

# EFEITO DO PLASMA FRIO ATMOSFÉRICO ASSOCIADO AO TRATAMENTO PERIODONTAL NA GENGIVOESTOMATITE CRÔNICA FELINA: ESTUDO PILOTO

Guilherme Ramon Vieira da Silva<sup>1</sup> - [guilherme.silva95163@alunos.ufersa.edu.br](mailto:guilherme.silva95163@alunos.ufersa.edu.br) | (88) 98161-8271

Samuel Ferreira de França Silvestre<sup>2</sup> - [samuel.silvestre@alunos.ufersa.edu.br](mailto:samuel.silvestre@alunos.ufersa.edu.br) | (84) 99830-2425

<sup>1</sup>Graduando em Medicina Veterinária, da Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFRSA, 7º período, Mossoró/RN, Brasil.

<sup>2</sup>Graduando em Medicina Veterinária, da Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFRSA, 3º período, Mossoró/RN, Brasil.

## RESUMO

O Plasma Frio Atmosférico (CAP) produz espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ERONs), úteis em aplicações biomédicas, como desinfecção e modulação da cicatrização. A Gengivoestomatite Crônica Felina (GCF) é uma inflamação persistente da cavidade oral em felinos, caracterizada por dor intensa, úlceras e outros sintomas debilitantes. O tratamento convencional nem sempre é eficaz. O presente estudo piloto utilizou gatos diagnosticados com GCF (n=5) em um protocolo de cinco etapas, aplicando CAP em regiões afetadas após tratamento periodontal. Comparado a um gato controle que não recebeu CAP, os resultados mostraram redução significativa na halitose e no índice de atividade relacionado à inflamação oral, aumento no escore de condição corporal (ECC), melhora nos aspectos relacionados à qualidade de vida e efetiva cicatrização tecidual. O CAP demonstrou ser uma alternativa promissora no manejo terapêutico adjuvante de gatos com GCF.

**Palavras-chave:** Plasma não-térmico, Odontologia, Medicina Felina.

## INTRODUÇÃO

O plasma frio atmosférico (CAP) é caracterizado como um gás inerte ionizado gerado em um campo eletromagnético, sob pressão atmosférica e temperatura ambiente, que forma espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ERONs) e fótons UV através do choque de elétrons e moléculas atmosféricas (Alves Junior *et al.*, 2019; Han *et al.*, 2023). As aplicações biomédicas advêm da capacidade de utilização do CAP em tecidos vivos e da interação dos componentes gerados com a superfície orgânica, promovendo, por exemplo, o estresse oxidativo e morte em colônias bacterianas, a ativação de mecanismos antioxidantes locais no tecido saudável, estimulação da síntese de colágeno e a modulação de moléculas que influenciam a adesão, proliferação e diferenciação de queratinócitos e fibroblastos (Chen *et al.*, 2022; Ibáñez-Mancera *et al.*, 2023; Pekbağrıyanik *et al.*, 2021).

A gengivoestomatite crônica felina (GCF) é uma doença persistente da cavidade oral em gatos, caracterizada por manifestações inflamatórias de caráter ulcerativo ou proliferativo (Soltero-Rivera *et al.*, 2023). Os sinais clínicos incluem halitose, sangramento oral, aumento dos linfonodos mandibulares, saliva espessa, gengivite, mucosite caudal, alveolar, vestibular, úlceras localizadas e/ou difusas e intensa dor (Lee *et al.*, 2020; Soltero-Rivera *et al.*, 2023). O desequilíbrio entre a resposta imunológica local do animal e os patógenos existentes na cavidade oral, que leva a uma resposta exagerada e a autodestruição dos tecidos orais envolvidos no processo inflamatório, é uma das hipóteses mais aceitas de causalidade da GCF (Lee *et al.*, 2020; Soltero-Rivera *et al.*, 2023). A extração dos dentes pré-molares e molares, caracterizada como extração parcial, ou a retirada de todos os elementos dentários, caracterizando a extração radical, é recomendada como abordagem inicial dos casos de GCF, entretanto, pode não resultar na cura total da doença (Lee *et al.*, 2020).

Diante do potencial terapêutico do CAP e da ausência de estudos sobre seu uso no tratamento de GCF em felinos, o presente estudo visa avaliar a eficácia da aplicação direta de CAP, em combinação com tratamento periodontal, no manejo dessa doença.

