

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

**CRIOCIRURGIA NA OFTALMOLOGIA VETERINÁRIA:  
REVISÃO DE LITERATURA**

Marcela Torikachvili  
Acadêmica de Medicina Veterinária

**PORTO ALEGRE**

**2016**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE VETERINÁRIA**

**Criocirurgia na Oftalmologia Veterinária:**  
**Revisão de Literatura**

**Autor: Marcela Torikachvili**

**Trabalho apresentado à  
Faculdade de Veterinária como  
requisito parcial para a obtenção  
da graduação em Medicina  
Veterinária**

**Orientador: Prof. Dr. João  
Antonio Tadeu Pigatto**

**PORTO ALEGRE**

**2016**

*A meu pai Mauro, com imenso amor e saudade.*

## AGRADECIMENTOS

A minha graduação em Medicina Veterinária representa a finalização de cinco anos de imensa dedicação aos estudos. Nada disso teria sido possível sem o apoio das pessoas aqui citadas. Saibam, portanto, que as levo em meu coração e que por vocês tenho profunda gratidão.

De forma especial agradeço à minha mãe, Flávia, por ter me apoiado incondicionalmente desde que optei por essa profissão. Obrigada, mãe, por ter compreendido e respeitado a minha ausência nos dias em que os estudos me exigiram mais e por ter comemorado junto comigo as pequenas vitórias que tive ao longo desses anos. Um dia me prometeste que nada me faltaria e desde então tudo o que fazes por mim é muito além do que eu preciso. Obrigada também ao meu irmão Márcio por sempre ter sido meu companheiro e protetor e por ter me apoiado em todas as minhas decisões.

Agradeço a meu pai, Mauro, por ter me dado forças para seguir em frente nos momentos em que mais tive dificuldade, especialmente quando da sua ausência. Apesar de não estar mais aqui comigo, o sinto perto de mim a todo momento, e sei que de onde estiver acompanhou-me durante todos esses anos. Estar perto não é físico.

Às minhas queridas amigas que me deram suporte e que de perto presenciaram as peripécias de uma graduação em veterinária, agradeço imensamente por toda a compreensão nos momentos em que não pude acompanhá-las. Fernanda, Catherine, Rebeca, Maira, Isadora, Gabriela e Laura, obrigada pela amizade de uma vida inteira e que se tornou mais forte nos últimos anos. Vocês são a minha base.

Agradeço também às grandes amigas que conquistei dentro da FAVET e que desejo levar comigo para a vida. Natasha, Helena, Luísa, Tamires, Manuela e Renata, muito obrigada por terem feito parte da construção deste sonho, pela parceria em sala de aula e por, muitas vezes, terem sido motivo da minha motivação diária. Juntas nos tornamos médicas veterinárias e tenho certeza de que, também juntas, construiremos um futuro promissor. Agradeço também a duas amigas, hoje Médicas Veterinárias. Mariana, que considero como uma irmã mais velha de profissão, com uma história parecida com a minha e a quem admiro muito, e Márcia, que de colega de estágio tornou-se uma amiga querida, hoje ocupando um grande espaço em meu coração.

Ao meu namorado Rangel, obrigada por trazer luz à minha vida e por sempre me fazer acreditar que as coisas vão dar certo. Tu me trouxeste alegria neste momento delicado de

conclusão de curso e eu espero um dia poder retribuir tudo isso. Que possamos estar sempre neste equilíbrio, vivenciando juntos os nossos sonhos.

Agradeço imensamente ao meu professor e orientador, Professor João Pigatto, por nunca ter aceitado menos do que o meu melhor. Cada conhecimento que compartilhou comigo faz parte da bagagem que levarei para a vida toda. Obrigada por ter me mostrado como é linda a Oftalmologia Veterinária e como ela precisa de pessoas apaixonadas para crescer cada vez mais. Aproveito também para agradecer a todas as colegas do Serviço de Oftalmologia Veterinária da UFRGS.

Por fim, minha gratidão a todos os animais que pelas minhas mãos passaram para que eu pudesse aprender e me capacitar. Esse é apenas o começo de uma jornada que não terá fim, pois estudar e se atualizar é a obrigação eterna de um Médico Veterinário que quer dar o melhor a seus pacientes.

