

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
MESTRADO

DÊNIS RÔMULO LEITE FURTADO

**EFEITO DE *Cymbopogon citratus* STAPF EM RATOS
HIPERLIPIDÊMICOS E OBESOS**

São Luís

2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

DÊNIS RÔMULO LEITE FURTADO

**EFEITO DE *Cymbopogon citratus* STAPF EM RATOS HIPERLIPIDÊMICOS E
OBESOS**

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

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Marilene Oliveira da Rocha Borges

São Luís

2009

Furtado, Dênis Rômulo Leite

Efeito de *Cymbopogon citratus* Stapf em ratos hiperlipidêmicos e obesos/ Dênis Rômulo Leite Furtado. – São Luís, 2009.

65f.

Impresso por computador (Fotocópia).

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. 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. Dislipidemias
 3. *Cymbopogon citratus*
 4. Capim-limão
- I. Título.

CDU 615.322

A Deus soberano, aos meus pais, a minha esposa, a minha linda filha Mariana, aos meus irmãos, amigos e professores por todo amor, carinho, apoio e confiança presentes em todas as etapas deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, mestre e senhor de todas as coisas, pelo dom da vida.

Aos meus pais, essência de tudo, Ribamar, Iranilde, Iara e Miranda, que com muito carinho e amor, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.

Aos meus irmãos Helem, Gisele, Leandro, Maria de Jesus, Thaís, Carolina e aos meus compadres Gustavo e Dayana pelo amor fraterno e companheirismo nas horas mais difíceis.

A minha esposa Clívia Leite pelo incentivo e apoio nos momentos decisivos e por ter me oportunizado a alegria de ser Pai e a minha linda Mariana, motivo de toda minha luta.

A todos meus familiares, pela base sólida que sempre me deu força para encarar a vida de frente.

A minha orientadora Prof^ª. Dr^ª. Marilene Oliveira da Rocha Borges pela atenção, aprendizagem, incentivo, confiança e paciência, sem os quais não seria possível a conclusão deste trabalho.

Ao Fundo de Amparo a Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico e Científico do Maranhão – FAPEMA pelo incentivo Financeiro

A minha querida e eterna amiga Cristiane, pela amizade e apoio incondicionais os quais foram decisivos para realização deste trabalho.

Ao meu eterno orientador e amigo Prof. Dr. Antonio Marcus, que mesmo distante e muito atarefado, não deixou de me ajudar sempre que pudesse.

A todos os professores do Laboratório de Pesquisa e Pós-graduação em Farmacologia, Socorro, Sônia Freire, Romão Borges, Rachel Melo, Selma Nascimento e Iracele Carvalho pela contribuição na realização do presente trabalho.

Aos meus companheiros do mestrado, especialmente Wanderson e Isabel.

A todos meus amigos do laboratório Daniel, Denilson, Airlhan, Gislaine, Joleen, Frida, Rosa, Nilde e em especial a Bruno e Lucas pela direta contribuição na conclusão deste trabalho. A vocês minha eterna gratidão!!!

*“Lutar e lutar, ainda que a vitória esteja
longe de ser alcançada”*

(Autor desconhecido)

RESUMO

Cymbopogon citratus Stapf, espécie da família Poaceae, é uma erva perene originária da Ásia e cultivada nos países tropicais. Conhecida no Brasil como capim-limão, capim-cidrô e capim-santo, dentre outras sinônimas. É utilizada pela população como calmante, digestivo e hipotensor, na forma de chá, xarope ou inalação. O presente trabalho objetivou avaliar o efeito do extrato hidroalcoólico (EH) de *Cymbopogon citratus* em ratos hiperlipidêmicos ou obesos. As folhas da planta foram coletadas no horto medicinal do Herbário Ático Seabra da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), para subsequente obtenção do EH. Para indução da hiperlipidemia aplicou-se, por via intraperitoneal (i.p), Triton WR 1339 (Tyloxapol) e o sangue dos animais foi coletado antes e após 24, 48 e 72 horas da indução e da administração do EH, para avaliação do perfil lipídico. Para induzir obesidade utilizou-se o modelo Glutamato Monossódico (MSG) e a avaliação crônica dos parâmetros bioquímicos foram realizados após 60 dias de tratamento. Na avaliação aguda o EH 0,5 g/Kg e 1,0 g/Kg reduziu os níveis de colesterol total em 58 % e 45 % e triglicerídeos em 43 % e 31 %, respectivamente, e aumentou a fração de HDL em 38 % e 45 % em ratos hiperlipidêmicos após 48 h de indução. Em animais obesos o EH 0,5 g/Kg reduziu os níveis de colesterol total em 54 %, e o EH 1,0 g/Kg reduziu o colesterol total e a glicemia, ambos em 65 % cada. O tratamento com EH mostrou boa segurança, uma vez que não produziu alterações comportamentais clínicas relevantes e nem causou letalidade em camundongos. Após 60 dias de tratamento, o EH não alterou as concentrações de albumina e nem o perfil hematológico, no entanto, normalizou as concentrações de creatinina, AST, ALT e proteínas totais, sugerindo um efeito protetor renal e hepático em animais obesos induzidos pelo MSG. Considerando os resultados obtidos neste trabalho, pode-se sugerir que o EH de *Cymbopogon citratus* apresenta efeito hipoglicêmico e hipolipemiante agudo e crônico, além de não apresentar toxicidade nas doses utilizadas.

Palavras-chave: Obesidade, dislipidemias, *Cymbopogon citratus*, capim-limão.

ABSTRACT

Cymbopogon citratus Stapf, species of the Poaceae family, is a perennial shrub originated from Asia and cultivated in tropical countries. Popularly known in Brazil as “lemon grass”, “cidro grass”, “odoriferous grass”, “cidreira grass” and “saint grass”, among other synonyms, is used by the population as sedative, digestive and hypotensive agent, as a herbal tea, shrub and by the inhalation. This study aimed to evaluate the effect of hydroalcoholic extract (EH) of *Cymbopogon citratus* in obese and hyperlipidemic rats. The leaves of the plant were collected at the Ático Seabra Herbarium of the Federal University of Maranhão, for subsequent preparation of EH. For hyperlipidemia induction, Triton WR-1339 (Tyloxapol) was injected, by intraperitoneally (i.p). route, and the blood of animals was collected before and after 24, 48 and 72 hours of administration, to evaluate the lipid profile. The induce obesity induction was based in the monosodium glutamate (MSG) model and the biochemical parameters were evaluated after 60 days of treatment with EH. The EH, at the 0.5 g/kg and 1.0 g/kg doses, reduced the levels of total cholesterol by 58 % and 45 % and triglycerides by 43 % and 31 %, respectively, in addition to promoting increased of HDL fraction by 38 % and 45 % in hyperlipidemic rats, after the 48 h stimulation. The EH 0.5 g/kg reduced the total cholesterol levels by 54 % and by 65 % of total cholesterol and glucose in obese animals treated with 1.0 g/kg of EH. Treatment with EH showed a relatively safe on exposure, once does not produced any behavioral and relevant clinical changes and also did not caused lethality in treated mices. After 60 days of treatment, the EH normalized concentrations of AST, ALT and total protein, suggesting that the leaves hydroalcoholic extract of *Cymbopogon citratus* S. has a liver protective function. The EH did not alter the concentrations of albumin and the blood profile, however, normalized the concentrations of creatinine, indicating possible renal protection. Despite the pharmacological effects produced by EH, further studies are required to identify and isolate the active hypoglycemic and hypoglycemic and hypolipidemic principles in the plant as well as elucidating their mechanisms of action.

Keywords: Obesity, dislipidemias, *Cymbopogon citratus*, lemon grass.

SUMÁRIO

RESUMO.....	v
ABSTRACT.....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	x
LISTA DE SIGLAS.....	xi
1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	17
2.1. Geral.....	17
2.2. Específicos	17
3 CAPÍTULO I.....	18
Abstract.....	18
3.1. Introdução	19
3.2. Materiais e métodos	21
3.3. Resultados	25
3.4. Discussão	32
Agradecimentos.....	38
Referencias	39
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	45
REFERÊNCIAS	46
APÊNDICE A – Tabelas	54
APÊNDICE B – Figuras.....	56
ANEXO A – Tabela de toxicidade segundo Malone (1997).....	58
ANEXO B – Instruções para autores do Periódico Journal Ethnopharmacology	59

LISTA DE FIGURAS

<p>Figura 1 – Valores de colesterol sérico de ratos normais (salina) ou hiperlipidêmicos induzidos por Triton (Tyloxapol) e tratados (v. o.) com salina (Tri + sal), ciprofibrato (Tri + cipro), ou EH de <i>C. citratus</i> (Tri + EH 0,5 g/Kg e Tri + EH 1,0 g/Kg). *$p < 0,05$, **$p < 0,01$ e ***$p < 0,001$, representa diferença estatística em relação ao grupo Tri + Sal (ANOVA – Newman Keuls).....</p>	.p 26
<p>Figura 2 – Concentrações séricas de triglicerídeos de ratos normais (salina) ou hiperlipidêmicos induzidos por Triton (Tyloxapol) e tratados (v. o.) com salina (Tri + sal), ciprofibrato (Tri + cipro), ou EH de <i>C. citratus</i> (Tri + EH 0,5 g/Kg e Tri + EH 1,0 g/Kg). *$p < 0,05$ e ***$p < 0,001$, representa diferença estatística em relação ao grupo Tri + Sal (ANOVA – Newman Keuls).....</p>	27
<p>Figura 3 – Valores de HDL sérico de ratos normais (salina) ou hiperlipidêmicos induzidos por Triton (Tyloxapol) e tratados (v. o.) com salina (Tri + sal), ciprofibrato (Tri + cipro), ou EH de <i>C. citratus</i> (Tri + EH 0,5 g/Kg e Tri + EH 1,0 g/Kg). **$p < 0,01$ e ***$p < 0,001$, representa diferença estatística em relação ao grupo Tri + Sal (ANOVA – Newman Keuls).....</p>	27
<p>Figura 4 – Variação ponderal (peso corporal) de ratos normais (salina) ou obesos induzidos por MSG e tratados (v. o.) com salina (MSG + Sal) ou EH de <i>C. citratus</i> (MSG + EH 0,5g/Kg e MSG + EH 1,0g/Kg). Os símbolos e linhas verticais expressam a média \pm e.p.m. *** $p < 0,001$, representa diferença estatística do grupo salina em relação aos demais grupos (ANOVA-Newman Keuls).....</p>	28
<p>Figura 5 – Valores do consumo de ração de ratos normais ou obesos induzidos por MSG e tratados (v. o.) com salina (MSG + Sal) ou EH de <i>C. citratus</i> (MSG + EH 0,5g/Kg e MSG + EH 1,0g/Kg). Os símbolos e linhas representam a média \pm e.p.m da quantidade de ração (g) por gaiola (ANOVA-Newman Keuls).....</p>	29
<p>Figura 6 – Concentração sérica de glicose de ratos normais (salina) ou obesos induzidos por MSG e tratados (v. o.) com salina (MSG + Sal) ou EH de <i>C. citratus</i> (MSG + EH 0,5 g/Kg e MSG + EH 1,0 g/Kg) por 60 dias. As barras verticais representam a média \pm e.p.m. *$p < 0,05$ representa diferença estatística em relação ao grupo MSG + Sal (ANOVA – Newman Keuls).....</p>	30
<p>Figura 7 – Valores de colesterol sérico de ratos normais (salina) ou obesos induzidos por MSG e tratados (v. o.) com salina (MSG + Sal) ou EH de <i>C. citratus</i> (MSG + EH 0,5 g/Kg e MSG + EH 1,0 g/Kg) por 60 dias. As barras verticais representam a média \pm e.p.m. ***$p < 0,001$ representa diferença estatística em relação ao grupo MSG + Sal (ANOVA – Newman Keuls).....</p>	30
<p>Figura 8 – Concentração de HDL sérica de ratos normais (salina) ou obesos induzidos por MSG e tratados (v. o.) com salina (MSG + Sal) ou EH de <i>C. citratus</i> (MSG + EH 0,5 g/Kg e MSG + EH 1,0 g/Kg) por 60 dias. As barras verticais representam a média \pm e.p.m. *$p < 0,05$ representa diferença estatística em relação ao grupo MSG + Sal (ANOVA – Newman Keuls).....</p>	30

