

## EFEITO DO MODO DE APLICAÇÃO DO PLASMA ATMOSFÉRICO A FRIO NA CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS CUTÂNEAS AGUDAS

<sup>1</sup> Joelma Gomes da Silva; <sup>2</sup> Thaynara Ribeiro do Amaral; <sup>1</sup> Kalyne Danielly Silva de Oliveira;  
<sup>3</sup>Moacir Franco de Oliveira; <sup>4</sup>Clodomiro Alves Júnior; <sup>3</sup> Carlos Eduardo Bezerra de Moura.

<sup>1</sup> Doutoranda do Programa de Pós graduação em Ciências animais na Universidade Federal Rural do Semiárido; <sup>2</sup> Graduanda em Medicina Veterinária pela Universidade Federal Rural do Semiárido

<sup>3</sup> Professor do programa de Pós graduação em Ciências animais na Universidade Federal Rural do Semiárido; <sup>4</sup> Professor do programa de Pós graduação em Ciências e Engenharia de Materiais pela da Universidade Federal Rural do Semiárido

**Área temática:** Biotecnologia e inovação em Saúde

**Modalidade:** Pôster Simples

**E-mail do autor:** fisiolmagomes@gmail.com

### RESUMO

**INTRODUÇÃO:** A medicina do plasma tem despontado como uma tecnologia em saúde viável e resolutiva na cicatrização de feridas. **OBJETIVO:** Comparar o efeito do modo contínuo e pulsado de aplicação do plasma atmosférico frio na cicatrização de feridas cutâneas agudas em porquinhos da índia. **MÉTODOS:** Foram utilizados 24 animais divididos em quatro grupos e submetidos a realização de 3 feridas no dorso, sendo ao mesmo tempo, experimento e controle segundo aprovação da CEUA (parecer nº 33/2020). Uma ferida foi controle, outra recebeu tratamento no modo contínuo e outra pulsado (10 Hz). O jateamento foi de 1 minuto em cada ferida com gás hélio 2L/ min, imediatamente após a cirurgia e a cada 24 horas por 3 dias consecutivos. Todas as feridas foram fotografadas a partir do dia 0 e analisadas no software Image J. Além do processamento histológico. **RESULTADO:** A média da taxa de retração das feridas controle nos dias 3, 7, 14 e 21 foi 30,91; 38,5; 89,16; 96,32. Já no grupo contínuo foi de 45,36; 51,95; 91,40; 98,13. E no pulsado 54,20; 57,5; 95,74; 99,1, respectivamente. A taxa de retração dos grupos tratados foi significativamente maior que no controle. No dia 7, foi possível visualizar o processo de reepitelização, que se completou no dia 14 nas feridas tratadas com a epiderme e o estrato córneo espessos. No grupo controle, foi possível visualizar isto a partir do dia 14 e a epiderme e o estrato córneo estavam delgados. Não foi mais encontrado tecido de granulação nos tecidos tratados no dia 14, e no controle encontrou-se nos dias 14 e 21. **DISCUSSÃO:** de maneira geral a literatura aponta para um efeito benéfico do CAP no processo de cicatrização de feridas tanto quantitativamente, como qualitativamente. **CONCLUSÃO:** O uso do CAP promoveu uma redução do tempo e melhora qualitativa no processo de cicatrização.

**Palavras-chave:** Medicina do plasma; plasma de barreira dielétrica; reparo tecidual.

## 1 INTRODUÇÃO

O tratamento de feridas é um desafio, principalmente na garantia da uniformidade e eficácia do processo de reparo. Nesse contexto, muitos mecanismos têm sido utilizados como medicamentos de uso tópico e terapias com tecnologias não invasivas. Dentre essas tecnologias, tem-se o uso do plasma atmosférico a frio gerado em barreira dielétrica (CAP). Esse tratamento é caracterizado por descargas entre dois eletrodos divididos por uma barreira dielétrica isolante que energiza o ar para gerar o plasma (LU, LAROUSSI, PUECHI; 2012). Na terapêutica da cicatrização de feridas cutâneas, se apresenta dentre os procedimentos não invasivos, pois, além de ser indolor, apresenta benefícios na fase aguda da inflamação, tem efeito antisséptico e estimula o processo de regeneração e cicatrização de tecidos, com efeitos na proliferação de células endoteliais e possíveis impactos positivos na angiogênese mediada por essas células (ULRICH et al., 2015; BREHMER, 2015).

