



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE
MATERIAIS
MESTRADO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE MATERIAIS

MARCOS ANTONIO FERREIRA JUNIOR

**EFEITO DE ARGILA ENRIQUECIDA COM ÁGUAS RESIDUAIS DE SALINAS DO RN
NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CIRURGICAS**

MOSSORÓ

2020

MARCOS ANTONIO FERREIRA JUNIOR

**EFEITO DE ARGILA ENRIQUECIDA COM ÁGUAS RESIDUAIS DE SALINAS DO
RN, NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CIRURGICAS**

Dissertação apresentada ao mestrado em
Ciência e Engenharia de materiais do Programa de
Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de
materiais da Universidade Federal Rural do Semi-
Árido como requisito para obtenção do título de
mestre em engenharia e ciência dos materiais.

Orientador: Prof. Dr. Clodomiro Alves Jr.
Co-Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo
Bezerra de Moura

MOSSORÓ

2020

©Todos os direitos estão reservados à Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996, e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata, exceto as pesquisas que estejam vinculadas ao processo de patenteamento. Esta investigação será base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) seja devidamente citado e mencionado os seus créditos bibliográficos.

FF386

e

Ferreira Junior, Marcos Antonio.

EFEITO DE ARGILA ENRIQUECIDA COM ÁGUAS
RESIDUAIS DE SALINAS DO RN, NA CICATRIZAÇÃO DE
FERIDAS CIRURGICAS / Marcos Antonio
Ferreira Junior. - 2020. 44 f. : il.

Orientador: Clodomiro Alves Junior.

Coorientador: Carlos Eduardo Bezerra Moura.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
Ciência e Engenharia de Materiais, 2020.

1. Lama Salina. 2. Mar Morto. 3. Cicatrização.
4. Água-mãe. I. Alves Junior, Clodomiro, orient.
II. Moura, Carlos Eduardo Bezerra, co-orient.
III. Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

MARCOS ANTONIO FERREIRA JUNIOR

**EFEITO DA ARGILA ENRIQUECIDA COM ÁGUAS RESIDUAIS DE SALINAS DO RN
NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CIRURGICAS**

Dissertação apresentada ao mestrado em
Ciência e Engenharia de materiais do Programa de
Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de
materiais da Universidade Federal Rural do Semi-
Árido como requisito para obtenção do título de
Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais.

Defendida em: 26 / 03 / 2020.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Clodómiro Alves Junior (UFERSA)
Presidente



Prof. Dr. Carlos Eduardo Bezerra de Moura (UFERSA)
Membro Examinador



Prof. Dr. José Francismar de Medeiros (UFERSA)
Membro Examinador

RESUMO

A lama hipersalina do mar morto é alvo de diversos estudos científicos, que buscam entender as suas propriedades medicinais e verificar a sua verdadeira eficácia no tratamento de doenças dermatológicas e articulares, bem como seu potencial para integração em cosméticos. Na composição dessa lama existe grande concentração de sais, como cloreto de magnésio, que contribuem para cicatrização da pele e no combate a infecções causadas por microrganismos. Composições semelhantes também podem ser encontradas em um resíduo da indústria salineira do RN, a chamada água-mãe. Este resíduo geralmente é devolvido à natureza sem consideração aos possíveis danos ambientais que tal descarte pode ocasionar, nem buscar alternativas de uso. No presente trabalho propomos a sua utilização, em conjunto com argilas locais, para a criação de uma lama salina que reproduza as propriedades encontradas na lama do mar morto. As argilas foram caracterizadas quanto a sua composição mineralógica, capacidade de troca catiônica e tamanho médio de partículas. A água-mãe foi caracterizada quanto ao seu pH, condutividade elétrica e composição química. Para avaliar o desempenho desta lama, foi estudada a sua influência no processo de cicatrização de feridas cirúrgicas em porquinhos da índia (*Cavia Porcellus*). Uma solução contendo 0,1% de lama salina foi aplicada topicamente nas feridas cirúrgicas após o procedimento e nos 2 dias seguintes. O seu efeito foi comparado com feridas-controle tratadas com soro fisiológico e lama comum ao longo de 21 dias. Foram estudados durante o experimento os seguintes parâmetros: contração da ferida, densidade de volume do tecido de granulação e quantidade de mastócitos no sítio da lesão. Os resultados indicam uma influência estatisticamente significativa do tratamento com lama salina sobre o processo de cicatrização, com as feridas tratadas apresentando aproximadamente 82% de contração ao longo de 14 dias, contra 65% das que receberam lama comum, e 63% das tratadas com soro fisiológico. As lesões tratadas com lama salina também apresentaram um menor número de células inflamatórias no sítio da ferida, quando comparadas com a lesão controle, bem como uma regeneração dos tecidos cutâneos. Conclui-se que a água-mãe pode ser utilizada para enriquecer argilas em formulações medicinais visando a cicatrização de feridas.

Palavras-chaves: Lama salina, Mar Morto, Cicatrização, Água-mãe.

ABSTRACT

The Dead Sea hypersaline mud is subject to many studies, which seek to explain its reported medicinal properties and verify its effectiveness in treating skin and joint diseases. This saline mud contains salts such as magnesium chloride, which contribute to wound healing and skin barrier repair and maintenance. A residuum of the production of salt in solar salterns, called brine, presents similar chemical compositions, when compared to the Dead Sea mud. Such residue is usually discarded without regards to the potential environmental damage it may cause, or alternative uses. In this paper, we propose the reuse of brine, in combination with local samples of clay to create a saline mud and reproduce some of the effects found on the Dead Sea mud. To gauge the performance of the mud, its effects on the healing of surgical wounds in guinea pigs (*Cavia Porcellus*) was studied. A solution containing 0,1% in weight of saline mud was applied on the lesions after the surgical procedure and on the next two days, and compared to wounds treated with regular mud and commercially available saline solution over 21 days. During this experiment the following parameters were studied: wound contraction, volumetric density of granulation tissue, and inflammatory cell count. Results indicate a statistically significant influence of the saline mud treatment on the wound healing process, with the wounds treated with saline mud presenting 82% contraction over 14 days, against 65% contraction of the ones that received regular mud, and 63% of the ones treated with commercial saline solution. The lesions treated with saline mud also presented a smaller number of inflammatory cells, as well as better tissue regeneration. Therefore, we can conclude that brine may be used to enrich clays in medicinal formulations for wound healing.

Keywords: Saline mud, Dead Sea, Wound Healing, Brine

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	3
2 OBJETIVOS	5
2.1 OBJETIVO GERAL:	5
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	5
3 REFERENCIAL TEÓRICO	6
3.1 O Mar morto	6
3.2 A lama salina	6
3.3 A indústria salineira do rio grande do norte	7
3.4 Argilas e suas aplicações na indústria	8
3.5 Fatores importantes para a aplicação tópica de argilas.....	9
3.5.1 Composição Química.....	9
3.5.2 Capacidade de Troca Catiônica (CTC)	10
3.5.3 Tamanho médio de partícula	10
3.6 Estrutura da pele	10
3.6.1 Epiderme.....	10
3.6.2 Derme	11
3.7 Processo de cicatrização de feridas.....	11
3.7.1 Hemostasia.....	11
3.7.2 Fase inflamatória	12
3.7.3 Formação do tecido de granulação com deposição de matriz extracelular.....	12
3.7.4 Remodelação.....	13
4 METODOLOGIA.....	14
4.1 Obtenção e caracterização da argila.....	14

4.1.1	Análise Mineralógica.....	14
4.1.2	Capacidade de Troca Catiônica (CTC) e quantificação de bases trocáveis.....	14
4.2	Obtenção e caracterização da água-mãe	15
4.3	Preparo das lammas para teste	15
4.4	Animais.....	16
4.5	Protocolo anestésico e execução das feridas	16
4.6	Tratamento	18
4.7	Contração da ferida.....	19
4.8	Coleta das feridas.....	19
4.9	Processamento histológico.....	20
4.10	Quantificação da densidade de volume do tecido de granulação	20
4.11	Quantificação de células inflamatórias no sítio da lesão	20
4.12	Análise estatística	21
5	Resultados e discussão.....	22
5.1	Caracterização físico-química das argilas.....	22
5.1.1	Distribuição do tamanho de partículas	22
5.1.2	Análise mineralógica	23
5.1.3	Quantificação de bases trocáveis e capacidade de troca catiônica	26
5.2	Caracterização da água-mãe	27
5.3	Avaliação macroscópica das feridas	27
5.4	Avaliação microscópica das feridas.....	29
5.5	Densidade de volume do tecido de granulação.....	33
5.6	Quantificação de células inflamatórias	33
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	37
7	SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS	38

8 BIBLIOGRAFIA	39
----------------------	----

1 INTRODUÇÃO

A região do Mar Morto é reconhecida mundialmente como uma importante fonte de matéria-prima para produção de cosméticos e medicamentos naturais (NISSENBAUM; RULLKÖTTER; YECHIELI, 2002). Um dos recursos utilizados para este fim é a lama altamente salina encontrada no local. Existem diversos trabalhos de pesquisa realizados sobre as propriedades medicinais da lama do Mar Morto que, apesar de não conseguirem explicar satisfatoriamente seu mecanismo de ação, comprovam a sua eficácia (KATZ et al., 2012).

Esse produto tem sido avaliado quanto sua ação no tratamento de doenças dermatológicas e reumatológicas, como psoríase (COHEN et al., 2008) e artrite reumatóide (CODISH et al., 2005), bem como seu potencial cicatrizante (ABU-AL-BAS, 2012). Todos os estudos mencionados apresentaram resultados que indicam a eficácia da lama do mar morto quando utilizada para fins medicinais. O trabalho de Abu-al-Bas (2012), em específico, comparou a ação da lama salina com o medicamento nitrofurazona, comumente utilizado na composição de pomadas cicatrizantes, e concluiu que o produto natural acelerou o processo de cicatrização até mais do que o medicamento.

Até o presente momento, as propriedades medicinais das lamas salinas são atribuídas à composição rica em minerais, que provocam reações químicas e/ou são absorvidos na superfície da pele, induzem o fenômeno da osmose, hidratando as camadas mais externas, e retém o calor, auxiliando em diversos tratamentos (HARARI, 2012).

Flusser et al. (2002) investigaram se o fator determinante para a eficácia da lama do Mar Morto seria a sua composição rica em sais, através de experimentos com dois grupos de pacientes que sofriam de osteoartrite. Eles chegaram à conclusão que a presença dos sais na lama trazia resultados significativamente superiores aos do grupo que utilizou lama dessalinizada.

Considerando que a água-mãe, obtida no final da cadeia produtiva da indústria salineira como rejeito, é rica em sais como $MgCl_2$, $MgSO_4$ e KCl , seria possível enriquecer uma argila regional com esta água, e assim utilizá-la para fins cosméticos e medicinais.

As propriedades da lama salina do Mar Morto movimentam tanto a indústria de turismo quanto a de cosméticos da região (BAWAB et al., 2018). Encontrar propriedades similares na combinação de argila com água-mãe das salinas da região poderia fazer o mesmo para as indústrias locais. O município de Mossoró, inclusive, conta com uma fábrica de cosméticos que pode ser

beneficiada por esta pesquisa. As aplicações da lama salina na indústria de cosméticos já são bem documentadas, com sua incorporação a cremes faciais, sabonetes, shampoos, e diversos outros produtos, e trazem benefícios comprovados à saúde (KATZ et al., 2012), justificando assim a investigação desse recurso local.

Pretende-se com este trabalho estudar a combinação de água-mãe da indústria salineira com argila local, no sentido de agregar valor científico, tecnológico e econômico a um subproduto da cadeia produtiva do sal.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL:

Investigar o efeito da mistura de argila e água-mãe das salinas na cicatrização de feridas cirúrgicas de pele em porquinhos da índia.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Caracterizar argilas locais quanto à sua composição e propriedades físicas;
- Caracterizar a água-mãe quanto à sua composição química;
- Avaliar a regressão macroscópica das feridas cirúrgicas dos porquinhos tratados com lama salina aos 0, 3, 7, 14 e 21 dias após o procedimento;
- Analisar microscopicamente o arranjo tecidual das feridas cirúrgicas dos porquinhos tratados com lama salina e na ferida controle aos 7 e 14 dias após o procedimento;
- Quantificar os mastócitos no sítio da lesão aos 7 e 14 dias, nas feridas tratadas com a lama salina e na ferida controle;

3 REFERENCIAL TEÓRICO

Pesquisas sobre as propriedades medicinais das argilas e águas-mães das salinas do Rio Grande do Norte, até onde conseguimos verificar, são inexistentes, portanto o presente trabalho estaria explorando novas oportunidades. Entretanto, existe um bom acervo de publicações sobre a lama do Mar Morto, que serve como ponto de partida para a fundamentação teórica.