## **METODOLOGIA**

### **1. Populações de pacientes e desenho do estudo**

O protocolo deste estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O protocolo incluiu 5 etapas, classificadas cronologicamente, iniciando no dia 0, em que os gatos foram submetidos a anestesia geral, exame clínico da cavidade oral, seguindo um odontograma padronizado, radiografias intra e extra-orais, bem como o tratamento periodontal. No dia 7, foram sedados para aplicação do CAP nos tecidos moles da região da hemimandíbula e hemimaxila direita e, eventualmente, de forma seletiva nas demais regiões que apresentavam lesões inflamatórias, ulcerativas e/ou proliferativas. No dia 14, a aplicação do CAP foi expandida para ambas as hemimandíbulas e hemimaxilas. No dia 21, foi feita uma nova aplicação de CAP, e os tutores foram instruídos a retornar após 14 dias. No dia 35, uma avaliação final foi realizada para determinar novos intervalos de acompanhamento e necessidade de intervenções adicionais. Foi estabelecido, até o momento, um animal controle que passaria pelos mesmos procedimentos durante as etapas preestabelecidas, com exceção das sucessivas aplicações do CAP, e um grupo experimental (n=5) que recebeu as aplicações.

### **2. Critérios de elegibilidade dos pacientes**

Durante a consulta inicial, foi realizada anamnese, exame físico geral e exame clínico superficial da cavidade oral. Foram incluídos na pesquisa gatos com mais de 2 anos de idade, negativos para FIV e FeLV, diagnosticados com gengivostomatite crônica. Foram realizados exames laboratoriais e radiografias para identificar anormalidades dentárias e/ou sistêmicas. Dentes comprometidos foram extraídos para melhorar o bem-estar do paciente. Os animais não poderiam fazer uso de corticosteróides durante o protocolo de tratamento.

### **3. Análises macroscópicas e determinação do grau da GCF**

As avaliações macroscópicas dos pacientes incluíram parâmetros como salivação, presença de placas, sangramento oral, capacidade de alimentação e hidratação, e qualidade de vida geral. Também foram observados sinais patológicos de outras doenças orais concomitantes. Para avaliação da GCF, foram utilizados o grau e o índice de atividade (SDAI), adaptados de Vapniarsky et al. (2020) e Soltero-Rivera et al. (2023). O SDAI para lesões foi classificado com base na inflamação e hiperemia de 0 (sem lesão) a 3 (severa) em todas as regiões da cavidade oral, e a soma das pontuações incluíam a avaliação dos tutores quanto ao apetite, atividade, higiene e conforto oral. A gravidade dos sintomas foi classificada de 0 (leve) a 4 (severa) para identificação do grau da doença. Os tutores e a equipe classificaram a halitose de 0 (ausente) a 3 (severa), obtendo-se uma média entre os dois resultados. O Escore de Condição Corporal (ECC) e o Escore de Massa Muscular (EMM) foram avaliados para monitorar a condição geral e a eficácia do tratamento. O ECC foi avaliado de acordo com a gordura corporal e a forma física (Santiago et al., 2020), enquanto o EMM foi medido por inspeção e palpação dos músculos (Teng et al., 2018). Fotografias da cavidade oral foram usadas para documentar a aparência e avaliar as mudanças. A análise da cavidade oral, registros fotográficos e anamnese com os tutores foram realizados semanalmente.

### **4. Tratamento com plasma frio atmosférico**

O CAP foi gerado através de um equipamento comercial Hygiaplasma modelo EHF 1714 (KLD, Amparo, SP, Brasil) adaptado para produzir jato de plasma a partir da descarga dielétrica. O sistema de geração do CAP foi alimentado por gás hélio, em fluxo de 2L/min,

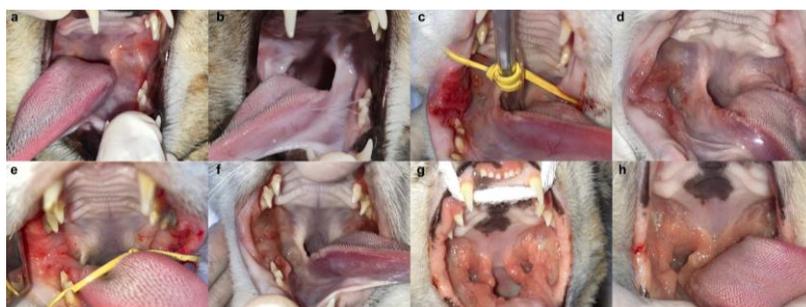
potência de saída de 2,4 mW, no modo pulsado com frequência de 5 Hz e tensão nominal de 127 a 230 V. A aplicação foi realizada durante 30 s/cm<sup>2</sup> de área afetada a uma distância de 5mm entre a ponta da caneta e a superfície a ser tratada (Weltmann & Woedtke, 2016).