Figura 9 – Concentração de triglicérides sérica de ratos normais (salina) ou obesos induzidos por MSG e tratados (v. o.) com salina (MSG + Sal) ou EH de <i>C. citratus</i> (MSG + EH 0,5 g/Kg e MSG + EH 1,0 g/Kg) por 60 dias. As barras verticais representam a média \pm e.p.m.....	31
Figura 10 – Foto representativa de <i>Cymbopogon citratus</i> . Fonte: Herbário Ático Seabra da Universidade Federal do Maranhão – UFMA.....	56
Figura 11 – Foto representativa do rato normal (A) e obeso – MSG (B).....	56
Figura 12 – Foto representativa das gorduras retroperitoneal e perigonadal do rato normal (A) e obeso induzido por MSG (B).....	57
Figura 13 – Efeito da administração oral crônica (60 dias) do EH <i>C. citratus</i> (0,5 e 1,0 g/Kg) sobre gordura retroperitoneal de ratos obesos induzidos por MSG.....	57
Figura 14 – Efeito da administração oral crônica (60 dias) do EH <i>C. citratus</i> (0,5 e 1,0 g/Kg) sobre gordura perigonadal de ratos obesos induzidos por MSG.....	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Efeito da administração oral crônica (60 dias) do EH de <i>C. citratus</i> (0,5 e 1,0 g/Kg) sobre os parâmetros bioquímicos de avaliação hepática e renal de ratos obesos induzidos por MSG.....	.P 32
Tabela 2 – Efeito da administração oral do EH de <i>C. citratus</i> (0,5 e 1,0 g/Kg) e ciprofibrato no perfil lipídico de ratos hiperlipidêmicos após 24, 48 e 72 h da indução por triton.....	54
Tabela 3 – Efeito da administração oral crônica (60 dias) do EH de <i>C. citratus</i> (0,5 e 1,0 g/Kg) sobre a glicose e o lipidograma de ratos obesos induzidos por MSG.....	54
Tabela 4 – Efeito da administração oral crônica (60 dias) do EH de <i>C. citratus</i> (0,5 e 1,0 g/Kg) sobre os parâmetros hematológicos de ratos obesos induzidos por MSG.....	55

LISTA DE SIGLAS

- ALT** – Alanina Aminotransferase
- AST** – Aspartato Aminotransferase
- ARC** – Neurônios do Núcleo Arqueado
- CNA** – Comprimento Nasoanal
- DA** – Doença Aterosclerótica
- EH** – Extrato Hidroalcoólico
- GGT** – Gama Glutariltransferase
- GHRH** – Hormônio Liberador do Hormônio de Crescimento
- GnRH** – Hormônio Liberador de Gonadotrofina
- HDL** – Lipoproteína de Alta Densidade
- HMG-CoA** – Hidroximetilglutaril Coenzima A
- IMC** – Índice de Massa Corpórea
- LDL** – Lipoproteína de Baixa Densidade
- MSG** – Glutamato Monossódico
- NPY** – Neuropeptídeo Y
- RPM** – Rotações por minuto
- SNA** – Sistema Nervoso Autônomo
- UEMA** – Universidade Estadual do Maranhão
- UFMA** – Universidade Federal do Maranhão
- VLDL** – Lipoproteína de Muito Baixa Densidade

1 INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença crônica multifatorial definida como estado nutricional anormal, com balanço energético positivo e acúmulo excessivo de gordura no organismo (Lameu, 2005), caracterizada pelo índice de massa corporal (IMC) superior a 30 kg/m² (Bernal-Pacheco; Román, 2007).

A prevalência da obesidade atinge proporções epidêmicas, tanto em países desenvolvidos quanto em desenvolvimento e está ligada a elevados índices de morbimortalidade cardiovascular (Ogden; Carroll; Flegal, 2003). Na América Latina, o número de obesos tem aumentado consideravelmente (Kain; Vio; Albala, 2003), assim como na Europa, que nos últimos quinze anos, esse número ficou em torno de 60% e nos Estados Unidos, nos últimos dez anos, esse aumento foi de 50% (Wyatt; Winters; Dubbert, 2006), tornando-se um grande problema de saúde pública, pois, além das doenças associadas à obesidade, o gasto com programas para redução de peso somou mais de 30 bilhões de dólares anuais (Giusti, 2007).

No Brasil, segundo o inquérito domiciliar realizado pelo Ministério da Saúde (2003) em quinze capitais brasileiras, 40% da população estudada, com 15 anos ou mais, apresentaram IMC ≥ 25 kg/m². 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 doença aterosclerótica (Eckel; Grundy; Zimmet, 2005).

A doença aterosclerótica (DA), é uma das principais causas de morbimortalidade em adultos jovens em todo o mundo (Levi *et al.*, 2002; Criqui, 2005) e com tendência de acometimento em pessoas cada vez mais jovens, especialmente em países em desenvolvimento (Kanitz *et al.*, 1996; Levi *et al.*, 2002). É uma doença inflamatória que se inicia já na primeira década de vida, mas com longo período pré-sintomático, caracterizado por obstrução progressiva da luz arterial por placas de ateroma e trombos, disfunção endotelial e processo inflamatório (Badimon; Fuster; Cherebro, 1993; Fuster, 1994; Moraes *et al.*, 2007). Na América Latina, esta doença é responsável por cerca de 20 a 35% da

mortalidade total, sendo uma das principais causas de gastos em saúde na maioria dos países desta região (Valiente *et al.*, 1988; Nicholls; Peruga; Restrepo, 1993).

A dislipidemia ou hiperlipidemia, fator de risco importante que está associado à obesidade, é caracterizado pelo aumento anormal dos níveis séricos de colesterol total que pode resultar em aterosclerose (Witztum; Steinberg, 1997). Inúmeros fatores comportamentais contribuem para o desenvolvimento da obesidade e dislipidemias, como o sedentarismo (Bouchard, 2003), o tabagismo, o consumo de bebida alcoólica (Dallongeville *et al.*, 1998) e a dieta hipercalórica, que podem acarretar em disfunções endoteliais, provocando alterações na reatividade vascular (Moraes *et al.*, 2007) e constituindo-se, portanto, temas de grande relevância em estudos científicos.

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 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).

Estas lesões podem ser induzidas química ou cirurgicamente (Pereira *et al.*, 2003). O Modelo de obesidade MSG (L-glutamato monossódico) consiste no desenvolvimento neonatal de obesidade em ratos, após o lesionamento hipotalâmico, induzido pela administração parenteral de MSG; provoca a destruição de 80 a 90% dos neurônios do núcleo arqueado (ARC) e outras estruturas centrais, como a eminência mediana do hipotálamo, resultando em sérias anormalidades neuroendócrinas e metabólicas (Olney, 1969; Holzwarth-McBride *et al.*, 1976).

O MSG ao associar-se a receptores específicos do ARC e da eminência mediana do hipotálamo 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). 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, e a lesão desta região na fase neonatal implica em importantes distúrbios na função neuroendócrina (Remke; Wilsdorf; Muller, 1988; Miskowiak; Partika, 1993).

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).

Outra característica importante desse modelo experimental é o desajuste do sistema nervoso autônomo (SNA), com diminuição do fluxo simpático e aumento do fluxo parassimpático para vários tecidos (Rohner – Jeanrenaud, 1995), causando, dentre outros efeitos, diminuição do conteúdo de catecolaminas adrenomedulares (Martins *et al.*, 2001) e aumento da secreção de insulina, com conseqüente resistência periférica à ação da mesma (Lucinei Balbo *et al.*, 2000).

A dislipidemia também pode ser facilmente induzida em animais de laboratório, através da administração de uma sobrecarga de frutose (Daí; Mcneill, 1995; Katakam *et al.*, 1998; Kelley; Allan; Azhar, 2004), da ingestão continuada de etanol (Silva *et al.*, 2001) ou pela administração aguda de Triton WR 1339 (Tyloxapol) (Jahromi; Ray, 1993; Nagem *et al.*, 1994; Nagem *et al.*, 1995).

Muitas drogas com atividade hipolipemiante estão disponíveis para o tratamento de aterosclerose, obesidade, dislipidemias, hipertensão e diabetes, entretanto, a utilização de plantas medicinais nos programas de atenção primária à saúde pode se constituir numa

alternativa terapêutica muito útil devido a sua eficácia aliada a um baixo custo operacional, a relativa facilidade para aquisição das plantas e a compatibilidade cultural do programa com a população atendida (Matos, 1994).

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 (Cañigual; Dellacassa; Bandoni, 2003). No entanto, a OMS recomenda que sejam exigidas provas 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 ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), na Portaria nº 06 de 31 de janeiro de 1995, determina que um fitoterápico apresente estudos científicos que comprovem a segurança e a eficácia terapêutica do produto, de acordo com as exigências estipuladas na Resolução 1/88 do Conselho Nacional de Saúde. São, portanto, obrigatórias as investigações sobre a toxicidade e os efeitos farmacológicos 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 melitos (Adeney; Agbaje, 2007) e hiperlipidemias (Wang; Ng, 1999). Dentre estas plantas encontram-se o *Croton cajucara* Benth. (Euphorbiaceae), conhecida vulgarmente no Brasil como Sacaca (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* Koidzumi (Salicaceae), *Nelumbo nucifera* Gaertn. (Nymphaeaceae) e *Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae), as quais foi indicada atividade antiobesidade (Calapai *et al.*, 1999, Han *et al.*, 2003; Hidaka; Okamoto; Arita, 2004; Ono *et al.*, 2006).

Cymbopogon citratus Stapf, espécie da família Poaceae, é uma erva perene originária da Ásia e subespontânea ou cultivada nos países tropicais. Suas folhas são longas e aromáticas e as flores geralmente estéreis (Melo *et al.*, 2005). Conhecida vulgarmente no

Brasil como capim-limão, capim-cidró, capim-catinga, capim-cheiroso, capim-cidreira e capim-santo, dentre outras sinonímias, é utilizada pela população como calmante, digestivo e hipotensor, na forma de chá, xarope ou inalação (Cruz *et al.*, 2005). Os compostos isolados do óleo essencial desta espécie, dentre os predominantes encontram-se o Citral, β -Mirceno e Geraniol, que foram 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 (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, exceto triglicerídeos, 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.

Entretanto, considerando a freqüente utilização desta espécie vegetal pela população e os poucos estudos científicos descritos na literatura sobre a atividade hipolipemiante, bem como a ausência de estudos sobre essa atividade em modelos de ratos obesos, propomos no presente estudo avaliar os efeitos do extrato hidroalcoólico de *Cymbopogon citratus* em ratos hiperlipidêmicos ou com obesidade induzida experimentalmente.

2 OBJETIVOS

2.1. Geral

Avaliar o efeito farmacológico do extrato hidroalcoólico de *Cymbopogon citratus* Stapf em modelos experimentais de hiperlipidemias e obesidade.

2.2. Específicos

- Avaliar a toxicidade aguda do EH em animais hiperlipidêmicos;
- Avaliar o efeito da administração aguda do extrato hidroalcoólico de *Cymbopogon citratus* na concentração sérica de lipídeos em animais hiperlipidêmicos;
- Avaliar o efeito da administração crônica do extrato hidroalcoólico de *Cymbopogon citratus* em animais obesos induzidos pelo MSG, sobre a concentração sérica de lipídeos e glicose;
- Avaliar o efeito da administração crônica do extrato hidroalcoólico de *Cymbopogon citratus* sobre o peso corporal e as gorduras perigonadal e retroperitoneal dos animais obesos - MSG;
- Analisar os parâmetros hematológicos e bioquímicos de animais obesos – MSG após o uso crônico do extrato *Cymbopogon citratus*.