3.1 O MAR MORTO

O Mar Morto é o ponto geográfico mais baixo do planeta. Uma de suas características mais marcantes é a salinidade extrema de suas águas, girando por volta dos 348 gramas de sais por litro (BAWAB et al., 2018). Essa concentração de sal decorre do fato do Mar Morto ser o ponto terminal do Rio Jordão, e combinado com a sua altitude, garante que a água que ali chega não escoa para outro ponto. Séculos de acúmulo de água e evaporação resultaram no que hoje é uma das maiores reservas minerais do mundo (ABDEL-FATTAH; PINGITORE, 2009).

Desde a antiguidade, propriedades medicinais têm sido atribuídas às águas desse lago salino, com o próprio Aristóteles relatando tais propriedades para o mundo pela primeira vez (KATZ et al., 2012). O primeiro trabalho publicado sobre tratamento de doenças utilizando as propriedades do mar morto é de 1959, por Dostrovsky e Sagher. Desde então, vários pesquisadores investigaram o efeito de diversas terapias com recursos da região sobre doenças dermatológicas, como a psoríase (HODAK et al., 2003), e articulares (SUKENIK et al., 1990).

3.2 A LAMA SALINA

Um dos recursos de maior interesse é a lama salina encontrada na região do Mar Morto. A sua reputação como tratamento alternativo atrai visitantes do mundo inteiro, assim como gerou uma indústria de produção e exportação de dermocosméticos que levam a lama em suas formulações (ABDEL-FATTAH; PINGITORE, 2009). De acordo com Ma'or (2006), a lama do mar morto é composta por 77,5% em massa de sólidos, sendo os minerais majoritários SiO₂ (20%), CaO (15,5%), Al₂O₃ (4,8%), MgO (4,5%) e Fe₂O₃ (2,8%). Os 22,5% restantes são águas

intersticiais extremamente salinas, com a seguinte composição: Cloro + Bromo (140 g/l), Magnésio (28,25 g/l), Sódio (20,2 g/l), Cálcio (9,8 g/l) e Potássio (9,5 g/l).

Katz et al. (2012) reuniram no seu trabalho os principais resultados sobre as propriedades medicinais da lama salina, expondo a metodologia que cada autor utilizou para conduzir seus experimentos e concluindo, com base na análise dos resultados encontrados, que a aplicação da lama é efetiva tanto contra problemas articulares quanto dermatológicos.

Ao realizar testes com a lama salina e a mesma após passar por processos de dessalinização, aplicando-as à tratamento de osteoartrite, foi possível verificar uma vantagem significativa no grupo de pacientes tratados com a lama natural, evidenciando assim a relevância da salinidade para a seleção de lamas para tratamento (FLUSSER et al., 2002).

Bawab et al. (2018) afirmaram que tanto a lama quanto os sais do Mar Morto podem ser utilizados em composições cosméticas, melhorando as propriedades desejadas de cada produto, desde cremes antirrugas até shampoos anticaspas. Ma'or et al. (1996) investigaram as principais afirmações feitas por fabricantes e usuários de cosméticos à base de água e lama do mar morto, e elaboraram amostras de teste e realizaram ensaios de eficácia para validar se estes produtos realmente apresentavam efeitos anti-idade. Eles chegaram à conclusão de que um creme enriquecido com 1% de água do mar morto reduzia rugas em 40%, enquanto o mesmo creme não-tratado reduzia em 27%.

Abdel-Fattah e Pingitore (2009) se preocuparam com a possibilidade da lama e cosméticos derivados serem prejudiciais à saúde devido à presença de metais pesados em sua composição, mas após o estudo da lama coletada em diferentes pontos e amostras comerciais de produtos, eles concluíram que as quantidades detectadas não ofereciam riscos à saúde dos seres humanos.

Finalmente, Abu-Al-Bas (2012) estudou a ação da lama do mar morto e cosméticos derivados desta sobre a cicatrização de feridas em ratos, observando que estes apresentavam um desempenho superior ao do medicamento nitrofurazona. A metodologia deste último pesquisador serviu de ponto de partida para o presente trabalho.

3.3 A INDÚSTRIA SALINEIRA DO RIO GRANDE DO NORTE

O estado do Rio Grande do Norte é o maior produtor de sal marinho do Brasil, sendo responsável por cerca de 97% da produção nacional deste bem (FÉLIX et al., 2013). Embora o

volume de produção seja elevado, estimado em 6 milhões de toneladas em 2016 pela Agência Nacional de Mineração (ANM), o valor de comercialização é relativamente baixo, o que leva os produtores a buscar novas formas de agregar valor à cadeia produtiva do sal, como o desenvolvimento de processos e produtos alternativos.

3.4 ÁGUA-MÃE

Um dos resíduos gerados durante a produção do sal é a água-mãe, uma água hipersalina. O descarte descuidado dessa água apresenta um potencial risco ecológico, sendo então exigido das empresas o armazenamento e/ou tratamento dessas águas para que seu descarte seja feito de maneira a minimizar os impactos ambientais (CONAMA, 2005)

Entretanto, essa alta concentração de sais também apresenta uma oportunidade de exploração. Nestas águas estão presentes elementos como magnésio e potássio, com possíveis aplicações caso sejam extraídos ou incorporados a outros produtos (ALBUQUERQUE, 2009).

Uma das vias de pesquisa relacionadas à indústria salina é sobre o aproveitamento de suas águas residuais, também chamadas de águas-mães. Uma das aplicações já investigadas foi o tratamento de efluentes da indústria têxtil utilizando a água-mãe. Albuquerque (2009) concluiu que a água residuária das salinas atua como um eficiente coagulante na remoção de cor e turbidez de efluente de tinturaria de denim, reduzindo custos com outros reagentes envolvidos no processo.

3.5 ARGILAS E SUAS APLICAÇÕES NA INDÚSTRIA

Argilas são misturas de minerais argilosos com tamanho de grão extremamente pequeno (menos que 2 μ m de diâmetro), geralmente compostos por aluminossilicatos hidratados com magnésio, ferro, sódio, potássio ou cálcio atuando como constituintes essenciais, e outros minerais não-argilosos, partículas de quartzo, sais solúveis, ou ainda compostos orgânicos (MORAES et al., 2017).

A utilização de argilas pelas indústrias farmacêuticas e cosméticas é bem documentada, com muitos trabalhos relacionados às mesmas voltados para a sua exploração nessas áreas. As suas principais utilidades são como excipientes, devido a suas propriedades reológicas (VISERAS et al., 2007), ou como princípios ativos, devido à suas composições químicas e interações com o

organismo, podendo ser usadas como laxantes, antiácidos, antidiarreicos, eméticos, suplementos minerais, antissépticos, entre outros (CARRETERO; POZO, 2009b).

Cada argila com potencial de aplicação dermatológica é identificada na indústria através de sua cor, e possui composição química e estrutura cristalina específica. Já as chamadas argilas comuns são predominantemente utilizadas para a fabricação de produtos cerâmicos tradicionais, como tijolos (VELASCO et al., 2016).

Considerando que as argilas comuns geralmente não apresentam propriedades extraordinárias para aplicação medicinal, caso uma argila deste tipo, enriquecida com água-mãe, demonstre efeitos similares à lama do mar morto, estaremos simultaneamente reaproveitando um resíduo da indústria salineira, potencialmente prejudicial ao ecossistema do seu local imediato de despejo (AHMAD; BADDOUR, 2014), e criando um ponto de partida para o desenvolvimento de novas tecnologias e produtos utilizando a água-mãe.

3.6 FATORES IMPORTANTES PARA A APLICAÇÃO TÓPICA DE ARGILAS

3.6.1 Composição Mineralógica

Para argilas *in natura*, um dos pontos mais importantes a ser analisado é a sua composição mineralógica, ou seja, quais são os minerais encontrados naquela amostra de solo. A presença de tipos específicos de minerais argilosos determinará a ação daquele material ao ser aplicado na pele (MORAES et al., 2017), bem como determinará a região ou forma sob a qual ele poderá ser utilizado, a fim de não se tornar prejudicial à saúde (CARRETERO; POZO, 2009a). Elementos como cálcio, magnésio e potássio são essenciais para o desenvolvimento e manutenção de tecidos e processos no corpo humano, e a aplicação tópica das argilas possibilita a transferência dessas espécies, sob forma iônica, do solo para o organismo (GOMES; SILVA, 2007).

A característica mais desejável para a utilização dos minerais argilosos mais na a formulação de dermocosméticos é uma alta capacidade de sorção, como a caulinita, esmectita, talco e rutila. Esses minerais aderem à pele e formam uma camada que oferece proteção mecânica contra agentes externos, absorvem exudatos da pele, e criam um meio deficiente em água, que é desfavorável para a proliferação bacteriana (CARRETERO; POZO, 2009a).

3.6.2 Capacidade de Troca Catiônica (CTC)

A capacidade de troca catiônica de um solo é definida como a quantidade de cátions disponível para troca a um certo pH, e é influenciada por diversos fatores, como a natureza dos íons trocáveis desse solo específico, temperatura e tamanho de partícula (BERGAYA; THENG; LAGALY, 2006).

Solos com alta capacidade de troca catiônica possuem um maior número de espécies que podem ser transferidas para a pele, quando aplicados topicamente, ao mesmo tempo que removem íons indesejados da pele. Consequentemente, quando a indústria busca um solo para utilizar como carreador de fármacos ou cosméticos, ou princípio ativo de uma formulação, uma CTC elevada é desejável (CARRETERO; POZO, 2009a)

3.6.3 Tamanho médio de partícula

Amostras naturais de solo possuem alta variabilidade no tamanho das partículas que as compõem. As partículas com diâmetro inferior a 2 μm são classificadas como argilas, na escala Wentworth, enquanto as que ficam entre 2 μm e 56 μm são chamadas de silte, e acima de 56 μm entram na faixa denominada de areia (BLAIR; MCPHERSON, 1999).

Estudos indicam que a utilização de lamas com diâmetro médio de partículas por volta de 74 μm estimulam o fluxo sanguíneo no local da aplicação (POENSIN et al., 2003). Outros trabalhos sugerem que partículas com diâmetro inferior a 63 μm podem ter efeitos anti-inflamatórios e hidratantes, agindo na retenção de umidade devido a sua alta adesão na pele (DÁRIO et al., 2014).

3.7 ESTRUTURA DA PELE

A pele é o órgão responsável pela proteção do corpo humano contra o ambiente externo, além de desempenhar funções essenciais para a homeostase do organismo (OTUKI, 2004). Ela é composta por duas camadas, a epiderme e a derme.

3.7.1 Epiderme

É a camada mais externa da pele, constituída por células epiteliais achatadas sobrepostas. Em seres humanos, a epiderme é avascular, e possui espessura entre 75 e 150 μm , e atua como a principal barreira contra agentes externos. Aproximadamente 80% das células são queratinócitos, responsáveis pela produção de queratina, proteína que dá firmeza à epiderme e protege contra a desidratação (BERNARDO; DOS SANTOS; DA SILVA, 2019). Os 20% restantes se dividem em melanócitos, responsáveis pela produção da melanina, células de Langherans, que ativam o sistema imunológico e fagocitam partículas estranhas e microrganismos, e discos de Merkel, situados entre a derme e epiderme, conectadas às terminações nervosas e atuando como receptores de tato (DOMANSKY; BORGES et al., 2012).

3.7.2 Derme

Localizada logo abaixo da epiderme, a derme é constituída principalmente por fibras de colágeno e elastina. Esse tecido é onde podemos encontrar artérias, veias e vasos linfáticos, através dos quais ocorre o transporte de insumos e resíduos para o metabolismo celular e células migratórias como linfócitos e macrófagos, que atuam em casos de infecções ou cicatrização (OTUKI, 2004).

