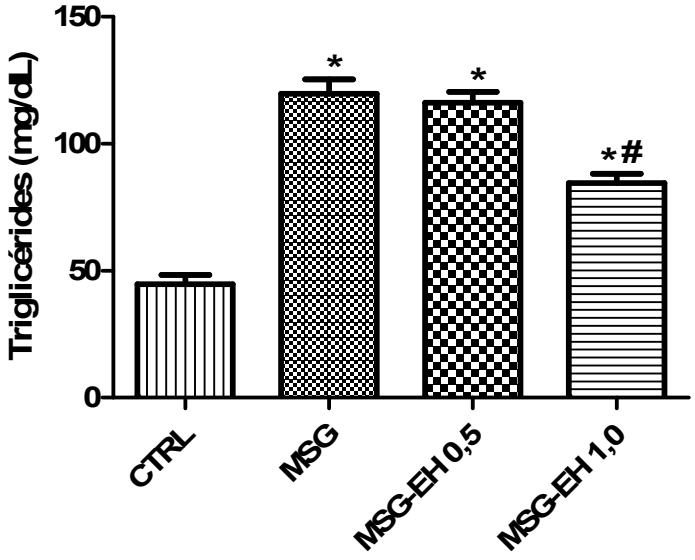

Fig. 6. Concentrações de triglicérides de ratos não obesos (CTRL) e obesos (MSG, MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0), antes e após 30 e 60 dias do tratamento com o EH das folhas de *Cymbopogon citratus*. Os valores representam a média ± e.p.m. (n= 8 - 12). * p< 0,05 vs. CTRL e # p< 0,05 vs. MSG (ANOVA, Newman-Keuls).

APÊNDICE E

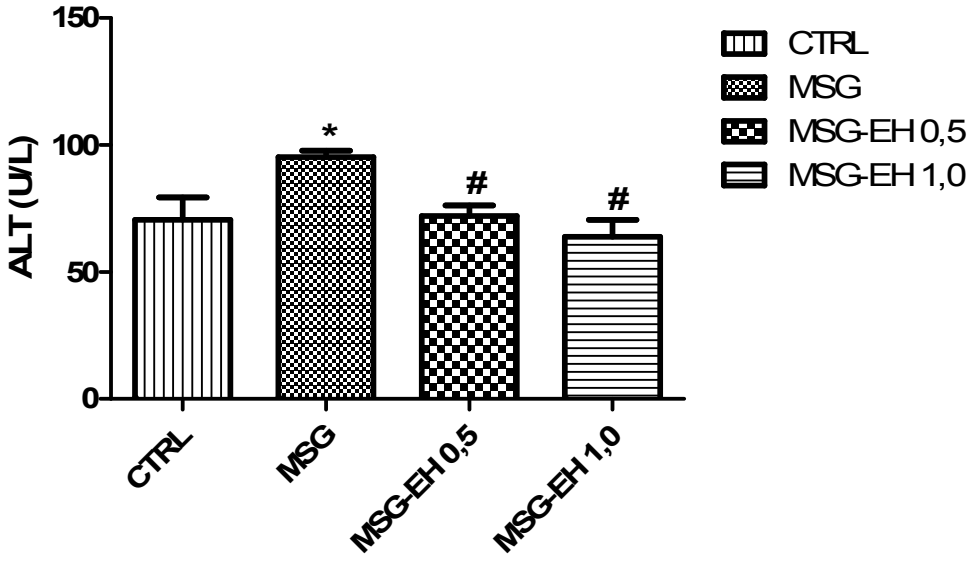

Fig. 1. Concentrações de alanina amino-transferase (ALT) de ratos não obesos (CTRL) e obesos (MSG, MSG-EH0,5 e MSG-EH1,0), após 60 dias do tratamento com o EH das folhas de *Cymbopogon citratus*. Os valores representam a média ± e.p.m. (n= 8 - 12). * p< 0,05 vs. CTRL e # p< 0,05 vs. MSG (ANOVA, Newman-Keuls).