3 CAPÍTULO I

Effect of *Cymbopogon citratus* Stapf in hyperlipidemic and obese rats

Furtado, D. R. L.^a, Borges, M. O. R.^{a,*}

^a*Laboratory of Pharmacology, Department of Physiological Sciences, Federal University of Maranhão, São Luís, Maranhão, Brazil.*

Abstract

Cymbopogon citratus Stapf, species of the Poaceae family, is a perennial shrub originated from Asia and cultivated in tropical countries. Popularly known in Brazil as “lemon grass”, “cidro grass”, “odoriferous grass”, “cidreira grass” and “saint grass”, among other synonyms, is used by the population as sedative, digestive and hypotensive agent, as a herbal tea, shrub and by the inhalation. This study aimed to evaluate the effect of hydroalcoholic extract (EH) of *Cymbopogon citratus* in obese and hyperlipidemic rats. The leaves of the plant were collected at the Ático Seabra Herbarium of the Federal University of Maranhão, for subsequent preparation of EH. For hyperlipidemia induction, Triton WR-1339 (Tyloxapol) was injected, by intraperitoneally (i.p.) route, and the blood of animals was collected before and after 24, 48 and 72 hours of administration, to evaluate the lipid profile. The obesity induction was based in the monosodium glutamate (MSG) model and the biochemical parameters were evaluated after 60 days of treatment with EH. The EH, at the 0.5 g/kg and 1.0 g/kg doses, reduced the levels of total cholesterol by 58 % and 45 % and triglycerides by 43 % and 31 %, respectively, in addition to promoting increased of HDL fraction by 38 % and 45 % in hyperlipidemic rats, after the 48 h stimulation. The EH 0.5 g/kg reduced the total cholesterol levels by 54 % and by 65 % of total cholesterol and glucose in obese animals treated with 1.0 g/kg of EH. Treatment with EH showed a relatively safe on exposure, once does not produced any behavioral and relevant clinical changes and also did not caused lethality in treated mice. After 60 days of treatment, the EH normalized concentrations of AST, ALT and total protein, suggesting that the leaves hydroalcoholic extract of *Cymbopogon citratus* S. has a liver protective function. The EH did not alter the concentrations of albumin and the blood profile, however, normalized the concentrations of creatinine, indicating possible renal protection. Despite the pharmacological effects produced by EH, further studies are required to identify and isolate the active hypoglycemic and hypolipidemic principles in the plant as well as elucidating their mechanisms of action.

Keywords: Obesity, dislipidemias, *Cymbopogon citratus*, lemon grass.

Artigo será submetido à revista Journal of Ethnopharmacology

3.1. Introdução

A obesidade é uma desordem crônica multifatorial caracterizada pelo índice de massa corporal (IMC) superior a 30 kg/m^2 e reconhecida pelo estado nutricional anormal, com balanço energético positivo e acúmulo excessivo de gordura no organismo (Lameu, 2005; Bernal-Pacheco e Román, 2007).

Dentre as doenças associadas à obesidade, a dislipidemia provavelmente é uma das de maior impacto, pois ocasiona uma disfunção crônica do metabolismo dos lipídeos (Eizerik e Manfroi, 2008), podendo levar ao aumento anormal das concentrações de colesterol total e/ou triglicérides (Witztum e Steinberg, 1997) e conseqüentes disfunções endoteliais com alterações na reatividade vascular (Badimon et al., 1993; Fuster, 1994; Moraes et al., 2007).

Inúmeros fatores comportamentais contribuem para o desenvolvimento da obesidade e dislipidemias, como o sedentarismo (Bouchard, 2003), o tabagismo, o consumo de bebida alcoólica (Dallongeville et al., 1998) e a dieta hipercalórica (Flatt, 1995).

O conhecimento popular, adquirido durante centenas de anos, e transmitido às gerações futuras tem possibilitado a descoberta de novos medicamentos utilizados atualmente no tratamento de diversas enfermidades (Bruneton, 1993). Atualmente, a procura por novas substâncias que possam ser utilizadas para melhorar a qualidade de vida do homem, tem despertado o interesse das indústrias farmacêuticas por plantas empregadas tradicionalmente pela população (Silva et al., 2000; Mendonça Filho e Menezes, 2003). No entanto, a OMS recomenda que sejam exigidas provas 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 planta em estudo, *Cymbopogon citratus* Stapf, é uma espécie pertencente à família Poaceae, erva perene originária da Ásia e subspontânea ou cultivada nos países tropicais.

Suas folhas são longas e aromáticas e as flores geralmente estéreis. Conhecida vulgarmente no Brasil como capim-limão, capim-cidrô, capim-catinga, capim-cheiroso, capim-cidreira e capim-santo, dentre outras sinonímias, é utilizada tradicionalmente como calmante, digestivo e hipotensor, na forma de chá, xarope ou inalação (Simões et al., 1989). Os compostos isolados do óleo essencial desta espécie, que dentre os majoritários encontram-se o Citral, β -Mirceno e Geraniol, foram indicados, recentemente, como responsáveis pelas atividades sedativa, anticancerígena (Dudai et al., 2005), bactericida e fungicida (Ohno et al., 2003).

Estudos farmacológicos, realizados com o extrato hidroalcoólico obtido das folhas, demonstrou ação hipotensora em ratos (Carbajal et al., 1989; Singi et al., 2005), enquanto que o extrato aquoso apresentou ação redutora dos batimentos cardíacos (Gazola et al., 2004), além de atividades hipoglicemiante e hipolipidêmica com redução de colesterol, LDL e glicose, em ratos não obesos (Adeneye e Agbaje, 2007). Efeito vasorelaxante (Runnie et al., 2004) e atividade antioxidante (Cheel et al., 2005) foram observados com o extrato metanólico.

Entretanto, considerando a freqüente utilização desta espécie vegetal pela população e os poucos estudos científicos descritos na literatura sobre sua atividade hipolipidêmica, bem como a ausência de estudos sobre essa atividade em ratos obesos, o objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos do extrato hidroalcoólico de *Cymbopogon citratus* Stapf em ratos com hiperlipidemia ou obesidade induzidas experimentalmente.

3.2. Materiais e métodos

3.2.1. Material botânico

As folhas de *Cymbopogon citratus* Stapf foram coletadas no Herbário Ático Seabra da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), sendo sua exsicata registrada neste Herbário, sob o n° 537.

Após a coleta o material foi encaminhado ao Laboratório de Pesquisa e Pós-graduação em Farmacologia da UFMA para secagem, pulverização e preparação do extrato hidroalcoólico.

3.2.2. Obtenção do extrato hidroalcoólico

As folhas foram secas em temperatura ambiente e pulverizadas em moinho elétrico. Iniciou-se a obtenção do extrato a partir da maceração de 600 g do pó da planta em 1800 mL de álcool a 70 %, durante três dias. O macerado alcoólico extraído foi filtrado e concentrado em rotaevaporador à pressão reduzida e à temperatura entre 45 e 60°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 4°C.

Para determinação do peso seco e do rendimento, foram utilizadas 3 alíquotas de 1,0 mL do EH, colocadas em béqueres de 1 mL secos e previamente tarados. As alíquotas foram evaporadas sob corrente de ar quente e os recipientes, após resfriamento, foram 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.

3.2.3. 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 nº001/08.

Camundongos Swiss da espécie *Mus musculus* (8 semanas de idade) e ratos Wistar da espécie *Rattus norvegicus*, adultos (8 – 10 semanas de idade) de ambos os sexos e ratas prenhes, foram cedidos pelo Biotério da UFMA. Os animais foram mantidos em condições de temperatura ($25\pm 3^{\circ}\text{C}$), ciclo claro escuro de 12/12 h, água e ração *ad libitum*.

3.2.4. Teste de toxicidade aguda em camundongos

A avaliação da toxicidade aguda foi realizada observando-se os sinais de toxicidade e morte descrita por Malone (1997) (ANEXO A) até 14 dias após o tratamento oral com EH nas doses de 0,25 – 2,0 g/Kg de peso corporal; o grupo controle recebeu solução fisiológica de NaCl 0,9 % (0,1 mL/10 g) que foi utilizada como veículo das soluções.

Camundongos Swiss foram randomizados e divididos em grupos de 20 animais cada (10 machos, 10 fêmeas), pesados e tratados com EH, ou solução fisiológica de NaCl 0,9 %. As manifestações comportamentais e letalidade dos animais foram observadas periodicamente, seguindo o protocolo descrito por Malone (1997). Ao final do período de observação todos os animais foram submetidos a autópsia, a fim de realizar uma avaliação macroscópica do fígado, pulmões, rins, estômago, intestino, coração e pâncreas (Larini, 1997; Oga, 2003).

3.2.5. Protocolo experimental de hiperlipidemia

Ratos machos Wistar, adultos, foram randomizados e divididos em cinco grupos com 6 animais. Quatro grupos de animais: Grupo 1 (Tri + Sal); Grupo 2 (Tri + EH 0,5 g/Kg); Grupo 3 (Tri + EH 1,0 g/Kg) e Grupo 4 (Tri + Cipro); foram injetados pela via intraperitoneal (i.p) com Triton WR 1339 (Tyloxapol) (Sigma Chemical Co.) na dose de 0,3 g/Kg, para indução da hiperlipidemia (Mathur et al, 1964; Silva et al, 2001). O Grupo 5 (salina) recebeu a injeção de solução fisiológica de NaCl 0,9 % (i.p).

Imediatamente após a administração do Triton, os animais foram tratados por via oral, em dose única, com o EH 0,5 g/kg (Tri + EH 0,5 g/Kg), ou EH 1,0 g/Kg (Tri + EH 1,0 g/Kg), Ciprofibrato 0,1 g/kg (Tri + Cipro), ou somente solução salina para os grupos Tri + Sal e Salina.

Para quantificação dos parâmetros lipídicos, foram coletadas amostras de sangue periférico, diretamente do plexo ocular, antes (valor basal) e após 24, 48 e 72 horas dos tratamentos. As amostras foram processadas em centrifuga com rotação de 3500 rpm durante cinco minutos e os soros separados para determinação das concentrações séricas de colesterol total, colesterol – HDL e triglicerídeos (Pérez et al, 1999).

3.2.6. Protocolo experimental de indução neonatal de obesidade

Durante os cinco 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 controle receberam uma injeção de solução salina hiperosmótica (1,25 %). Após 21 dias de vida foi realizado o desmame e os animais foram divididos em quatro grupos com 06 ratos cada (MSG + Sal,

MSG + EH 0,5 g/Kg, MSG + EH 1,0 g/Kg e Salina). Após oitenta dias de vida os animais obesos receberam por via oral, diariamente, durante sessenta dias, solução fisiológica de NaCl 0,9 % (MSG + Sal), ou EH 0,5 g/Kg (MSG + EH 0,5 g/Kg), ou EH 1,0 g/Kg (MSG + EH 1,0 g/Kg) e os animais normais receberam solução fisiológica 0,9 % (Salina).

Ao final do tratamento foram coletadas amostras de sangue para a análise hematológica (eritrograma e número de leucócitos) e dos compostos bioquímicos (proteínas totais, albumina, triglicerídeos, colesterol total, HDL, aspartato amino-transferase, alanina amino-transferase, glicose, uréia e creatinina) de acordo com os procedimentos descritos nos kits comerciais (Bucolo e David, 1973; Allain et al, 1974).

O desenvolvimento da obesidade foi avaliado, antes, 30 e 60 dias após o tratamento, pela determinação do Índice de Lee (IL), que é resultante do quociente da raiz cúbica do peso corporal (g), pelo comprimento naso-anal (CNA) de cada animal (Bernardis e Patterson, 1968).

3.2.7. Avaliação do desenvolvimento ponderal e morfometria

Durante todo o período de tratamento, os animais foram pesados a cada dois dias para avaliação do desenvolvimento ponderal. Foi avaliado também o consumo de ração, como média da gaiola, na mesma periodicidade. Ao final do tratamento, após a eutanásia dos animais, os depósitos adiposos perigonadal e retroperitoneal foram retirados, lavados com solução salina e pesados para avaliação do acúmulo de gordura (APÊNDICE B – Figura12).

3.2.8. *Análise estatística*

Os resultados experimentais foram expressos como média \pm erro padrão das médias (e.p.m.) e submetidos à análise de variância (ANOVA – Newman Keuls) com um nível de significância de 5 % ($p \leq 0,05$).

3.3. Resultados

3.3.1. *Obtenção do EH*

O EH, preparado a partir das folhas secas, apresentou coloração marrom esverdeado, odor característico, peso seco de 7,85 g/mL e rendimento de 28,6 %.

3.3.2. *Avaliação da toxicidade aguda do EH*

A administração oral não causou mortalidade em nenhum dos animais tratados com EH nas doses de 0,25 até 2,0 g/kg. Efeitos comportamentais, tais como: ereção de cauda, redução da atividade locomotora, taquipnéia, tremor generalizado, piloereção e sedação foram observados nos primeiros 30 minutos após a administração do EH. A necrópsia realizada após 14 dias do tratamento não revelou alteração macroscópica dos órgãos viscerais.