3.8 PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS

O processo de cicatrização é um fenômeno complexo, com diversas etapas que acabam por se sobrepor no tempo, sem momentos bem definidos de fim e/ou transição. Essas etapas são, em ordem cronológica de início: hemostasia, fase inflamatória, formação do tecido de granulação com deposição de matriz extracelular, e remodelação (DE OLIVEIRA; DA CUNHA DIAS, 2012).

3.8.1 Hemostasia

Etapa iniciada logo após o surgimento da ferida, e costuma durar por volta de 8 dias (MANDELBAUM; PAMPADO DI SANTIS; SANT'ANA MANDELBAUM, 2003). Nessa primeira fase, o organismo reage de modo a minimizar a perda de sangue, através de compostos

vasoativos que promovem a vasoconstrição quando ocorre a ruptura desses vasos (KUMAR, 2010). Também é nesse momento que ocorre a formação do coágulo, servindo tanto como cobertura para impedir a contaminação da área por agentes exógenos, quanto como uma matriz para o início da organização da ferida (DE OLIVEIRA; DA CUNHA DIAS, 2012).

3.8.2 Fase inflamatória

A fase inflamatória é caracterizada pela presença no sítio da lesão de células inflamatórias, como leucócitos polimorfonucleares (PMN), macrófagos, mastócitos e linfócitos, iniciando ao mesmo tempo que a etapa de hemostasia, e se estendendo até o décimo segundo dia. Em um primeiro momento, após o surgimento da ferida, predominam as células do tipo PMN, que permanecem na área durante um período que varia de 3 a 5 dias, atuando na fagocitose de bactérias (MANDELBAUM; PAMPADO DI SANTIS; SANT'ANA MANDELBAUM, 2003). Também ocorre neste momento a desgranulação dos mastócitos, evento que resulta na liberação de diversos mediadores químicos essenciais para o processo de cicatrização (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005). Do terceiro ao quinto dia após a lesão predominam macrófagos, responsáveis pela ativação do desenvolvimento do tecido de granulação, remoção de corpos estranhos, colágeno desvitalizado e coágulos, e continuar a fagocitose das bactérias (DE OLIVEIRA; DA CUNHA DIAS, 2012). Finalmente, os linfócitos atuam através da secreção de diversas substâncias importantes para o progresso do processo de cicatrização, e estimulam outros tipos de células ali presentes.

3.8.3 Formação do tecido de granulação com deposição de matriz extracelular

É nesta etapa que ocorre a formação dos tecidos e contração das bordas da ferida. Em primeiro momento, a transformação de fibrinogênio em fibrina cria uma rede, na qual células denominadas fibroblastos se depositam, e iniciam o processo de secreção de diversos compostos essenciais para a cicatrização, como as fibras colágenas tipo I e III, associadas ao fenômeno da angiogênese (KUMAR, 2010). Essa etapa costuma iniciar por volta de 1 dia após a ocorrência da lesão, e pode se estender por mais de 100 dias (MANDELBAUM; PAMPADO DI SANTIS; SANT'ANA MANDELBAUM, 2003). A vascularização da rede de fibrina resulta na formação do chamado tecido de granulação, três a quatro dias após o ferimento, que iniciará o processo de

contração da ferida. Isso ocorre devido aos miofibroblastos que se encontram no tecido de granulação. Essas células promovem a aproximação das margens da lesão, e essa redução do espaço acaba provocando a sobreposição e entrelaçamento das fibras de colágeno (PAGANELA et al., 2008).

Ao final da etapa de contração, acontece a epitelização, fenômeno que promoverá o reparo da superfície da lesão, através do crescimento, multiplicação e deslocamento das células saudáveis da epiderme sobre o tecido de granulação (DE OLIVEIRA; DA CUNHA DIAS, 2012). Esta etapa pode ter dois pontos de início possíveis, dependendo se a ferida for suturada (12 horas após sutura) ou se está aberta (2 dias após lesão) (MANDELBAUM; PAMPADO DI SANTIS; SANT'ANA MANDELBAUM, 2003).

3.8.4 Remodelação

Fase final do processo de cicatrização, começando por volta do quarto dia após lesão, e podendo durar meses (MANDELBAUM; PAMPADO DI SANTIS; SANT'ANA MANDELBAUM, 2003). É aqui que ocorre o amadurecimento dos tecidos formados durante as etapas anteriores, alcançando suas formas definitivas. A síntese de colágeno tipo I aumenta, e aquelas fibras que se orientam paralelamente às linhas de tensão se agrupam, enquanto as orientadas aleatoriamente são digeridas pela enzima collagenase. Esse agrupamento eventualmente resulta em feixes mais espessos, elevando assim a resistência do tecido às solicitações mecânicas rotineiras (DE OLIVEIRA; DA CUNHA DIAS, 2012). Com a evolução do processo, a deposição de colágeno se intensifica, e a maioria das células desaparece, resultando assim no tecido cicatricial (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005).

4 METODOLOGIA

4.1 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA ARGILA.

Foram obtidas três amostras de argila, denominadas A1, A2 e A3. A amostra A1 é proveniente do barreiro da Cerâmica Torres, localizada entre os municípios de Mossoró e Governador Dix-Sept Rosado. A amostra A2, por sua vez, foi obtida em uma cerâmica da região de Apodi. Finalmente, a amostra A3 é uma argila disponível no comércio, de fácil obtenção, classificada como argila verde, da marca Santana. A caracterização das amostras foi feita através da análise das fases cristalinas através da técnica de Difração de Raios-X, Capacidade de Troca Catiônica através da quantificação de bases trocáveis, e Distribuição do Tamanho de Partículas por Dispersão a laser, conforme metodologia descrita por EMBRAPA (1997).

4.1.1 Análise Mineralógica

A análise mineralógica foi feita por Difração de Raios-X, utilizando um difratômetro SHIMADZU 6000 com ânodo de cobre, e operando com uma diferença de potencial de 40 kV no tubo e corrente de 30 mA. A faixa de varredura foi na faixa 2θ de 5° até 90°, e velocidade de 1,2 graus por minuto.

O preparo das amostras para aplicação da técnica foi feita segundo metodologia descrita por FAVERO et al. (2016): as frações de argila com tamanho de partícula médio abaixo de 2 μ m foram separadas através de decantação, transferidas para lâminas de vidro e secadas naturalmente.

O processamento dos difratogramas foi realizado utilizando o software *Match!* Versão 1.11.

4.1.2 Capacidade de Troca Catiônica (CTC) e quantificação de bases trocáveis

A determinação da capacidade de troca catiônica foi feita através da extração dos cátions presentes no solo. Para isso, amostras de 1cm³ dos solos foram adicionadas a erlenmeyers contendo soluções específicas para extrair cada cátion, agitadas e deixadas em repouso por uma noite. No

dia seguinte, foram retiradas alíquotas do sobrenadante de cada erlenmeyer para quantificação das bases trocáveis. As seguintes espécies iônicas foram estudadas: cálcio, magnésio, sódio e potássio.

Para determinação do cálcio e magnésio, a extração foi realizada com solução de KCl N normal, e a quantificação foi feita através de adição de indicador *eriochrome black* e titulação com solução de EDTA 0,0125M. Já para separar as quantidades dessas duas espécies, o procedimento foi repetido, mas com a adição de 2ml de trietanolamina a 50% e 2ml de KOH a 10%, além do indicador *eriochrome black*, antes da titulação com EDTA, o que nos deu a quantidade de cálcio na amostra. Com esses dois valores em mãos, a determinação da quantidade de magnésio foi feita através de subtração simples.

A extração do sódio e do potássio foi feita utilizando uma solução 0,05N de HCl, e a determinação de suas quantidades foi realizada com a ajuda de um espectrofotômetro de chama, calibrado para cada um dos cátions.

Finalmente, para obter a CTC do solo, ainda se fez necessário determinar a acidez potencial do mesmo, que é a soma dos cátions H^+ e alumínio. Para isso, a extração foi feita com solução de acetato de cálcio tamponado a pH 7, e a quantificação se deu através de titulação com solução 0,0606 N de NaOH na presença do indicador fenoftaleína.

A capacidade de troca catiônica é dada então pela soma das bases trocáveis e da acidez potencial obtidas durante a extração (EMBRAPA, 1997).

4.2 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA ÁGUA-MÃE

A água-mãe utilizada foi obtida na salina Maranhão, localizada no município de Grossos-RN. Esta água foi captada após a sua utilização final, que é a etapa de lavagem do sal para remoção de impurezas e sais indesejados, e antes de seu descarte. A caracterização da mesma, quanto a composição, foi realizada no Laboratório de Análise de Solo, Água e Planta (LASAP), localizado na UFERSA, seguindo os procedimentos adotados pelo laboratório, adaptados da ASM 3500, pela *American Public Health Association* (APHA) (2017).

4.3 PREPARO DAS LAMAS PARA TESTE

Após caracterização da água mãe, esta foi adicionada à argila, a fim de criar uma lama salina, respeitando a proporção de 77,5% de massa seca encontrada na lama do mar morto (Ma'or, 2006). Também foi preparada uma amostra de lama utilizando água destilada ao invés de água-mãe, de acordo com a proporção mencionada anteriormente, para comparar a influência da argila com e sem a adição da água-mãe no processo.

4.4 ANIMAIS

Para investigar o efeito dessa lama salina, a mesma foi aplicada sobre feridas cirúrgicas induzidas em porquinhos da índia, seguindo metodologia adaptada de Abu-Al-Bas (2012). Durante o estudo, foram utilizados Porquinhos-da-Índia obtidos no Centro de Multiplicação de Animais Silvestres da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA).

Esta etapa foi realizada de acordo com as recomendações da Diretriz Brasileira Para o Cuidado e a Utilização de Animais Para Fins Científicos e Didáticos (DBCA) (2013), após análise e aprovação da comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFERSA (processo nº 23091.008511/2019-92)

Para as avaliações *in vivo* foram utilizados ao todo 9 porquinhos da índia. Esses animais foram alojados em gaiolas individuais durante todo o experimento no Centro de Multiplicação de Animais Silvestres (CEMAS) da Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA), com acesso livre a ração comercial e água.

4.5 PROTOCOLO ANESTÉSICO E EXECUÇÃO DAS FERIDAS

Primeiramente, os animais foram submetidos à avaliação clínica. Antes da realização das feridas, os animais foram pesados e pré-medicados com carprofeno (4mg/kg), por via subcutânea (SC) (OLIVER et al., 2017). Após 15 minutos, anestesiou-se os animais com injeção intraperitoneal de cloridrato de cetamina e cloridrato de xilazina na dose respectiva de 75 ml/kg e 15 ml/kg de peso corporal do animal (SCHMITZ et al., 2016).

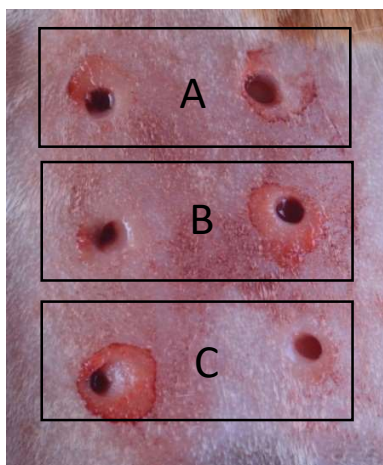


Figura 1 - Disposição das incisões no dorso do animal. (A): Feridas tratadas com soro fisiológico. (B): Feridas tratadas com lama comum. (C): Feridas tratadas com lama salina.

Ao todo, foram confeccionadas 54 feridas cirúrgicas, utilizando um punch para biópsia (Paramont- 3mm) que penetrou na pele do animal atingindo até o subcutâneo e posteriormente, com auxílio de um bisturi, os fragmentos foram removidos. As incisões da pele foram realizadas na região dorsal, após remoção dos pelos e subsequente antissepsia com etanol a 70%, conforme ilustrado na figura 1. Após o procedimento cirúrgico os animais receberam carprofeno (4mg/kg) por via SC a cada 24 horas durante 3 dias.

A figura 2 mostra todas as cobaias utilizadas durante o experimento, imediatamente após o referido procedimento, agrupados de acordo com a sua finalidade.



Figura 2 – Animais utilizados durante o estudo, onde (A): Animais acompanhados durante os 21 dias do experimento. (B): Animais sacrificados no dia 7 para coleta de tecido. (C): Animais sacrificados no dia 14 para coleta de tecido.

