

Estudo retrospectivo de pesquisas sobre crioterapia com nitrogênio líquido em Odontologia desenvolvidas na Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul¹

Carlos E. C. P. de Souza²

Daniela N. Silva³

Manoel S. Filho⁴

cadu.souza@terra.com.br, danitxf@hotmail.com, manoel@ufrgs.br

RESUMO

A crioterapia ou criocirurgia é uma modalidade terapêutica, de ampla aplicação nas diversas áreas da saúde. Este método utiliza agentes terapêuticos em temperaturas extremamente baixas para tratamento de patologias, causando destruição tecidual de forma não-seletiva, mas controlada. Existem diversos relatos sobre sua utilização na Odontologia, tanto no tratamento de condições patológicas intra-ósseas quanto em tecidos moles bucais, com resultados promissores. Estes estudos foram muito divulgados, principalmente, das décadas de 70 e 80, porém na década seguinte houve um “silêncio” na literatura internacional, havendo poucos relatos de pesquisas ou aplicações clínicas. As vantagens da crioterapia, particularmente do nitrogênio líquido, como baixo custo, facilidade de utilização, ausência de dor e cicatrizes, e por ser uma técnica conservadora, uma vez que preserva a matriz óssea, estimulou o desenvolvimento de pesquisas no Programa de Pós-Graduação (PPG) da Faculdade de odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (FO/PUCRS), no ano de 2002. A partir de então, diversos estudos foram realizados buscando otimizar os métodos de aplicação do nitrogênio líquido em tecidos humanos, e controlar os efeitos do pós-operatório da crioterapia. Estes estudos comprovaram a eficácia da crioterapia em promover destruição tecidual em tecidos moles e ósseos, por meio de estudos *in vitro*, em modelos animais e em humanos. Estudos mais recentes têm procurado descrever os efeitos do agente crioterápico em colônias bacterianas isoladas e inoculadas em condutos radiculares, bem como nos tecidos dentários. O presente estudo tem por objetivo realizar um levantamento bibliográfico sobre pesquisas utilizando o nitrogênio líquido como agente crioterápico, desenvolvidas junto ao PPG-FO/PUCRS, buscando relatar a evolução dessas pesquisas, bem com comparar seus resultados aos descritos na literatura científica.

Palavras – Chave: *Crioterapia; Criocirurgia; Hipotermia induzida.*

ABSTRACT

The cryotherapy or criosurgery is a therapeutical modality, of wide application in many areas of the health science. This method uses therapeutical agents in extremely low temperatures for treatment of pathologies, causing a non-selective but controlled form of tissue destruction. There are many reports about its utilization in Dentistry, such in the treatment of intraosseous pathological conditions as in oral soft tissues, with promising results. These studies were widespread, mainly, in the decades of 70 and 80, but in the following decade there was a “silence” in international literature, having few reports of research or clinical applications. The advantages of cryotherapy, particularly using liquid nitrogen, as low cost, easiness of use, absence of pain and scars, and for being a conservative technique, as it preserves the bone matrix, stimulated the development of researches in the Post Graduation Program (PGP) of the School of Dentistry of Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (SD/PUCRS), in the year of 2002. Since then, many studies had been performed searching optimization of the application methods of liquid nitrogen in human tissues, and to control the cryotherapeutic postoperative effects. These studies had proven the effectiveness of the cryotherapy in promoting destruction in soft tissues and bone, by means of *in vitro* studies, in animal models and in human. Most recent studies have tried to describe the effects of the cryotherapeutic agent in isolated bacterial colonies and inoculated in root canals, as well as on dental tissue. The present study aims to perform a bibliographical research about reports, using the liquid nitrogen as cryotherapeutic agent, developed in the PGP-SD/PUCRS, demonstrating the evolution of these researches, as well as establishing a comparison to the results described in scientific literature.

Keywords: *Cryotherapy; Cryosurgery; Induced hypothermia.*

¹ Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Cirurgião-Dentista pela Faculdade de Odontologia-FO/PUCRS

² Aluno do Curso de Graduação em Odontologia da PUCRS

³ Professora do Departamento de Cirurgia da FO/PUCRS - Orientadora

⁴ Professor do Departamento de Cirurgia da FO/PUCRS – Co-Orientador

INTRODUÇÃO

Crioterapia ou criocirurgia é uma modalidade terapêutica ou técnica cirúrgica que consiste na aplicação de substâncias criogênicas em temperaturas extremamente baixas com a finalidade de se conseguir a destruição tecidual. O prefixo *crio*, do grego “*Kryos*”, significa frio. Assim, a crioterapia descreve um amplo sentido, a utilização do frio como medida terapêutica. Seria mais apropriado incluir o adjetivo “local” para distinguir este método daquele outro em que o resfriamento é sistêmico (TURJANSKY; STOLAR, 1995).

O uso de baixas temperaturas como opção terapêutica data da antiguidade, com impressões em papiro realizadas por Edwin Smith em 3.500 a.C. Desde então, diversos são os relatos de terapias pelo uso do frio no decorrer dos séculos (LEOPARD, 1975).

A crioterapia local moderna teve início em 1959, com o neurocirurgião norte-americano Cooper, para o tratamento do Parkinsonismo. Cooper projetou e construiu um aparelho contendo um aplicador protegido por vácuo, exceto na extremidade. Para regular o grau de queda de temperatura, capaz de alcançar aproximadamente -196°C , fez variar a velocidade com que o nitrogênio líquido (N_2) se projetava na ponta do aplicador. Devido ao êxito no tratamento do Parkinsonismo, Cooper resolveu estudar o efeito do congelamento extremo na periferia de tumores superficiais, observando que toda a zona congelada sofria necrose e esfacelo, com desaparecimento das células neoplásicas. A esse processo ficou conhecido como crionecrose (BARBOSA; SANVITTO, 1973).

A criocirurgia é um método efetivo de destruição tecidual por congelamento. Ela provoca uma destruição controlada e não-seletiva, sendo utilizada no tratamento de diversas lesões bucais, tanto em tecidos moles como ósseos (EMMINGS; SHELDON; GAGE, 1967; WHITTAKER, 1975; GONGLOFF; GAGE, 1983; TAL; RIFKIN, 1986; TAL, 1992; SCHIMDT; POGREL, 2004).