3.3.3. *Efeitos do EH em ratos hiperlipidêmicos*

Conforme as figuras 1 e 2, a administração intraperitoneal de Triton (0,3 g/Kg) causou hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia logo nas primeiras 24 h. Neste período de tempo, o tratamento com EH 0,5 g/Kg e 1,0 g/Kg reduziu os níveis de colesterol total em 19 % (p

<0,05) e 32 % ($p < 0,01$), respectivamente, em relação ao grupo controle (Tri + Sal) (Figura 1). O ciprofibrato, utilizado como controle positivo nos experimentos, diminuiu os níveis de colesterol total em 39 % ($p < 0,001$).

Após 48 h de indução, o EH 0,5 g/Kg e 1,0 g/Kg reduziu os níveis de colesterol total em 57 % e 44 %, respectivamente.

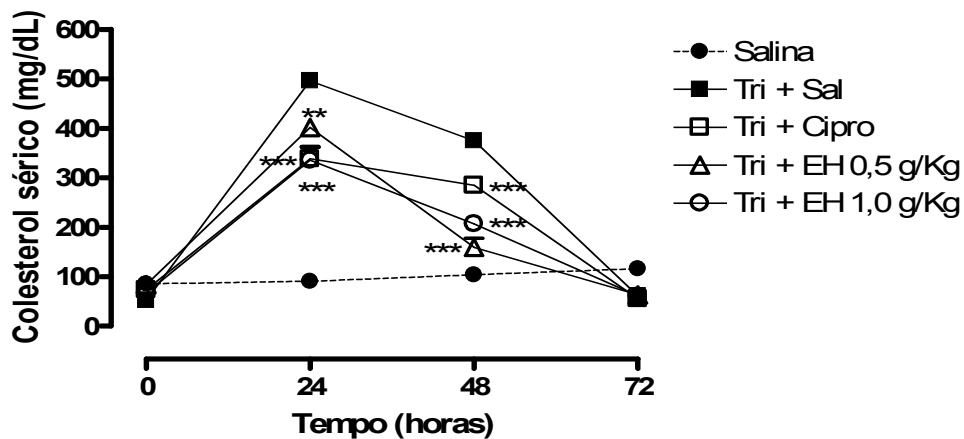


Fig. 1. Valores de colesterol sérico de ratos normais (salina) ou hiperlipidêmicos induzidos por Triton (Tyloxapol) e tratados (v. o.) com salina (Tri + sal), ciprofibrato (Tri + cipro), ou EH de *C. citratus* (Tri + EH 0,5 g/Kg e Tri + EH 1,0 g/Kg). * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$, representa diferença estatística em relação ao grupo Tri + Sal (ANOVA – Newman Keuls).

O EH não alterou a hipertrigliceridemia nas 24 horas após a indução com triton, porém, nas 48 h o EH 0,5 e 1,0 g/Kg reduziu os triglicerídeos em 43 % e 31 %, respectivamente, enquanto que o ciprofibrato manteve os triglicerídeos diminuído em todo o período de observação (Figura 2).

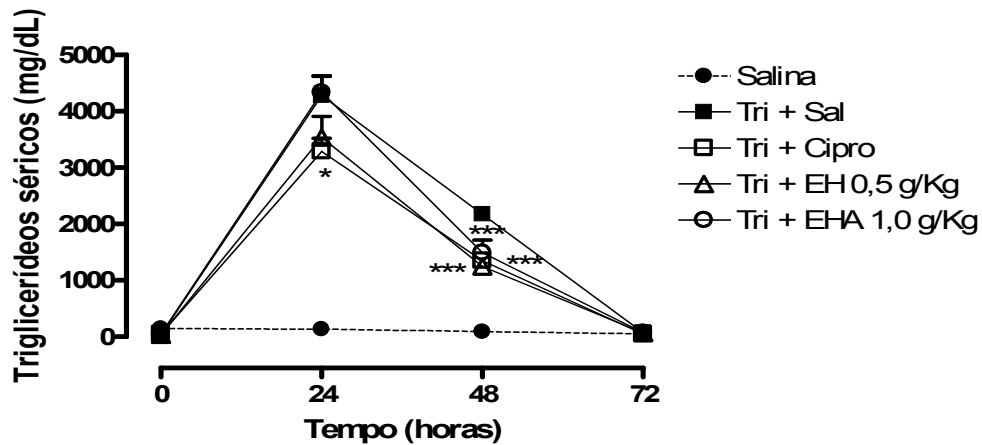


Fig. 2. Concentrações séricas de triglicerídeos de ratos normais (salina) ou hiperlipidêmicos induzidos por Triton (Tyloxapol) e tratados (v. o.) com salina (Tri + sal), ciprofibrato (Tri + cipro), ou EH de *C. citratus* (Tri + EH 0,5 g/Kg e Tri + EH 1,0 g/Kg). * $p < 0,05$ e *** $p < 0,001$, representa diferença estatística em relação ao grupo Tri + Sal (ANOVA – Newman Keuls).

Nas 24 h após a indução da hiperlipidemia, a administração do EH reduziu o HDL dos animais, porém, esta lipoproteína apresentou-se aumentada em 38 % e 45 % com a administração de 0,5 e 1,0 g/Kg do EH, respectivamente, nas 48 horas, em relação aos ratos hiperlipidêmicos como mostra a figura 3.

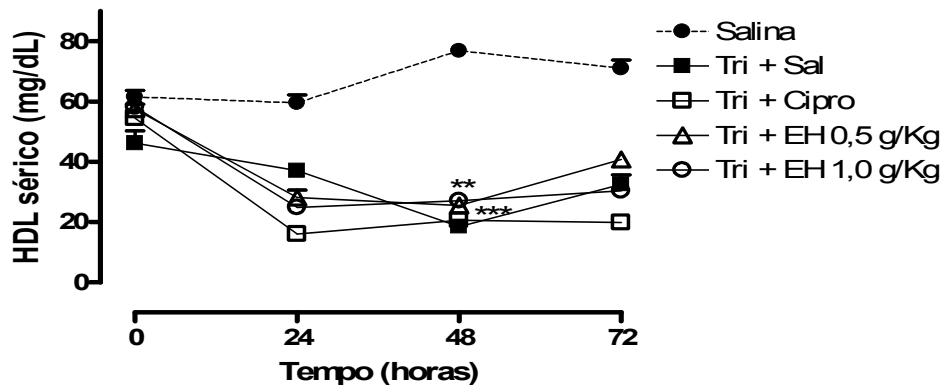


Fig. 3. Valores de HDL sérico de ratos normais (salina) ou hiperlipidêmicos induzidos por Triton (Tyloxapol) e tratados (v. o.) com salina (Tri + sal), ciprofibrato (Tri + cipro), ou EH de *C. citratus* (Tri + EH 0,5 g/Kg e Tri + EH 1,0 g/Kg). ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$, representa diferença estatística em relação ao grupo Tri + Sal (ANOVA – Newman Keuls).

Decorrido 72 h da indução da hiperlipidemia pelo triton e do tratamento com EH, as concentrações dos lipídeos séricos (colesterol total, triglicérides e HDL) de todos os grupos de animais apresentaram-se semelhantes aos valores do grupo salina.

3.3.4. Efeitos do tratamento crônico do EH sobre o desenvolvimento ponderal e consumo de ração de ratos obesos – MSG

Os animais normais do grupo salina apresentaram peso superior e estatisticamente diferente ($p < 0,001$), em todas as semanas, ao dos grupos MSG + Sal, MSG + EH 0,5 g/Kg e MSG + EH 1,0 g/Kg, os quais não apresentaram diferença entre si, como mostra a figura 4. Além disso, não houve diferença no consumo de ração entre os grupos de animais (Figura 5).

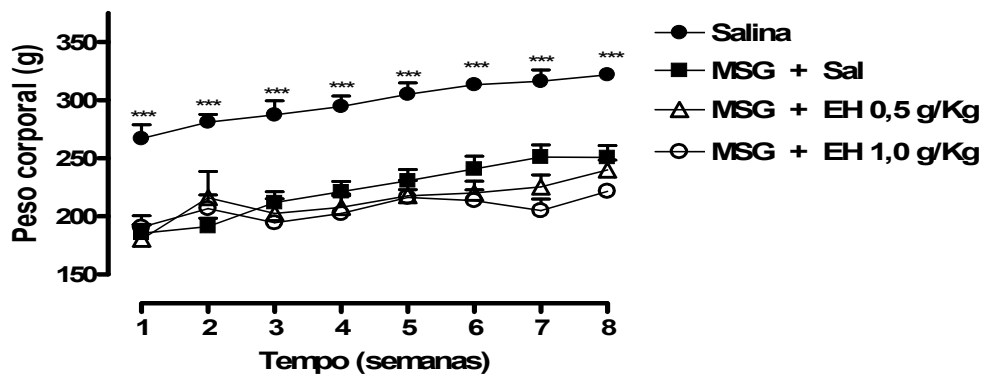


Fig. 4. Variação ponderal (peso corporal) de ratos normais (salina) ou obesos induzidos por MSG e tratados (v. o.) com salina (MSG + Sal) ou EH de *C. citratus* (MSG + EH 0,5 g/Kg e MSG + EH 1,0 g/Kg). Os símbolos e linhas verticais expressam a média \pm e.p.m. *** $p < 0,001$, representa diferença estatística do grupo salina em relação aos demais grupos (ANOVA-Newman Keuls).

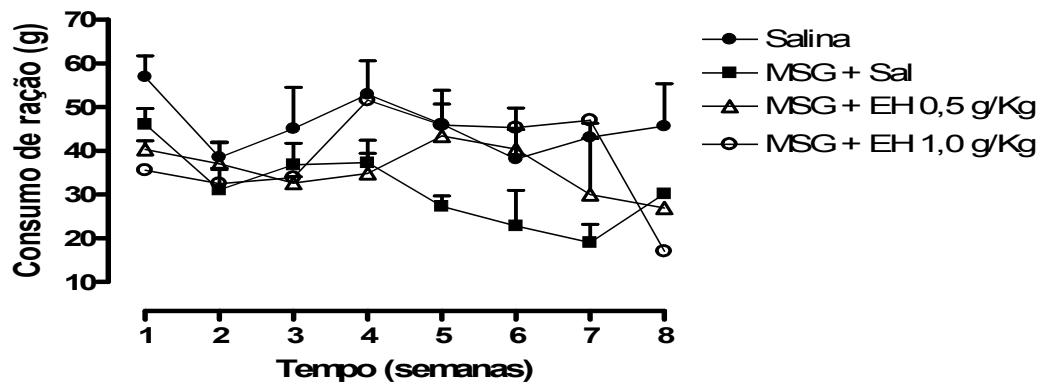


Fig. 5. Valores do consumo de ração de ratos normais ou obesos induzidos por MSG e tratados (v. o.) com salina (MSG + Sal) ou EH de *C. citratus* (MSG + EH 0,5 g/Kg e MSG + EH 1,0 g/Kg). Os símbolos e linhas representam a média \pm e.p.m da quantidade de ração (g) por gaiola (ANOVA-Newman Keuls).

3.3.5. Efeitos do EH sobre as gorduras retroperitoneal e periepididimal de ratos obesos – MSG

A administração neonatal do glutamato monossódico aumentou em seis vezes as gorduras perigonadal e retroperitoneal. Porém, o tratamento com EH 0,5 g/Kg e 1,0 g/Kg não alterou a quantidade de gorduras induzidas pelo MSG (APÊNDICE B – Figuras 13 e 14).

3.3.6. Efeitos do tratamento oral crônico com EH sobre a glicose e o lipidograma de ratos obesos – MSG

Em ratos obesos o tratamento oral por 60 dias com EH 1,0 g/Kg reduziu a glicemia (Figura 6) e o colesterol total (Figura 7), ambos, em 65 % ($p < 0,001$). Enquanto que, a menor dose do extrato (EH 0,5 g/Kg) reduziu o colesterol total em 54 % ($p < 0,001$), além de aumentar o HDL em 25 % ($p < 0,05$) (Figura 8). Os triglicerídeos não foram alterados com o tratamento (Figura 9).