4.6 TRATAMENTO

Cada par de feridas cirúrgicas foi tratado de maneira diferente. O primeiro conjunto de feridas foi tratado apenas com soro fisiológico, servindo como controle. O segundo foi tratado com uma solução contendo 0,1% de lama produzida utilizando água destilada, enquanto o terceiro par foi tratado com uma solução contendo 0,1% de lama salina (Figura 1). As soluções foram aplicadas topicamente uma vez por dia, nos sítios das feridas, após a realização da cirurgia e nos dois dias seguintes.

Esse período específico de tratamento foi escolhido devido à ocorrência do processo inflamatório e formação do tecido de granulação, durante os três primeiros dias após o ferimento. Sendo estes eventos os precursores do processo de contração das margens da lesão, uma alteração na sua dinâmica resulta em variações no tempo de cicatrização (DE OLIVEIRA; DA CUNHA DIAS, 2012).

4.7 CONTRAÇÃO DA FERIDA

As feridas foram registradas por meio de fotografias utilizando uma câmera NIKON D3200, logo após serem feitas, antes do tratamento, e no 3º, 7º, 14º e 21º dia, tempo usualmente necessário para completa observação do processo de cicatrização externo nas cobaias (AYHAN, 1997). A área da superfície foi medida por planimetria com a ajuda de um software de processamento de imagens, e o percentual de contração da ferida foi calculado da seguinte forma, como descrita por YATES et al. (2007).

$$\text{Contração da ferida (\%)} = \frac{(A_0 - A_D)}{A_0} \times 100$$

Onde A_0 é a área inicial da ferida, e A_D é a medida realizada no dia D após o procedimento.

4.8 COLETA DAS FERIDAS

A avaliação histológica foi realizada a partir de amostras de pele obtidas nos dia 7 e 14 após criação da ferida, sendo estas datas para coleta escolhidas por representarem pontos onde o tecido de granulação se encontra formado e a remodelação está em progresso, respectivamente (DE OLIVEIRA; DA CUNHA DIAS, 2012). No momento da coleta os animais foram submetidos a procedimento anestésico, para isso foi administrada como medicação pré-anestésica a associação de cloridrato de xilazina (Xilazin® 2% na dose de 1mg/kg, fabricante Syntec) e cloridrato de cetamina (Quetamina® 10% na dose de 15mg/kg, fabricante Vetnil) ambos por via intramuscular, após espera de tempo hábil (10min) foi administrado o anestésico tiopental 1g (Tiopental sódico® 1g na dose de 25mg/kg, fabricante Richmond, División Veterinaria S.A.) por via endovenosa como fármaco indutor da anestesia. Atingido o plano anestésico procedeu-se com a administração de Cloreto de Potássio (Cloreto de potássio® 19,1% na dose de 2,56 mEq/kg, fabricante Halexistar) também por via endovenosa, confirmando o óbito do animal após a parada cardiorrespiratória do mesmo. Com a confirmação do óbito, cada ferida foi removida em fragmento retangular e fixada em paraformaldeído a 4% por 24h para posterior processamento histológico.

4.9 PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO

Após fixação, as amostras foram desidratadas utilizando concentrações crescentes de etanol, submetidas à diafanização em xilol e inclusão em parafina, conforme protocolo proposto por Tolosa et al., (2003). Cortes com 5 μ m de espessura foram preparados e corados com hematoxilina e eosina para analisar o arranjo microscópico das feridas, durante processo de cicatrização. Para contagem de mastócitos, os cortes foram preparados da mesma forma, mas corados com azul de toluidina, segundo metodologia proposta por Santos et al. (2014).

4.10 QUANTIFICAÇÃO DA DENSIDADE DE VOLUME DO TECIDO DE GRANULAÇÃO

Para determinar a densidade de volume do tecido de granulação nas amostras, foi utilizada uma metodologia semelhante à de Bedoya et al. (2016): foram microfotografados as secções histológicas nos quais se identificaram as feridas, utilizando a objetiva de 4x. Essas imagens foram analisadas com o auxílio do software Image Pro Plus® versão 4.5, ao aplicar uma máscara sobre cada imagem, com 72 pontos em formato de cruz. Foram contabilizados apenas aqueles pontos cujos quadrantes superiores direitos tocavam o tecido de granulação. A densidade percentual do tecido de granulação foi calculada como sendo a razão entre o número de pontos que tocavam o tecido e o número de pontos totais que se encontravam sobre a pele.

4.11 QUANTIFICAÇÃO DE MASTÓCITOS NO SÍTIO DA LESÃO

O número de mastócitos presentes no sítio da lesão foi adotado como parâmetro para avaliar o processo de cicatrização. Com o avanço da regeneração da ferida, ocorre a desgranulação dos mastócitos, liberando mediadores químicos essenciais para a cicatrização, resultando assim em um menor número deste tipo de célula (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005). Para quantificar os mastócitos em cada ferida, foram capturadas seis imagens correspondentes a cada tratamento, com ampliação de 40x. Essas imagens foram coletadas nos dias 7 e 14 após o tratamento. As imagens foram analisadas utilizando o software ImageJ com o *plug in* “Cell Counter”, que possibilita a marcação das células desejadas e as contabiliza.

4.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As comparações foram realizadas entre as feridas controles e as dos tratamentos, quanto a taxa de contração da ferida e densidade de volume do tecido de granulação. As cobaias foram separadas em três grupos, com três animais cada, da seguinte maneira: Um dos grupos foi observado até o fim do experimento, para determinação da taxa de contração das feridas. Os outros dois grupos foram destinados para as coletas de tecido para análise histológica nos dias 7 e 14. Como cada animal possuía duas feridas que foram submetidas a cada tratamento, tem-se um N=6 para cada análise, de cada tratamento. Cada grupo foi analisado isoladamente, sem interferir nos resultados dos outros.

Para todas as análises estatísticas, o procedimento foi o mesmo: utilizou-se o software GraphPad InStat versão 3.05, Os dados foram submetidos a ANOVA seguida de teste de Tukey, usando um intervalo de confiança de $p \leq 0,05$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS ARGILAS

5.1.1 Distribuição do tamanho de partículas

As amostras A1 e A2 apresentaram distribuições do tamanho de partículas uniforme, conforme visto na Figura 2, seguindo o padrão encontrado na literatura (GAMOUDI; SRASRA, 2017). Os diâmetros médios encontrados foram, respectivamente, 35,86 μm e 32,47 μm . Já a amostra A3 apresentou uma distribuição irregular, com vários picos. Este fenômeno pode ser atribuído à aglomeração das partículas, provavelmente ocasionada pelo contato do material com a umidade do ambiente. Dessa forma, o diâmetro médio encontrado foi de 58,68 μm , mas a média real provavelmente é inferior a esta.

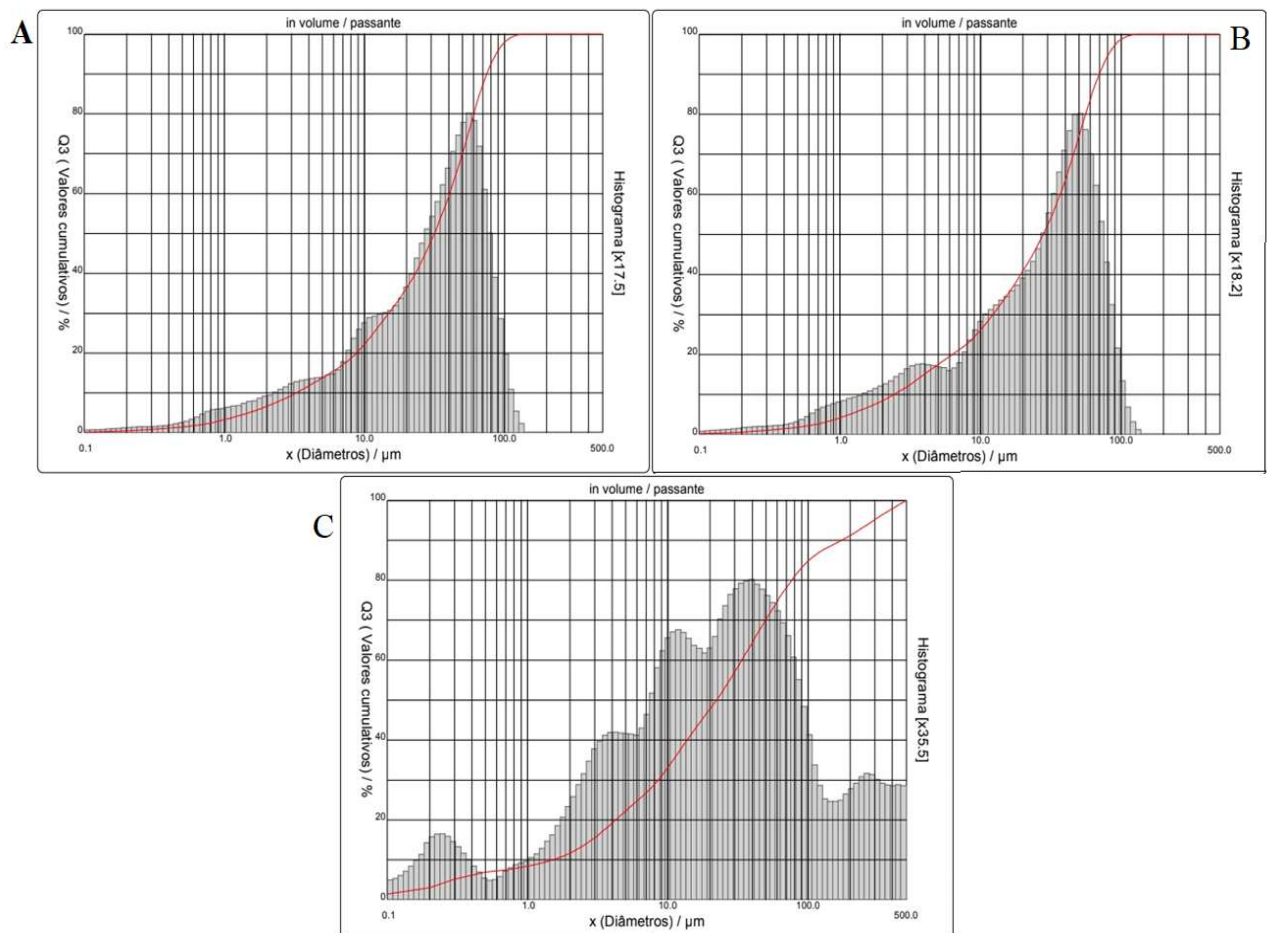


Figura 2 – Distribuição do tamanho de partículas das amostras (A): A1. (B): A2. (C): A3

Argilas que apresentam partículas com diâmetro médio até 70 μm atuam na microcirculação da pele, estimulando o fluxo sanguíneo, e não são ásperas ao toque, podendo ser utilizadas topicamente (DÁRIO et al., 2014). Sendo assim, todas as três amostras apresentavam-se aptas à aplicação tópica com ação anti-inflamatória, no que diz respeito ao tamanho dos grãos.

