

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta tese  
será disponibilizado somente a partir  
de 26/10/2020.



**unesp**

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"Júlio de Mesquita Filho"

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

MAPEAMENTO MULTIELEMENTAR DE ÚLCERAS INDUZIDAS

UTILIZANDO FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X

**LETICIA DINIZ VIEIRA**

**PROF. DR. JOEL MESA HORMAZA**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Doutora no Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de concentração *Biologia de Processos e Sistemas*.

**BOTUCATU – SP  
2018**

Instituto de Biociências - Seção Técnica de Pós-Graduação  
Distrito de Rubião Júnior s/n CEP 18618-970 Cx Postal 510 Botucatu-SP Brasil  
Tel (14) 3880-0780 posgraduacao@ibb.unesp.br

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Vieira, Letícia Diniz.

Mapeamento multielementar de úlceras induzidas utilizando fluorescência de raios X / Letícia Diniz Vieira. - Botucatu, 2018.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Joel Mesa Hormaza

Capes: 10507167

1. Úlcera gástrica - Tratamento. 2. Plantas medicinais. 3. Extratos vegetais. 4. Radiação sincrotrônica. 5. Fluorescência de raios X. 6. Elementos químicos.

Palavras-chave: extratos vegetais; luz síncroton; mapeamento multielementar; úlcera gástrica;  $\mu$ XRF.

Aos meus pais, Luiz Otávio e Juliana,  
e à minha irmã, Marília.

## **Agradecimentos**

A Deus, pela persistência.

Aos meus pais, Juliana e Luiz Otávio, e minha irmã, Marília, pela permanente torcida e incontestáveis incentivo e apoio. E ao meu irmão, Guto, que também faz parte de tudo. Amo vocês!

À minha avó, tios, padrinhos, primos e amigos, pelo carinho de sempre.

Às “mulheres ricas”, Luana e Jéssica, por me receberem de laje e portas abertas e por todo companheirismo nesses anos. Jéssica, sua ajuda com o inglês foi sensacional!

À Lívia, por toda amizade a qualquer momento e para qualquer coisa, de almoços duplos à consultoria de estatística.

A Emanuel, por sempre escutar e embarcar nos meus devaneios, compartilhar mil e uma ideias e me ensinar de tudo um pouco.

A Marcelo, por toda parceria e irmandade no trabalho e nos rolês.

À Luana, Camélia (Nelson e João), Elisângela (Renan e Sophia), Anna (Murilo) e Mariana (Rafael), minha segunda família, pelos ótimos momentos juntos.

À Natália, pela república, amizade e roladas.

Aos professores, aos funcionários e à galera do Departamento de Física e Biofísica, Natália, Andrea, Tahila, Rodrigo, Fabio, Guilherme e Paula, Rafael B., Luis Augusto e Patricia, Carlos F., Thiago, Rafael S., Antoniel, Carlos N. e Edson, por toda ajuda, café e almoço compartilhados. A Guilherme e Káthia, por toda ajuda, mesmo não estando mais lá agora.

A Marcelo, Vicente, Ana Lucia, Leticia, Luana, Danisley, Fabio, Gustavo, Maria Fernanda, Rubens, Ariadne, Bruno, Willian e Silas, por fazerem o trabalho ficar mais leve e divertido. À direção, coordenação, administração e docentes da Fatec Botucatu, por todo apoio na finalização deste trabalho.

A todos os meus alunos, por me fazerem aprender cada dia mais.

À Dra. Clélia A. Hiruma-Lima, Dr. Hélio Kushima (Laboratório de Ensaios Biológicos com Produtos Naturais - IBB/UNESP) e Dr. Carlos A. Perez (LNLS/CNPq), por todo o suporte no preparo e medida das amostras.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pelo suporte financeiro.

E ao professor Joel Mesa, pela paciência, não desistência, ensinamentos e ajuda na orientação e realização deste trabalho.

A todos que, direta ou indiretamente, fizeram parte deste trabalho, o meu ‘muito obrigada’!!!

*“A ciência progride de duas maneiras: adicionando fatos novos e simplificando os existentes...”*

Claude Bernard

## Resumo

A úlcera péptica é provocada pelo desequilíbrio entre fatores lesivos e protetores das mucosas gástrica e duodenal, em consequência a fatores endógenos ou exógenos aos tecidos. Para seu tratamento, algumas plantas são popularmente empregadas e demonstram eficácia semelhante ou superior aos fármacos geralmente utilizados, ocasionando menores efeitos adversos. Apesar de várias pesquisas na área, a compreensão do mecanismo gastroprotetor dos compostos fitoterápicos ainda não é completa. Assim, com o objetivo de contribuir para a compreensão da ação farmacológica dos extratos de três plantas medicinais (*Alchornea glandulosa*, *Davilla elliptica* e *Davilla nitida*), foi realizada uma análise da distribuição elementar dos constituintes das amostras de mucosas gástricas de ratos tratados com os extratos vegetais e que tiveram úlceras gástricas induzidas por álcool ou por droga anti-inflamatória não-esteroidal (DAINE). O experimento foi realizado no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS) e permitiu a análise dos elementos Cl, Ca, Mn, Fe, Cu e Zn que contem relação com a formação ou neutralização das úlceras. De acordo com os mapas da distribuição dos elementos, foi possível detectar alta concentração de Fe, Cu e Zn no interior da lesão das amostras de úlcera induzida por DAINÉ, e de Cu, Zn e Cl no interior da lesão das amostras induzidas por álcool. Nas amostras de úlcera induzida por DAINÉ e tratadas com *Alchornea glandulosa*, as concentrações de Ca, Cu e Fe aumentaram. Nas amostras de úlcera induzida por DAINÉ tratadas com *Davilla elliptica* e *Davilla nitida*, as concentrações de Ca, Mn e Zn foram aumentadas. Nas amostras de úlcera induzida por álcool tratadas com *Alchornea glandulosa*, as concentrações de todos os elementos analisados foram elevadas. Nas amostras tratadas com *Davilla elliptica*, as concentrações dos elementos Cu e Mn diminuiram. E nas tratadas com *Davilla nitida*, somente a concentração de Mn não foi elevada. Estas variações podem indicar um favorecimento do deslocamento desses elementos pelo mecanismo gastroprotetor estimulado pelos extratos utilizados. De acordo com a análise de agrupamento, pode-se sugerir também que os extratos, utilizados como tratamento, restauram as correlações elementares às ocorridas no tecido sem úlcera induzida, auxiliando em suas ações gastroprotetoras.