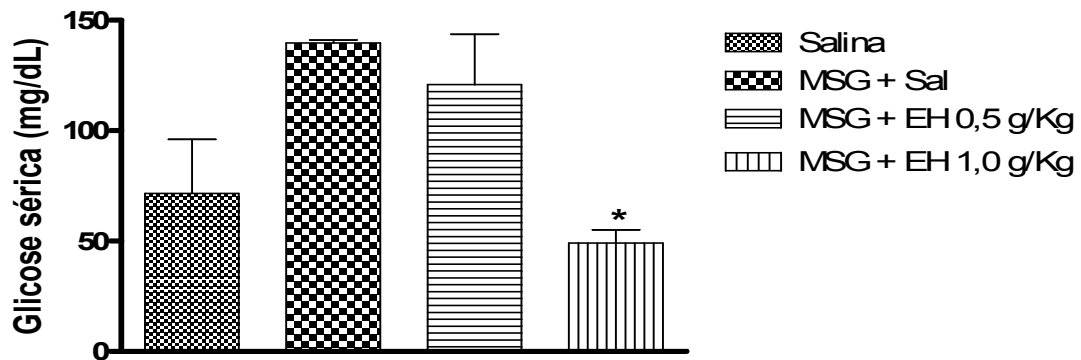


Fig. 6. Concentração sérica de glicose de ratos normais (salina) ou obesos induzidos por MSG e tratados (v. o.) com salina (MSG + Sal) ou EH de *C. citratus* (MSG + EH 0,5 g/Kg e MSG + EH 1,0 g/Kg) por 60 dias. As barras verticais representam a média \pm e.p.m. * $p < 0,05$ representa diferença estatística em relação ao grupo MSG + Sal (ANOVA – Newman Keuls).

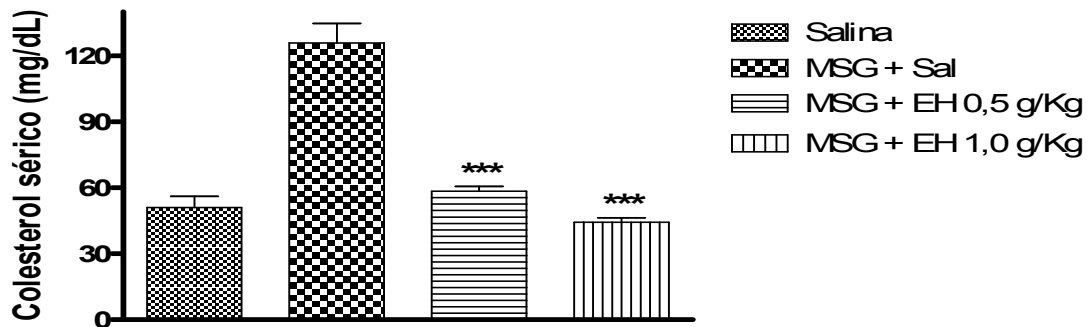


Fig. 7. Valores de colesterol sérico de ratos normais (salina) ou obesos induzidos por MSG e tratados (v. o.) com salina (MSG + Sal) ou EH de *C. citratus* (MSG + EH 0,5 g/Kg e MSG + EH 1,0 g/Kg) por 60 dias. As barras verticais representam a média \pm e.p.m. *** $p < 0,001$ representa diferença estatística em relação ao grupo MSG + Sal (ANOVA – NewmanKeuls).

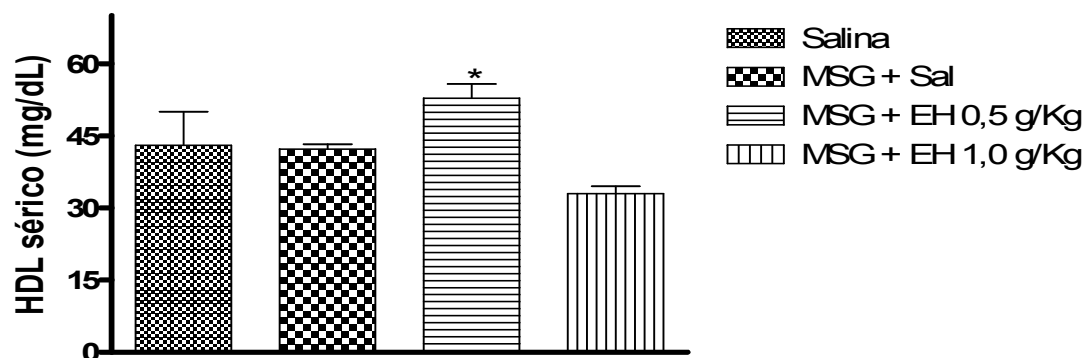


Fig. 8. Concentração de HDL sérica de ratos normais (salina) ou obesos induzidos por MSG e tratados (v. o.) com salina (MSG + Sal) ou EH de *C. citratus* (MSG + EH 0,5 g/Kg e MSG + EH 1,0 g/Kg) por 60 dias. As barras verticais representam a média \pm e.p.m. * $p < 0,05$ representa diferença estatística em relação ao grupo MSG + Sal (ANOVA – NewmanKeuls).

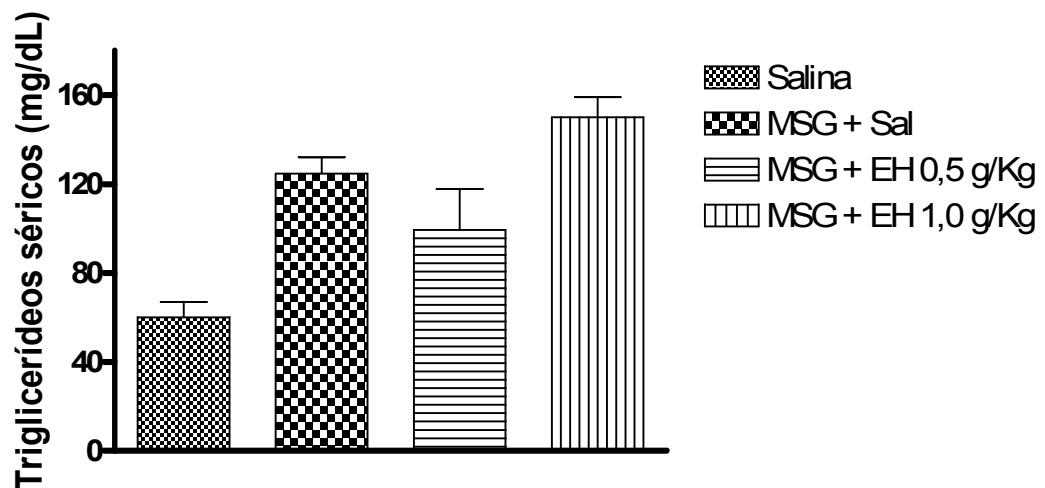


Fig. 9. Concentração de triglicerídeos sérica de ratos normais (salina) ou obesos induzidos por MSG e tratados (v. o.) com salina (MSG + Sal) ou EH de *C. citratus* (MSG + EH 0,5 g/Kg e MSG + EH 1,0 g/Kg) por 60 dias. As barras verticais representam a média \pm e.p.m.

3.3.7. Efeitos do tratamento oral crônico com EH sobre os parâmetros bioquímicos de avaliação hepática e renal de ratos obesos – MSG

Em relações aos parâmetros bioquímicos de avaliação renal, o EH 0,5 g/Kg e 1,0 g/Kg não alterou os níveis de albumina e uréia, porém normalizaram as concentrações de proteínas totais e creatinina que apresentaram-se aumentadas nos animais MSG + Sal.

Em análise aos parâmetros bioquímicos de avaliação hepática os EH 0,5 g/Kg e 1,0 g/Kg também normalizaram os valores séricos de ALT e AST aumentados nos animais obesos.

Os parâmetros bioquímicos determinados no soro dos animais tratados por 60 dias com o extrato hidroalcoólico das folhas de *Cymbopogon citratus* estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1

Efeito da administração oral crônica (60 dias) do EH de *C. citratus* (0,5 e 1,0 g/Kg) sobre os parâmetros bioquímicos de avaliação hepática e renal de ratos obesos induzidos por MSG.

Parâmetros	Salina	MSG + Sal	MSG + EH 0,5 g/Kg	MSG + EH 1,0 g/Kg
ALT	86,5 ± 31,5	227,0 ± 3,15	111,3 ± 8,90 ***	139,0 ± 18,5 ***
AST	242 ± 124	409,7 ± 6,09	197,8 ± 26,5 **	291,7 ± 33,4 *
Creatinina	0,55 ± 0,05	0,720 ± 0,04	0,480 ± 0,04 **	0,500 ± 0,00 **
Albumina	3,90 ± 0,49	3,100 ± 0,64	3,560 ± 0,11	4,170 ± 0,43
Proteínas totais	8,00 ± 0,40	9,200 ± 0,26	7,100 ± 0,40 **	7,100 ± 0,29 **
Uréia	65,5 ± 11,5	56,82 ± 1,87	61,20 ± 8,19	75,67 ± 2,30

Valores expressos com média ± e.p.m. *p < 0,05, **p < 0,01 e ***p < 0,001 representam diferença estatística em relação ao grupo MSG + Sal (ANOVA – Newman Keuls).

3.3.8. Efeitos do tratamento oral crônico com EH sob os parâmetros hematológicos de ratos obesos – MSG

O eritrograma e leucograma não apresentaram-se alterados no grupo MSG + Sal. O tratamento crônico com extrato hidroalcoólico de *Cymbopogon citratus* não alterou estes parâmetros hematológicos (APÊNDICE A – Tabela 4).

3.4. Discussão

Cymbopogon citratus é utilizado tradicionalmente no controle da hipertensão arterial e, apesar de haver alguns estudos relatando seu efeito redutor nos lipídeos séricos, nenhum trabalho utilizou animais obesos ou hiperlipidêmicos como foi empregado neste estudo.

Inicialmente foi avaliada a toxicidade aguda do EH de *Cymbopogon citratus* em camundongos, após a administração oral, nas doses de 0,25 a 2,0 g/Kg. O EH demonstrou boa segurança, uma vez que não produziu alterações comportamentais relevantes e nem causou letalidade em camundongos. Estes resultados estão de acordo com os estudos de Adeneye e Agbaje (2007) que avaliaram o extrato aquoso da planta, na dose única de 5,0 g/Kg, e não observaram mortalidade dos animais, bem como os de Formigoni et al. (1986) que utilizaram

a infusão das folhas do *C. citratus*, por dois meses, em dose vinte vezes maior que as usadas em humanos e não observaram alterações tóxicas em ratos adultos machos e fêmeas e nos seus filhotes. Leite et al. (1986) demonstraram que o uso do chá da planta por humanos saudáveis, durante duas semanas, não alterou os principais parâmetros bioquímicos que avaliam toxicidade.

Além disso, foi observado em nosso estudo que o tratamento diário com EH durante oito semanas (Figura 4) não alterou o ganho de massa corporal dos animais, parâmetro considerado importante indicador para a avaliação da toxicidade de uma substância (Jahn e Gunzel, 1997), assim como também não ocorreu alterações no consumo de ração pelos animais (Figura 5). Durante o período de tratamento crônico não houve morte dos animais, o que reforça a ausência de possíveis ações tóxicas do extrato hidroalcoólico de *C. citratus*.

O efeito do *Cymbopogon citratus* na concentração dos lipídeos séricos foi avaliado em modelos experimentais hiperlipidêmicos e obesos. A hiperlipidemia pode ser facilmente induzida em animais de laboratório pela administração aguda parenteral de Triton WR 1339 (Tyloxapol) (Jahromi e Ray, 1993; Nagem et al., 1994; Nagem et al., 1995), um detergente não aniônico de estrutura polimérica que aumenta consideravelmente os níveis séricos dos lipídios pela inibição da lipoproteína lipase, responsável pela quebra dos triglicerídeos (Levine e Saltzman, 2007).

Nos experimentos, o triton aumentou em trinta vezes a concentração dos triglicerídeos e em seis vezes os níveis de colesterol sérico, em relação ao grupo salina, nas 24 horas após a injeção. A administração aguda do EH diminuiu os valores de colesterol total de forma dependente de dose no tempo de 24 horas, mantendo-o reduzido até as 48 horas em relação ao grupo hiperlipidêmico (Figuras 1), demonstrando um efeito também dependente do tempo. Porém, em relação aos triglicerídeos, a redução induzida pelo EH foi observada com as duas doses, somente após 48 horas do estímulo (Figura 2). Estes lipídeos também foram reduzidos

pelo ciprofibrato, utilizado como fármaco padrão nos ensaios, por ser um hipolipemiante que reduz a concentração de lipoproteínas ricas em triglicerídeos e subfrações mais aterogênicas de LDL, além de aumentar a expressão gênica da lipoproteína lipase que é responsável pela hidrólise de triglicerídeos (Bhatnagar, 1998; Hang et al., 2005; Goodman e Gilman., 2006).