5.1.2 Análise mineralógica

Os difratogramas obtidos através da técnica de difração de raios-x se encontram a seguir:

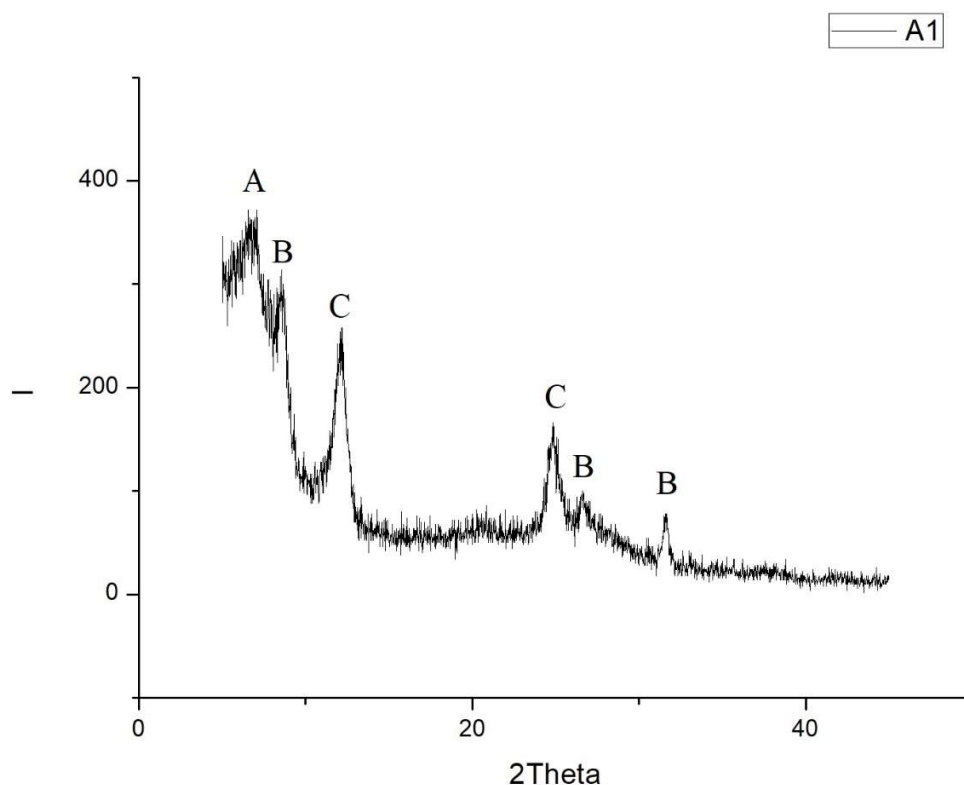


Figura 3: Difratograma da amostra A1, apresentando picos característicos de (A): Labradorita (B): Ilita (C): Caulinita

A amostra A1 apresentou principalmente os seguintes minerais argilosos em sua composição: Labradorita, Ilita e Caulinita. A labradorita não possui utilizações documentadas para desenvolvimento de formulações cosméticas. Entretanto, a ilita é utilizada em peloterapia, tratamento utilizando lamas medicinais, devido a sua capacidade de retenção de calor e alta CTC

(SÁNCHEZ; PARRAS; CARRETERO, 2002). A caulinita, por outro lado, é conhecida por sua elevada capacidade de absorção, o que leva a sua utilização em diversos medicamentos, como protetores gastrointestinais, antidiarreicos, e protetores dermatológicos (CARRETERO; POZO, 2009a).

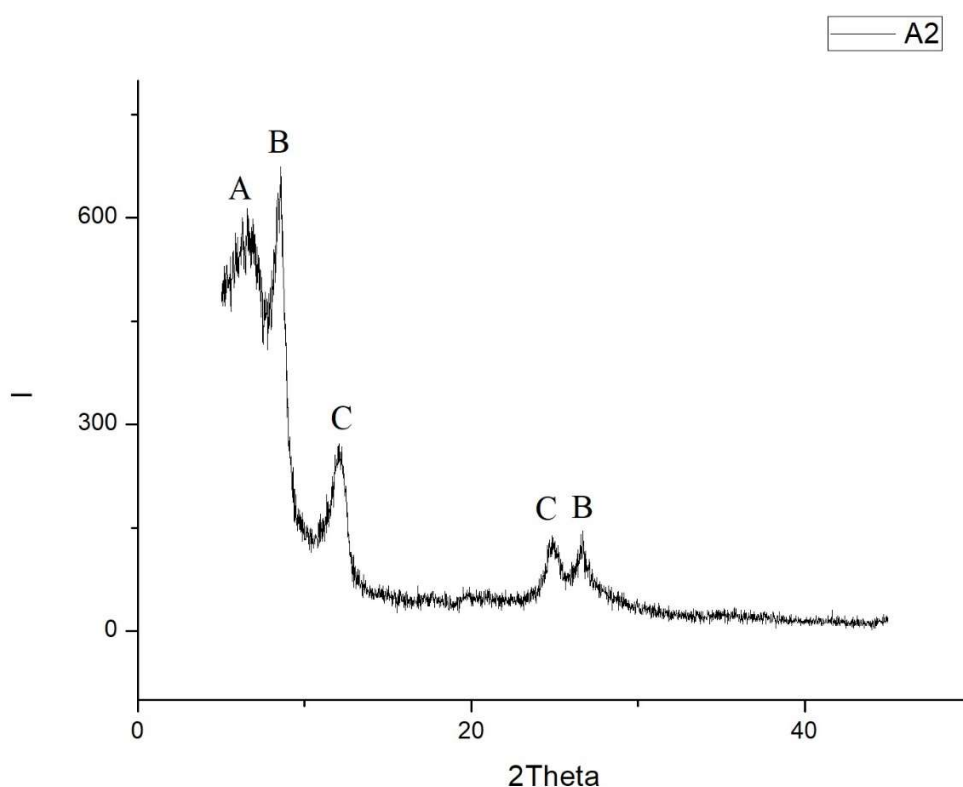


Figura 4: Difratograma da amostra A2, apresentando picos característicos de (A): Vermiculita (B): Paligorsquita (C): Caulinita

A amostra A2 também apresenta caulinita em sua composição, aliada à vermiculita e paligorsquita. A paligorsquita possui propriedades bem semelhantes às da caulinita, como alta capacidade de adsorção de impurezas e contaminantes, que contribui para a eficácia de formulações de uso cosmético e/ou medicinal. Existem preocupações quanto a suas aplicações tópicas, pois alguns estudos sugerem que a sua inalação tem potencial efeito carcinogênico, mas existem autores que afirmam que esse mineral não é tóxico nem perigoso para a saúde (CARRETERO, [s.d.]). A vermiculita, por sua vez, também apresenta alta capacidade de adsorção, sendo uma boa opção para

purificação de efluentes (TRI et al., 2018), mas não possui utilização frequente na indústria farmacêutica como integrante de formulações, provavelmente devido a casos nos quais esse mineral se encontrava contaminado com asbesto, causando problemas de saúde (VINIKOOR et al., 2010).

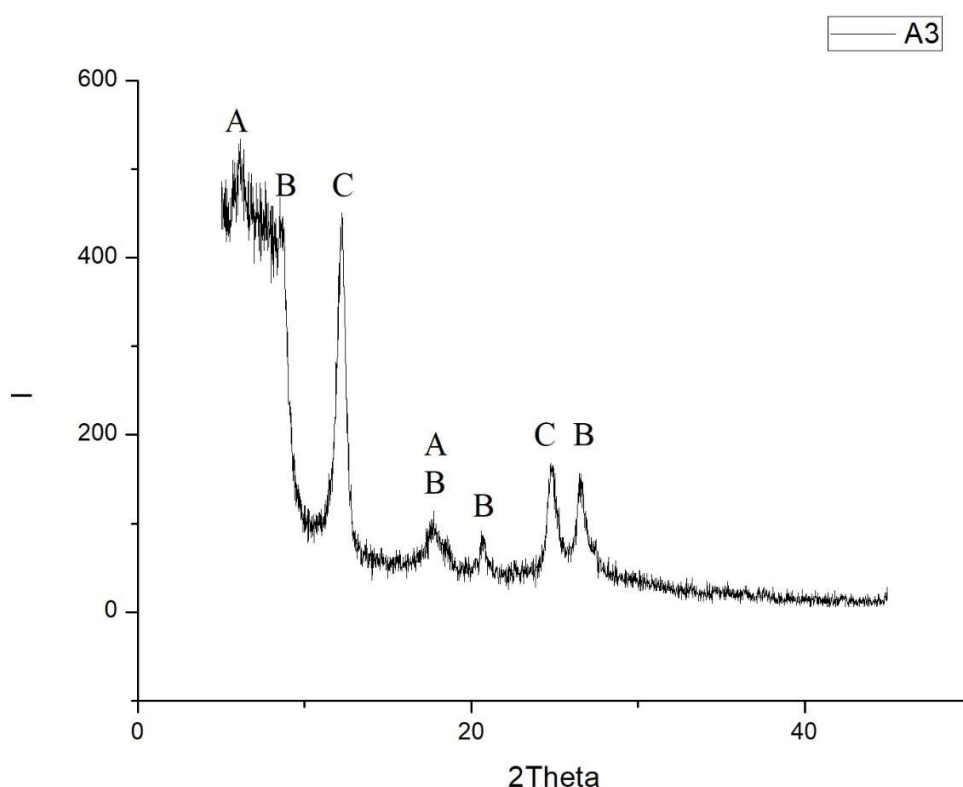


Figura 5: Difratograma da amostra A3, apresentando picos característicos de (A): Montmorilonita (B): Muscovita (C): Caulinita

Caulinita também é encontrada na amostra A3, ao lado de montmorilonita e muscovita. A montmorilonita é comumente utilizada em antiácidos, medicamentos contra diarreia e cremes dermatológicos por causa de sua alta capacidade de adsorção. A muscovita também encontra amplo uso em formulações cosméticas devido a sua alta refletância, conferindo brilho à pele (CARRETERO; POZO, 2009a).

5.1.3 Quantificação de bases trocáveis e capacidade de troca catiônica

Na tabela 1 pode-se observar os dados obtidos referentes às bases trocáveis e acidez potencial das amostras.

Tabela 1 – Bases trocáveis e Acidez Potencial das argilas

Característica (cmol _c /Kg)	Amostra		
	A1	A2	A3
Sódio	35,868	21,756	0,792
Potássio	0,679	1,608	3,652
Cálcio	11,57	14,65	2,665
Fósforo	0,065	0,133	0,068
Magnésio	2,35	5,1	19,52
Acidez Potencial	1,605	1,745	2,005
CTC Efetiva	52,072	44,859	28,634

As análises realizadas revelaram composições semelhantes entre A1 e A2, e bem diferentes quando comparadas com a amostra comercial A3. Nota-se que, embora a capacidade de troca catiônica (CTC) da amostra comercial seja inferior à encontrada para as amostras naturais, esta apresenta uma alta quantidade de magnésio. Esse resultado era esperado, já que esta argila é comercializada com a classificação “Verde”, caracterizada pela quantidade elevada de óxidos de Cálcio, Magnésio e Potássio (VELASCO et al., 2016). Por outro lado, o fato das amostras naturais apresentarem alta capacidade de troca indica a viabilidade de sua utilização tópica, pois esta característica promove uma maior mobilidade de espécies químicas, agindo tanto na remoção de impurezas da pele quanto na entrega de espécies benéficas (TATEO; SUMMA, 2007).

Avaliando os resultados obtidos, optou-se por utilizar a argila A2 como base para produção da lama salina. Apesar de apresentar uma CTC efetiva inferior à amostra A1, é possível ver que as concentrações de magnésio e cálcio naturais da amostra A2 são maiores do que as encontradas na amostra A1, o que auxilia nas funções de reparo e manutenção da pele (DENDA et al., 1999).

5.2 CARACTERIZAÇÃO DA ÁGUA-MÃE

O resultado da análise da água-mãe se encontra descrito na Tabela 2

Tabela 2 – Resultados da análise físico-química da água-mãe

Característica	Valor
pH	7,2
Condutividade Elétrica (dS/m)	679
Potássio (g/L)	135,40
Sódio (g/L)	4,25
Cálcio (g/L)	0,82
Magnésio (g/L)	9,36
Cloro (g/L)	154,57

Embora a composição da água utilizada seja diferente da encontrada no Mar Morto, os elementos encontrados são de grande interesse para uso tópico. A presença de magnésio favorece o processo de cicatrização, pois hidrata e potencializa as funções de barreira da pele (PROKSCH et al., 2005), e a alta quantidade de potássio também pode contribuir com a recuperação das áreas lesionadas, já que estudos mostram a eficácia de aplicações tópicas de permanganato de potássio no tratamento de úlceras diabéticas (DELGADO-ENCISO et al., 2018), e hidróxido de potássio em casos de molusco contagioso (TEIXIDÓ et al., 2018).

5.3 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA DAS FERIDAS

Foi possível observar a evolução macroscópica do processo de cicatrização, notando-se assim a existência de possível influência da mistura de argila e água-mãe na velocidade do mesmo. Na figura 6 observa-se as feridas ao longo do experimento, em escala macroscópica, de acordo com o tratamento aplicado.