## RESUMO

A criocirurgia ou crioterapia é uma modalidade terapêutica que consiste na aplicação de substâncias criogênicas no intuito de promover destruição tecidual seletiva. A técnica é utilizada em medicina humana desde os anos 1800 e atualmente está sendo cada vez mais empregada por médicos veterinários. Em comparação a outras opções de tratamento, é uma técnica bastante segura, relativamente rápida, de fácil execução, eficaz, conservadora e de baixo custo. A criocirurgia demonstra possuir uma grande gama de indicações, podendo ser empregada no tratamento de diversas doenças oculares, incluindo anormalidades ciliares, neoplasias, glaucoma, ceratite pigmentar, descolamento de retina e hidrocistoma apócrino. Entretanto, as metodologias empregadas diferem entre si, não havendo um padrão definido a ser aplicado no tratamento de cada doença. Complicações decorrentes da técnica são possíveis, sendo a maior parte devido ao contato prolongado do criógeno com a superfície tecidual e à ausência de controle sobre a temperatura alcançada. Com o presente estudo objetiva-se, através de revisão sistemática de literatura, esclarecer a forma com que a criocirurgia é utilizada no tratamento das afecções oculares que acometem os animais, descrevendo os artigos já publicados, além de resgatar a fundamentação teórica a respeito da técnica.

Palavras-chave: Criocirurgia; Crioterapia; Criógeno.

## **ABSTRACT**

Cryosurgery or cryotherapy is a therapeutic modality that consists in the application of cryogenic substances in order to promote selective tissue destruction. The technique has been used in human medicine since the 1800's and is currently being increasingly employed by veterinarians. Compared to other treatment options, it is a fairly safe technique, relatively quick, easy to perform, effective, conservative and low cost. Cryosurgery demonstrates a wide range of indications and may be used in the treatment of various ocular diseases, including ciliary abnormalities, neoplasms, glaucoma, pigmentary keratitis, retinal detachment and apocrine hydrocystoma. However, the methodologies used differ, with no defined standard to be applied in the treatment of each disease. Complications due to the technique are possible, most of them related to prolonged contact of the cryogen with the tissue surface and the lack of control over the temperature reached. This study aims, through a systematic review of the literature, to clarify how cryosurgery is used in the treatment of ocular conditions affecting the animals, describing the articles already published, as well as retrieving the theoretical basis regarding the technique.

**Key-words:** Cryosurgery; Cryotherapy; Cryogen.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Fotografia mostrando remoção de catarata em humano utilizando probe de metal imersa e refrigerada em mistura de álcool e dióxido de carbono sólido .....	16
Figura 2	Esquema do diâmetro de abertura dos bicos de spray.....	25
Figura 3	Probes " <i>Finger-tip</i> " espatuladas com superfície oval .....	27
Figura 4	Esquema demonstrando o recipiente de armazenamento do criógeno.....	28
Figura 5	Unidades criocirúrgicas Cry-Ac®.....	29
Figura 6	Cones de borracha utilizados para limitar o alcance do spray a uma área definida. ....	29
Figura 7	Desenhos esquemáticos de suabe, spray e probe, representando os aparelhos comumente empregadas em criocirurgia. ....	33
Figura 8	Esquema representando a agulha do termopar inserida em local próximo à lesão e mensuração da temperatura. ....	38
Figura 9	Aparência clínica da córnea de um cão com ceratite pigmentar antes e após a criocirurgia. ....	44
Figura 10	Aparência clínica das pálpebras de um cão após ser submetido a duas sessões de crioterapia para tratamento de distiquíase .....	45
Figura 11	Representação esquemática de criopilação no tratamento de distiquíase em cão.....	47
Figura 12	Aplicação de spray de nitrogênio líquido sobre a superfície de um tumor palpebral em cão.....	50
Figura 13	Aparência clínica da terceira pálpebra de um felino com hemangiossarcoma antes e depois da excisão cirúrgica combinada com criocirurgia.....	52
Figura 14	Aspecto clínico de CCE corneal em cão e aparência 70 dias após ceratectomia lamelar anterior e crioterapia com óxido nitroso.....	54
Figura 15	Fotografia trans-operatória de um melanoma de limbo extenso em um cão e aspecto clínico após dezenove meses após criocirurgia e realização de enxerto corneoescleral .....	55
Figura 16	CCS de limbo em equino e tratamento criocirúrgico com nitrogênio líquido ....	56
Figura 17	Mesmo olho demonstrado na figura 16, quatro meses após a criocirurgia.....	57
Figura 18	Mesmo cão da figura 9, 60 e 300 dias após a criocirurgia, respectivamente .....	61
Figura 19	Hidrocistomas apócrinos múltiplos em forma de nódulos pigmentados e extensos ao redor das margens palpebrais de um felino e aparência clínica um mês após a criocirurgia.....	64



## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

CCE Carcinoma de Células Escamosas

cm<sup>2</sup> Centímetros quadrados

FISPQ Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos

°C Graus Celsius

® Marca registrada

mm Milímetros

mmHg Milímetros de mercúrio

mm<sup>2</sup> Milímetros quadrados

Min Minutos

PIO Pressão intraocular

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>2 HISTÓRICO EM MEDICINA.....</b>	<b>14</b>
<b>3 HISTÓRICO EM OFTALMOLOGIA.....</b>	<b>16</b>
<b>4 SUBSTÂNCIAS CRIOGÊNICAS .....</b>	<b>19</b>
4.1 Dióxido de carbono sólido.....	19
4.2 Óxido nitroso.....	20
4.3 Gás fréon .....	21
4.4 Nitrogênio líquido .....	21
<b>5 INSTRUMENTAL .....</b>	<b>23</b>
5.1 Suabe.....	23
5.2 Spray.....	24
5.3 Sonda .....	25
<b>6 EQUIPAMENTOS .....</b>	<b>28</b>
6.1 Recipiente de armazenamento do criógeno.....	28
6.2 Unidades criocirúrgicas .....	28
6.2 Cones de borracha .....	29
<b>7 MECANISMO DE AÇÃO .....</b>	<b>30</b>
<b>8 VARIÁVEIS CONTROLÁVEIS .....</b>	<b>33</b>
8.1 Tipo de aparelho .....	33
8.2 Temperatura alcançada .....	34
8.3 Taxa de resfriamento .....	34
8.4 Duração e repetição dos ciclos de congelamento .....	35
8.5 Fase de reaquecimento .....	35
8.6 Volume e tipo de tecido tratado .....	36
8.7 Medidas auxiliares.....	36
<b>9 TERMOPARES .....</b>	<b>37</b>
<b>10 VANTAGENS, DESVANTAGENS E COMPLICAÇÕES .....</b>	<b>40</b>
10.1 Vantagens .....	40
10.2 Desvantagens.....	40
10.3 Complicações.....	42
<b>11 DOENÇAS OCULARES .....</b>	<b>46</b>
11.1 Anormalidades ciliares.....	46
11.2 Neoplasias oculares.....	48

11.2.1 Neoplasias palpebrais .....	49
11.2.2 Neoplasias de terceira pálpebra .....	51
11.2.3 Neoplasias conjuntivais .....	53
11.2.4 Neoplasias corneoesclerais .....	54
<b>11.3 Glaucoma.....</b>	<b>57</b>
<b>11.4 Ceratite pigmentar .....</b>	<b>59</b>
<b>11.5 Descolamento de retina .....</b>	<b>61</b>
<b>11.6 Hidrocistoma apócrino.....</b>	<b>63</b>
<b>12 CONCLUSÃO.....</b>	<b>65</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>66</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O frio é empregado na preservação de alimentos desde a pré-história. Sua utilização dentro da área médica, entretanto, data de 2500 anos antes de Cristo, quando egípcios utilizaram técnicas envolvendo baixas temperaturas para abrandar algumas doenças (LUBRITZ, 1987). O primeiro relato publicado envolvendo o congelamento controlado de um tecido biológico foi feito pelo médico inglês James Arnott (ARNOTT, 1851; COOPER e HIROSE, 1966). Bietti, em 1933, foi o primeiro pesquisador a aplicar crioterapia sobre a superfície ocular (BIETTI, 1933, *apud* FRAUNFELDER, 2008). Atualmente, a crioterapia é uma alternativa no tratamento de diversas doenças oftalmológicas em humanos e vem sendo utilizada também em animais.