**Palavras-chave:** mapeamento multielementar, extratos vegetais, úlcera gástrica,  $\mu$ XRF, luz síncrotron

## Abstract

The peptic ulcer is caused by the imbalance between harmful and protective factors of the gastric and duodenal mucosa, as a consequence of factors endogenous or exogenous to the tissues. For its treatment, some plants are popularly employed and demonstrate efficacy akin or superior to the drugs normally used, leading to less adverse effects. Although much research has been conducted in the field, the understanding of the gastroprotective mechanism of phytotherapeutic compounds is still not complete. Therefore, aiming to advance the understanding of the pharmacological action of the extracts of three medicinal plants (*Alchornea glandulosa*, *Davilla elliptica* e *Davilla nitida*), we conducted an analysis of the elemental distribution of constituents within samples of gastric mucosa from rats treated with phytotherapeutic extracts and affected with gastric ulcers induced by alcohol or nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). The experiment was performed at the Brazilian Synchrotron Light Laboratory (LNLS) and allowed for the analysis of the elements Cl, Ca, Mn, Fe, Cu and Zn that are connected to ulcers development or inhibition. According to the elemental distribution maps, it was possible to detect high concentrations of Fe, Cu and Zn inside the lesion from the NSAID-induced ulcer samples, and of Cu, Zn and Cl inside the lesion from the alcohol-induced ulcer samples. In NSAID-induced ulcer samples treated with *Alchornea glandulosa*, Ca, Cu and Fe concentrations were augmented. In NSAID-induced ulcer samples treated with *Davilla elliptica* and *Davilla nitida*, Ca, Mn and Zn concentrations were augmented. In alcohol-induced ulcer samples treated with *Alchornea glandulosa*, the concentrations of all the analyzed elements were augmented. In alcohol-induced ulcer samples treated with *Davilla elliptica*, Cu and Mn concentrations were decreased. In alcohol-induced ulcer samples treated with *Davilla nitida*, only Mn concentrations were not augmented. These variations potentially indicate facilitation of these elements displacement by a gastroprotective mechanism stimulated by used extracts. According to clustering analysis, it can also be suggested that the extracts used as ulcer treatment restore the elements correlations to those occurring in the tissue without induced ulcer, facilitating gastroprotective actions.

**Key-words:** multielemental mapping, plant extracts, gastric ulcers,  $\mu$ XRF, synchrotron radiation



## Lista de Figuras

Figura 1: Úlceras e suas localizações .....	11
Figura 2: <i>Alchornea glandulosa</i> .....	19
Figura 3: <i>Davilla elliptica</i> .....	19
Figura 4: <i>Davilla nitida</i> .....	20
Figura 5: Processos básicos da XRF .....	21
Figura 6: Geometria de excitação-deteção da WDXRF .....	22
Figura 7: Geometria de excitação-deteção da EDXRF e TXRF.....	23
Figura 8: Geometria de excitação-deteção da $\mu$ XRF.....	23
Figura 9: Visão do anel de armazenamento do feixe do LNLS.....	26
Figura 10: Arranjo experimental para excitação e deteção dos raios X .....	28
Figura 11: Espectro de $\mu$ XRF de uma das amostras analisadas .....	30
Figura 12: Imagem de uma amostra de mucosa gástrica sem úlcera induzida (sham) e mapas da distribuição dos elementos Cl, Ca, Mn, Fe, Cu e Zn na amostra. ....	32
Figura 13: Imagem de uma amostra de úlcera gástrica induzida por DAINE (1A) e mapas da distribuição dos elementos Cl, Ca, Mn, Fe, Cu e Zn na amostra.....	33
Figura 14: Imagem de uma amostra de úlcera gástrica induzida por álcool (1B) e mapas da distribuição dos elementos Cl, Ca, Mn, Fe, Cu e Zn na amostra.....	34
Figura 15: Concentração dos elementos em regiões definidas, dentro (D) e fora (F) da lesão, nas amostras sem indução (sham) e com indução de úlcera por DAINE (1A) e por álcool (1B). ....	36
Figura 16: Resultado da análise de agrupamento ( <i>cluster</i> ) hierárquico para grupos sham, 1A (úlceras induzidas por DAINE) e 1B (úlceras induzidas por álcool) com as respectivas associações entre os elementos. ....	37
Figura 17: Imagem de uma amostra de úlcera gástrica induzida por DAINE e tratada com <i>Alchornea glandulosa</i> (2A) e mapas da distribuição dos elementos Cl, Ca, Mn, Fe, Cu e Zn na amostra .....	39
Figura 18: Imagem de uma amostra de úlcera gástrica induzida por DAINE e tratada com <i>Davilla elliptica</i> (3A) e mapas da distribuição dos elementos Cl, Ca, Mn, Fe, Cu e Zn na amostra.....	40
Figura 19: Imagem de uma amostra de úlcera gástrica induzida por DAINE e tratada com <i>Davilla nitida</i> (4A) e mapas da distribuição dos elementos Cl, Ca, Mn, Fe, Cu e Zn na amostra .....	41