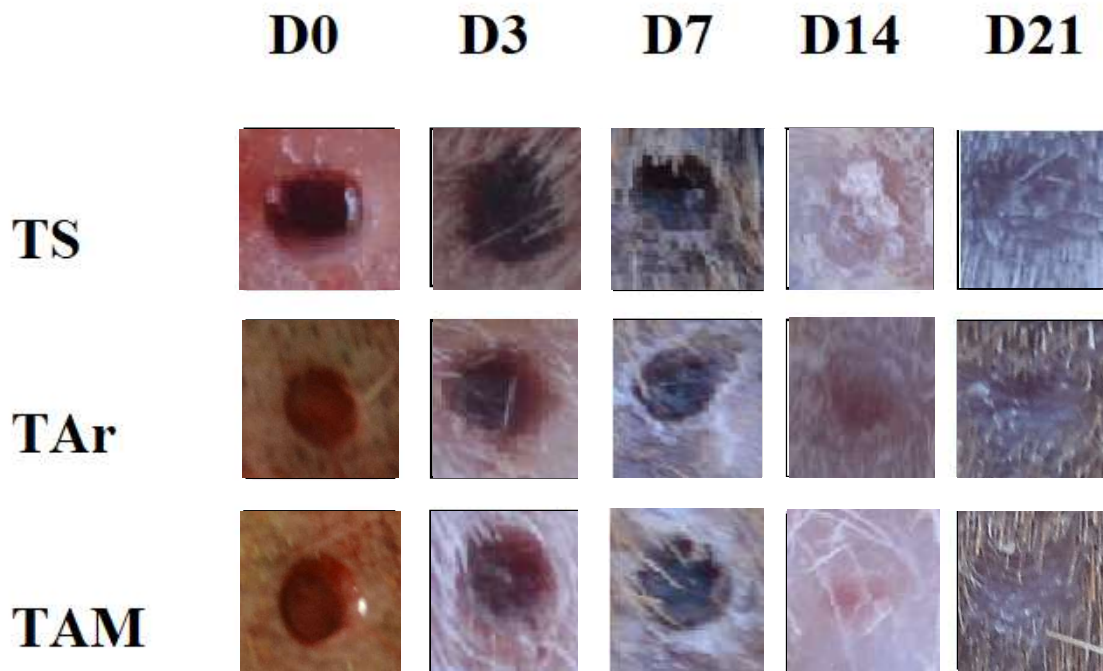


Figura 6 – Cicatrização das feridas ao longo do experimento, de acordo com os tratamentos. (TS): Soro fisiológico. (TAr): Lama comum. (TAM): Lama Salina. (D0): Dia 0. (D3): Dia 3. (D7): Dia 7. (D14): Dia 14. (D21): Dia 21.

Comparando a retração das margens das feridas, podemos constatar que aquelas que foram tratadas com a lama salina apresentam bordas mais regulares, mais evidente na imagem do dia 7. Nos dias 14 e 21, o padrão diferenciado continua evidente, com a epiderme bem mais uniforme nas feridas tratadas com a lama salina.

5.4 TAXA DE CONTRAÇÃO DAS FERIDAS

Os valores das taxas de contração das feridas se encontram na tabela 3. Observou-se uma maior taxa de contração nas feridas tratadas com a lama salina, resultado de um processo de cicatrização acelerado. Esse fenômeno está associado principalmente à ação do magnésio, como descrito por Alimohammad et al. (2012), que acelera o processo de reparo da pele, e à ação do

potássio, que também possui contribuição significativa para fenômenos de cicatrização (DELGADO-ENCISO et al., 2018).

Tabela 3 – Taxa de contração da ferida por tratamentos ao longo dos dias.

Dia	Tratamentos		
	Soro fisiológico 0,9%	Argila	Argila + Água mãe
3	11,27 ± 8,49 ^a	15,28 ± 9,66 ^a	30,93 ± 8,74 ^b
7	32,99 ± 11,95 ^a	32,88 ± 11,97 ^a	52,28 ± 10,71 ^b
14	63,83 ± 16,78 ^a	65,46 ± 11,38 ^a	82,08 ± 10,02 ^b
21	89,05 ± 3,89	88,09 ± 4,61	97,47 ± 1,64

(a-b) Taxa de contração da ferida, em porcentagem. Teste de Tukey, $p < 0,01$

5.4 AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA DAS FERIDAS

A análise histológica das feridas confirmou os resultados observados macroscopicamente. Na figura 7 é possível visualizar o tecido de granulação nas feridas no dia 7, nos diferentes grupos.

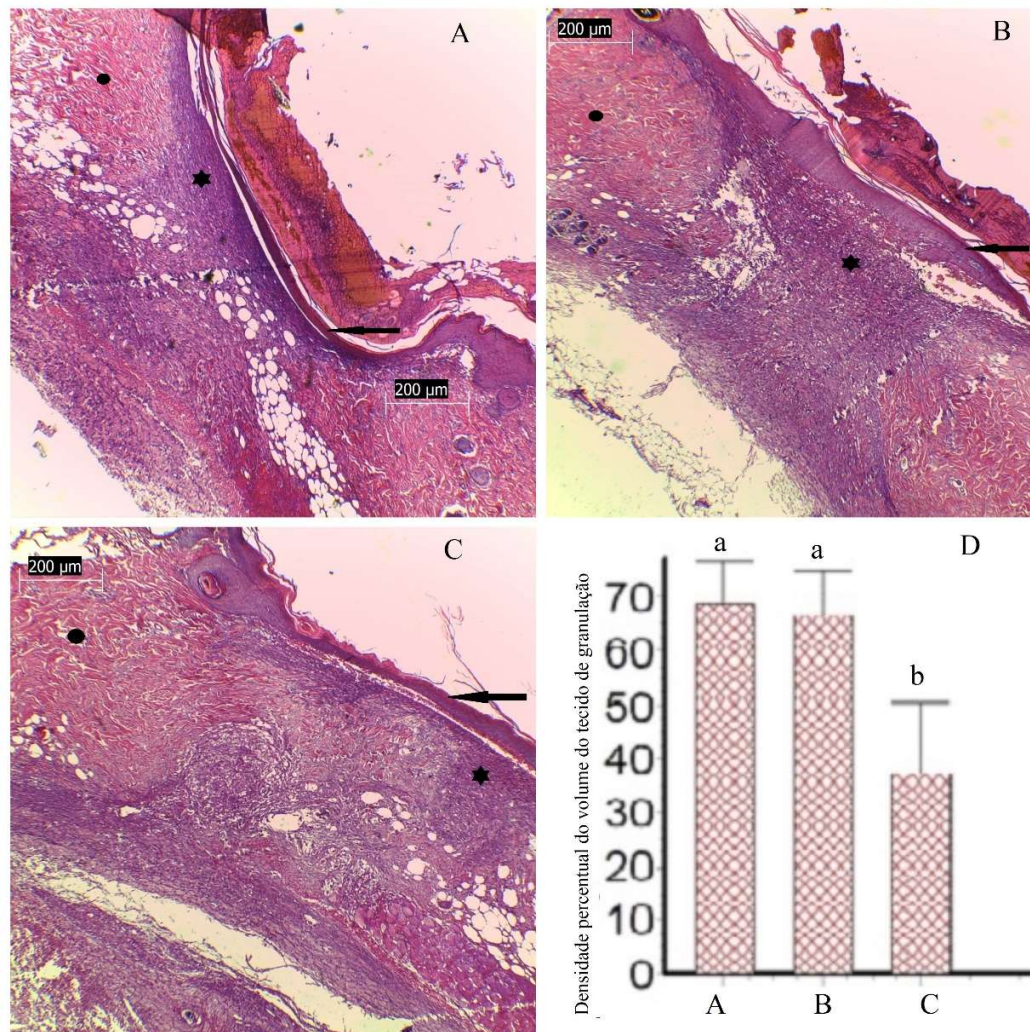


Figura 7 – Seções histológicas das feridas no 7º dia de tratamento, onde (A): Ferida tratada com soro fisiológico. (B) : Ferida tratada com lama comum. (C): Ferida tratada com Lama Salina. (D): Densidade Percentual do volume do tecido de granulação (★) Tecido de granulação. (→): Epiderme em regeneração. (●): Derme normal. (a-b) Densidade de volume do tecido de granulação, em porcentagem. Teste de Tukey $p < 0,001$.

Observa-se que, nas feridas tratadas com soro fisiológico e argila comum o processo de cicatrização ainda está em seu início, com uma grande quantidade de tecido de granulação, identificado pela coloração mais arroxeada e escura, e a camada da epiderme (borda superior das feridas, nas imagens) ainda se encontra altamente irregular. Além disso, o coágulo formado durante a primeira etapa da cicatrização, a homeostase, ainda se encontra cobrindo o sítio da lesão,

sugerindo que a fase inflamatória ainda está em seu início (MANDELBAUM; PAMPADO DI SANTIS; SANT'ANA MANDELBAUM, 2003). Por outro lado, na ferida tratada com a argila enriquecida com água-mãe, já podemos encontrar o tecido de granulação sendo substituído pelo tecido saudável, quebrando a continuidade da área roxa da ferida, ou seja, a área danificada se encontra em processo de reorganização, voltando à sua configuração saudável. Além disso, ao analisar a epiderme, podemos perceber uma camada mais uniforme, em um estágio de regeneração bem mais avançado, e a ausência do coágulo observado nas outras duas feridas.

Mais uma vez, esses fenômenos podem ser associados à ação do potássio e do magnésio. A presença de potássio no sítio da lesão influencia a atividade dos canais de potássio das membranas celulares, e estimulam a produção de colágeno e de fatores de crescimento endotelial vascular, elementos importantes para o processo regenerativo (KIM; CHOI; KANG, 2010). Já o magnésio está diretamente ligado a processos metabólicos e síntese de proteínas, proliferação e migração de células, fenômenos que ocorrem já no início da cicatrização e essenciais para o reparo do tecido (COGER et al., 2019).

Na figura 8 é possível visualizar o tecido de granulação nas feridas no dia 14, nos diferentes grupos.

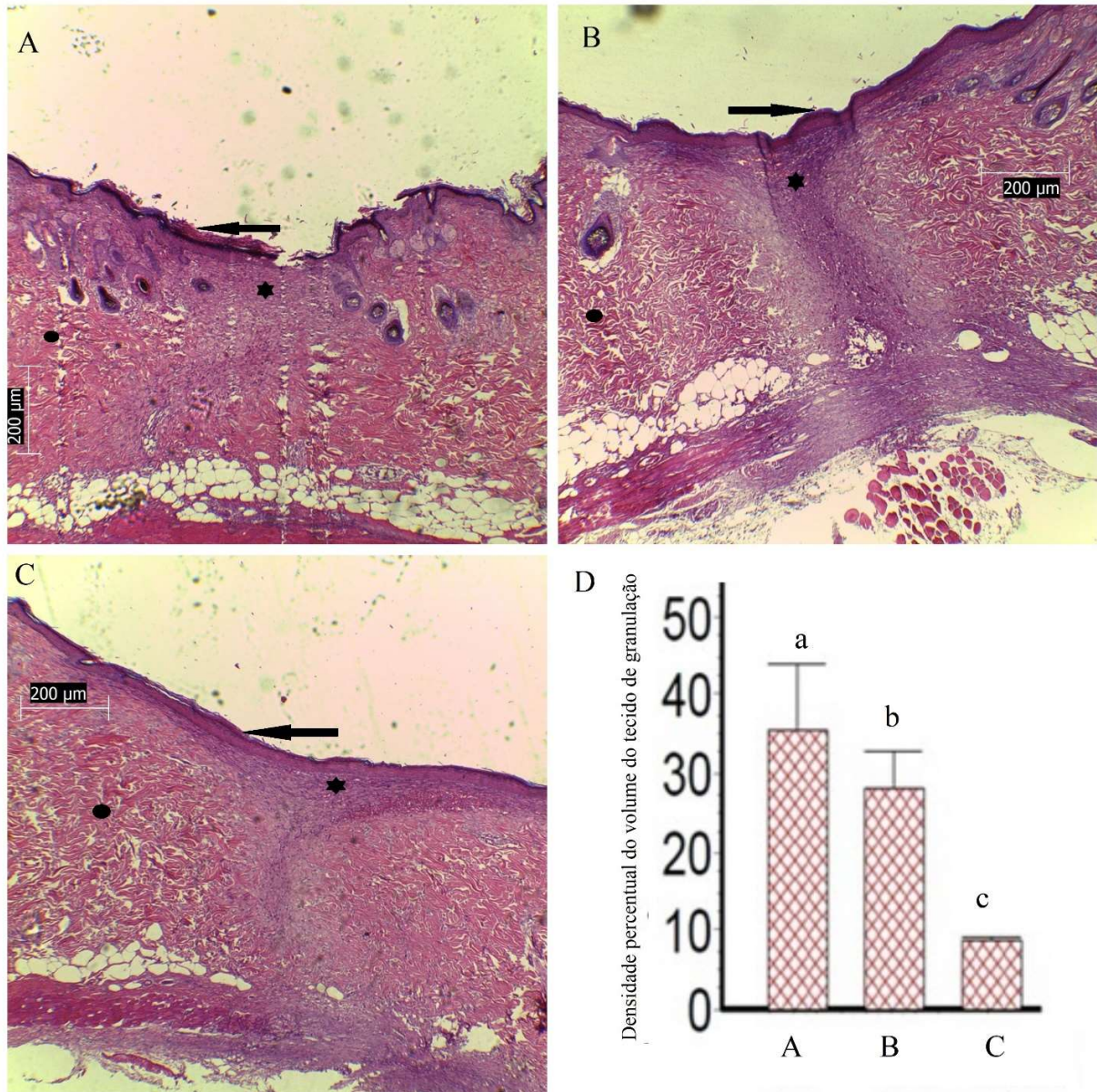


Figura 8 – Seções histológicas das feridas no 7º dia de tratamento, onde (A): Ferida tratada com soro fisiológico. (B) : Ferida tratada com lama comum. (C): Ferida tratada com Lama Salina. (D): Densidade Percentual do volume do tecido de granulação (★) Tecido de granulação. (→): Epiderme em regeneração. (●): Derme normal. (a-b) Densidade de volume do tecido de granulação, em porcentagem. Teste de Tukey $p < 0,05$. (a-c) Densidade de volume do tecido de granulação, em porcentagem. Teste de Tukey $p < 0,001$.