A temperatura necessária para alcançar destruição tecidual é de aproximadamente -20°C (FRASER e GILL, 1967; GETTER e PEREZ, 1972). Esta destruição ocorre após ciclos de congelamento e descongelamento espontâneo. Com a queda da temperatura tecidual, ocorre a formação de cristais de gelo no meio extracelular, aumentando a concentração de eletrólitos. Isto cria um ambiente hiperosmótico e resulta na osmose de água para fora das células, gerando um aumento da concentração de eletrólitos intracelular, com alteração de pH e desnaturação de proteínas. Após o descongelamento, um novo resfriamento faz com que haja formação de cristais de gelo no meio intracelular. Com o derretimento do gelo, o meio extracelular torna-se ligeiramente mais hipotônico, ocorre entrada de água para as células, seu volume aumenta e ocorre a ruptura da membrana celular (EMMINGS; KOEPF; GAGE, 1967; LEOPARD, 1975; POSWILLO, 1978; GONGLOFF; GAGE, 1983; GAGE; BAUST, 1998; THAI; SINCLAIR, 1999).

Relatos da literatura descrevem duas formas para a realização da crioterapia local: através do sistema fechado e pelo sistema aberto. O sistema fechado é assim chamado por não haver contato da substância criogênica com o meio externo antes da aplicação na lesão e a crionecrose se dá pelo contato de uma sonda com o tecido a ser tratado, sendo mais utilizado para tecidos moles (LEOPARD, 1975; GONGLOFF et al., 1983). No sistema aberto, há contato direto do agente criogênico com a lesão, conduzido através de uma haste de algodão ou através de um dispositivo que libera o N_2 líquido na forma de *spray* (SANTOS, 2002; BELTRÃO, 2003).

Várias substâncias podem ser usadas como agentes criogênicos. O mais comum é o N_2 que, em *spray* ou com o auxílio de uma sonda, tem sido aplicado isoladamente ou em associação a outros métodos cirúrgicos no tratamento de diversas patologias, tais como granuloma piogênico, angioma, queilite actínica, cercoacantoma, fibroma, leucoplasia e eritroplasia, líquen plano hipertrófico, hiperplasia papilar do palato e ceratocistos (BEEK; BART, 1979; ISHIDA; TURJANSKY; STOLAR, 1995; RAMOS-e-SILVA, 1998; SCHIMDT; POGREL, 2004; BORGES, 2005; MARTINS, 2007).

Esta modalidade terapêutica possui algumas vantagens como ausência de sangramento durante o tratamento, baixa incidência de infecção secundária, relativa ausência de dor e de formação de cicatrizes (SANTOS, 2003). Uma limitação desta terapêutica, quando usada em tecidos moles, é a instalação do edema imediatamente após a aplicação, que predispõe ao risco de obstrução respiratória quando a crioterapia é realizada na base da língua, parede posterior da faringe e tonsilas (ISHIDA; RAMOS-e-SILVA, 1998). Além disso, também podem ocorrer lesão de estruturas nobres como os nervos dentário inferior e mental (POGREL, 1993).

Os efeitos deletérios do congelamento podem ser divididos em diretos e indiretos. Os diretos incluem desidratação e distúrbio eletrolítico da célula, alteração de pH, inibição enzimática, desnaturação de proteínas e ruptura da membrana celular. Os indiretos referem-se aos efeitos vasculares e imunológicos (LEOPARD, 1975; TAL, 1992; GONGLOFF; GAGE, 1983).

Os pacientes, frente ao tratamento com crioterapia, relatam um mínimo desconforto e podem ser tratados em nível ambulatorial, com ou sem sedação ou anestesia local. A ausência de dor está provavelmente relacionada à destruição das fibras nervosas. A cicatrização é livre de complicações como dor, hemorragia, infecção e dano inadvertido a estruturas adjacentes (EMMING; KOEPF; GAGE, 1967; HURT; NABERS; ROSE, 1972; POSWILLO, 1975; GONGLOFF; GAGE, 1983; TAL, 1992; BORGES, 2005).

As vantagens da crioterapia, particularmente do N_2 líquido, como baixo custo, facilidade de utilização, ausência de dor e cicatrizes, e por ser uma técnica eficaz e conservadora, estimulou o desenvolvimento de pesquisas pelo Programa de Pós-Graduação (PPG) da FO/PUCRS, no ano de 2002. A partir de então, diversos estudos foram realizados buscando otimizar a metodologia de aplicação do N_2

líquido em tecidos humanos, e controlar os efeitos teciduais no pós-operatório. O presente estudo tem por objetivo realizar um levantamento bibliográfico sobre pesquisas utilizando o N₂ líquido como agente crioterápico, desenvolvidas junto ao PPG-FO/PUCRS, buscando relatar a evolução dessas pesquisas, bem com comparar seus resultados aos descritos na literatura científica.

REVISÃO DA LITERATURA

A criocirurgia tem sido utilizada na área odontológica no tratamento de lesões intra-ósseas e de mucosa bucal, desde 1960 (EMMINGS et al., 1966; EMMINGS; KOEPF; GAGE, 1967; GAGE, 1998). Esta modalidade terapêutica foi muito utilizada na década de 70 e 80, sendo muitos os relatos de pesquisas e aplicações clínicas da crioterapia, neste período (EMMINGS; KOEPF; GAGE, 1967; HURT; NABERS; ROSE, 1972; POSWILLO, 1975; LEOPARD, 1975; BEEK; BART, 1979; GONGLOFF; GAGE, 1983; TAL; RIFKIN, 1986). No entanto, caiu em desuso e muito pouco foi divulgada na década seguinte. Atualmente, o uso da crioterapia tem sido facilitado pelo aparecimento de aparelhos de fácil manuseio e versatilidade. O CRY-AC[®] (Brymill, California, USA)⁵ foi o pioneiro dos aparelhos portáteis para criocirurgia com N₂ líquido. Foi desenvolvido pelo engenheiro americano Michael Bryne, em 1966, e sua utilização foi descrita por Ferrer Bernat, em 1993, apresentando como vantagens possuir pequenas dimensões e diversas pontas aplicadoras com angulações variáveis e ser de baixo custo. Desde a sua divulgação, diversos autores têm relatado o seu uso em Odontologia (GAGE; BAUST, 1998; THAI; SINCLAIR, 1999; BIAZOLA; MORAES, 1995; LEMOS JÚNIOR, 1999; CERQUEIRA; SANT'ANA FILHO, 2001).