O método de crioterapia e os tipos de criógenos utilizados no tratamento de afecções oculares não são padronizados dentro da oftalmologia. Além disso, os efeitos biológicos e físico-químicos das diferentes substâncias criogênicas sobre os tecidos oculares ainda não foram completamente elucidados (TEHRANI e FRAUNFELDER, 2013). A literatura traz relatos empregando-se dióxido de carbono sólido, óxido nitroso e gás fréon, mas atualmente sabe-se que o nitrogênio líquido é a substância criogênica mais eficiente na destruição celular, devido ao seu baixo ponto de ebulição (TEHRANI e FRAUNFELDER, 2013). Entretanto, deve-se controlar o processo para garantir que não haja penetração excessiva e destruição de estruturas críticas (THIBAUT, 2011).

Os sistemas disponíveis para uso da criocirurgia podem ser classificados em abertos ou fechados e os três instrumentos básicos de aplicação são os suabes, os sprays e as sondas (BANSAL *et al.*, 2012). A crioterapia envolve a retirada de calor de um tecido por um dissipador de calor, representado pelo fluido criogênico, e diversas mudanças no tecido que recebe a crioterapia contribuem para a destruição final da lesão (GRAHAM e BARHAM, 2003). Entre os efeitos diretos do congelamento, estão a formação de cristais intracelulares e extracelulares, a inibição enzimática, a desnaturação proteica e a apoptose celular (LEOPARD, 1975). Efeitos indiretos da crioterapia incluem modificações vasculares, as quais levam à necrose isquêmica do tecido, e modificações imunológicas, as quais culminam em dano celular por citotoxicidade (YU, 2014).

As variações na técnica que são de controle do operador incluem o tipo de aparelho, a temperatura de congelamento alcançada, a taxa de resfriamento, a duração e a repetição dos ciclos de congelamento, a fase de aquecimento e o volume de tecido tratado (LEOPARD, 1975). O monitoramento da temperatura e do volume de tecido congelado é realizado a partir

da inserção de termopares, sendo uma etapa essencial para reduzir os riscos de complicações e garantir que uma injúria tecidual suficiente foi alcançada (PASQUALI, 2015).

Em comparação a outras modalidades de tratamento, a criocirurgia é uma técnica bastante segura, relativamente rápida, de fácil execução, eficaz, conservadora e de baixo custo. Além disso, é um método relativamente pouco doloroso, não requer anestesia geral e pode ser realizada em pacientes de alto risco cirúrgico (LEOPARD, 1975). Entre as desvantagens, cita-se o alto custo inicial do equipamento, o risco de contaminação do criógeno, o efeito destrutivo despadronizado e as complicações pós-operatórias (MARCIANI e TRODAHL, 1975; LEOPARD, 1975; BELLOWS, 1966).

Em oftalmologia veterinária, há relatos do emprego da criocirurgia em doenças como triquiíase, distiquíase, cílio ectópico, neoplasias palpebrais, conjuntivais e corneoesclerais, glaucoma, ceratite pigmentar, descolamento de retina e hidrocistoma apócrino. Entretanto, as metodologias empregadas diferem entre si, não havendo um padrão definido a ser aplicado no tratamento de cada patologia.

Com o presente estudo objetiva-se, através de revisão sistemática de literatura, esclarecer a forma com que a criocirurgia é utilizada no tratamento das afecções oculares que acometem os animais, além de resgatar a fundamentação teórica a respeito da técnica. Inicialmente, será abordado o histórico da utilização da crioterapia tanto em medicina geral quanto no âmbito específico da oftalmologia. Em seguida, será feita uma extensa revisão sobre as principais substâncias crioterápicas utilizadas, o instrumental e os equipamentos necessários a execução da técnica. Nos capítulos seguintes serão abordados o mecanismo de ação envolvido na aplicação dos criógenos, as variáveis controladas pelo operador e a mensuração da temperatura interna dos tecidos através de termopares. Posteriormente, serão identificadas as principais vantagens, desvantagens e complicações advindas da técnica e as doenças oculares em que a criocirurgia pode ser empregada.