Mais uma vez, observamos a epiderme irregular nas feridas tratadas com soro fisiológico e argila comum, em conjunto com uma maior presença de tecido de granulação, enquanto a ferida tratada com lama salina apresenta a epiderme praticamente uniforme, e menor quantidade do tecido de granulação, evidenciando a recuperação quase total da pele lesionada, quando submetida ao tratamento com a argila enriquecida.

5.5 DENSIDADE DE VOLUME DO TECIDO DE GRANULAÇÃO

Os dados obtidos através do processamento das imagens das feridas coradas com hematoxilina e eosina estão descritos na tabela 4:

Tabela 4 – Densidade percentual de volume do tecido de granulação.

Dia	Solução salina	Tratamentos	
		Argila	Argila + Água mãe
7	68,9255 ± 7,654 ^a	66,2445 ± 8,648 ^a	36,679 ± 13,519 ^c
14	35,487 ± 8,257 ^a	28,3506 ± 4,337 ^b	8,7583 ± 0,3648 ^c

(a-b) Teste de Tukey $p < 0,05$. (a-c) Teste de Tukey $p < 0,001$.

A influência da argila enriquecida no tratamento das lesões promoveu uma redução significativa do tecido de granulação nas feridas tratadas com a lama salina. Esses resultados estão de acordo com as observações de Abu-Al-Bas (2012), que também verificou um maior nível de organização do tecido nas feridas tratadas com lama salina do Mar Morto.

5.6 QUANTIFICAÇÃO DE MASTÓCITOS

A quantidade média de mastócitos encontrados nos arredores das lesões se encontra descrita na tabela 5:

Tabela 5 – Número de mastócitos na feridas durante a cicatrização.

Dia	Solução salina	Tratamentos	
		Argila	Argila + Água mãe

7	$54,83 \pm 33,891^a$	$46 \pm 12,522$	$20,167 \pm 9,579^b$
14	$10,83 \pm 4,119$	$9,667 \pm 9,158$	$3 \pm 2,191$

(a-b) Teste de Tukey, $p < 0,01$

Durante os sete primeiros dias do tratamento, observa-se uma influência da argila e água-mãe sobre o processo inflamatório, reduzindo o número das células características desse fenômeno que podem ser detectadas nas imediações da lesão. Isso ocorre devido à ação do cálcio e magnésio extracelulares, trazidos pelo tratamento, que estimula a migração celular até o sítio da ferida e acelera a cicatrização (GRZESIAK; PIERSCHBACHER, 1995). Quando comparado o tratamento de lama salina com o tratamento de argila comum, essa significância estatística não é verificada, no intervalo de confiança escolhido. Isso é devido à presença de minerais argilosos com propriedades anti-inflamatórias, como a caulinita e paligorskita, na amostra de solo escolhida (CARRETERO; POZO, 2009a). Na figura 9 verifica-se imagens de sítios próximos às lesões, no sétimo dia após cirurgia.

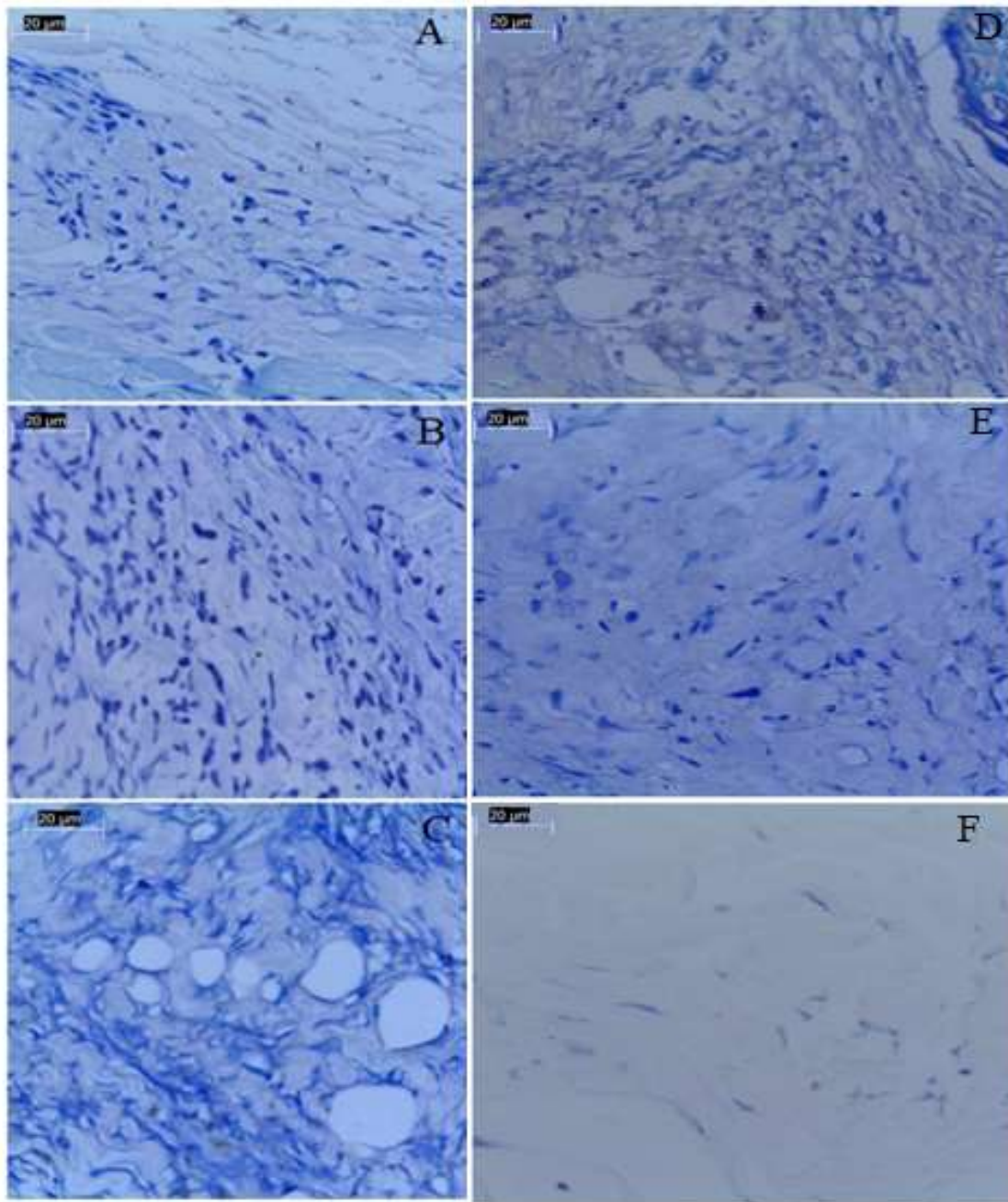


Figura 9 – Cortes de feridas cirúrgicas corados com azul de toluidina para contagem de células inflamatórias, ampliação de 40x. (A): Ferida tratada com soro fisiológico, sétimo dia. (B): Ferida tratada com lama comum, sétimo dia. (C): Ferida tratada com Lama Salina, sétimo dia. (D): Ferida tratada com soro fisiológico, décimo quarto dia (E) : Ferida tratada com lama comum, décimo quarto dia. (F): Ferida tratada com Lama Salina, décimo quarto dia.

Aos 14 dias após o ferimento, a fase inflamatória geralmente já está encerrada, então a diminuição do número de células características é esperado, como pode ser visto na figura (BALBINO; PEREIRA; CURI, 2005).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho, uma amostra de argila foi enriquecida com água-mãe, para criar uma lama hipersalina, e aplicada na cicatrização de feridas cirúrgicas.

- As argilas da mesorregião oeste potiguar apresentam alguns minerais úteis para aplicação medicinal ou cosmética.
- As feridas que receberam a lama hipersalina apresentaram uma recuperação acelerada, quando comparadas com a ferida controle e a tratada com lama comum.
- Esse efeito pode ser observado tanto em escala macroscópica, com contração mais rápida das bordas das feridas, quanto em escala microscópica, verificando uma menor densidade de tecido de granulação, menor quantidade de células inflamatórias e melhor estado da epiderme.
- As feridas tratadas com a lama salina também apresentaram um menor número de células inflamatórias.
- A influência da lama comum, quando comparada com a ferida controle, não foi significativa, indicando que a água-mãe contribuiu de maneira predominante para o efeito cicatrizante.
- A água residual das salinas apresenta potencial para utilização no desenvolvimento de novos produtos medicinais e cosméticos de uso tópico.

7 SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

- Desenvolver produtos medicinais e cosméticos utilizando a lama salina, ou água-mãe, e avaliar seus efeitos.
- Aplicar a lama salina no tratamento de doenças dermatológicas e articulares, em busca de tratamentos alternativos.
- Tratar as argilas com plasma, a fim de alterar o comportamento da superfície e/ou adicionar espécies benéficas, e analisar seu comportamento.

8 BIBLIOGRAFIA

ABDEL-FATTAH, A.; PINGITORE, N. E. Low levels of toxic elements in Dead Sea black mud and mud-derived cosmetic products. **Environmental Geochemistry and Health**, [s. l.], v. 31, n. 4, p. 487–492, 2009.

ABU-AL-BAS, M. A. Histological Evaluation of the Healing Properties of Dead Sea Black Mud on Full-thickness Excision Cutaneous Wounds in BALB/c Mice. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, [s. l.], v. 15, n. 7, p. 306–315, 2012. Disponível em: <<http://www.scialert.net/abstract/?doi=pjbs.2012.306.315>>

AHMAD, N.; BADDOUR, R. E. A review of sources, effects, disposal methods, and regulations of brine into marine environments. **Ocean and Coastal Management**, [s. l.], v. 87, p. 1–7, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2013.10.020>>

ALIMOHAMMAD, A. et al. A study of the effect of magnesium hydroxide on the wound healing process in rats. **Medical Journal of Islamic World Academy of Sciences**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 165–170, 2012.

AYHAN, S. **Enhanced wound healing using collagenase in guinea pig**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/296779827>>.

BALBINO, C. A.; PEREIRA, L. M.; CURI, R. Mechanisms involved in wound healing: A revision. **Revista Brasileira de Ciencias Farmaceuticas/Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 41, n. 1, p. 27–51, 2005.

BAWAB, A. Al et al. The Dead Sea Mud and Salt : A Review of Its Characterization , Contaminants , and Beneficial Effects The Dead Sea Mud and Salt : A Review of Its Characterization , Contaminants , and Beneficial Effects. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, [s. l.], v. 305, p. 012003, 2018.

BERGAYA, F.; THENG, B. K. G.; LAGALY, G. **Handbook of Clay Science**. [s.l.: s.n.]. v. 1 Disponível em: <<http://books.google.com/books?id=uVbam9Snw5sC&pgis=1>>

BERNARDO, A. F. C.; DOS SANTOS, K.; DA SILVA, D. P. PELE: ALTERAÇÕES ANATÔMICAS E FISIOLÓGICAS DO NASCIMENTO À MATURIDADE. **Revista Saúde em Foco**, [s. l.], n. 11, 2019.