ANEXO A - INSTRUÇÕES PARA AUTORES DO PERIÓDICO JOURNAL ETHNOPHARMACOLOGY

Guide for Authors

An Interdisciplinary Journal Devoted to Indigenous Drugs The Official Journal of the International Society for Ethnopharmacology

INTRODUCTION - The "rules of 5" - Types of paper

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in Publishing - Policy and ethics - Conflict of interest - Submission declaration – Copyright - Retained author rights - Role of the funding source - Funding body agreements and policies - Language Services - Submission - Additional information

PREPARATION

Language - Use of wordprocessing software - Article structure - Subdivision - numbered sections - Introduction - Material and methods - Theory/calculation - Results - Discussion - Conclusions - Glossary - Appendices - Essential title page information - Abstract - Keywords - Acknowledgements - Math formulae - Footnotes - Electronic artwork - - Color artwork - Figure captions - Tables - References - Citation in text - Reference style - Supplementary material - Submission checklist

AFTER ACCEPTANCE

Use of the Digital Object Identifier - Proofs - Offprints

AUTHOR INQUIRIES

INTRODUCTION

The *Journal of Ethnopharmacology* is dedicated to the exchange of information and understandings about people's use of plants, fungi, animals, microorganisms and minerals and their biological and pharmacological effects based on the principles established through international conventions. Early people, confronted with illness and disease, discovered a wealth of useful therapeutic agents in the plant and animal kingdoms. The empirical knowledge of these medicinal substances and their toxic potential was passed on by oral tradition and sometimes recorded in herbals and other texts on *materia medica*. Many valuable drugs of today (e.g., atropine, ephedrine, tubocurarine, digoxin, reserpine) came into use through the study of indigenous remedies. Chemists continue to use plant-derived drugs (e.g., morphine, taxol, physostigmine, quinidine, emetine) as prototypes in their attempts to develop more effective and less toxic medicinals.

The "rules of 5"

The Editors and Editorial Board have developed the "Rules of 5" for publishing in JEP. We have produced five clear criteria that each author needs to think about before submitting a manuscript and setting the whole process of editing and reviewing at work. Click here.

Types of paper

The *Journal of Ethnopharmacology* will accept the following contributions:

1. Original research articles - whose length is not limited and should include Title, Abstract, Methods and Materials, Results, Discussion, Conclusions, Acknowledgements and
2. References. As a guideline, a full length paper normally occupies no more than 10 printed pages of the journal, including tables and illustrations.
3. Ethnopharmacological communications (formerly Short Communications) - whose average length is not more than 4 pages in print (approx. 2000-2300 words, including abstract and references). A maximum of 2 illustrations (figures or tables) is allowed. See paragraph below for description and format.
4. Letters to the Editors.

Reviews - Authors intending to write review articles should consult and send an outline to the Reviews Editor (see inside front cover for contact information) before preparing their manuscripts. The organization and subdivision of review articles can be arranged at the author's discretion. Authors should keep in mind that a good review sets the trend and direction of future research on the subject matter being reviewed. Tables, figures and references are to be arranged in the same way as research articles in the journal. Reviews on topics that address cutting-edge problems are particularly welcome.

5. Book reviews - Books for review should be sent to the Reviews Editor.
6. Commentaries - *invited*, peer-reviewed, critical discussion about crucial aspects of the field but most importantly methodological and conceptual-theoretical developments in the field and should also provide a standard, for example, for pharmacological methods to be used in papers in the *Journal of Ethnopharmacology*. The scientific dialogue differs greatly in the social / cultural and natural sciences, the discussions about the common foundations of the field are ongoing and the papers published should contribute to a transdisciplinary and multidisciplinary discussion. The length should be a maximum of 2-3 printed pages or 2500 words. Please contact the Reviews Editor j.ethnopharmacol@pharmacy.ac.uk with an outline.
7. Conference announcements and news.

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in Publishing

For information on Ethics in Publishing and Ethical guidelines for journal publication see http://www.elsevier.com/publishingethics and http://www.elsevier.com/ethicalguidelines.

Policy and ethics

In the covering letter, the author must also declare that the study was performed according to the international, national and institutional rules considering animal experiments, clinical studies and biodiversity rights. See below for further information. The ethnopharmacological importance of the study must also be explained in the cover letter.