Figura 20: Concentração dos elementos em regiões definidas, dentro (D) e fora (F) da lesão, entre as amostras que tiveram úlcera induzida por DAINE (1A) e tratadas com <i>A. glandulosa</i> (2A), <i>D. elliptica</i> (3A) e <i>D. nitida</i> (4A) .....	43
Figura 21: Resultado da análise de agrupamento ( <i>cluster</i> ) hierárquico para grupos de úlceras induzidas por DAINE (1A) e tratadas com <i>A. glandulosa</i> (2A), <i>D. elliptica</i> (3A) e <i>D. nitida</i> (4A).....	45
Figura 22: Imagem de uma amostra de úlcera gástrica induzida por álcool e tratada com <i>Alchornea glandulosa</i> (2B) e mapas da distribuição dos elementos Cl, Ca, Mn, Fe, Cu e Zn na amostra .....	47
Figura 23: Imagem de uma amostra de úlcera gástrica induzida por álcool e tratada com <i>Davilla elliptica</i> (3B) e mapas da distribuição dos elementos Cl, Ca, Mn, Fe, Cu e Zn na amostra.....	48
Figura 24: Imagem de uma amostra de úlcera gástrica induzida por álcool e tratada com <i>Davilla nitida</i> (4B) e mapas da distribuição dos elementos Cl, Ca, Mn, Fe, Cu e Zn na amostra .....	49
Figura 25: Concentração dos elementos em regiões definidas, dentro (D) e fora (F) da lesão, entre as amostras que tiveram úlcera induzida por álcool (1B) e tratadas com <i>A. glandulosa</i> (2B), <i>D. elliptica</i> (3B) e <i>D. nitida</i> (4B).....	51
Figura 26: Resultado da análise de agrupamento ( <i>cluster</i> ) hierárquico para grupos de úlceras induzidas por álcool (1B) e tratadas com <i>A. glandulosa</i> (2B), <i>D. elliptica</i> (3B) e <i>D. nitida</i> (4B).....	53

## Lista de Tabelas

Tabela 1: Grupos experimentais com seus respectivos tratamentos e induções de úlcera. ....	27
Tabela A.1: Concentração elementar (média $\pm$ desvio padrão) do material certificado NIST 1577b (fígado bovino).....	62
Tabela A.2: Concentração média ( $\mu\text{g/g}$ ) dos elementos Ca, Cl, Cu, Fe, Mn e Zn nas em regiões definidas, dentro (D) e fora (F) da lesão, nas amostras dos grupos sham (sem úlcera induzida), 1A (úlcera induzida por DAINE sem tratamento), 2A (úlcera induzida por DAINE e tratada com <i>Alchornea glandulosa</i> ), 3A (úlcera induzida por DAINE e tratada com <i>Davilla elliptica</i> ) e 4A (úlcera induzida por DAINE e tratada com <i>Davilla nitida</i> ).....	63
Tabela A.3: Concentração média ( $\mu\text{g/g}$ ) dos elementos Ca, Cl, Cu, Fe, Mn e Zn nas em regiões definidas, dentro (D) e fora (F) da lesão, nas amostras dos grupos sham (sem úlcera induzida), 1B (úlcera induzida por álcool sem tratamento), 2B (úlcera induzida por álcool e tratada com <i>Alchornea glandulosa</i> ), 3B (úlcera induzida por álcool e tratada com <i>Davilla elliptica</i> ) e 4B (úlcera induzida por álcool e tratada com <i>Davilla nitida</i> ).....	65

## **Lista de Abreviaturas e Siglas**

- $\mu$ XRF    Microfluorescência de raios X (*Micro X-Ray Fluorescence*)
- DAINE    Droga anti-inflamatória do tipo não esteroidal
- EDXRF    Fluorescência de raios X por dispersão de energia (*Energy Dispersive X-ray Fluorescence*)
- LNLS    Laboratório Nacional de Luz Síncrotron
- TXRF    Fluorescência de raios X por reflexão total (*Total Reflection X-ray Fluorescence*)
- WDXRF    Fluorescência de raios X por dispersão de comprimento de onda (*Wavelength Dispersive X-ray Fluorescence*)
- XRF    Fluorescência de raios X (*X-ray Fluorescence*)