BLAIR, T. C.; MCPHERSON, J. G. Grain-size and textural classification of coarse

sedimentary particles. **Journal of Sedimentary Research**, [s. l.], v. 69, n. 1, p. 6–19, 1999.

CARRETERO, M. I. **Clay minerals and their beneficial effects upon human health. A review**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/clay>. Acesso em: 22 ago. 2018.

CARRETERO, M. I.; POZO, M. Clay and non-clay minerals in the pharmaceutical and cosmetic industries Part II. Active ingredients. [s. l.], 2009. a. Disponível em: <<https://pdfs.semanticscholar.org/85cf/e3b482875d087d1754a409d62edcd5b111f1.pdf>>. Acesso em: 22 ago. 2018.

CARRETERO, M. I.; POZO, M. Clay and non-clay minerals in the pharmaceutical industry Part I. Excipients and medical applications. [s. l.], 2009. b. Disponível em: <<https://pdfs.semanticscholar.org/73c3/0194c0f249f3cba6944ccb34f5adff39c82f.pdf>>. Acesso em: 22 ago. 2018.

COGER, V. et al. Tissue Concentrations of Zinc, Iron, Copper, and Magnesium During the Phases of Full Thickness Wound Healing in a Rodent Model. **Biological Trace Element Research**, [s. l.], v. 191, n. 1, p. 167–176, 2019.

DÁRIO, G. M. et al. Evaluation of the healing activity of therapeutic clay in rat skin wounds. **Materials Science and Engineering: C**, [s. l.], v. 43, p. 109–116, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2014.06.024>>

DE OLIVEIRA, I. V. P. M.; DA CUNHA DIAS, R. V. Cicatrização de feridas: Fases e fatores de influência. **Acta Veterinaria Brasilica**, [s. l.], v. 6, n. 4, p. 267–271, 2012.

DELGADO-ENCISO, I. et al. Topical 5% potassium permanganate solution accelerates the healing process in chronic diabetic foot ulcers. **Biomedical Reports**, [s. l.], v. 8, n. 2, p. 156–159, 2018.

DENDA, M. et al. Some magnesium salts and a mixture of magnesium and calcium salts accelerate skin barrier recovery. **Archives of Dermatological Research**, [s. l.], v. 291, n. 10, p. 560–563, 1999. Disponível em: <<https://link-springer-com.ez13.periodicos.capes.gov.br/content/pdf/10.1007/s004030050454.pdf>>. Acesso em: 22 ago. 2018.

EMBRAPA. **Manual de Análises de Solos**. [s.l.] : Embrapa, 1997.

FAVERO, J. da S. et al. Physical and chemical characterization and method for the decontamination of clays for application in cosmetics. **Applied Clay Science**, [s. l.], v. 124–125, p. 252–259, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.clay.2016.02.022>>

FÉLIX, D. et al. BREVE REVISÃO SOBRE A EVOLUÇÃO HISTÓRICA DA ATIVIDADE SALINEIRA NO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE (BRASIL) Brief characterization about the historical evolution of the salt production activities in Rio Grande do Norte State's (Brazil). **Sociedade & Natureza**, [s. l.], v. 25, n. 1, p. 21–34, 2013.

FLUSSER, D. et al. Therapy With Mud Compresses for Knee Osteoarthritis Comparison of Natural Mud Preparations With Mineral-Depleted Mud. [s. l.], 2002. Disponível em: <http://www.shlomi.codish.net/articles/mud_kneeOA_JClinRHeum.pdf>. Acesso em: 15 ago. 2018.

GAMOUDI, S.; SRASRA, E. Characterization of Tunisian clay suitable for pharmaceutical and cosmetic applications. **Applied Clay Science**, [s. l.], v. 146, n. January, p. 162–166, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.clay.2017.05.036>>

GOMES, C. de S. F.; SILVA, J. B. P. Minerals and clay minerals in medical geology. **Applied Clay Science**, [s. l.], n. 36, p. 4–21, 2007. Disponível em: <https://ac-els-cdn.ez13.periodicos.capes.gov.br/S0169131706001426/1-s2.0-S0169131706001426-main.pdf?_tid=62b60ad3-f0bc-4488-8937-cd4aa976637a&acdnat=1534245859_2543ab1a581a12bb238b3d8cadde5e53>. Acesso em: 14 ago. 2018.

GRZESIAK, J. J.; PIERSCHBACHER, M. D. Shifts in the concentrations of magnesium and calcium in early porcine and rat wound fluids activate the cell migratory response. **Journal of Clinical Investigation**, [s. l.], v. 95, n. 1, p. 227–233, 1995.

HARARI, M. Beauty is not only Skin Deep: the Dead Sea features and Cosmetics. [s. l.], v. 5, n. 1, p. 75–88, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5209/rev_ANHM.2012.v5.n1.39171>. Acesso em: 14 ago. 2018.

HODAK, E. et al. Climatotherapy at the Dead Sea is a remittive therapy for psoriasis: Combined effects on epidermal and immunologic activation. **Journal of the American Academy of Dermatology**, [s. l.], v. 49, n. 3, p. 451–457, 2003. Disponível em: <https://ac-els-cdn.ez13.periodicos.capes.gov.br/S0190962203009162/1-s2.0-S0190962203009162-main.pdf?_tid=287ac844-0ef5-4879-b464-48d30fc8ab84&acdnat=1534295506_8f46ab8eb95cfc7fcf78cc8c8712ed39>. Acesso em: 14 ago. 2018.

KATZ, U. et al. Scientific Evidence of the Therapeutic Effects of Dead Sea Treatments: A

Systematic Review. **YSARH**, [s. l.], v. 42, p. 186–200, 2012. Disponível em: <https://ac-els-cdn.ez13.periodicos.capes.gov.br/S0049017212000303/1-s2.0-S0049017212000303-main.pdf?_tid=7d7fae6f-506d-47be-a593-beeaa3d12663&acdnt=1531937761_2356950ff7118e930af0e5a96ecbb962>. Acesso em: 18 jul. 2018.

KIM, S.; CHOI, T. H.; KANG, D. W. The Effect of Potassium Chloride in Rat Wound Healing. **Plastic and Reconstructive Surgery**, [s. l.], v. 126, n. 4, p. 95–96, 2010.

KUMAR, V. **Robbins & cotran - patologia bases patológicas das doenças 8a edição**. [s.l.] : Elsevier Brasil, 2010. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=2O_jYLsNxRYC>

MA'OR, Z. et al. **Dead Sea Mineral-Based Cosmetics-Facts And Illusions**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.saltskrub.dk/omdeadsea.pdf>>. Acesso em: 15 ago. 2018.

MANDELBAUM, S. H.; PAMPADO DI SANTIS, É.; SANT'ANA MANDELBAUM, M. H. Cicatrização: Conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte I. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, [s. l.], v. 78, n. 5, p. 525–542, 2003.

MORAES, J. D. D. et al. Clay minerals: Properties and applications to dermocosmetic products and perspectives of natural raw materials for therapeutic purposes - A review. **International Journal of Pharmaceutics**, [s. l.], v. 534, n. 1–2, p. 213–219, 2017. Disponível em: <https://ac-els-cdn.ez13.periodicos.capes.gov.br/S0378517317310013/1-s2.0-S0378517317310013-main.pdf?_tid=c6c83246-8091-418a-b912-dd259e7f14e0&acdnt=1534246152_ba5a61e8b7f161e1c03533f0dbc6ff55>. Acesso em: 14 ago. 2018.

NISSENBAUM, A.; RULLKÖTTER, J.; YECHIELI, Y. ARE THE CURATIVE PROPERTIES OF “BLACK MUD” FROM THE DEAD SEA DUE TO THE PRESENCE OF BITUMEN (ASPHALT) OR OTHER TYPES OF ORGANIC MATTER? [s. l.], 2002. Disponível em: <<https://link-springer-com.ez13.periodicos.capes.gov.br/content/pdf/10.1023/A:1020559717754.pdf>>. Acesso em: 23 jul. 2018.

OLIVER, V. L. et al. Evaluation of Pain Assessment Techniques and Analgesia Efficacy in a Female Guinea Pig (*Cavia porcellus*) Model of Surgical Pain. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science : JAALAS**, [s. l.], v. 56, n. 4, p. 425–435, 2017.

Disponível

em:

<<https://www.ingentaconnect.com/contentone/aalas/jaalas/2017/00000056/00000004/art00010?crawler=true&mimetype=application/pdf>>. Acesso em: 21 jun. 2019.

OTUKI, M. F. **Atividade Antiinflamatória Tópica de Extratos e Triterpenos Isolados da *Protium Kleinii***. 2004. [s. l.], 2004.

PAGANELA, J. C. et al. Abordagem clínica de feridas cutâneas em equinos. **Revista Portuguesa De Ciências Veterinárias**, [s. l.], n. 104, p. 13–18, 2008. Disponível em: <http://www.fmv.ulisboa.pt/spcv/PDF/pdf12_2009/13-18.pdf>

POENSIN, D. et al. Effects of mud pack treatment on skin microcirculation. **Joint Bone Spine**, [s. l.], v. 70, n. 5, p. 367–370, 2003.

PROKSCH, E. et al. Bathing in a magnesium-rich Dead Sea salt solution improves skin barrier function, enhances skin hydration, and reduces inflammation in atopic dry skin. **International Journal of Dermatology**, [s. l.], v. 44, n. 2, p. 151–157, 2005.

SÁNCHEZ, C. J. .; PARRAS, J. .; CARRETERO, M. I. . The effect of maturation upon the mineralogical and physicochemical properties of illitic-smectitic clays for pelotherapy. **Clay Minerals**, [s. l.], v. 37, n. 3, p. 457–463, 2002.

SANTOS, J. A. A. et al. Avaliação histomorfométrica do efeito do extrato aquoso de urucum (norbixina) no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [s. l.], v. 16, n. 3, p. 637–643, 2014.

SCHMITZ, S. et al. Comparison of Physiological Parameters and Anaesthesia Specific Observations during Isoflurane, Ketamine-Xylazine or Medetomidine-Midazolam-Fentanyl Anaesthesia in Male Guinea Pigs. [s. l.], 2016. Disponível em: <<https://pdfs.semanticscholar.org/791f/97b036ac5e5aec7bc098411eaae64f50055c.pdf>>. Acesso em: 21 jun. 2019.

SUKENIK, S. et al. Sulphur bath and mud pack treatment for rheumatoid arthritis at the Dead Sea area. **Annals of the Rheumatic Diseases**, [s. l.], v. 49, p. 99–102, 1990. Disponível em: <<https://www.ncbi-nlm-nih.gov.ez13.periodicos.capes.gov.br/pmc/articles/PMC1003986/pdf/annrheumd00436-0031.pdf>>. Acesso em: 18 jul. 2018.

TATEO, F.; SUMMA, V. Element mobility in clays for healing use. **Applied Clay Science**, [s. l.], v. 36, n. 1–3, p. 64–76, 2007.

TEIXIDÓ, C. et al. Efficacy and safety of topical application of 15% and 10% potassium hydroxide for the treatment of Molluscum contagiosum. **Pediatric Dermatology**, [s. l.], v. 35, n. 3, p. 336–342, 2018. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/pde.13438>>

TRI, N. N. et al. Insight into the adsorption of chloramphenicol on a vermiculite surface. **Chemical Physics Letters**, [s. l.], v. 699, p. 107–114, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cplett.2018.03.040>>

VELASCO, M. V. R. et al. Characterization and Short-Term clinical study of clay facial mask. [s. l.], v. 37, n. 1, p. 1–6, 2016.

VINIKOOR, L. C. et al. Exposure to asbestos-containing vermiculite ore and respiratory symptoms among individuals who were children while the mine was active in Libby, Montana. **Environmental Health Perspectives**, [s. l.], v. 118, n. 7, p. 1033–1038, 2010.

VISERAS, C. et al. Uses of clay minerals in semisolid health care and therapeutic products. **Applied Clay Science**, [s. l.], v. 36, n. 1–3, p. 37–50, 2007.

YATES, C. C. et al. **The effect of multifunctional polymer-based gels on wound healing in full thickness bacteria-contaminated mouse models**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2034502/pdf/nihms-28176.pdf>>. Acesso em: 21 jun. 2019.