Animal and clinical studies - Investigations using experimental animals must state in the Methods section that the research was conducted in accordance with the internationally accepted principles for laboratory animal use and care as found in for example the European Community guidelines (EEC Directive of 1986; 86/609/EEC) or the US guidelines (NIH publication #85-23, revised in 1985). Investigations with human subjects must state in the Methods section that the research followed guidelines of the Declaration of Helsinki and Tokyo for humans, and was approved by the institutional human experimentation committee or equivalent, and that informed consent was obtained. The Editors will reject papers if there is any doubt about the suitability of the animal or human procedures used.

Biodiversity rights - Each country has its own rights on its biodiversity. Consequently for studying plants one needs to follow the international, national and institutional rules concerning the biodiversity rights.

Conflict of interest

All authors are requested to disclose any actual or potential conflict of interest including any financial, personal or other relationships with other people or organizations within three years of beginning the submitted work that could inappropriately influence, or be perceived to influence, their work. See also http://www.elsevier.com/conflictsofinterest.

Submission declaration

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, without the written consent of the copyright-holder.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (for more information on this and copyright see http://www.elsevier.com/copyright). Acceptance of the agreement will ensure the widest possible dissemination of information. An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement. Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations (please consult http://www.elsevier.com/permissions). If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases: please consult http://www.elsevier.com/permissions.

Retained author rights

As an author you (or your employer or institution) retain certain rights; for details you are referred to: http://www.elsevier.com/authorsrights.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the paper for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated. Please see http://www.elsevier.com/funding.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors whose articles appear in journals published by Elsevier, to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit http://www.elsevier.com/fundingbodies.

Language Services

Authors who require information about language editing and copyediting services pre- and post-submission please visit http://www.elsevier.com/languagepolishing or our customer support site at http://epsupport.elsevier.com/ for more information. Please note Elsevier neither endorses nor takes responsibility for any products, goods or services offered by

outside vendors through our services or in any advertising. For more information please refer to our Terms & Conditions: http://www.elsevier.com/termsandconditions.

Submission

Submission to this journal proceeds totally online. Use the following guidelines to prepare your article. Via the homepage of this journal (http://www.elsevier.com/journals) you will be guided stepwise through the creation and uploading of the various files. The system automatically converts source files to a single Adobe Acrobat PDF version of the article, which is used in the peer-review process. Please note that even though manuscript source files are converted to PDF at submission for the review process, these source files are needed for further processing after acceptance. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, takes place by e-mail and via the author's homepage, removing the need for a hard-copy paper trail.

Additional information

Authors who want to submit a manuscript should consult and peruse carefully recent issues of the journal for format and style. Authors must include the following contact details on the title page of their submitted manuscript: full postal address; fax; e-mail. All manuscripts submitted are subject to peer review. The minimum requirements for a manuscript to qualify for peer review are that it has been prepared by strictly following the format and style of the journal as mentioned, that it is written in good English, and that it is complete. Manuscripts that have not fulfilled these requirements will be returned to the author(s).

In addition, you are recommended to adhere to the research standards described in the following articles:

Cos P, Vlietinck AJ, Berghe DV, et al. *Anti-infective potential of natural products: how to develop a stronger in vitro 'proof-of-concept'.* J Ethnopharmacol 2006, 106: 290-302. Matteucci, E., Giampietro, O. *Proposal open for discussion: defining agreed diagnostic procedures in experimental diabetes research.* J Ethnopharmacol 2008,115: 163-172. T.SA. Froede and Y.S. Medeiros *Animal models to test drugs with potential antidiabetic activity.* J Ethnopharmacol 2008, 115: 173-183.

PREPARATION

Language

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Use decimal points (not decimal commas); use a space for thousands (10 000 and above).

Use of wordprocessing software

It is important that the file be saved in the native format of the wordprocessor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the wordprocessor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. Do not embed "graphically designed" equations or tables, but prepare these using the wordprocessor's facility. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: ⇒http://www.elsevier.com/guidepublication). Do not import the figures into the text file but, instead, indicate their approximate locations directly in the electronic text and on the manuscript. See also the section on Electronic illustrations. To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the "spell-check" and "grammar-check" functions of your wordprocessor.