## Sumário

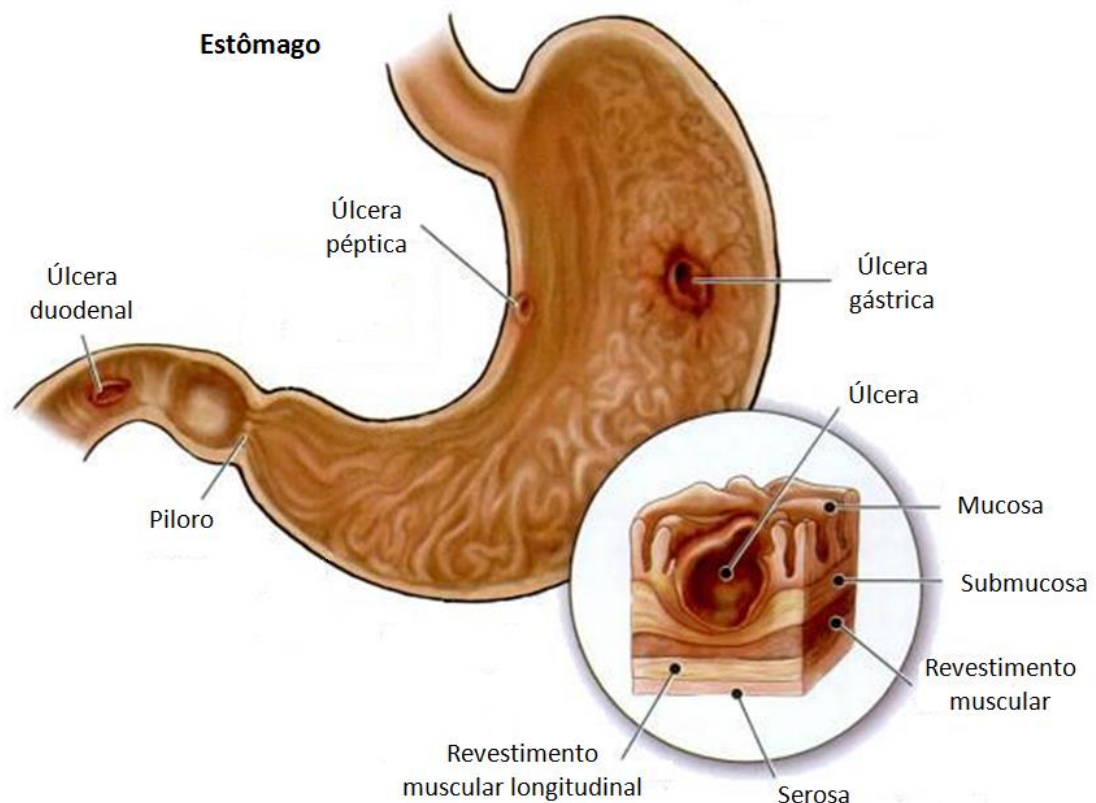
1. Introdução.....	11
1.1. Motivação .....	11
2. Objetivos.....	15
3. Fundamentos Teóricos.....	16
3.1. Elementos relacionados às úlceras.....	16
3.2. Plantas medicinais utilizadas .....	18
3.3. Fluorescência de raios X.....	21
3.3.1. Microfluorescência de raios X.....	23
3.4. Radiação síncrotron .....	25
4. Material e Métodos.....	26
4.1. Preparação das amostras .....	26
4.2. Arranjo experimental .....	28
4.3. Análise estatística .....	29
4.3.1. Análise de agrupamento ( <i>cluster</i> ).....	29
5. Resultados e Discussão.....	30
5.1. Análise das amostras de úlceras induzidas .....	30
5.2. Análise das amostras de úlceras induzidas por DAINE e tratadas com extratos vegetais .....	38
5.3. Análise das amostras de úlceras induzidas por álcool e tratadas com extratos vegetais .....	46
6. Conclusão .....	54
7. Referências .....	56
APÊNDICE A .....	61
APÊNDICE B.....	66

## 1. Introdução

### 1.1. Motivação

Distúrbios em fatores lesivos e protetores das mucosas gástrica e duodenal desencadeiam lesões chamadas úlceras pépticas (Figura 1). Estas lesões atingem um considerável número de pessoas no mundo inteiro e sua manifestação ou agravo pode ocorrer em resposta ao estresse crônico, tabagismo, uso de álcool, uso de drogas anti-inflamatórias do tipo não esteroidais (DAINEs) e presença de *Helicobacter pylori* no trato gastrointestinal. Atualmente, estudos apontam a presença de *H. pylori* e o uso de DAINE como as causas mais comuns da incidência deste tipo de lesão (Bashinskaya, Nahed et al, 2011; Lau, Sung et al., 2011; Soreide, Thorsen et al., 2015; Levenstein, Rosenstock et al., 2015).

Figura 1: Úlceras e suas localizações



Fonte: Aschenbrenner e Venable, 2009.

No Brasil, foram estimados mais de 289000 casos de úlceras, em 2008, e mais de 22750 internações no Sistema Único de Saúde (SUS), representando 10% do total de

internações no país. Sua incidência foi maior na população masculina com idade superior a 60 anos (Oliveira, Carvalho et al., 2015).

Como consequência das úlceras, pode ocorrer a perfuração das lesões, hemorragias e obstruções, ocasionando grandes situações de emergências, inclusive cirúrgicas, para esta patologia (Lau, Sunget al., 2011; Soreide, Thorsen et al., 2015).

Para o diagnóstico das úlceras, o método mais utilizado é a endoscopia, que também possibilita a realização de biópsias para descarte de outras patologias. Para o tratamento, são utilizados medicamentos antiácidos, inibidores de secreção ácida, bloqueadores da liberação de ácido clorídrico e/ou antibióticos para a eliminação da *H. pylori* (Monici, Zeitune et al., 2003).

De acordo com pesquisas etnofarmacológicas, muitas plantas também têm sido utilizadas para o tratamento das úlceras gástricas e duodenais e demonstram eficácia semelhante ou superior aos fármacos geralmente utilizados e ocasionam menores efeitos adversos, sendo utilizadas como fonte de novas drogas (Bi, Man, Man, 2014).

A ação gastroprotetora das plantas é identificada como resposta ao estímulo de proliferação celular da mucosa gástrica, de diminuição da liberação do ácido gástrico e do aumento da produção de muco, além de suas atividades antioxidantes e antimicrobianas (Bi, Man, Man, 2014; Gohar, Zaki, 2014; Silva, Angelis et al., 2015; Reddy, Kumar, 2016). Estas atividades são atribuídas a compostos, como flavonoides, terpenos, saponinas e taninos, constituintes dos extratos vegetais das plantas (Bonamin, Moraes et al., 2014; Silva, Angelis et al., 2015).

Apesar de vários estudos na área, a compreensão do mecanismo gastroprotetor dos compostos fitoterápicos produzidos a partir de plantas ainda não é completa. Neste sentido, a contribuição de nossos trabalhos no esclarecimento dessa problemática está centrada no estudo da composição e mapeamento multielementar do tecido gástrico de animais tratados com esses extratos e com úlceras induzidas por dois diferentes fatores etiológicos da doença no homem: álcool e DAINE.