## 2 HISTÓRICO EM MEDICINA

O frio é empregado para preservação de alimentos desde a pré-história. Sua utilização dentro da área médica, entretanto, data de 2500 anos antes de Cristo, quando egípcios utilizaram técnicas envolvendo baixas temperaturas para abrandar algumas doenças (LUBRITZ, 1987). Há relatos de papiros egípcios descrevendo o uso do frio como um anti-inflamatório. No século V antes de Cristo, Hipócrates recomendou o frio para aliviar sangramentos, edemas e dores (HIPPOCRATES, 400 a.C). O gelo foi conhecido como um agente refrigerante por muitos séculos, mas percebeu-se que para ser usado no intuito de curar doenças, teria de atingir temperaturas mais baixas (PASQUALI, 2015).

O primeiro relato publicado envolvendo o congelamento controlado de um tecido biológico foi feito pelo médico inglês James Arnott (ARNOTT, 1851; COOPER e HIROSE, 1966). Ele utilizou uma mistura de cloreto de sódio e gelo moído para reduzir a dor envolvida em tumores de mama em mulheres, além de tratar tumores uterinos e algumas neoplasias de pele. Além disso, também empregou tecnologias envolvendo o frio no tratamento de acne, neuralgias e dores de cabeça. Em seus estudos, atingiu temperaturas de até  $-24^{\circ}\text{C}$  (ARNOTT, 1851). A contribuição inicial de Arnott para as terapias de congelamento em doenças humanas serviu como chave para o desenvolvimento de técnicas futuras (COOPER e DAWBER, 2001).

Misturas de gelo moído e sal, entretanto, não eram suficientemente capazes de reduzir a temperatura de tecidos a fim de destruir células tumorais (PASQUALI, 2015). Percebeu-se que um congelamento rápido usando um criógeno frio era necessário para tratar tumores de forma eficiente (FRAUNFELDER, 2008). No final do século 19 se descobriu a tecnologia necessária para liquefazer gases (CAILLETET, 1878 *apud* FRAUNFELDER, 2008).

O cientista francês Cailletet, em 1878, demonstrou que os gases oxigênio e monóxido de carbono poderiam ser liquefeitos sob alta pressão (CAILLETET, 1878 *apud* FRAUNFELDER, 2008). Carl Linde foi o primeiro a produzir comercialmente os gases em forma líquida, no ano de 1895. Este fato foi de extrema importância no desenvolvimento e difusão da crioterapia (FRAUNFELDER, 2008).

Em 1899, Campbell White, um médico de Nova Iorque, foi o primeiro a utilizar na medicina estes gases líquidos. Ele publicou relatos em que a tecnologia foi empregada em forma de spray no tratamento de lúpus eritematoso, *herpes-zóster*, verrugas, varicoses, úlceras e

epiteliomas. (WHITE, 1899). White foi o primeiro a usar gás liquefeito e congelador, a  $-195^{\circ}\text{C}$ , como um tratamento médico, dando assim origem à criocirurgia (PASQUALI, 2015).

No início do século 20 surgiu o debate sobre qual o melhor agente criogênico a se utilizar. O oxigênio líquido foi usado até 1930, mas logo tornou-se obsoleto em função de seu alto potencial combustível. O dióxido de carbono sólido (gelo seco) foi o criógeno mais popular a partir de 1910, em função de ser mais barato e mais facilmente obtido do que o oxigênio. Seu uso foi difundido pelo dermatologista americano William Pusey. Seu primeiro relato de caso envolveu o uso de gelo seco no tratamento de um nevo pigmentado no rosto de uma mulher, e essa foi provavelmente a primeira demonstração da grande sensibilidade dos melanócitos ao frio (PUSEY, 1907).