O efeito hipolipidêmico agudo do extrato aquoso de *C. citratus* já foi demonstrado em animais não obesos. Adeneye e Agbaje (2007) observaram redução do colesterol total, VLDL-c e LDL-c, sem alterações da concentração de triglicerídeos, utilizando doses que variaram de 0,125 a 0,5 g/Kg. Em nossos resultados, o efeito hipotrigliceridêmico deve ter ocorrido devido o modelo experimental empregado apresentar valores séricos muito altos deste lipídeo, mimetizando o que ocorre em pacientes dislipidêmicos. Além disso, o EH, de forma semelhante ao extrato aquoso (Adeneye e Agbaje, 2007) também elevou as concentrações séricas de HDL (Figura 3).

Desta forma, a mudança induzida pelo EH no perfil lipídico dos animais hiperlipidêmicos é favorável no que se refere à redução dos fatores de riscos associados a doenças cardiovasculares, como por exemplo, a aterosclerose.

Além dos efeitos agudos na hiperlipidemia, também foram avaliados os efeitos crônicos do EH de *C. citratus* em animais com obesidade induzida pelo glutamato monossódico (MSG) na vida neonatal.

Os ratos obesos – MSG apresentam-se hiperglicêmicos e hiperlipidêmicos (Nagata et al., 2006). Em nosso trabalho, o aumento na concentração de glicose no grupo MSG foi de 95%. Esta hiperglicemia foi reduzida em 65 % pelo EH 1,0 g/Kg (Figura 6). Porém, no estudo realizado por Adeneye e Agbaje (2007), o extrato aquoso de *Cymbopogon citratus* apresentou atividade hipoglicemiante dependente de dose, em ratos não obesos, após 42 dias de tratamento. Uma das diferenças entre os dois estudos é o tipo de extrato de *C. citratus* que foi empregado, o que pode determinar tanto a quantidade, quanto a qualidade de princípios ativos

(Elujoba, 1989) que possam ser responsáveis pela redução da glicemia. Outro fato é que empregamos um modelo obeso hiperglicêmico, cujo aumento da glicose sanguínea é decorrente a alterações no metabolismo de carboidratos (Olney, 1969; Holzwarth-McBride *et al.*, 1976; Nagata *et al.*, 2006), o que pode ter sido determinante para a ação hipoglicemiante do EH ter ocorrido somente em alta dose (Figura 6).

Além disso, outros estudos como de Leite *et al.* (1986) demonstraram que o chá das folhas secas de *Cymbopogon citratus* não alterou os padrões glicêmicos de pacientes diabéticos.

No experimento crônico, os animais MSG apresentaram aumento na concentração de colesterol total e triglicerídeo (Figuras 7 e 9). Os animais MSG têm redução dos níveis do hormônio do crescimento (GH) (Bakke *et al.*, 1978), o que é considerado o principal fator responsável pela obesidade nos ratos MSG. O GH é um hormônio calorífero, que normalmente produz lipólise e anabolismo, assim, sua deficiência na fase adulta, acarreta falha da 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 (Remke *et al.*, 1988). A administração oral do EH, durante 60 dias de tratamento, normalizou os valores de colesterol total (figura 7) que apresentaram-se aumentados nos animais obesos. Além disso, o EH aumentou o HDL na menor dose (Figuras 8), entretanto, não alterou as concentrações de triglicerídeos (Figura 9).

Alguns estudos relatam os efeitos de plantas sobre o perfil lipídico de animais hiperlipidêmicos. 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. Pari e Latha (2006) observaram que o tratamento de ratos diabéticos, por seis semanas, com o extrato aquoso de *Scoparia dulcis* na dose de 0,2 g/Kg,

reduziu as concentrações de glicose, colesterol e triglicérides. 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 triglicérides em camundongos hiperlipidêmicos. Tais estudos relacionam o mecanismo hipocolesterolêmico das plantas à inibição da HMG-CoA redutase, enzima chave na cadeia de síntese do colesterol, principalmente pela ação dos flavonóides presentes em seus extratos (Havsteen, 2002; Oliveira et al, 2002).

Outros estudos relacionam, ainda, 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).

Diversos outros mecanismos de ação têm sido atribuídos aos flavonóides para explicar seus efeitos no metabolismo lipídico. Um destes envolve suas ações no aumento da excreção de sais biliares nas fezes, e outro abrange a capacidade de elevar a atividade do sistema microsomal hepático, conseqüentemente aumentando o metabolismo lipídico (MacDonald et al., 1983). Kirk et al. (1998) sugerem que o aumento da atividade dos receptores de LDL, induzido pelos flavonóides, seja um dos responsáveis pela redução dos níveis de colesterol.

Entre os principais constituintes químicos de *Cymbopogon citratus* encontram-se flavonóides (Dematouschek e Sathlbiskup, 1991) e alcalóides (D'Mello et al, 1991; Sousa et al., 1991) aos quais os estudos têm atribuído ações hipoglicemiantes e hipolipidêmicas (Oladele et al., 1995; Bierer et al., 1998; Koshy e Vijayslakshmi et al., 2001; Havsteen, 2002; Oliveira et al, 2002) e antioxidante (Cheel et al, 2005).

A análise fitoquímica qualitativa realizada com o EH de *Cymbopogon citratus* comprovou a presença de flavonóides (dados não apresentados), permitindo sugerir que os efeitos hipoglicemiante e hipolipidêmico do EH observados neste estudo devem ser devido à presença desta classe de substância ativa.

A atividade hipocolesterolêmica do EH aliada à elevação da concentração do HDL, após o tratamento agudo e crônico, pode ser de grande importância na prevenção da formação de placas de ateroma, pois o HDL exerce um efeito protetor com enzimas antioxidantes que podem prevenir alguma reação inflamatória inicial no vaso sanguíneo, apresentando, assim, um papel fundamental no controle de doenças cardíacas (Libby, 2001). Isso sugere que a redução dos triglicerídeos (Figura 2), no modelo de hiperlipidemia, colesterol nos modelos de obesidade e hiperlipidemias e o aumento dos níveis de HDL produzido pelo EH de *C. citratus*, pode estar relacionado a uma possível atividade antiaterogênica.

Considerando os relatos na literatura em que o glutamato monossódico (MSG) induz a hepatotoxicidade, foi avaliado o efeito do EH nas transaminases séricas. Segundo Nakanishi et al. (2008) o glutamato monossódico (MSG) provoca alterações inflamatórias no fígado. Estudos realizados por Onyema et al. (2006) demonstrou que o uso oral de MSG, durante dez dias, eleva, de forma significativa, as concentrações séricas de alanina aminotransferase (ALT), asparatato aminotransferase (AST) e gama glutamiltransferase (GGT). As análises destas enzimas são importantes indicadores de lesões nas células hepáticas (Martin et al., 1981). Uma droga não provoca dano algum no fígado sem interferir com a atividade normal dessas enzimas (Vijayalakshmi et al., 2000).

Neste trabalho foi observado que o tratamento crônico com o EH normalizou as concentrações séricas de AST e ALT que apresentaram-se aumentadas nos animais obesos – MSG, sugerindo um efeito hepatoprotetor do extrato de *Cymbopogon citratus*. Além desses parâmetros, o EH promoveu normalização da concentração das proteínas totais, também alteradas pela obesidade (Tabela 1).

Em relação à avaliação da função renal, observou-se que os valores de creatinina que apresentaram-se aumentados no grupo obeso foram reduzidos pelo EH nas duas doses utilizadas (Tabela 1).

As estatinas e os fibratos têm sido amplamente empregados no tratamento de dislipidemias, embora o uso prolongado esteja associado a efeitos adversos como miosite, rabdomiólise, distúrbios digestivos, alterações hepáticas e renais (Schulz, 2006). Estudos realizados por Hoivik et al. (2004) demonstraram que o tratamento com ciprofibrato em primatas, durante o período de duas semanas, provocou hipertrofia hepática. De maneira semelhante, Xie et al. (2007) demonstraram que o tratamento por dois meses com fenofibrato, em camundongos, também levou ao aumento do fígado e Broeders et al. (2000) verificaram que pacientes com disfunção renal, desenvolvida por fibratos, apresentaram aumento de 40% nos níveis de creatinina.

Diante dos efeitos adversos dos principais fármacos utilizados para o tratamento de hiperlipidemias e obesidade, o que leva à dificuldade na manutenção da terapia por tempo prolongado (Vanegas e Jaramillo, 2008) e dos efeitos benéficos apresentados pelo EH em parâmetros de avaliação hepática e renal ressalta-se a grande relevância dos resultados obtidos com o EH de *Cymbopogon citratus*. Além de apresentar efeito hipolipemiante quando administrado de forma aguda ou crônica e não induzir ao aparecimento de sinais e sintomas de toxicidade, o EH também demonstrou efeito renal e hepatoprotetor. Desta forma, os resultados obtidos sugerem que a espécie vegetal *Cymbopogon citraus* apresenta grande potencial terapêutico nos casos de desordens metabólicas como a hiperlipidemia e obesidade.

Outros estudos como a análise histopatológica dos órgãos viscerais e dosagens séricas hormonais estão sendo realizadas para complementar os resultados obtidos.

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.

Referências

- Adeneye, A. A., Agbaje, E. O., 2007. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of fresh leaf aqueous extract of *Cymbopogon citratus* Stapf. in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 112, 440-444.
- Allain, C. C., Poon, L. S., Chan, C. S., Richmond, W., Fu, P. C., 1974. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clinical Chemistry* 20(4), 470-475.
- Badimon J. J., Fuster, V., Chesebro, J. H., Badimon L., 1993. Coronary atherosclerosis: a multifactorial disease. *Circulation* 87(3Suppl), II3-16.
- 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.
- 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.
- Bhatnagar D., 1998. Lipid-lowering drugs in the management of hyperlipidaemia. *Pharmacology and Therapeutics*, 79(3), 205-230.
- Bouchard, C., 2003. *Atividade física e obesidade*, Manole, São Paulo.
- Bierer, D. E., Dubenko, L. G., Zhang, P., Lu, Q., Imbach, P. A., Garofalo, A. W., Phuan, P., Fort, D. M., Litvak, J., Gerber, R. E., Sloan, B., Luo, J., Cooper, R., Reaven, G. M., 1998. Antihyperglycemic activities of cryptolepine analogues: an ethnobotanical lead structure isolated from *Cryptolepis sanguinolenta*. *Journal of Medicinal Chemistry*, 41(15), 2754-2764.
- Broeders N, Knoop C, Antoine M, Tielemans C, Abramowicz D., 2000. Fibrate-induced increase in blood urea and creatinine: is gemfibrozil the only innocuous agent? *Nephrol Dial Transplant*, 15, 1993-9.

- Bruneton, J., 1993. *Phytochimie et plantes medicinales*, Lavoisier, Paris.
- Bucolo, G., David, H., 1973. Quantitative determination of serum triglycerides by the use of enzymes. *Clinical Chemistry*, 19(5), 476-482.
- Carbajal, D., Casaco, A., Arruzazabala, L., Gonzalez, R., Tolon, T., 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.
- Dallongeville, J., Marécaux, N., Ducimetière, P., Ferrières, J., Arveiler, D., Bingham, A., Ruidavets, J.B., Simon, C., Amouyel, P., 1998. Influence of alcohol consumption and various beverages on waist girth and waist-to-hip ratio in a sample of French men and women. *International Journal of obesity*, 22(12), 1178-1183.
- Dematouschek, B. V., Sathlbiskup, E., 1991. Phytochemical analysis of non volatile compounds from *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (Poaceae). *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, 66, 242-245.
- D'Mello, J. P. F., Duffus, C. M., Duffus, J. H., 1991. *Toxic substances in crop plants*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, p. 323.
- 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.
- Eizerik, D. P., Manfroi, W. C., 2008. Eficácia da atenção farmacêutica em dislipidemia: revisão sistemática. *Revista do HCPA*, 28, 37-40.
- Elujoba, A. A., Ajulo, O. O., Iweibe, G. O., 1989. Chemical and biological analysis of Nigerian Cassia species for laxative activity. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 7(12), 1457-1457.
- Formigoni, M. L. O. S., Lodder H. 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.

Flatt, J. P., 1995. Use and storage of carbohydrate and fat. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 61, 952-959.