As vantagens do método como efetividade na destruição celular, de forma controla e seletiva, ausência de sangramento durante o tratamento, baixa incidência de infecção secundária, relativa ausência de dor e de formação de cicatrizes, baixo custo e ampla aplicação no tratamento de diversas lesões bucais, tanto em tecidos moles como ósseos, incentivou o desenvolvimento de pesquisas sobre o uso da crioterapia, mais especificamente do uso do N₂ líquido, junto ao PPG-FO/PUCRS, lideradas pelo pesquisador Prof. Dr. Manoel Sant'Ana Filho (SANTOS, 2002; SILVA; 2003, BELTRÃO, 2003; SCORTEGAGNA, 2004; BORGES, 2005; BATISTA, 2006; SMIDT, 2007; BORGES, 2005; MARTINS, 2007)

O primeiro estudo da linha de pesquisa Diagnóstico e Terapêutica Aplicada, junto ao PPG-FO/PUCRS, envolvendo o uso do N₂ líquido, foi desenvolvido por Santos, em 2002, em sua Tese de Doutorado. A partir de então, no período de 2002 a 2007, foram desenvolvidos nove trabalhos (Tabela 01), entre teses de doutorado e dissertações de mestrado, que se encontram disponíveis *on line* na Base de Dados

da Biblioteca Central da PUCRS⁶, dando origem também a outras publicações em periódicos (SANTOS; SANT'ANA FILHO, 2002).

Tabela 01 - Pesquisas sobre a crioterapia com N₂ líquido em Odontologia, desenvolvidas junto ao PPG-FO/PUCRS, no período de 2002 a 2007.

Ano de publicação	Autor	Pesquisa
2002	Aira Maria Bonfim Santos	Análise morfológica do efeito de diferentes protocolos de nitrogênio líquido sobre a mucosa bucal: estudos em ratos.
2003	Flávio Martins da Silva	Estudo das características histológicas do processo de reparo após aplicação de nitrogênio líquido em tecido ósseo em mandíbulas de coelhos.
2003	Rodrigo Gomes Beltrão	Análise clínica dos efeitos do nitrogênio líquido aplicado com hastes de algodão em lábio e palato de coelhos.
2004	Ademar Scortegagna	Análise microscópica de enxerto ósseo autógeno em mandíbula de coelhos submetida à crioterapia com nitrogênio líquido.
2005	Hedelson Odenir Lecher Borges	Uso clínico de crioterapia com nitrogênio líquido no tratamento de hiperplasia bucal.
2006	Paulo Sérgio Batista	Análise do efeito do <i>spray</i> de nitrogênio líquido em culturas de bactérias <i>Enterococcus faecalis</i> : estudo <i>in vitro</i> .
2006	Ricardo Smidt	Modelo experimental para análise <i>in vitro</i> da condutibilidade de dentes submetidos a variações de temperatura.
2007	Hedelson Odenir Lecher Borges	Uso de crioterapia em dentes inoculados com <i>Enterococcus faecalis</i> : um estudo <i>in vitro</i> .
2007	Carlos Alberto Medeiros Martins	Conduta diagnóstica e terapêutica frente aos tumores odontogênicos ceratocísticos na Síndrome de Gorlin-Goltz.

Apesar de existirem diversos relatos de tratamento de lesões da cavidade bucal com criocirurgia, faltam subsídios na literatura que indiquem protocolos específicos para o tratamento dessas lesões utilizando esta modalidade terapêutica. Constatando a inexistência de critérios objetivos para nortear a aplicação da substância criogênica, Santos (2002) desenvolveu um estudo com a intenção de contribuir na busca de métodos de tratamento para lesões na cavidade bucal, propondo uma análise morfológica do efeito de diferentes protocolos de N₂ líquido em mucosa bucal. Buscou verificar a extensão do dano causado pela crioterapia, com as diferentes modalidades de aplicação do N₂ líquido no dorso lingual de ratos. O agente crioterápico foi aplicado por meio de sonda (sistema fechado) e por meio de *spray* e hastes pré-fabricadas com pontas de algodão (sistemas abertos). Os resultados demonstraram que as alterações

⁵ CRY-AC[®] e CRY-AC[®] - 3, disponível em: <http://www.brymill.com>

⁶ Teses e dissertações na Base de dados da Biblioteca Central da PUCRS disponível em <http://verum.pucrs.br/ppgodo>

provocadas pela aplicação do N₂ com hastes de algodão foram mais brandas e restritas à área central de aplicação do agente criogênico, sendo um sistema de mais fácil controle da extensão da lesão. As alterações geradas pelo sistema aberto na forma *spray* se deram de forma heterogênea e de difícil controle, não sendo uma boa opção para uso em cavidade bucal por falta de previsibilidade na extensão do dano. Esta modalidade também ocasionou maior edema pós-operatório do que o sistema fechado, que por sua vez, mostrou-se mais seguro que a técnica com *spray*, porém a sonda não está indicada para a região posterior da cavidade bucal, pois o edema também foi bastante significativo, quando da utilização deste método.

No intuito de aprimorar o protocolo e melhor descrever os processos de evolução da lesão causada pelo congelamento com N₂ líquido, Beltrão (2003) estudou o efeito do N₂ líquido em lábio e palato de coelhos utilizando o sistema aberto com hastes de algodão. O período de avaliação foi de 14 dias e o protocolo de congelamento foi de 40 hastes de algodão, divididas em dois tempos e intercalados por um período de 5 minutos. Cada haste era previamente embebida em algodão e aplicada por dois segundos somados ao tempo de troca das hastes, totalizando um minuto. Segundo o autor, este protocolo permite um controle efetivo do tamanho da bola de gelo formada, do dano tecidual e do edema gerado. Além disso, foi observado que o dano tecidual foi maior no lábio que no palato, ou seja, a extensão da lesão depende do sítio de aplicação. A cicatrização da lesão ocorreu sem hemorragia e sem perda de função.