A análise da composição multielementar de amostras biológicas é importante e necessária, pois determina quais são seus elementos químicos constituintes, assim como a proporção com a qual os mesmos aparecem. Estes elementos têm um papel fundamental em

todos os sistemas biológicos, participando de todos os processos metabólicos, como componentes de diferentes enzimas, catalisando reações químicas em células vivas, entre outros processos (Sahu, Ray, Chand, 2014).

Os compostos e elementos químicos contidos nas plantas medicinais podem ser disponibilizados para o corpo humano em qualquer tipo de consumo de plantas e seus extratos. Por conta disso e da crescente utilização de extratos vegetais, a análise e a determinação da composição multielementar de plantas medicinais têm despertado interesse para a avaliação do potencial farmacológico e toxicológico de determinadas espécies (Tsang, Ho et al., 2011).

Mesmo que nem todos os elementos químicos presentes nas amostras tenham suas funções biológicas totalmente descritas, alguns elementos apresentam atividades relacionadas diretamente com a neutralização de úlceras. De acordo com pesquisas, elementos como Zn, Ca, Cu, Mn, Bi e Cl apresentam efeitos positivos no tratamento e prevenção das úlceras (Tsang, Ho et al., 2011; Mei, Xu et al., 2013; Baran, 2014; Gawel, Lipkowska et al., 2014; Aihara, Montrose, 2014; Skrovanek, Diguilio et al., 2014).

A partir disso e com o intuito de contribuir para o entendimento das ações farmacológicas dos extratos vegetais, em trabalhos prévios, com o emprego da técnica de fluorescência de raios X por reflexão total (TXRF, *Total Reflection X-ray Fluorescence*), utilizando radiação síncrotron, foram determinadas as concentrações dos elementos contidos nos extratos de *Alchornea glandulosa*, *Davilla elliptica* e *Davilla nitida*, plantas popularmente utilizadas para o tratamento das úlceras (Vieira, da Silva et al., 2018). Posteriormente, com a mesma técnica, também foram determinadas as concentrações elementares dos tecidos gástricos de animais, tratados com os extratos e que tiveram úlceras gástricas induzidas por álcool ou por DAINÉ, dois fatores etiológicos da doença no homem (Vieira, da Silva et al., 2017). Após as análises, foi possível observar que as amostras de úlceras induzidas por DAINÉ apresentam principalmente uma forte correlação dos elementos P, S e Cl com o elemento Zn, que é importante no tratamento e prevenção das úlceras. As amostras de úlceras induzidas por álcool, apresentam principalmente uma forte correlação dos elementos P, S e Cl com o elemento Ca, que participa da regeneração da mucosa danificada (Vieira, da Silva et al., 2017).



Com os resultados obtidos, pode-se sugerir uma relação entre os elementos fortemente correlacionados e a atividade antiulcerogênica dos extratos vegetais, demonstrando possíveis bioindicadores de suas efetivas funções gastroprotetoras.

Neste trabalho, dando continuidade ao estudo, as mucosas gástricas com úlceras induzidas e tratadas com extratos vegetais serão analisadas através da distribuição dos elementos de suas amostras, a fim de analisar sua constituição elementar. É a primeira vez que o mapeamento de amostras de mucosas gástricas será realizado.

## 6. Conclusão

De acordo com a distribuição espacial dos elementos, pode-se sugerir uma distinção entre o efeito dos dois protocolos de indução de úlcera utilizado, levando em consideração principalmente a diferença nas concentrações de Fe e Cl, no interior e fora da lesão. Além dos elementos Cu e Zn, as lesões de úlcera induzida por DAINE apresentaram também maior concentração de Fe e as lesões de úlcera induzida por álcool, maior concentração de Cl. Pela análise de agrupamento, os elementos apresentam uma modificação nas suas correlações, dependendo do tipo de protocolo de lesão induzida, principalmente nas correlações dos elementos Ca e Fe.

Analisando o tratamento e as induções de úlcera por DAINE ou álcool, podemos verificar que o uso dos extratos vegetais alterou as concentrações dos elementos em relação aos seus níveis encontrados nas amostras sem a indução de úlcera por qualquer um dos protocolos.

Nas amostras que tiveram úlceras induzidas por DAINE, o uso do extrato de *Alchornea glandulosa*, elevou as concentrações de Ca, Cu e Fe, no interior da lesão ulcerativa, quando comparadas às amostras que não tiveram úlcera induzida. As amostras tratadas com *Davilla elliptica* e *Davilla nitida* apresentaram maiores concentrações de Ca, Mn e Zn no interior da lesão ulcerativa. Além disso, as amostras tratadas com *D. nitida* também apresentaram maiores níveis de Cl e Cu, quando comparadas às amostras sem indução de úlcera.

Nas amostras com indução de úlcera por álcool, o uso da *A. glandulosa* elevou a concentração de todos os elementos analisados quando comparada às amostras que não tiveram úlcera induzida. As amostras tratadas com *D. elliptica* apresentaram menores concentrações de Cu e Mn, enquanto os outros elementos não apresentaram variação

significativa, em relação às amostras sem indução de úlcera. Nas amostras tratadas com *D. nitida*, somente o elemento Mn não apresentou elevação em sua concentração, dentro da lesão ulcerativa, quando comparada às amostras sem indução de úlcera.

Estas variações na concentração dos elementos constituintes das amostras pode indicar o favorecimento de seus deslocamentos pelo mecanismo gastroprotetor estimulado pelo uso dos extratos vegetais.