#### 5. Coleta de amostras teciduais e análises histológicas

As amostras teciduais das lesões de mucosa oral caudal foram coletadas usando punch de 4 mm em dois momentos: dia 0 e 35. Os fragmentos corados com hematoxilina e eosina para análise histopatológica. A análise histomorfométrica foi realizada por meio de fotomicrografias dos cortes em microscópio de luz, com 5 seções histológicas por amostra em aumento de 40x. As imagens foram analisadas com o software Image Pro Plus para mensurar densidades de células inflamatórias, tecido conjuntivo da lâmina própria e vasos sanguíneos, utilizando um grid de 54 pontos. A altura do epitélio foi mensurada em cinco regiões aleatórias em aumento de 10x.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A redução da halitose e do grau da doença, culminando em melhores valores no SDAI, ECC e EMM (Gráfico 1) nos pacientes do grupo experimental são parâmetros reflexos da amplitude de mecanismos de ação do CAP, incluindo a capacidade de inativar biofilmes de microrganismos aeróbios e anaeróbios relacionados ao desenvolvimento de distúrbios orais (Arguello-Sánchez *et al.*, 2023; Lima *et al.*, 2021). A contribuição do CAP para a redução da dor e melhora no conforto já foi descrita nas aplicações orais em humanos (Ibáñez-Mancera *et al.*, 2023), corroborando com os resultados do presente estudo. O CAP também é capaz de melhorar a síntese de mRNA para TGF- $\beta$  (fator de crescimento transformador-beta) nos fibroblastos gengivais, favorecendo a proliferação celular e a renovação da matriz extracelular, além de estimular a secreção de citocinas cicatrizantes, resultando em uma resposta inflamatória controlada e maior eficácia da regeneração tecidual (Ibáñez-Mancera *et al.*, 2023; Kusakci-Seker & Demirayak-Akdemir, 2020; Moszczyńska & Roszek, 2023).

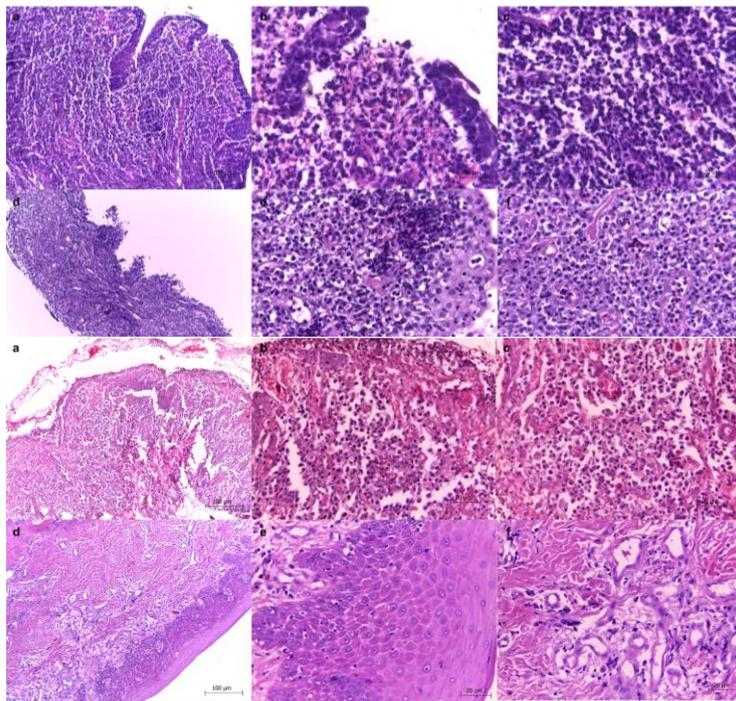


**Fig. 1** Imagens capturadas no dia 0 (a, c, e) e no dia 35 (b, d, f) do grupo experimental que passou pelo tratamento periodontal e pelas sucessivas aplicações do CAP, demonstrando redução da hiperemia e ulceração. Paciente controle no dia 0 (g) e no dia 35 (h), apresentando sinais persistentes de hiperplasia e ulceração da mucosa.

Antes do tratamento periodontal (Figura 2 e 3), todos os gatos apresentavam completa ou parcial ulceração do epitélio de revestimento e/ou com sinais de degeneração epitelial nas porções de epitélio visualizadas, concomitante com a desorganização das fibras colágenas associadas à necrose e presença de fibroblastos reativos. Em todas as biópsias pré-tratamento, o estroma subepitelial apresentava acentuado infiltrado inflamatório composto por linfócitos, macrófagos, neutrófilos, plasmócitos, mastócitos e ocasionais células de Mott. Nos epitélios que apresentavam ulceração foi observado ainda áreas de deposição de crosta serocelular, hemorragia, fibrina e exocitose.