Nessa perspectiva, o uso do CAP desperta o interesse das ciências médicas, por ter sido considerado tolerável pelos tecidos biológicos (WOEDTKE, METELMANN, WETLMANN, 2014). Estas propriedades, o torna promissor para uso em aplicações clínicas. No entanto, estudos adicionais ainda são necessários para delimitar de maneira mais exata o seu mecanismo de ação, além da necessidade de comprovação da sua segurança e eficácia, determinação do modo de aplicação e parâmetros mais precisos, além do melhor entendimento da sua ação tanto de maneira quantitativa, como de forma qualitativa (IZADJOO et al., 2018).

A partir desta perspectiva o presente estudo teve como objetivo comparar o efeito do modo contínuo e pulsado de aplicação do plasma atmosférico frio no processo de cicatrização de feridas cutâneas agudas em porquinhos da índia.

## 2 MÉTODO

O dispositivo de plasma atmosférico obtido por barreira dielétrica (DBD) que foi utilizado neste trabalho foi desenvolvido pelo grupo de pesquisa, no Laboratório de Plasma Aplicado à Agricultura, Saúde e Meio Ambiente do CITED – Centro Integrado de Inovação Tecnológica do Semiárido da Universidade Federal Rural do Semi-árido – UFERSA

Para as avaliações, foram utilizados 24 porquinhos da índia, saudáveis, 3 meses de idade e pesando 500 a 650g. A aprovação para esses experimentos foi obtida junto a Comissão de Ética no

Uso Animal (CEUA) da UFERSA (parecer nº 33/2020), e foram obedecidas às diretrizes nacionais para o cuidado e uso de animais de laboratório (CONCEA, 2019). Os animais foram divididos em quatro grupos ( $n=6$ ) para cada dia de avaliação: 3, 7, 14 e 21 dias. Esses animais foram provenientes do Centro de Multiplicação de Animais Silvestres (CEMAS) da Universidade Federal do Semiárido (UFERSA), onde foram mantidos em Gaiolas individuais de 80x60x40 cm durante os experimentos, com água e ração ad libitum.

Inicialmente, os animais foram submetidos à avaliação clínica e coleta de amostras de sangue para hemograma, com o objetivo de atestar o grau de sanidade que o qualifica a ser submetido a um procedimento anestésico. Antes da realização das feridas, os animais foram pesados e pré-medicados com tramadol por via subcutânea (SC) (MACEDO et al., 2015). Após 15 minutos, os animais foram anestesiados com injeção intramuscular de cloridrato de cetamina e cloridrato de xilazina. Em seguida, foi realizada a tricotomia, subsequente antisepsia com álcool iodado a 2% e administração de lidocaína por via subcutânea na região, para garantir analgesia local. Quanto às feridas, foram realizadas três incisões circulares na pele do dorso com um punch de 4mm de diâmetro. Após o procedimento cirúrgico os animais receberam tramadol por via SC a cada 24 horas durante 3 dias. Após a incisão, os animais foram divididos em quatro grupos, de acordo com os dias da análise 3, 7, 14 e 21, sendo que todas as feridas foram fotografadas a partir do dia 0 (dia da cirurgia). Cada grupo foi formado de 6 animais que foram experimento e controle. Sendo assim, uma ferida recebeu tratamento com o plasma a frio de modo contínuo, outra de modo pulsado com frequência de 10 Hz, enquanto a terceira foi a ferida controle e recebeu apenas os cuidados de assepsia e limpeza diários com solução salina 0,9% estéril. No tratamento de CAP foi realizado um jateamento de gás hélio durante um minuto e uma distância de 3mm entre a ponta do DBD e a superfície a ser tratada imediatamente após a cirurgia e a cada 24 horas por três dias consecutivos (WOEDTKE; METELMANN; WELTMANN, 2014).