De acordo com a análise de grupos, as correlações obtidas nas amostras tratadas com os extratos foram diferentes daqueles ocorridos nas amostras com úlceras induzidas pelos dois protocolos utilizados e semelhantes àqueles ocorridos nas amostras do grupo sem úlcera induzida.

Sugere-se, então, que os extratos de *Alchornea glandulosa*, *Davilla elliptica* e *Davilla nitida*, utilizados para o tratamento da úlcera, induzida por DAINÉ ou álcool, restauram as correlações elementares às ocorridas no tecido sem úlcera induzida, auxiliando suas ações gastroprotetoras.

## 7. Referências

- AIHARA, E.; MONTROSE, M. H. Importance of Ca<sup>2+</sup> in gastric epithelial restitution - new views revealed by real-time in vivo measurements. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 19, p. 76-83, 2014.
- AL BATRAN, R.; AL-BAYATY, F.; AL-OBAYDI, M. M. J. et al. In vivo anti-oxidant and antiulcer activity of *Parkia speciosa* ethanolic leaf extract against ethanol-induced gastric ulcer in rats. **PLoS One**, v. 8, e64751, 2013.
- ARDA-PIRINCCI, P.; BOLKENT, S.; YANARDAG, R. The role of zinc sulfate and metallothionein in protection against ethanol-induced gastric damage in rats. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 51, p. 2353-60, 2006.
- ASCHENBRENNER, D. S.; VENABLE, S. J. **Drug Therapy in Nursing**. 3a. Edição. ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health e Lippincott Williams & Wilkins, 2009.
- BARAN, E. J. Cooper in plants: an essential and multifunctional element. In: HERMANTARANJAN, A. **Advances in plant physiology**, v. 15. Jodhpur: Scientific Publishers, 2014. cap. 10, p. 373-97.
- BASHINSKAYA, B.; NAHED, B. V.; REDJAL, N. et al. Trends in peptic ulcer disease and the identification of *Helicobacter pylori* as a causative organism: population-based estimates from the US Nationwide Inpatient Samples. **Journal of Global Infectious Diseases**, v. 3, n. 4, p. 366-70, 2011.
- BERNASCONI, G.; HASELBERGER, N.; MARKOWICZ, A. Applications of a capillary based X-ray microfluorescence system. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B**, v.86, p.333-8, 1994.
- BHATTACHARYYA, A.; CHATTOPADHYAY, R.; MITRA, S.; CROWE, S. E. Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. **Physiological Reviews**, v. 94, p. 329-54, 2014.
- BI, W. P.; MAN, H. B.; MAN, M. Q. Efficacy and safety of herbal medicines in treating gastric ulcer: A review. **World Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. 45, p. 17020-8, 2014.
- BI, W.; MAN, H.; HU, L.; MAN, M.Q. Antiulcerogenic benefits of herbal ingredients in ethanol-induced animal models. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 13, n. 2, p. 1-24, 2016.
- BONAMIN, F.; MORAES, T. M.; SANTOS, R. C. The effect of a minor constituent of essential oil from *Citrus aurantium*: The role of b-myrcene in preventing peptic ulcer disease. **Chemico-Biological Interactions**, v.212, p. 11-9, 2014.
- CALVO, T. R.; LIMA, Z. P.; SILVA, J. S. et al. Constituents and antiulcer effect of *Alchornea glandulosa*: activation of cell proliferation in gastric mucosa during the healing process. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 38, n. 3, p. 451-9, 2007.
- CESAREO, R. Techniques and instrumentation in analytical chemistry. In: CESAREO, R. **Nuclear analytical techniques in medicine**. Amsterdam: Elsevier, v. 8, 1988. COUSINS, R. J.; LIUZZI, J. P. Trace Metal Absorption and Transport. In: SAID, H. M. **Physiology of the Gastrointestinal Tract**. 6.ed. Academic Press, 2018. Cap. 61, p. 1485-98.

- DI MARIO, F.; GONI, E. Gastric acid secretion: changes during a century. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 28, p. 953-65, 2014.
- GAWEL, M.; LIPKOWSKA, A.; HERMAN, M. et al. Chronic treatment with zinc hydroaspartate induces anti-inflammatory and anti-ulcerogenic activity in rats. **Pharmacological Reports**, v. 66, p. 862-6, 2014.
- GOHAR, A. A., ZAKI, A. A. Assessment of some herbal drugs for prophylaxis of peptic ulcer. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v. 13, n. 3, p. 1081-6, 2014.
- GORDON, B. M.; HANSON, A. L.; JONES, K. W. et al. The application of synchrotron radiation to microprobe trace-element analysis of biological samples. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B**, v. 45, p. 527-31, 1990.
- HAYS, V. W.; SWENSON, M. J. Minerals and Bones. In: REECE, W. O. **Dukes' Physiology of Domestic Animals**. 10.ed. John Wiley and Sons, 1985, p. 449-66.
- HERNANDEZ-MUNOZ, R.; MONTIEL-RUIZ, C; VAZQUEZ-MARTINEZ, O. Gastric mucosal cell proliferation in ethanol-induced chronic mucosal injury is related to oxidative stress and lipid peroxidation in rats. **Laboratory Investigation**, v.80, p. 1161-69, 2000.
- IBRAHIM, M. Y.; HASHIM, N. M.; DHIYAALDEEN, S. M. et al. Acute toxicity and gastroprotection studies of a new schiff base derived manganese (II) complex against HCl/ethanol induced gastric ulcerations in rats. **Scientific Reports**, v. 6, 26819, p. 1-11, 2016.
- INEU, R. F.; OLIVEIRA, C. S.; OLIVEIRA, V. A. et al. Antioxidant effect of zinc chloride against ethanol-induced gastrointestinal lesions in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 58, p. 522-9, 2013.
- JENKINS, R. **Quantitative X-ray spectrometry**. New York: Marcel Dekker, 1981.
- KLOCKEMKÄMPER, R.; VON BOHLEN, A. **Total-Reflection X-Ray Fluorescence Analysis and Related Methods**. New York: Wiley, 1997.
- KORNDÖNFER, A. P. **A importância do silício nas relações entre herbívoros e *Davilla elliptica* (Dilleniaceae) St. Hil no cerrado**. 2006. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2006.
- KUSHIMA, H.; NISHIJIMA, C. M.; RODRIGUES, C. M. et al. *Davilla elliptica* and *Davilla nitida*: gastroprotective, anti-inflammatory immunomodulatory and anti-*Helicobacter pylori* action. **Journal of Ethnopharmacology**, v.123, p.430-8, 2009.
- LAU, J.Y.; SUNG, J.; HILL, C. et al. Systematic review of the epidemiology of complicated peptic ulcer disease: incidence, recurrence, risk factors and mortality. **Digestion**, v. 84, p. 102-13, 2011.
- LEVENSTEIN, S.; ROSENSTOCK, S.; JACOBSEN, R. K. et al. Psychological stress increases risk for peptic ulcer, regardless of *Helicobacter pylori* infection or use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 13, p. 498-506, 2015.
- LINDHU, U. Nuclear microscopy. Its role and future in medicine and trace-element biology. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B**, v. 54, p. 160-170, 1991.