No intuito de entender o processo de crionecrose e estabelecer um protocolo adequado para a aplicação do agente crioterápico em tecido ósseo, Silva (2003) analisou, microscopicamente, o efeito do *spray* de N₂ líquido em mandíbula de coelhos. Previamente, foi realizado um estudo piloto, onde o autor buscou estabelecer qual melhor tempo de aplicação do N₂ no defeito cirúrgico. Foram utilizados dois tempos de aplicação: de 10 e 20 segundos, intercalados por um período de 2,5 minutos de descongelamento espontâneo. O protocolo de 10 segundos demonstrou ser efetivo e de melhor controle, enquanto o de 20 segundos ultrapassou as corticais opostas ao defeito. Foram simuladas ressecções na mandíbula dos animais e, após este defeito foi submetido à crioterapia através do sistema aberto na forma de *spray*. A cavidade foi forrada com gaze para homogeneizar a aplicação, utilizando o período de 10 segundos, como determinado no estudo piloto. Foi observado que, embora a crioterapia tenha causado necrose das paredes ósseas, não interferiu no processo de reparo e foi possível prever a extensão da área necrótica do tecido ósseo.

A crioterapia é muito empregada no tratamento de lesões osteolíticas, uma terapêutica conservadora uma vez que permite uma margem de segurança de 2 a 3 mm além da área da lesão, evitando ressecções ósseas. Mesmo assim, muitas vezes essas áreas necessitam de enxertos ósseos. Buscando verificar os fenômenos de reparo ósseo entre o leito

receptor, que recebeu aplicação de N₂ líquido, e o enxerto ósseo autógeno, Scortegagna (2004) realizou um estudo onde foram confeccionados defeitos cirúrgicos na mandíbula de coelhos. Nestes defeitos, foi aplicado N₂ líquido, através do sistema aberto na forma de *spray*, utilizando o mesmo protocolo proposto por Silva (2003). Foi verificado que o N₂ líquido quando aplicado no sítio cirúrgico, promove atraso do processo de reparo e uma menor neoformação óssea, porém não inviabiliza a enxertia autógena.

Borges (2005) investigou a eficácia do N₂ líquido em lesões inflamatórias hiperplásicas da cavidade bucal. Foram selecionados 12 pacientes com esse tipo de lesão. O protocolo de aplicação foi definido através do tamanho da lesão. Para lesões com até 8 mm de diâmetro somente um ponto de aplicação foi necessário, de 9 a 16mm dois pontos, e assim sucessivamente. O tempo de congelamento foi o proposto por Beltrão (2003), porém foi utilizado o sistema fechado. A resposta das lesões frente o tratamento foram as seguintes: lesões pediculadas com até 12mm de comprimento apresentam regressão após a aplicação; hiperplasias sésseis não demonstraram resultados animadores frente ao tratamento; esta modalidade terapêutica mostrou-se de rápida execução e indolor tanto no trans quanto no pós-operatório.

Na Microbiologia, é vasto o número de pesquisas que abordam o efeito controlador do frio em bactérias (criobiologia), principalmente com a intenção de evitar sua proliferação. No entanto, não havia relatos a respeito do efeito da queda brusca e intensa da temperatura, como aquela provocada pelo N₂ líquido, na forma de *spray*, em microrganismos como as bactérias *Enterococcus faecalis* (*E.f.*), freqüentemente encontradas em canais com polpas necrosadas, infecções pulpares e periapicais refratárias ao tratamento endodôntico. Sendo assim, Batista (2006) desenvolveu sua tese de doutorado no sentido de analisar, *in vitro*, o efeito do *spray* de N₂ líquido nessas bactérias cultivadas em laboratório, buscando verificar se há redução da população bacteriana de *E.f.* utilizando a crioterapia como agente bactericida. Estudos demonstram que estas bactérias podem resistir às técnicas convencionais de preparo químico-mecânico, provavelmente devido à sua capacidade de se infiltrar nos túbulos dentinários (HAAPASALO e ORSTAVIK, 1987; MOLANDER et al., 1998; SUNDQVIST et al., 1998; PECIULIENE et al., 2000). Sob as condições testadas, não ocorreu eliminação de toda a população bacteriana, a ponto de se atribuir o poder bactericida ao N₂ líquido. Mas foi demonstrada diminuição com significância estatística no crescimento destas bactérias, sugerindo que a crioterapia pode apresentar eficácia na redução destas bactérias. Dessa forma, a crioterapia com N₂ líquido nos tecidos dentários, principalmente naquelas infecções periapicais recorrentes, advindas do insucesso do tratamento endodôntico, pode ser uma alternativa viável.

Buscando elucidar este processo, Smidt (2006) elaborou de um modelo experimental, *in vitro*, para conhecer o comportamento dos tecidos dentários

na condução de temperatura com aplicação de N₂ líquido intracanal e estabelecer um protocolo para a sua aplicação. Foram utilizados 13 dentes pré-molares inferiores, submetidos à crioterapia utilizando o sistema aberto através de uma agulha introduzida pela câmara pulpar e posicionada no ápice radicular. Os tempos de aplicação foram de 15, 20 e 25 segundos e as temperaturas atingidas foram medidas nos três terços da superfície radicular (cervical, médio e apical) e intracanal. Com 25 segundos de aplicação atingiram-se temperaturas médias de -95°C intracanal; na região apical -33°C, região média -24°C e cervical -14°C. Aplicando-se 20 segundos atingiram-se temperaturas médias de -80°C intracanal; na região apical - 25°C, região média - 14°C e cervical - 5°C; ao aplicar-se 15 segundos atingiram-se temperaturas médias de - 44°C intracanal; na região apical - 20°C, região média - 17°C e cervical - 0,8°C. A partir dos resultados, o autor concluiu que a aplicação de 15 segundos de N₂ líquido intracanal pode ser indicada como referência para outros estudos em modelo animal a fim de observar áreas de necrose e regeneração dos tecidos próximos ao ápice radicular.