Article structure

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to "the text". Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Material and methods

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

Theory/calculation

A Theory section should extend, not repeat, the background to the article already dealt with in the Introduction and lay the foundation for further work. In contrast, a Calculation section represents a practical development from a theoretical basis.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Glossary

Please supply, as a separate list, the definitions of field-specific terms used in your article.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on.

Essential title page information

Title. Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.

Author names and affiliations. Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name, and, if available, the e-mail address of each author.

Corresponding author. Clearly indicate who is willing to handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that telephone and fax numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address.**

Present/permanent address. If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a "Present address"' (or "Permanent address") may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately

from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, "and", "of"). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Math formulae

Present simple formulae in the line of normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, e.g., X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article, using superscript Arabic numbers. Many wordprocessors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Table footnotes

Indicate each footnote in a table with a superscript lowercase letter.

Electronic artwork

General points

• Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.

• Save text in illustrations as "graphics" or enclose the font.

• Only use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Helvetica, Times, Symbol.

• Number the illustrations according to their sequence in the text.

• Use a logical naming convention for your artwork files.

• Provide captions to illustrations separately.

• Produce images near to the desired size of the printed version.

• Submit each figure as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website: http://www.elsevier.com/artworkinstructions

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalised, please "save as" or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below): EPS: Vector drawings. Embed the font or save the text as "graphics". TIFF: color or grayscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi. TIFF: Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi. TIFF: Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale): a minimum of 500 dpi is required. DOC, XLS or PPT: If your electronic artwork is created in any of these Microsoft Office applications please supply "as is"

Please do not:

• Supply embedded graphics in your wordprocessor (spreadsheet, presentation) document;

• Supply files that are optimised for screen use (like GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low;

• Supply files that are too low in resolution;

• Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Please note that figures and tables should be embedded in the text as close as possible to where they are initially cited. It is also mandatory to upload separate graphic and table files as these will be required if your manuscript is accepted for publication.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF, EPS or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color on the Web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article. Please indicate your preference for color in print or on the Web only. For further

information on the preparation of electronic artwork, please see http://www.elsevier.com/artworkinstructions. Please note: Because of technical complications which can arise by converting color figures to "gray scale" (for the printed version should you not opt for color in print) please submit in addition usable black and white versions of all the color illustrations.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text. Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript lowercase letters. Avoid vertical rules. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either "Unpublished results" or "Personal communication" Citation of a reference as "in press" implies that the item has been accepted for publication.

Reference style

Text: All citations in the text should refer to:

1. *Single author:* the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;

2. *Two authors:* both authors' names and the year of publication;

3. *Three or more authors:* first author's name followed by "et al." and the year of publication.

Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references should be listed first alphabetically, then chronologically.

Examples: "as demonstrated (Allan, 1996a, 1996b, 1999; Allan and Jones, 1995). Kramer et al. (2000) have recently shown ...."

List: References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters "a", "b", "c", etc., placed after the year of publication.
Please use full journal names.

Examples:

Reference to a journal publication:

Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2000. The art of writing a scientific article. Journal of Scientific Communication. 163, 51-59.

Reference to a book:

Strunk Jr., W., White, E.B., 1979. The Elements of Style, third ed. Macmillan, New York.

Reference to a chapter in an edited book:

Mettam, G.R., Adams, L.B., 1999. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith , R.Z. (Eds.), Introduction to the Electronic Age. E-Publishing Inc., New York, pp. 281-304.

Supplementary material

Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, movies, animation sequences, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: http://www.sciencedirect.com/. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please ensure that data are provided in one of our recommended file formats. Authors should submit the material in electronic format together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. Video files: please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your supplementary information. For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages athttp://www.elsevier.com/artworkinstructions.