As imagens obtidas por meio das fotografias foram transferidas para um software Image J (v 1.45) para mensuração da área da ferida e em seguida foi obtido o coeficiente de retração por meio (ZHANG et al., 2015). A partir disto, foram realizadas as comparações entre as lesões estudadas nos dias 3, 7, 14 e 21. Foi realizada também a avaliação histológica dessas feridas.

Os dados foram avaliados através dos programas estatísticos SPSS 21.0 (Statistical Package for the Social Sciences) e expressos em valores de média e desvio padrão. Após averiguação dos pressupostos paramétricos, diferenças estatísticas entre os grupos experimentais, nas diferentes variáveis estudadas, foram obtidas por Análise de variância (one-Way ANOVA) seguido por Tukey considerando como efeitos o Grupo (G1 – experimento e Go- Controle) O nível de significância estabelecido foi de 5%.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados a seguir referem-se à análise das feridas tanto a nível macroscópico, como microscópico nos dias avaliados. Quando analisada a taxa de retração das feridas controle foi possível encontrar nos seus respectivos dias 3, 7, 14 e 21 uma média de  $30,91 \pm 9,85$ ,  $38,50 \pm 9,39$ ,  $89,16 \pm 5,58$ ,  $96,32 \pm 1,79$ , respectivamente. No grupo tratado com o modo contínuo, considerando a taxa de retração para os mesmos dias de maneira respectiva, obteve-se médias de  $45,36 \pm 13,54$ ,  $51,95 \pm 8,24$ ,  $91,40 \pm 6,01$ ,  $98,13 \pm 1,09$ , enquanto que para o grupo tratado com o modo pulsado as médias foram de  $54,20 \pm 12,52$ ,  $57,50 \pm 8,00$ ,  $95,74 \pm 2,83$ ,  $99,1 \pm 0,55$ , respectivamente. A análise estatística revelou que a taxa de retração dos grupos tratados foi significativamente maior quando comparado ao grupo controle. Porém, quando comparado entre os tratamentos (pulsado e contínuo), não houve diferença estatística. Os resultados encontrados corroboram com estudo realizado por Hung et al. (2016), que observaram diferenças com relação ao tempo de cicatrização de feridas em ratos tratados com plasma quando comparados ao grupo controle, que não recebeu tratamento, concluindo que o plasma contribui para um processo de cicatrização e fechamento da ferida mais rápido.

A ação do plasma sobre a retração da ferida também foi relatada por Shao et al. (2016), que mostraram que o tratamento contribuiu para a diminuição do leito da ferida a partir de uma avaliação da cinética da lesão tanto nos dias 7, 14 como no dia 21 com comprovação de tecido neoformado. Ainda corroborando com estes resultados, Martines et al. (2020), em seu estudo com ovelhas utilizando o plasma com gás hélio no tratamento de feridas, relataram que houve um fechamento mais rápido para aquelas feridas tratadas com plasma quando comparadas ao grupo controle. Vale salientar que a literatura, de maneira geral, traz relatos apenas da comparação entre feridas tratadas e controle, não havendo registros de comparação entre diferentes modalidades de tratamento, como foi realizado no presente trabalho. As comparações encontradas se relacionam a avaliação de diferentes tempos de

aplicação, diferentes gases utilizados e modos de aplicação (NASTUTA et al., 2011; METELMANN et al., 2012; KUBINOVA et al., 2017 ).

Com relação à avaliação microscópica das feridas, o presente trabalho revelou que, no dia 7, já foi possível visualizar o processo de reepitelização, que se completou no dia 14 nas feridas tratadas com o CAP tanto no modo pulsado como no modo contínuo. A epiderme mostrou-se espessa com o estrato córneo espesso. Já com relação a reepitelização do grupo controle, foi possível visualizá-la apenas a partir do dia 14 e tanto a epiderme como o estrato córneo apresentavam-se delgados. A partir disto, pôde-se constatar que o tratamento com o CAP tanto no modo pulsado como no modo contínuo contribui qualitativamente no processo de cicatrização de feridas. Estes achados reforçam a literatura, onde estudos mostram que o plasma promoveu uma aceleração da reepitelização da epiderme; evidenciando o efeito positivo no processo de contração da ferida (NASTUTA et al., 2011).