Fuster V., 1994. Lewis. A conner memorial lecture: mechanisms leading to myocardial infarction: insights from studies of vascular biology. *Circulation*, 90(4), 2126-2146.

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.

Goodman e Gilman., 2006. *The pharmacological basis of therapeutics*. Mc Graw Hill, USA.

Havsteen, B. H., 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*, 96, 67-202.

Hoivik, D. J., Qualls, C. W., Mirabile, R. C., Cariello, N. F., Colton, H. M., Anderson, S. P., Santosteffano, M. J., Ott Morgan, R. J., Dahl, R. R., Brown, A. R., 2004. Fibrates induce hepatic peroxisome and mitochondrial proliferation without overt evidence for cellular proliferation and oxidative stress in cynomolgus monkeys. *Carcinogenesis* 25, 1757-1769.

Holzwarth-Mcbride, M. A., Hurst, E. M., Knigge K. M., 1976. Monosodium glutamate induced lesions of the arcuate nucleus. I. Endocrine deficiency and ultrastructure of the median eminence. *The Anatomical Record*, 186(2), 185-205.

Jahn, A. I., Günzel, P. K. H., 1997. The value of spermatology in male reproductive toxicology: do spermatologic examinations in fertility studies provide new and additional information relevant for safety assessment?. *Reproductive Toxicology*, 11(2-3), 171-178.

Jahromi, M. A. F., Ray, A. B., 1993. Antiherlipidemic effect of flavonoids from *Pterocarpus marsupium*. *Journal of Natural Products*, 56(7), 989-994.

Kirk, A. E., Sutherland, P., Wang, S. A., Chat, A., Lebouef, R. C., 1998. Dietary isoflavones reduce plasma cholesterol and atherosclerosis in C57 Bl/6mice but not LDL receptor-deficient mice. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v.128, n.4, p. 954-959.

Koshy, A. S., Vijayalakshmi, N. R., 2001. Impact of certain flavonoids on lipid profiles - potential action of *Garcinia cambogia* flavonoids. *Phytotherapy Research*, 15(5), 395-400.

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

Larini, L., 1997. *Toxicologia*, Manole, São Paulo.

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, hypnotic and anxiolytic effects on humans. *Journal of Ethnopharmacology*, 17 (1), 75-83.

- Levine, S., Saltzman, A., 2007. A procedure for inducing sustained hyperlipemia in rats by administration of a surfactant. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 55(2), 224-226.
- Libby, M. D. P., 2001. Managing the risk of atherosclerosis: the role of high-density lipoprotein. *The American Journal of Cardiology*, 88 (12A), 3N-8N.
- MacDonald, I. A., Mader, J. A., Bussard, R. G., 1983. The role of rutin and quercetin in stimulating flavonol glycosidase by cultured cell-free microbial preparation of human feces and saliva. *Mutation Research*, Amsterdam, v.122, n.34, p.95-102.
- Malone, M. H., 1997. Pharmacological approaches to natural product screening and evaluation. In: H. Wagner and P. Woulff (Eds.), *New natural products and plant drugs with pharmacological, biological or therapeutical activity*, Springer Verlag, Berlin, pp. 23-53.
- Martin D. W., Mayes P. A., Rodwell Y. W. 1981. In: *HARPER'S Review of Biochemistry*, Lange Medical, California.
- Mathur, K. S., Singhal, S. S., Sharma, R. D., 1964. Effect of Bengal Gram on experimentally induced high levels of cholesterol in tissues and serum in Albino Rats. *Journal of Nutrition*, 84(8), 201-204.
- Mendonça Filho, R. F. W., Menezes, F. S., 2003. Estudo da utilização de plantas medicinais pela população da Ilha grande – RJ. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 13, 55-58.
- Moraes, C., Camargo, E. A., Antunes, E., Nucci, G., Zanescio, A., 2007. Reactivity of mesenteric and aortic rings from trained rats fed with high caloric diet. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 147, 788–792.
- 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.
- Nagem, T. J., Albuquerque, T. T. O, Miranda, L. C. G., Pereira, C. A S., 1994. Efeito de flavonóides sobre lipídeos em ratos e sobre enzimas metabolizadoras de drogas. *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, 37(3), 471-482.
- Nagem, T. J., Oliveira, T. T., Silva, M. C., Miranda, L. C. G., 1995. Efeitos de derivados flavonoídicos sobre lipídeos em ratos. *Arquivos de Biologia e Tecnologia*, 38(3), 859-868.
- 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.
- Oga, S., 2003. *Fundamentos de toxicologia*. Atheneu, São Paulo.

Ohno, T., Kita, M., Yamaoka, Y., Imamura, S., Yamamoto, T., Mitsufuji, S., Kodama, T., Kashima, K., Imanishi, J., 2003. Antimicrobial activity of essential oils against *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*, 8, 207-215.

Oladele, S. B., Ayo, J. O., Auda, A. O., 1995. Medicinal and physiological properties of flavonoids, coumarin derivatives and anthraquinones of plant origin. *West African Journal of Pharmacology and Drug Research* 11, 134–144.

Oliveira T. T., Gomes S. M., Nagem T. J., Costa N. M. B., Secom P. R., 2002. Efeito de diferentes doses de flavonóides em ratos hiperlipidêmicos. *Revista de Nutrição de Campinas*. 15(1), 45-51.

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

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.

Pari L., Latha M., 2006. Antihyperlipidemic Effect of *Scoparia dulcis* (Sweet Broomweed) in Streptozotocin Diabetic Rats. *Journal of Medicinal Food*, 9(1), 102-107.

Perez, C., Canal, J. R., Romero, A., Torres, M. D., 1999. Experimental hypertriglyceridaemia and hypercholesterolaemia in rats. *Acta Physiologica Hungarica*, 86, 57–68.

Rang, H. P., Dale, M. M., Ritter, J. M., 2005. *Farmacologia*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.

Rates, S. M. K., 2001. Promoção do uso racional de fitoterápicos: uma abordagem no ensino de Farmacognosia. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 11(2), 57-69.

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

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.

Schulz, I., 2006. Tratamento das Dislipidemias – Como e Quando Indicar a Combinação de Medicamentos Hipolipemiantes. *Arquivo Brasileiro Endocrinologia & Metabologia*, 50(2).

Silva, R. M., Santos, F. A., Maciel, M. A., Pinto, A. C., Rao, V. S., 2001 Effect of trans-Dehydrocrotonin, a 19-Nor-Clerodane Diterpene from *Croton cajucara* on Experimental Hypertriglyceridaemia and Hypercholesterolaemia Induced by Triton WR 1339 (Tyloxapol) in Mice. *Planta Medica*, 67, 763–765.

Silva, P. B., Aguilar, L. H., Medeiros, C. F., 2000. O papel do professor na produção de medicamentos fitoterápicos. *Química Nova na Escola*, 11, 19-23.

Simões, C. M. O., Mentz, L. A., Schenkel, E. P., Irgang, B. E., Stehmann, J. R., 1989. Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 40-41.

Singi, G., Damasceno, D. D., D'Andréa, E. D. D., Silva, G. A., 2005. Efeitos agudos dos extratos hidroalcoólicos 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.

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.

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

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.

Witztum, J. L., Steinberg, D., 1997. As hiperlipoproteinemias. In: Bennett, J. C., Plum, F. Cecil: tratado de medicina interna. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, pp.1199.

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.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A avaliação farmacológica pré-clínica da espécie vegetal *Cymbopogon citratus* foi realizada com o objetivo de se evidenciar o efeito do extrato hidroalcoólico (EH) da planta na hiperlipidemia aguda e obesidade induzidas experimentalmente.

Os resultados obtidos neste trabalho indicam que o extrato hidroalcoólico (EH) de *Cymbopogon citratus* apresenta princípios ativos que induzem hipolipidemia e hipoglicemia nestes modelos animais. Além disso, mostrou que nas doses utilizadas o EH não apresentou toxicidade e ainda é protetor hepático e renal em animais obesos. Porém, apesar do EH não ter demonstrado alterações de toxicidade, estudos histopatológicos estão sendo realizados, bem como outras dosagens bioquímicas importantes (insulina, leptina, cortisol, LDL), que venham contribuir para complementar o presente trabalho.

No entanto, é evidente a grande importância das ações hipolipidêmicas e hipoglicêmicas do EH, visto que os tratamentos convencionais nem sempre são acessíveis a inúmeras pessoas que sofrem de diabetes e dislipidemias e os medicamentos utilizados apresentam importantes efeitos colaterais quando administrados em terapia prolongada. Portanto, o uso de fitoterápicos das folhas de *C. citratus* é uma alternativa segura e mais acessível à população no combate a essas alterações metabólicas.

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 aqueous extract of *Cymbopogon citratus* Stapf in rats. **Journal of Ethnopharmacology.** v. 112, p. 440-444, 2007.

BADIMON, J. J.; FUSTER, V.; CHEREBRO, J. H. Coronary atherosclerosis: a multifactorial disease. **Circulation**, v. 87, suppl II:II3-16, 1993.

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

BERNAL-PACHECO, O.; ROMÁN, G. C.; Environmental Vascular Risk Factors: New perspectives for stroke prevention. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 262, p. 60-70, 2007.

BOUCHARD, C. **Atividade física e obesidade.** São Paulo: Manole, 2003.

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.

CRIQUI, M. H. Epidemiologia da doença cardiovascular. In: Goldman, L.; Ausiello, D. **Cecil Tratado de medicina Interna**. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 290-294, 2005.

CRUZ, H. N. B. *et al.* Efeito Hipotensor do Extrato Hidroalcoólico das Folhas de *Lippia Alba* (Miller) N. E. Brown e de *Cymbopogon Citratus* D. C. Stapf. In: **Anais da Federação de Sociedades de Biologia Experimental**, 2005.

DAÍ, S.; MCNEILL, J. H. Fructose-induced hypertension in rats is concentration-and duration-dependent. **J Pharmacol Toxicol Methods**. v. 33, p. 101-107, 1995.

DANLLOGEVILLE, J. *et al.* Influence of alcohol consumption and various beverages on waist girth and waist-to-hip ratio in a sample of French men and women. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders**. v. 22, p. 1178-1183, 1998.

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.

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

FUSTER V. Mechanisms leading to myocardial infarction: insights from studies of vascular biology. **Circulation**. v. 90, p. 2126-46, 1994.

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.

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

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.

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.

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

JAHROMI, M. A. F.; RAY, A. B. Antiherlipidemic effect of flavonoids from *Pterocarpus marsupium*. **Journal of Natural Products**, v. 56, n. 7, p. 989-994, 1993.

KAIN, J.; VIO, F.; ALBALA, C. Obesity trends and determinant factors in Latin America. **Caderno de Saúde Pública**, v. 19, Suppl.1, p. 557-586, 2003.

KANITZ, M. G. *et al.* Myocardial infarction in young adults: risk factors and clinical features. **J Emerg Med**. v. 14, p. 139-145, 1996.

KATAKAM, P. V. *et al.* Endothelial dysfunction precedes hypertension in diet-induced insulin resistance. **Am J Physiol**. v. 275, p. 788-792, 1998.

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

KELLEY, G. L.; ALLAN, G.; AZHAR, S. High dietary fructose induces a hepatic stress response resulting in cholesterol and lipid dysregulation. **Endocrinology**. v. 145, p. 548-55, 2004.

LAMEU, E. **Clinica nutricional**. v.1, Rio de Janeiro: Revinter, 2005.

LEVI, F. *et al.* Trends in mortality from cardiovascular and cerebrovascular diseases in Europe and other areas of the world. **Heart**. v. 88, p. 119-24, 2002.

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.

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.

MARTINS, A. C. P. *et al.* Monosodium L-glutamate – induced obesity impaired the adrenal medullae activity. **Neuroscience Research Communications.** v. 28, p. 49-58, 2001.

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. Farmácias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades. 2ed. Fortaleza: **EUFC**, 1994.

MELO, F. A. B. *et al.* Levantamento do Uso Fitoterápico do Capim-Santo (*Cymbopogon citratus* Stapf.) por Comunidades do Município de Guaraciaba do Norte, CE. **Anais da 57ª Reunião Anual da SBPC Fortaleza, CE**, 2005.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Inquérito domiciliar sobre comportamentos de risco e morbidade referida de doenças e agravos não-transmissíveis.** Brasil, 2003.

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.

MORAES, C. *et al.* Reactivity of mesenteric and aortic rings from trained rats fed with high caloric diet. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 147, 788–792, 2007.