Diante dos bons resultados apresentados por Batista, em 2006, Borges (2007) investigou o efeito da aplicação do *spray* de N₂ líquido em dentes humanos extraídos, após aplicação de ciclos sucessivos de congelamento e descongelamento espontâneo, além de verificar, *in vitro*, se a aplicação do *spray* de N₂ líquido, via canal dentário, tem efeito letal para as colônias de bactérias *E. f.*, cultivadas em laboratórios e inoculadas em dentes humanos extraídos. Utilizaram o sistema aberto para aplicar o N₂ líquido em duas regiões do conduto radicular: no ápice e na região cervical. O autor objetivou determinar o protocolo que provocava maior redução do número de bactérias viáveis e verificar a temperatura nos três terços da superfície externa da raiz e no conduto radicular. A maneira de medição de temperatura foi a mesma proposta por Smidt (2006). Foram tentados diferentes protocolos de aplicação, mas somente o de três aplicações de 60 segundos seguidos por um tempo de descongelamento de 4 minutos mostrou resultados animadores. Sob este protocolo os resultados foram os seguintes: temperaturas consideradas letais no ápice dentário e 1/3 médio, com a ponta do *spray* posicionada a 1 mm do ápice; temperaturas consideradas letais nos terços médio e cervical, com a ponta do *spray* posicionado na entrada do canal; houve em média, 92% de redução no número de Unidades Formadoras de Colônias de bactérias *E. f.*, em dentes extraídos contaminados. Sob o protocolo de duas aplicações, foi atingido até -90,5°C, na região do ápice dentário. Na conclusão do trabalho, o autor relata que a crioterapia foi efetiva na redução do número de bactérias intracanal, podendo ser eficaz na descontaminação do canal radicular.

Martins (2007) relata que o cirurgião bucomaxilofacial apresenta papel fundamental no diagnóstico de lesões intra-ósseas do complexo maxilomandibular. Observou-se a inexistência na literatura de protocolos de atendimento multidisciplinar aos pacientes afetados pela Síndrome de Gorlin-Goltz (SGG). Observou que os diagnósticos dos pacientes

com SGG, na grande maioria dos relatos, se dão de forma tardia, levando conseqüentemente a tratamentos mutiladores. Em seu estudo, cinco pacientes, portadores da SSG, foram submetidos a um protocolo de tratamento de enucleação do tumor odontogênico ceratocístico (TOC), seguido de aplicação de N₂ líquido, sem sinais de recidivas, segundo o autor.

DISCUSSÃO

Na Odontologia, especialmente na Cirurgia Bucomaxilofacial, a aplicação da crioterapia pode apresentar resultados bastante satisfatórios nos casos de lesões da mucosa bucal, como leucoplasias, hemangiomas, linfangiomas, granulomas piogênicos, dentre outras. Muitos benefícios têm sido atribuídos com o uso dessa técnica no tratamento de tumores odontogênicos, principalmente nos ameloblastomas e nos tumores odontogênicos ceratocísticos, que são bastante conhecidos por sua agressividade local dentro dos ossos maxilares afetados (BEEK; BART, 1979; ISHIDA; TURJANSKY; STOLAR, 1995; RAMOS; SILVA, 1998; SCHIMDT; POGREL, 2004; BORGES, 2005; MARTINS, 2007).

Como visto anteriormente, as vantagens da crioterapia incluem ausência de sangramento durante o tratamento, baixa incidência de infecção secundária, relativa ausência de dor e de formação de cicatrizes, facilidade de manipulação do aparelho e baixo custo tendo boa aceitação por parte dos pacientes. Devido a estas e outras vantagens, aliada à ampla aplicabilidade em Odontologia, é evidente a necessidade de pesquisas nos diversos aspectos da criocirurgia, especialmente na melhor definição de ciclos apropriados de congelamento e descongelamento, para que o uso clínico, nas mais diversas situações patológicas, seja seguro e eficaz (SANTOS, 2003).

As pesquisas sobre a aplicação da crioterapia em Odontologia, desenvolvidas no PPG-FO/PUCRS têm sido realizadas buscando aperfeiçoar a metodologia de aplicação do N₂ líquido em tecidos humanos, e controlar os efeitos teciduais do pós-operatório da crioterapia. Estes estudos comprovaram a eficácia da crioterapia em promover destruição tecidual em tecidos moles e ósseos, por meio de estudos *in vitro* e em modelos animais e em humanos (SANTOS, 2002; BELTRÃO, 2003; SILVA, 2003; SCORTEGAGNA, 2004; BORGES, 2005; MARTINS, 2007).

Os relatos acerca da crioterapia publicados nas décadas de 70 e 80 não apresentam um padrão uniforme quanto ao tempo e número de aplicações, quanto ao agente crioterápico ou ao método de aplicação utilizado (EMMINGS; KOEPF; GAGE, 1967; HURT; NABERS; ROSE, 1972; POSWILLO, 1975; LEOPARD, 1975; BEEK; BART, 1979; GONGLOFF; GAGE, 1983; TAL; RIFKIN, 1986). A metodologia utilizada por Santos, em 2002, procurou, através da análise e comparação de diferentes métodos de aplicação do N₂ líquido, obter critérios mais objetivos para determinação da extensão do dano tecidual. Esta pesquisa contribui para o estudo dos efeitos do sistema fechado, utilizando a sonda como meio de aplicação, e de dois sistemas abertos, haste de algodão e *spray*,

tanto macroscópicos como microscópicos, servindo para orientar o profissional na seleção da técnica para o tratamento de patologias.

O uso da crioterapia com N₂ líquido para o tratamento de lesões de tecidos moles bucais, é amplamente descrita na literatura como uma modalidade terapêutica com grau de êxito clinicamente importante. Gongloff e Gage (1983) publicaram um estudo onde demonstraram que lesões hiperplásicas tratadas com N₂ líquido não recidivaram em um período de 3 anos de acompanhamento. Borges (2005) aplicou a crioterapia em um grupo de 12 pacientes com diagnóstico de hiperplasias inflamatórias de causa descritível. Os autor obteve bons resultados em lesões pediculadas de até 12mm de comprimento porém em lesões sésseis não houve remissão total das lesões. Estes resultados foram semelhantes aos encontrados por Lemos Júnior (1999).