Durante a fase de inflamação do processo de cicatrização da mucosa oral, ocorre a repopulação do tecido de granulação por queratinócitos, células endoteliais e fibroblastos através da migração, proliferação e diferenciação celular, além de fibroblastos e macrófagos serem os principais responsáveis por remodelar a matriz extracelular durante a fase de

remodelação subsequente (Waasdorp *et al.*, 2021). É possível corroborar a ocorrência desses mecanismos com as características teciduais encontradas no grupo experimental no dia 35 (Figura 3), como a regeneração epitelial em paralelo com a redução da inflamação, havendo aumento da proporção de macrófagos no constituinte celular, e acentuada quantidade de figuras de mitose nas células basais e parabasais. Além disso, a reconstituição da arquitetura tecidual foi notada através da reorganização do tecido conjuntivo e da individualização das camadas do epitélio.

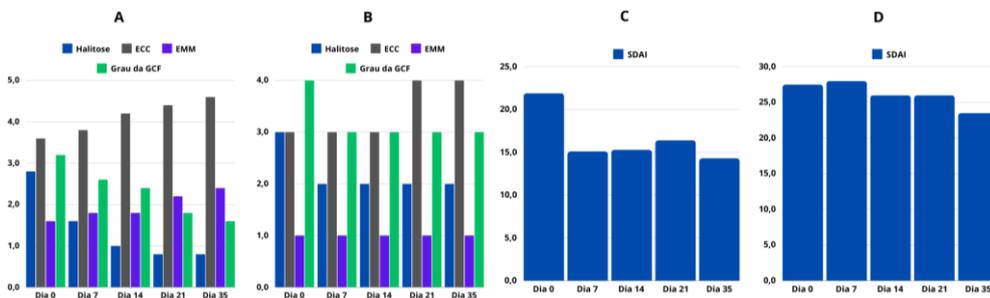


**Fig. 2** Micrografias representativas da mucosa oral caudal do paciente controle no dia 0 (a, b, c) e no dia 35 (d, e, f), exibindo continuidade do intenso infiltrado inflamatório associado à desorganização e destruição da lâmina própria, além da ulceração e degeneração epitelial.

**Fig. 3** Micrografias representativas da mucosa oral caudal de um dos pacientes do grupo experimental no dia 0 (a, b, c) e no dia 35 (d, e, f), exibindo reconstituição da arquitetura tecidual associada a regeneração do epitélio, redução do processo inflamatório e reorganização da lâmina própria.

Gatos	Células Inflamatórias (Vv)	Tecido Conjuntivo (Vv)	Vasos Sanguíneos (Vv)	Altura do Epitélio (µm)
Grupo Experimental (Média) - Dia 0	0,5045 (± 0,061)	0,2136 (± 0,0490)	0,0782 (± 0,0292)	22,37 (± 17,082)
Grupo Experimental (Média) - Dia 35	0,1634 (± 0,1414)	0,4093 (± 0,0785)	0,0650 (± 0,0499)	72,85 (± 24,42)
Paciente Controle - Dia 0	0,5914 (± 0,19)	0,1854 (± 0,181)	0,0541 (± 0,027)	19,04 (± 3,05)
Paciente Controle - Dia 35	0,5604 (± 0,1284)	0,1541 (± 0,0468)	0,1208 (± 0,0557)	23,72 (± 8,05)

**Tabela 1** Dados da histomorfometria.



**Gráfico 1** Dados da halitose, escore de condição corporal (ECC), escore de massa muscular (EMM) e grau da gengivostomatite crônica felina (GCF) na média obtida no grupo experimental (A) e no paciente

controle (B). Dados do índice de atividade (SDAI) da gengivostomatite crônica felina na média obtida no grupo experimental (C) e no paciente controle (D).

Na análise histopatológica do animal controle no dia 35 (Figura 2), observou-se ulceração da maior parte do epitélio, sendo possível notar uma a duas camadas de células epiteliais em degeneração nas áreas em que havia epitélio remanescente com ausência de figuras de mitose. As demais características teciduais incluíam os achados inflamatórios

característicos descritos no dia 0. A histomorfometria (Tabela 1) evidenciou redução significativa da densidade de volume de células inflamatórias e do aumento de tecido conjuntivo associado a reestruturação da altura epitelial no grupo experimental.