LNLS. Laboratório Nacional de Luz Síncrotron. **Fonte de luz síncrotron**, 2007. Disponível em: <[www.lnls.br](http://www.lnls.br)>. Acesso em: 18mar 2018.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 3a.ed. São Paulo: Platarum, 1998.

MARGUÍ, E.; ZAWISZA, B.; SITKO, R. Trace and ultratrace analysis of liquid samples by X-ray fluorescence spectrometry. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 53, p. 73-83, 2014.

MARTINEZ-FINLEY, E. J.; CHAKRABORTY, S.; FRETAM, S. J. B.; ASCHNER, M. (2012). Cellular transport and homeostasis of essential and non essential metals. **Metalomics**, v. 4, n. 7, p.593-605, 2012.

MASSIGNANI, J. J.; LEMOS, M.; MAISTRO, E. L. et al. Antiulcerogenic activity of the essential oil of *Baccharis dracunculifolia* on different experimental models in rats. **Phytotherapy Research**, v. 23: p. 1355-60, 2009.

MEI, X. Y.; XU, D. H.; XU, S. K. et al. Zinc(II)-curcumin accelerates the healing of acetic acid-induced chronic gastric ulcers in rats by decreasing oxidative stress and downregulation of matrix metalloproteinase-9. **Food and Chemical Toxicology**, v. 60, p. 448-54, 2013.

MINGOTI, S. A. **Análise de agrupamento Análise de dados através de estatística multivariada: uma abordagem aplicada**. Belo Horizonte: Ed. UFMG, 2005, p.155-212.

MONICI, L. T.; ZEITUNE, J. M. R.; LORENA, S. L. S. et al. Úlcera péptica. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 60, p. 25-32, 2003.

MURRAY, R. K.; GRANNER, D. K.; MAYES, P. A.; RODWELL, V. W. **Harper's Biochemistry**. 25.ed., USA: McGraw-Hill, Health Profession Division,2000.

NASCIMENTO-FILHO, V. F. Centro de Energia Nuclear na Agricultura - CENA. **Técnicas analíticas nucleares de fluorescência de raios-X por dispersão de energia (ED-XRF) e por reflexão total (TXRF)**, 1999. Disponível em: <[www.cena.usp.br/apostilas/Virgilio/cen-5723/EDXRF\\_TXRF.doc](http://www.cena.usp.br/apostilas/Virgilio/cen-5723/EDXRF_TXRF.doc)>. Acesso em: 15 dez. 2017.

OLIVEIRA, A. F.; CARVALHO, J. R.; COSTA, M. F. S. et al. Estimativa da prevalência e da mortalidade por complicações da úlcera péptica, Brasil, 2008: uma proposta metodológica. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 24, n. 1, p. 145-54, 2015.

OPOKA, W.; ADAMEK, D.; PLONKA, M. et al. Importance of luminal and mucosa zinc in the mechanism of experimental gastric ulcer healing. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 61, n. 5, p. 581-91, 2010.

OSABEDE, P. O.; OKOYE, F. B. C. Anti-inflammatory effects of crude methanolic extract and fractions of *Alchornea cordifolia* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 89, p. 19, 2003.

PÉREZ, C. A.; RADTKE, M.; SANCHEZ, H. J. et al. Synchrotron radiation X-ray fluorescence at the LNLS: beamline instrumentation and experiments. **X-ray Spectrometry**, v. 28, p. 320-326, 1999.

PICKERING, T.; WYATT, G. *Davilla nitida*, leaves, 2006 Disponível em: [https://www.discoverlife.org/mp/20q?search=Davilla+nitida&guide=PA\\_BCI\\_Plantae\\_leaf](https://www.discoverlife.org/mp/20q?search=Davilla+nitida&guide=PA_BCI_Plantae_leaf)