Submission checklist

It is hoped that this list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal's Editor for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

Ensure that the following items are present:

One Author designated as corresponding Author:

• E-mail address

• Full postal address

• Telephone and fax numbers

All necessary files have been uploaded

• Keywords

• All figure captions

• All tables (including title, description, footnotes)

Further considerations

• Manuscript has been "spellchecked" and "grammar-checked"

• References are in the correct format for this journal

• All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa

• Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Web)

• color figures are clearly marked as being intended for color reproduction on the Web (free of charge) and in print or to be reproduced in color on the Web (free of charge) and in black-and-white in print If only color on the Web is required, black and white versions of the figures are also supplied for printing purposes For any further information please visit our customer support site at http://epsupport.elsevier.com/.

AFTER ACCEPTANCE

Use of the Digital Object Identifier

The Digital Object Identifier (DOI) may be used to cite and link to electronic documents. The DOI consists of a unique alpha-numeric character string which is assigned to a document by the publisher upon the initial electronic publication. The assigned DOI never changes. Therefore, it is an ideal medium for citing a document, particularly 'Articles in press' because they have not yet received their full bibliographic information. The correct format for citing a DOI is shown as follows (example taken from a document in the journal *Physics Letters B*): doi:10.1016/j.physletb.2003.10.071

When you use the DOI to create URL hyperlinks to documents on the web, they are guaranteed never to change.

Proofs

One set of page proofs in PDF format will be sent by e-mail to the corresponding author (if we do not have an e-mail address then paper proofs will be sent by post). Elsevier now sends

PDF proofs which can be annotated; for this you will need to download Adobe Reader version 7 (or higher) available free from http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html. Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs. The exact system requirements are given at the Adobe site:
http://www.adobe.com/products/acrobat/acrrsystemreqs.html#70win.

If you do not wish to use the PDF annotations function, you may list the corrections (including replies to the Query Form) and return to Elsevier in an e-mail. Please list your corrections quoting line number. If, for any reason, this is not possible, then mark the corrections and any other comments (including replies to the Query Form) on a printout of your proof and return by fax, or scan the pages and e-mail, or by post. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Therefore, it is important to ensure that all of your corrections are sent back to us in one communication: please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility. Note that Elsevier may proceed with the publication of your article if no response is received.

Offprints

The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article via e-mail. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use. Additional paper offprints can be ordered by the authors. An order form with prices will be ent to the corresponding author.

AUTHOR INQUIRIES

For inquiries relating to the submission of articles (including electronic submission where available) please visit this journal's homepage. You can track accepted articles at http://www.elsevier.com/trackarticle and set up e-mail alerts to inform you of when an article's status has changed. Also accessible from here is information on copyright, frequently asked questions and more. Contact details for questions arising after acceptance of an article, especially those relating to proofs, will be provided by the publisher.

Livros Grátis

(http://www.livrosgratis.com.br)

Milhares de Livros para Download:

Baixar livros de Administração
Baixar livros de Agronomia
Baixar livros de Arquitetura
Baixar livros de Artes
Baixar livros de Astronomia
Baixar livros de Biologia Geral
Baixar livros de Ciência da Computação
Baixar livros de Ciência da Informação
Baixar livros de Ciência Política
Baixar livros de Ciências da Saúde
Baixar livros de Comunicação
Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE
Baixar livros de Defesa civil
Baixar livros de Direito
Baixar livros de Direitos humanos
Baixar livros de Economia
Baixar livros de Economia Doméstica
Baixar livros de Educação
Baixar livros de Educação - Trânsito
Baixar livros de Educação Física
Baixar livros de Engenharia Aeroespacial
Baixar livros de Farmácia
Baixar livros de Filosofia
Baixar livros de Física
Baixar livros de Geociências
Baixar livros de Geografia
Baixar livros de História
Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura
Baixar livros de Literatura de Cordel
Baixar livros de Literatura Infantil
Baixar livros de Matemática
Baixar livros de Medicina
Baixar livros de Medicina Veterinária
Baixar livros de Meio Ambiente
Baixar livros de Meteorologia
Baixar Monografias e TCC
Baixar livros Multidisciplinar
Baixar livros de Música
Baixar livros de Psicologia
Baixar livros de Química
Baixar livros de Saúde Coletiva
Baixar livros de Serviço Social
Baixar livros de Sociologia
Baixar livros de Teologia
Baixar livros de Trabalho
Baixar livros de Turismo