Beltrão (2003) buscou aperfeiçoar o protocolo do sistema aberto com hastes de algodão e descreveram, clinicamente, o processo de reparo tecidual em lábio e palato de coelhos. Foi observado que o protocolo de duas aplicações de 1 minuto intercaladas por um período de descongelamento de 5 minutos causa uma necrose efetiva da área desejada, e a cicatrização ocorreu sem formação de escaras em 14 dias. Também observou-se que esta metodologia possibilitou um bom controle da extensão do, e que a necrose foi de maior extensão no lábio.

A crioterapia apresenta-se como uma importante alternativa para o tratamento de lesões intra-ósseas, pois promove uma necrose de óssea de aproximadamente 2 à 3mm, mas mantém a matriz inorgânica das paredes circundantes à lesão (POGREL,1993). O sistema aberto é bastante agressivo para a lesão, pois o *spray* penetra no interior do osso e o resfriamento brusco e intenso provoca a necrose de células tumorais que por ventura tenham permanecido no leito ósseo após a curetagem. A penetração no osso e a crionecrose induzida fornece a margem de segurança requerida e, ao mesmo tempo, esta técnica é descrita como conservadora para o paciente, uma vez que impede que grandes segmentos ou seções da maxila ou mandíbula sejam ressecados, evitando dessa forma, grandes defeitos ou mutilações para esses pacientes (POGREL, 1995). O estudo realizado por Silva (2003), corrobora estas afirmações. Foi demonstrado que o N₂ líquido, quando aplicado através de *spray*, provoca uma necrose efetiva das paredes do sítio ósseo que sofreram as aplicações. Além disso, a necrose não interferiu no processo de reparo ósseo, apenas houve uma menor neoformação. Também foi observado que quando adotado o protocolo de 2 aplicações de 10 segundos, intercaladas por um período de descongelamento de 2,5 min, a crionecrose demonstrou-se controlável. Silva (2003), relatou que o N₂ líquido causa uma necrose efetiva e que, sob determinado protocolo, esta pode ser controlada. Pouco se sabe sobre o comportamento biológico de enxertos autógenos em lojas cirúrgicas que receberam a aplicação do N₂ líquido. Buscando melhor elucidar este processo, Scortegagna (2004), realizou um estudo em coelhos. Foi demonstrado que enxertos autógenos são viáveis após a aplicação de N₂ líquido, porém com um

menor grau de neoformação óssea. Também observaram que há formação de sequestros ósseos, porém estes não interferem no processo cicatricial.

Martins (2007) aplicou a crioterapia após a enucleação de TOC e não observou recidiva das lesões. O sucesso na técnica de enucleação, principalmente nos TOC que apresentam uma cápsula friável, é alcançado somente se a lesão for removida por inteiro, entretanto, muitas vezes a determinação de um plano de clivagem é difícil, até mesmo para o cirurgião experiente. A fragmentação do TOC favorece em muito a recidiva. O autor determinou a utilização da crioterapia com base nos relatos de Salmassy e Pogrel (1995), Yeh (2000) e Cerqueira e Sant'Ana Filho (2001). Também observou a facilidade de manuseio, a simplicidade de aplicação, a criação de uma margem de segurança com a eliminação das células que compõem a matriz orgânica do tecido ósseo e a preservação da matriz inorgânica, que serve de guia para regeneração tecidual, fatores que credenciam a crioterapia como um método eficaz e pouco destrutivo tornando-a uma terapia viável no tratamento dos TOC. Um outro ponto favorável à utilização da crioterapia e que a credencia como substância esclerosante pós enucleação é o fato do caráter de reversibilidade das injúrias nervosas que apesar de terem ocorrido nos casos relatados foi de forma temporária.

Cerqueira e Sant'ana filho (2001) relataram que a crioterapia associada à enucleação da lesão é uma alternativa valiosa na terapia de patologias intra-ósseas de comportamento localmente agressivo. Para os autores, a crioterapia associada à curetagem apresenta índices de recidiva bem menor, quando comparada a tratamento conservador isoladamente, e pouca ou nenhuma seqüela estético-funcional, quando comparada ao tratamento radical.

No entanto, é bastante restrito o número de trabalhos experimentais, e não há relatos clínicos, que descrevam a utilização da crioterapia em tecidos dentários. Sendo assim, os estudos recentes desenvolvidas no PPG-FO/PUCRS da FO/PUCRS vêm tentando descrever o efeito do N₂ líquido, utilizando banco de dentes humanos. Buscando estabelecer uma maneira de verificar a temperatura do intra e extra-radicular, Smidt (2006) desenvolveu um dispositivo capaz de medir a temperatura durante a aplicação do N₂ líquido, e foi encontrado temperaturas de até - 45,23 °C dentro do canal radicular, sendo que ocorre morte celular à partir de -20°C (LEOPARD ,1975; TAL 1982; TAL; RIFKIN 1986; TAL, 1992). Seguindo esta linha de pesquisa, Borges (2007) inoculou *E.f.* em condutos radiculares e demonstrou que, sob o sistema aberto, com protocolo de aplicação de três ciclos de congelamento de 60 segundos com período de descongelamento de 4 minutos, houve a redução de até 92% de redução da população bacteriana. O intervalo entre as aplicações de N₂ líquido é um fator importante a ser considerado. Quanto maior o tempo de descongelamento espontâneo, maior a destruição tecidual alcançada. Além disso, o descongelamento é mais destrutivo quando completamente realizado, ou seja, quando todo o tecido é descongelado (WHITTAKER, 1978; MAZUR, 1984; GAGE; BAUST, 1998). No mesmo estudo, Borges (2007)

demonstrou que quando aplicado, no conduto radicular, o N₂ líquido pode gerar temperaturas de até -90,5°C. Isto levou o autor a sugerir que, em havendo células nestas regiões, estas seriam eliminadas com o protocolo aplicado nesta pesquisa, e que a crioterapia poderia ser utilizada como uma alternativa na busca da eliminação ou redução do número de microrganismos intracanal. Complementa que a crioterapia pode ter indicação para uma possível descontaminação do canal radicular, visto que as temperaturas atingidas com o protocolo aqui descrito ultrapassam, na média, a temperatura considerada crítica de -20°C. Entretanto, o autor ressalta a necessidade de mais avaliações *in vitro*, com células, e *in vivo*, em modelos animais, para que, caso os resultados persistam positivos, experimentos em humanos possam confirmar a eficácia da crioterapia no tratamento de lesões periapicais.