Além disso, quando analisada a presença do tecido de granulação nos tecidos tratados no presente estudo, foi possível constatar que, a partir do dia 14, não se observou mais esse tipo de tecido tanto no grupo tratado com o modo contínuo, como no grupo tratado com o modo pulsado. No entanto, foi possível encontrar tecido de granulação na ferida do grupo controle tanto no dia 14 como no dia 21. Resultados semelhantes foram encontrados no estudo Kubinova et al. (2017) que descreveram diminuição da granulação a partir do dia 7 para os tecidos tratados com plasma.

OS efeitos benéficos relacionados às espécies reativas produzidas pelo CAP e a associação entre elas, diminui ainda mais sua toxicidade, e potencializa seus os efeitos terapêuticos. Dentre estas espécies, Kim et al. (2010) destacam o NO especificamente, e apontam que quando em baixas concentrações estimula os fatores de crescimento que são essenciais na fase inflamatória da cicatrização, enquanto o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> atua diretamente no processo de proliferação celular e indução da apoptose.

#### 4 CONCLUSÃO

Diante dos resultados encontrados, pode-se inferir que o uso do plasma atmosférico a frio promove uma redução do tempo no processo de fechamento da ferida, quando analisada a taxa de retração; além de uma melhora qualitativa desse processo. Foi possível perceber uma diminuição do tecido de granulação de maneira mais precoce nos grupos tratados, bem como maior precocidade no processo de reepitelização quando comparado ao grupo controle.

Sobre a comparação entre os tratamentos, modo pulsado e contínuo; estatisticamente não houve diferença significativa entre ambos; porém recomenda-se mais estudos de análise qualitativa no sentido de entender como a diferença entre as modalidades de aplicação podem interferir nesse processo de cicatrização de feridas.

## REFERÊNCIAS

- BREHMER F. et al. Alleviation of chronic venous leg ulcers with a hand-held dielectric barrier discharge plasma generator (PlasmaDerm VU-2010): results of a monocentric two-armed open, prospective, randomized and controlled trial (NCT01415622). **J Eur Acad Dermatol Venereol**, v. 29, n. 1, p. 148-155, 2015.
- IZADJOO, M. et al. Medical applications of cold atmospheric plasma: state of the Science. **Journal of Wound Care North American**, v. 27, n. 9, 2018.
- KIM, C.H et al. Effects of atmospheric nonthermal plasma on invasion of colorectal cancer cells. **Applied physics Letters**, v.96, n.24, p. 3701, 2010.
- KUBINOVA, S. et al. Non-thermal air plasma promotes the healing of acute skin wounds in rats. **Scientific Reports**. v. 7, 2017.
- MACEDO A.S. et al. Tibial osteosynthesis in a guinea pig (*Cavia porcellus*). **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.67 n.1, 2015.
- METELMANN, H.R. et al. Experimental Recovery of CO<sub>2</sub>-Laser Skin Lesions by Plasma Stimulation. **The American Journal of Cosmetic Surgery**, v.29, n.1, p.52–56, 2012.
- NASTUTA, A. V. et al. Stimulation of wound healing by helium atmospheric pressure plasma treatment. **Journal of Physics D: Applied Physics**, v.44, n.10, 2011.
- SHAO, P.L. et al. Enhancement of Wound Healing by Non-Thermal N<sub>2</sub>/Ar Micro-Plasma Exposure in Mice with Fractional-CO<sub>2</sub>-Laser-Induced Wounds. **PLoS ONE**, v.11, n.6, 2016
- ULRICH, C. et al. Clinical use for cold atmospheric pressure argon plasma in chronic leg ulcers: a pilot study. **J wound Care**, v. 24, n.5, p. 196-203, 2015.
- WOEDTKE, T. V.; METELMANN H. R.; WETLMANN K. D. Clinical Plasma Medicine: State and perspectives of in vivo application of cold atmospheric Plasma. **Contrib. Plasma Phys**, v. 54, n. 2, p. 104-117, 2014.