NAGEM, T. J. *et al.* Efeito de flavonóides sobre lipídeos em ratos e sobre enzimas metabolizadoras de drogas. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v. 37, p. 471-482, 1994.

NAGEM, T. J. *et al.* Efeitos de derivados flavonoídicos sobre lipídeos em ratos. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v. 38, p. 859-868, 1995.

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.

NICHOLLS, E. S.; PERUGA, A.; RESTREPO, H. E. Cardiovascular disease mortality in the Americas. **World Health Stat Q.** v. 46, p. 134-50, 1993.

OGDEN, C. L.; CARROLL, M. D.; FLEGAL, K. M. Epidemiologic trends in overweight and obesity. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, Philadelphia, v. 32, p. 741-60, 2003.

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

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.

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

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

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.

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

SILVA R. M. *et al.* Effect of trans-dehydrocrotonin, a 19-nor-clerodane diterpene from *Croton cajucara* on experimental hypertriglyceridaemia and hypercholesterolaemia induced by Triton WR 1339 (tyloxapol) in mice. **Planta Med**. v. 67, p. 763–765, 2001.

SINGI, D. D. *et al.* Efeitos agudos dos extratos hidroalcoólicos 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 clearance in rats. **Neuroendocrinology**. v. 67, p. 412-420, 1998.

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.

VALIENTE, S. *et al.* Patologia nutricional en America Latina e Caribe. **Arch Latinoam Nutr**. v. 38, p. 15-19, 1988.

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

WITZTUM, J. L.; STEINBERG, D. As Hiperlipoproteinemias. IN: WYNGAARDEN, J. B.; SMITH, J. R. L. H. **CECIL: Tratado de medicina interna**. 20 ed. Rio de Janeiro; Guanabara Koogan, p.1199, 1997.

WYATT, S. B.; WINTERS, K. P.; DUBBERT, P. M. Overweight and obesity: prevalence, consequences, and causes of a growing public health problem. **Am J Med Sci**. v. 331, p. 166 – 174, 2006.

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 – Tabelas

Tabela 2 – Efeito da administração oral do EH de *C. citratus* (0,5 e 1,0 g/Kg) e ciprofibrato no perfil lipídico de ratos hiperlipidêmicos após 24, 48 e 72 h da indução por triton.

Tempo horas	Grupos	Colesterol total (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)	HDL (mg/dL)
24	Salina	90,1 ± 3,56	133,5 ± 13,17	59,5 ± 2,68
	Tri + Sal	495,8 ± 9,52	4279 ± 388,90	37,0 ± 0,37
	Tri + EH 0,5 g/Kg	401,3 ± 8,99 **	3537 ± 371,50	28,2 ± 2,49 **
	Tri + EH 1,0 g/Kg	335,2 ± 27,81 ***	4333 ± 297,80	24,8 ± 2,28 ***
	Tri + Cipro	337,5 ± 30,16 ***	3146 ± 277,30 *	16,0 ± 1,18 ***
48	Salina	103,5 ± 4,16	88,8 ± 13,30	76,8 ± 1,55
	Tri + Sal	374,5 ± 6,07	2173 ± 73,70	18,5 ± 1,06
	Tri + EH 0,5 g/Kg	159,3 ± 17,90 ***	1249 ± 99,10 ***	25,5 ± 1,40 **
	Tri + EH 1,0 g/Kg	206,8 ± 15,70 ***	1493 ± 219,9 ***	27,7 ± 1,87 **
	Tri + Cipro	284,7 ± 20,08 ***	1180 ± 82,80 ***	20,6 ± 0,88
72	Salina	116 ± 5,88	50,2 ± 3,1	71,0 ± 2,70
	Tri + Sal	44,2 ± 3,60	71,0 ± 3,23	32,5 ± 3,17
	Tri + EH 0,5 g/Kg	56,8 ± 3,56	69,2 ± 5,35	40,8 ± 1,51 **
	Tri + EH 1,0 g/Kg	58,2 ± 4,83	70,0 ± 6,92	30,3 ± 1,52
	Tri + Cipro	58,7 ± 5,95	51,0 ± 3,14 *	19,8 ± 0,47 ***

Valores expressos como média ± e.p.m das médias, *p < 0,05, **p < 0,01 e ***p < 0,001 representam diferença estatística em relação ao grupo Tri + Sal (ANOVA Newman Keuls).

Tabela 3 – Efeito da administração oral crônica (60 dias) do EH de *C. citratus* (0,5 e 1,0 g/Kg) sobre a glicose e o lipidograma de ratos obesos induzidos por MSG.

Parâmetros	Salina	MSG + Sal	MSG + EH 0,5 g/Kg	MSG + EH 1,0 g/Kg
Glicose	71,5 ± 24,5	139,7 ± 1,40	120,8 ± 22,9	49,00 ± 6,00 *
Colesterol	51,0 ± 5,00	125,9 ± 8,90	58,40 ± 2,20 ***	44,30 ± 2,00 ***
Triglicerídeos	60,0 ± 7,00	124,7 ± 7,30	99,40 ± 18,5	150,0 ± 9,10
HDL	43,0 ± 7,00	42,30 ± 0,90	52,80 ± 2,90 *	33,00 ± 1,50

Valores expressos com média ± e.p.m. *p < 0,05, **p < 0,01 e ***p < 0,001 representam diferença estatística em relação ao grupo MSG + Sal (ANOVA – Newman Keuls).

Tabela 4 – Efeito da administração oral crônica (60 dias) do EH de *C. citratus* (0,5 e 1,0 g/Kg) sobre os parâmetros hematológicos de ratos obesos induzidos por MSG.

Parâmetros	Salina	MSG + Sal	MSG + EH 0,5g/Kg	MSG + EH 1,0g/Kg
Eritrócitos ($10^6/\text{mm}^3$)	7,580 \pm 0,15	7,480 \pm 0,30	7,450 \pm 0,23	8,070 \pm 0,23
Hemoglobina (g/dL)	13,83 \pm 0,32	13,49 \pm 1,06	14,06 \pm 0,42	14,67 \pm 0,15
Hematócrito (%)	37,60 \pm 1,91	40,56 \pm 1,24	37,24 \pm 1,25	40,80 \pm 0,58
Plaquetas	575,0 \pm 36,3	625,7 \pm 40,91	484,5 \pm 41,52	493,3 \pm 50,19
Leucócitos ($10^3/\text{mm}^3$)	8,430 \pm 1,45	6,120 \pm 0,50	8,360 \pm 0,70	7,430 \pm 1,48
Neutrófilos	13,53 \pm 1,89	23,09 \pm 2,50	22,44 \pm 4,43	17,43 \pm 0,70
Linfócitos	68,89 \pm 5,69	73,13 \pm 2,77	59,23 \pm 3,67	59,57 \pm 1,29
Eosinófilos	1,845 \pm 0,58	1,230 \pm 0,24	1,600 \pm 0,28	2,000 \pm 0,40
Basófilos	0,340 \pm 0,06	0,290 \pm 0,09	0,240 \pm 0,07	0,570 \pm 0,03

Valores expressos com média \pm e.p.m das médias, ANOVA – Newman Keuls.

APÊNDICE B – Figuras

Figura 10 – Foto representativa de *Cymbopogon citratus*. Fonte: Herbário Ático Seabra da Universidade Federal do Maranhão – UFMA

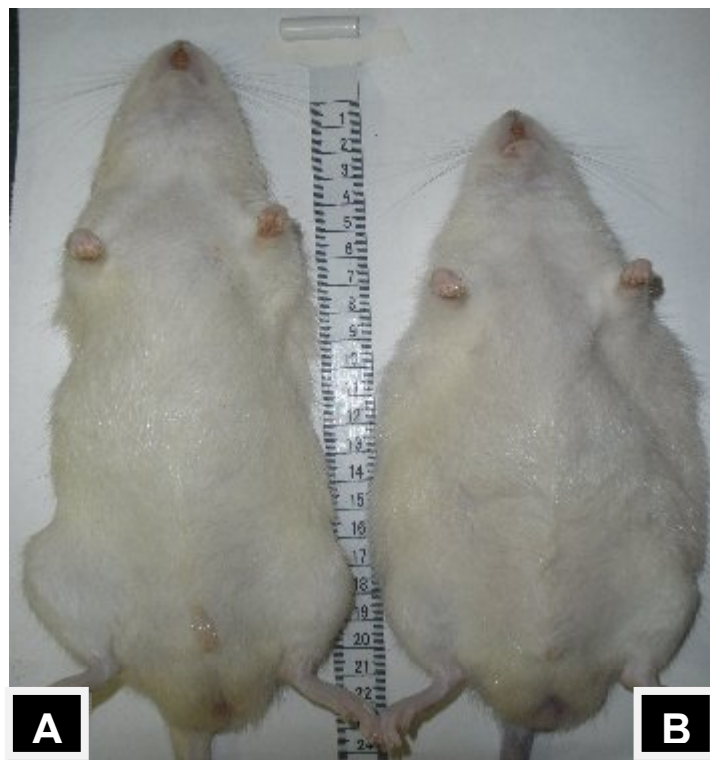


Figura 11 – Foto representativa do rato normal (A) e obeso – MSG (B).



Figura 12 – Foto representativa das gorduras retroperitoneal e perigonadal do rato normal (A) e obeso induzido por MSG (B).

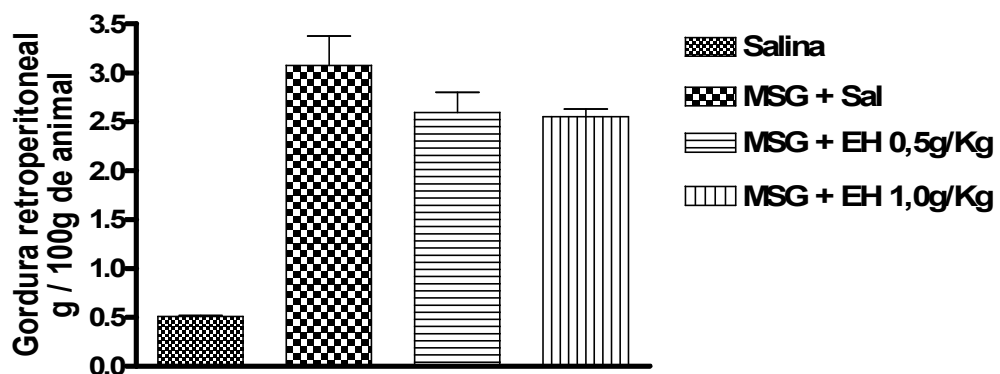


Figura 13 – Efeito da administração oral crônica (60 dias) do EH *C. citratus* (0,5 e 1,0 g/Kg) sobre agordura retroperitoneal de ratos obesos induzidos por MSG.

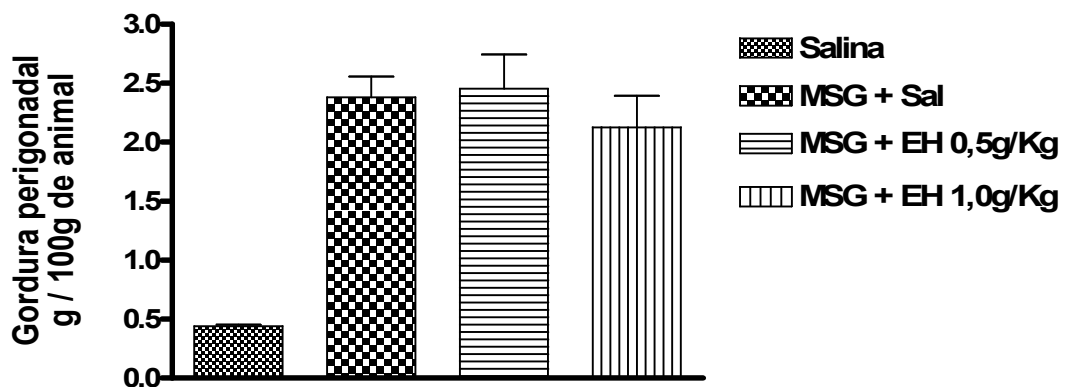


Figura 14 – Efeito da administração oral crônica (60 dias) do EH *C. citratus* (0,5 e 1,0 g/Kg) sobre agordura perigonadal de ratos obesos induzidos por MSG.

ANEXO B - 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.S.A. 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 at <http://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 sent 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](#)