Desse modo, estudos subseqüentes da linha de pesquisa, procuraram estabelecer os efeitos do agente crioterápico em colônias bacterianas isoladas ou inoculadas em condutos radiculares, bem com a aplicabilidade do N₂ líquido em tecido dentário (BATISTA, 2006; SMIDT, 2006; BORGES; 2007).

Os *E.f.* podem resistir às técnicas convencionais de preparo químico-mecânico, provavelmente devido à sua capacidade de se infiltrar nos túbulos dentinários (HAAPASALO; ORSTAVIK, 1987; MOLANDER et al., 1998; SUNDQVIST et al., 1998; PECIULIENE et al., 2000). Batista (2006) aplicou o N₂ líquido em colônias bacterianas de *E.f.* através do sistema aberto, na forma de *spray* e observaram que o N₂ líquido possui uma importante função na redução da população bacteriana, porém não é possível atribuir um efeito bactericida à crioterapia.

Os projetos em andamento na FO/PUCRS buscam descrever, *in vitro*, os efeitos da crioterapia na superfície radicular, por meio de análise macroscópica e por microscopia eletrônica da varredura, em dentes (provenientes de banco de dentes humanos) submetidos ao mesmo protocolo de congelamento proposto por Borges (2007). Assim que esses estudos forem concluídos, deverão ser realizados estudos em animais para descrever os efeitos da crioterapia nos tecidos periapicais quando o N₂ líquido é aplicado no interior de condutos radiculares. A partir deste momento, poderá ser analisada a possível aplicabilidade da crioterapia no tratamento de lesões periapicais refratárias, em humanos, para que ocorra de forma segura e eficaz.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com o levantamento bibliográfico realizado pode-se apresentar as seguintes considerações:

- dentre os sistemas de aplicação do N₂ líquido, o que se utiliza de hastes de algodão e o sistema fechado permitem o controle da criolesão e causam uma necrose efetiva em tecidos moles bucais, podendo ser indicados no tratamento de lesões dos mesmos;
- quando aplicado em lábio e palato de coelhos, a cicatrização ocorreu sem complicações e sem formação de cicatrizes;

- em lojas cirúrgicas ósseas, o protocolo de duas aplicações de 10 segundos com tempo de descongelamento de 2,5 minutos promove uma necrose efetiva das paredes ósseas. Com 20 segundos de aplicação, com o mesmo tempo de descongelamento, ocorre uma sobreextensão da criolesão;
- lojas cirúrgicas ósseas, que receberam aplicação de N₂ líquido, permitem enxertos autógenos, porém mais pesquisas devem ser realizadas para se conhecer o comportamento de biomateriais nesses sítios;
- a criocirurgia, aliada à enucleação prévia da lesão, representa uma alternativa conservadora e eficiente no tratamento de tumores odontogênicos ceratocísticos;
- o sistema fechado representa uma alternativa no tratamento de lesões hiperplásicas pediculadas com até 12 cm de comprimento;
- o N₂ líquido representa uma importante função na redução de populações de *E.f.*, porém não se pode classificá-lo como bactericida;
- quando aplicado em condutos radiculares, o N₂ líquido atinge temperaturas inferiores à considerada letal, e a redução da população bacteriana neste local foi de até 92%;
- são necessários estudos para melhor elucidar o efeito do N₂ líquido em tecido dentário, e nos tecidos periapicais para uma aplicabilidade clínica desta terapia.

REFERÊNCIAS

BARBOSA, J. F.; SANVITTO, L. C. Crioterapia Local (Criocirurgia) – Denominação e Histórico. *Boletim de Oncologia*, v.3, n.3-4, p.29-34, 1973.

BATISTA PS. **Análise do efeito do *spray* de nitrogênio líquido em culturas de bactérias *Enterococcus faecalis* – estudo *in vitro***. Tese de Doutorado. Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2006.

BEEK JPH, BAART JA. Six years experience with cryosurgery in the oral cavity. *International Journal of Oral Surgery* 1979; v.8: 251-70.

BELTRÃO RG. **Análise clínica dos efeitos do nitrogênio líquido aplicado com hastes de algodão em lábio e palato de coelhos**. Dissertação de mestrado. Faculdade de Odontologia da PUCRS, 2003.

BIAZOLA ER, MORAES NP. Crioterapia em lesões leucoplásicas da boca: um estudo em humanos. *Revista Brasileira de Odontologia*. v.52, n.1, p. 16-8, 1995.

BORGES, HOI. **Uso clínico de crioterapia com nitrogênio líquido no tratamento de hiperplasia bucal**. Dissertação de mestrado. Faculdade de Odontologia da PUCRS, 2005.