Esses resultados influenciaram na melhora dos aspectos relacionados à qualidade de vida dos pacientes, descritas como ausência de episódios de dor aguda ao se alimentar, maior interação com os tutores e maior tolerância ao toque, informado pelos tutores no momento da anamnese semanal. Apenas um paciente do grupo experimental necessitou de reintervenção cirúrgica no final do protocolo terapêutico estabelecido até o momento, enquanto que o restante (75%) alcançou melhora substancial ou resolução completa. Junto a isso, uma tentativa terapêutica menos radical como primeira etapa do tratamento é a recomendação baseada em evidências mais forte, principalmente, considerando que os efeitos estimulantes do CAP podem ser obtidos em tempos de aplicação curtos e em baixas doses de plasma (Kusakci-Seker & Demirayak-Akdemir, 2020; Lee *et al.*, 2020).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados demonstraram uma melhora significativa da qualidade de vida dos gatos, indicando que o tratamento adjuvante do CAP na terapêutica odontológica pode desempenhar um papel importante no manejo da GCF através da descontaminação dos tecidos moles e na redução da inflamação associada ao biofilme bacteriano. Os dados obtidos fornecem uma base sólida para futuras pesquisas em busca de novos parâmetros de aplicação e a implementação prática dessa abordagem terapêutica na gengivoestomatite crônica em gatos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES JUNIOR, C. Plasma frio atmosférico – novas oportunidades de pesquisa numa plataforma versátil e portadora de futuro. **Matéria** (Rio de Janeiro), v.25, n. 4, p. 1–7, 2020.
- ARGUELLO-SÁNCHEZ, R. et al. Innovative curved-tip reactor for non-thermal plasma and plasma-treated water generation: Synergistic impact comparison with sodium hypochlorite in dental root canal disinfection. **Materials**, v. 16, n. 22, p. 7204, 2023.
- CHEN, Z. et al. Cold atmospheric plasma delivery for biomedical applications. **Materials today** (Kidlington, England), v. 54, p. 153–188, 2022.
- HAN, I. et al. Bioactive nonthermal biocompatible plasma enhances migration on human gingival fibroblasts. **Advanced healthcare materials**, v. 12, n. 4, 2023.
- IBÁÑEZ-MANCERA, N. G. et al. Healing of recurrent aphthous stomatitis by non-thermal plasma: Pilot study. **Biomedicines**, v. 11, n. 1, 2023.
- KUSAKCI-SEKER, B.; DEMIRAYAK-AKDEMIR, M. The effect of non-thermal atmospheric pressure plasma application on wound healing after gingivectomy. **International wound journal**, v. 17, n. 5, p. 1376–1383, 2020.
- LEE, D. B.; VERSTRAETE, F. J. M.; ARZI, B. An update on feline chronic gingivostomatitis. **The Veterinary clinics of North America. Small animal practice**, v. 50, n. 5, p. 973–982, 2020.
- LIMA, G. DE M. G. et al. Cold atmospheric plasma jet as a possible adjuvant therapy for periodontal disease. **Molecules** (Basel, Switzerland), v. 26, n. 18, p. 5590, 2021.
- MOSZCZYŃSKA, J.; ROSZEK, K.; WIŚNIEWSKI, M. Non-thermal plasma application in medicine—focus on reactive species involvement. **International journal of molecular sciences**, v. 24, n. 16, p. 12667, 2023.
- PEKBAĞRIYANIK, T.; DADAS, F. K.; ENHOŞ, Ş. Effects of non-thermal atmospheric pressure plasma on palatal wound healing of free gingival grafts: a randomized controlled clinical trial. **Clinical oral investigations**, v. 25, n. 11, p. 6269–6278, 2021.
- SANTIAGO, S. L.; FREEMAN, L. M.; RUSH, J. E. Cardiac cachexia in cats with congestive heart failure: Prevalence and clinical, laboratory, and survival findings. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 34, n. 1, p. 35–44, 2020.
- SOLTERO-RIVERA, M.; GOLDSCHMIDT, S.; ARZI, B. Feline chronic gingivostomatitis current concepts in clinical management. **Journal of feline medicine and surgery**, v. 25, n. 8, 2023.
- TENG, K. T. et al. Strong associations of nine-point body condition scoring with survival and lifespan in cats. **Journal of feline medicine and surgery**, v. 20, n. 12, p. 1110–1118, 2018.
- VAPNIARSKY, N. et al. Histological, immunological, and genetic analysis of feline chronic gingivostomatitis. **Frontiers in veterinary science**, v. 7, 2020.
- WAASDORP, M. et al. The bigger picture: Why oral mucosa heals better than skin. **Biomolecules**, v. 11, n. 8, p. 1165, 2021.
- WELTMANN, K. D.; WOEDTKE, T. V. Plasma medicine - current state of research and medical application. **Plasma Physics and Controlled Fusion**, v. 59, n. 1, p. 014031, 2016.