- PRINS, M. Trace elements analysis and element mapping by scanning X-ray fluorescence at Daresbury SRS. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research**, v.222, p.324-28, 1984.
- REDDY, V. T.; KUMAR, S. H. H.; BAKSHI, V. Antiulcer effect of formulation of aloe vera & liquorice against aspirin induced peptic ulcer. **International Journal of Applied Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 1, n. 1, p. 42-5, 2016.
- REZENDE, K. M.; BÖNECKER, M.; PEREZ, C. A.; MANTESSO, A. Synchrotron radiation x-ray micro-fluorescence: protocol to study mesenchymal stem cells. **Microscopy Research and Technique**, v. 79, p. 149-54, 2016.
- RODRIGUES, V. E.; CARVALHO, D. A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais do Cerrado na região do Alto Rio – Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, n. 1, p. 102, 2001.
- SAHU, L.; RAY, D. K.; CHAND, P. K. Proton induced X-ray emission (PIXE) technique for determining multi-element composition of transformed hairy root cultures of *Boerhaavia diffusa* L.: an important medicinal herb. **The Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 300, p. 345-54, 2014.
- SALAMI, A. T.; ADEOLA, B. O.; IYIOLA, T. O. et al. Antioxidative action of manganese treatment in delayed healing of acetic acid-induced ulceration in rat stomach. **Journal of African Association of Physiological Sciences**, v. 3, n. 2, p. 67-78, 2015.
- SCHUBERT, M.L.; PEURA, D.A. Control of gastric acid secretion in health and disease. **Gastroenterology**, v. 134, p. 1842-60, 2008.
- SENER, G.; PASKALOGLU, K.; AYANOGLU-DÜLGER, G. Protective effect of increasing doses of famotidine, omeprazole, lansoprazole, and melatonin against ethanol-induced gastric damage in rats. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 36, p. 171-4, 2004.
- SERPA, R. F. B. **Análise multielementar de tecidos cerebrais através da microfluorescência de raios-X e fluorescência de raios-X por reflexão total**. 2007. 185p. Tese (Doutorado). UFRJ, Rio de Janeiro.
- SILVA, L. P.; ANGELIS, C. D.; BONAMIN, F. et al. *Terminalia catappa* L.: A medicinal plant from the Caribbean pharmacopeia with anti-*Helicobacter pylori* and antiulcer action in experimental rodent models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 159, p. 285-95, 2015.
- SILVA, S. R.; SILVA, A. P.; MUNHOZ, C. B. et al. **Guia de plantas do Cerrado utilizadas na Chapada dos Veadeiros**. Brasília: WWF, 2001.
- SKROVANEK, S.; DIGUILIO, K.; BAILEY, R. et al. Zinc and gastrointestinal disease. **World Journal Gastrointestinal Pathophysiology**, v. 5, n. 4, p. 496-513, 2014.
- SOETAN, K. O.; OLAIYA, C. O.; OYEWOLE, O. E. The importance of mineral elements for humans, domestic animals and plants: A review. **African Journal of Food Science**, v. 4, n. 5 p. 200-22, 2010.
- SOLÉ, V. A.; PAPILLON, E.; COTTE, M. et al. A multiplatform code for the analysis of energy-dispersive X-ray fluorescence spectra. **Spectrochimica. Acta Part B**, v. 62, p. 63-8, 2007.

SOREIDE, K.; THORSEN, K.; HARRISON, E. M. et al. Perforated peptic ulcer. **Lancet**, v. 386, p. 1288-98, 2015.

STURNIOLO, G. C.; MESTRINER, C.; D'INCÀ, R. Trace element and mineral nutrition in gastrointestinal disease. In: BODGEN, J. D.; KLEVAY, L. M. **Nutrition of the essential trace elements and minerals: the guide for health professionals**. New York: Springer Science, 2000, p.289-308.

TAKEUCHI, K. Pathogenesis of NSAID-induced gastric damage: importance of cyclooxygenase inhibition and gastric hypermotility. **World Journal of Gastroenterology**, v. 18, n. 8, p. 2147-60, 2012.

TAPIERO, H.; TOWNSEND, D. M.; TEW, K. D. Trace elements in human physiology and pathology: copper. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 57, p. 386-98, 2003.

TOLGYESSY, T.; HAVRANEK, E.; DEJMKOVA, E. **Radionulide X-ray fluorescence**. Amsterdam: Elsevier, 1990.

TSANG, C. N.; HO, K. S.; SUN, H.; CHAN, W. T. Tracking bismuth antiulcer drug uptake in single *Helicobacter pylori* cells. **Journal of The American Chemical Society**, v. 133, p. 7355-7, 2011.

TUORKEY, M. J. F. A.; ABDUL-AZIZ, K. K. A pioneer study on the anti-ulcer activities of copper nicotinate complex [CuCl(HNA)<sub>2</sub>] in experimental gastric ulcer induced by aspirin-pylorus ligation model (Shay model). **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 63, p. 194-201, 2009.

VERGUCHT, E.; DE SAMBER, B.; IZMER, A. et al. Study of the distribution of actinides in human tissues using synchrotron radiation micro X-ray fluorescence spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 407, p. 1559-66, 2015.

VIEIRA, L. D.; DA SILVA, K. T; GIAROLA, R. S.; INOCENTE, G. F.; KUSHIMA, H.; HIRUMA-LIMA, C. A.; MESA, J. Multielement analysis of plant extracts with potential use in the treatment of peptic ulcers by synchrotron radiation total reflection X-ray fluorescence. **PeerJ**, 6:e5375. 2018.

VIEIRA, L. D.; DA SILVA, K. T; KUSHIMA, H.; CAMPOS, L. P.; HIRUMA-LIMA, C. A.; MESA, J. Role of multielemental concentration in gastroprotective effect of *Alchornea glandulosa*, *Davilla elliptica* and *Davilla nitida* extracts in rats. **Journal of Synchrotron Radiation** (Submetido), 2017.

WALLACE, J. L.; MCKNIGHT, W; REUTER, B. K.; VERGNOLLE, N. NSAID-induced gastric damage in rats: requirement for inhibition of both cyclooxygenase 1 and 2. **Gastroenterology**, v. 119, p. 706-14, 2000.