- BORGES, HOI. **Uso de crioterapia em dentes inoculados com *Enterococcus faecalis*: um estudo in vitro**. Tese de Doutorado. Faculdade de Odontologia da PUCRS, 2007.
- MARTINS, CAM. **Conduta diagnóstica e terapêutica frente aos tumores odontogênicos ceratocísticos na Síndrome de Gorlin-Goltz**. Tese de Doutorado. Faculdade de Odontologia da PUCRS, 2007.
- CERQUEIRA A, SANT'ANA FILHO M. Margem de segurança com crioterapia após curetagem de lesões recidivantes maxilomandibulares: relato de caso. **Revista Brasileira de Cirurgia e Implantodontia**. v. 8, n.31, p. 193-6, 2001.
- EMMINGS e colaboradores, Freezing the mandible without excision, **Journal of Oral Surgery**, v.24, n.2, março, p.145-55, Chicago, IL, 1966.
- EMMINGS FG, KOEPF SW, GAGE AA. Cryotherapy for benign lesions of the oral cavity. **Journal of Oral Surgery**. v.25, p. 320-6, 1967.
- FRASER J, GILL W. Observations on ultra-frozen tissue. **British Journal of Surgery**. v. 54, n. 9, p. 770-6, 1967.
- GAGE AA, BAUST J. Mechanisms of tissue injury in cryosurgery. **Cryobiology**. v. 37,p. 171-86, 1998.
- GETTER L, PEREZ B. Controlled cryotherapy in the treatment of inflammatory papillary hyperplasia. **Oral Surgery**. v. 34, n. 2, p. 178-86, 1972.
- GONGLOFF RK, SAMIT AM, Greene GW Jr, Inneo GF, Gage AA. Cryosurgical management of benign and dysplastic intraoral lesions. **Journal of Oral Surgery**. v. 38, p. 671-6, 1980.
- GONGLOFF RK, GAGE AA. Cryosurgical treatment of oral lesions: report of cases. **Journal of American Dental Association**. v. 106, p.47-51, 1983.
- HAAPASALO, M., ORSTAVIK, D. In vitro infection and disinfection of dentinal tubules. **J Dent Res**, v.66, n.8, p.1375-1379, 1987
- HURT WC, NABERS CL, ROSE GG. Some clinical and histologic observations of gingiva treated by cryotherapy. **Journal of Periodontology**.v. 43, n. 3, p. 151-6, 1972.
- ISHIDA CE, RAMOS-E-SILVA M. Cryosurgery in lesions. **International Journal of Dermatology**. v. 37, n.4, p. 283-5, 1998.
- LEMONS-JÚNIOR CA. **Criocirurgia em lesões benignas da mucosa bucal; revisão da literatura e sua avaliação clínica em 37 casos**. Dissertação de mestrado. Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, 1999.
- LEOPARD PJ. Cryosurgery, and its application to oral surgery. **British Journal of Oral Surgery**.v. 13, n. 2, p. 128-52, 1975.
- MOLANDER A, REIT C, DAHLÉN G, KVIST T. Microbiological status of root-filled teeth with apical periodontitis. **Int Endod J**. v. 31, n. 1, p. 1-7, 1998.
- PECIULIENE V, BALCIUNIENE I, ERIKSEN HM, HAAPASALO M. Isolation of *Enterococcus faecalis* in previously root-filled canals in a Lithuanian population. **J Endod**. v. 26, n. 10, p. 593-5, 2000.
- POGREL, MA. The use of liquid nitrogen cryotherapy in management of locally aggressive bone lesion. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, Philadelphia, v.51, n.3, p.269-273, 1993.
- POGREL, M. A. The management of lesions of the jaws with liquid nitrogen cryotherapy. **J. Calif Dent Assoc**, v. 23, n. 12, p. 54-7, 1995.
- POGREL, M.A. et al. Effects of liquid nitrogen cryotherapy and bone grafting on artificial bone defects in minipigs: a preliminary study, **Int J Oral Maxillofacial Surg**, Copenhagen, v.31, p.296-302, 2002.
- POSWILLO D. Evaluation, surveillance and treatment of panoral leukoplakia. **Journal of Maxillofacial Surgery**. v. 3, n. 4, p. 205-11, 1975.
- POSWILLO D. Applications of cryosurgery in dentistry. **Dent Update**. v. 5, n. 1, p. 27-30, 1978.
- SANTOS AMB, Sant'Ana Filho M. Análise macroscópica do efeito de diferentes protocolos de nitrogênio líquido sobre a mucosa bucal: estudo em ratos. **Rev Fac. Odontol. Porto Alegre**. v. 43, n. 2, p. 18-23, 2002.

SCHIMDT BL, POGREL MA. Neurosensory changes after liquid nitrogen cryotherapy. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**. v. 62, p. 1183-7, 2004.

SCORTEGAGNA A, SANT'ANA FILHO M. Análise microscópica de enxerto ósseo autógeno em mandíbula de coelhos submetidos à crioterapia com nitrogênio líquido. **Odonto Ciência**. v. 19, n. 46, 332-7, 2004.

SILVA, FM. **Estudo das características histológicas do processo de reparo após aplicação de nitrogênio líquido em tecido ósseo em mandíbulas de coelho**. Tese de Doutorado. Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2003.

SMIDT R. **Elaboração de modelo experimental para a análise *in vitro* da condutividade de dentes submetidos a variações de temperatura**. Tese de doutoramento. Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2006.

SUNDQVIST G, FIGDOR D, PERSSON S, SJÖGREN U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**. v. 85, n. 1, p. 86-93, 1998.

TAL, H.; STAHL, S.S. Healing following devitalization of sites within the periodontal ligament by ultralow temperatures. **J Period**, v.57, n.12, p.735-41, 1986.

TAL, H.; KOZLOVSKY, A.; PITARAU, S. Healing of sites within the dog periodontal ligament after application of cold to the periodontal attachment apparatus. **J Clin Period**, v.113, n.7, p.543-7, Aug 1991.

TAL, H. The rationale and technique of cryotherapy of superficial oral lesions. **J Dent Assoc of South Africa**, Pretoria, África do Sul, v.37, n.5, p.335-40, 1982.

TAL H, RIFKIN B. Cryosurgical treatment of gingival lichen planus: report of a case. **Journal of American Dental Association**. v. 113, n. 4, p. 629-31, 1986.

TAL H. Cryosurgical treatment of hemangiomas of the lip. **Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology**. v. 73, n. 6, p. 650-4, 1992.

THAI K-E, SINCLAIR R. Cryosurgery of benign skin lesions. **Australasian Journal of Dermatology**. v. 40, p. 175-86, 1999.

TURJANSKY E, STOLAR E. **Lesiones de piel y mucosas, técnica terapéuticas**. Buenos Aires: Editorial Asociación Medica Argentina, 1995.

WHITAKKER DK. Ultrastructural changes in the microvasculature following cryosurgery of oral mucosa. **Journal of Periodontal Research**. v. 10,p. 148-57, 1975.