Após a Segunda Guerra Mundial, o nitrogênio líquido tornou-se comercialmente disponível. Por ser mais seguro e atingir temperaturas mais baixas que o oxigênio, este gás ganhou a preferência nos tratamentos cirúrgicos (GAGE e BAUST, 1998). Herman Allington foi o primeiro a relatar o uso de nitrogênio líquido no tratamento de lesões de pele (ALLINGTON, 1950). Entretanto, a aplicação era feita usando suaves embebidos no produto, o que acarretava em perda do potencial dissipador de calor. O método, portanto, era ineficiente no tratamento de neoplasias, especialmente as malignas (FRAUNFELDER, 2008).

Um avanço de extrema importância para o desenvolvimento da criocirurgia moderna ocorreu em 1961, quando o neurocirurgião Irving Cooper e o engenheiro Arnold Lee desenvolveram uma probe capaz de liberar o nitrogênio líquido a  $-195,6^{\circ}\text{C}$  (FRAUNFELDER, 2008). Cooper tratou desordens neurológicas e tumores cerebrais empregando crioterapia à base de nitrogênio líquido (COOPER, 1963).

A partir daí a crioterapia vem sendo utilizada por diversas áreas médicas. A pesquisa em dermatologia avançou significativamente no tratamento de neoplasias benignas e malignas de pele. Além disso, a técnica é utilizada na otorrinolaringologia, neurocirurgia, ginecologia, odontologia, ortopedia, oftalmologia, entre outras especialidades (FRAUNFELDER, 2008).

### 3 HISTÓRICO EM OFTALMOLOGIA

Bietti, em 1933, foi o primeiro pesquisador a aplicar crioterapia sobre a superfície ocular. Ele relatou o uso de substâncias criogênicas no intuito de produzir uma coriorretinite, a fim de vedar uma ruptura na retina. A técnica utilizou uma probe de metal pré-resfriada em uma mistura de dióxido de carbono e acetona, que foi aplicada sobre a superfície externa do globo, alcançando a lesão na retina (BIETTI, 1933, *apud* FRAUNFELDER, 2008).

Dois anos depois, Deutschmann empregou a criocirurgia no tratamento de descolamentos de retina, também utilizando probes resfriadas com dióxido de carbono sólido (DEUTSCHMANN, 1935, *apud* FRAUNFELDER, 2008). Apesar destes estudos, foi só no ano de 1961 que a crioterapia começou, de fato, a fazer parte da oftalmologia. Krwawicz desenvolveu uma probe de metal que, após imersa e refrigerada em uma mistura de álcool e dióxido de carbono sólido, foi usada na remoção de cataratas intumescentes em humanos (KRWAWICZ, 1961). Em seu estudo, relatou que quando a cápsula da lente entrava em contato com a sonda, formava-se uma região congelada e aderida firmemente, o que permitia a quebra das zônulas que fixam o cristalino e a consequente remoção da catarata (Figura 1).



Figura 1: Fotografia mostrando remoção de catarata em humano utilizando probe de metal imersa e refrigerada em mistura de álcool e dióxido de carbono sólido. Fonte: KRAWICZ, 1961.

Em 1967, técnicas mais aprimoradas de extração de catarata através de criocirurgia foram descritas por Amoils. Ele desenvolveu a primeira probe a ser resfriada através do método



de Joule-Thomson, no qual o resfriamento é atingido através da expansão de um gás comprimido até alcançar a pressão atmosférica (AMOILS, 1967). Ele obteve sucesso na extração de cataratas complicadas, mas o resfriamento era lento e as temperaturas atingidas não eram baixas o suficiente para que a técnica fosse usada no tratamento de neoplasias (FRAUNFELDER, 2008). Nos anos seguintes, a criorecção de catarata foi adotada por muitos oftalmologistas ao redor do mundo (BELLOWS, 1965).

Avanços no tratamento de descolamentos e rupturas de retina também foram possíveis através da crioterapia. A técnica de crioretinopexia foi feita utilizando vários tipos de crioplicadores (FRAUNFELDER, 2008). Belows desenvolveu um instrumento específico para aplicar nitrogênio líquido na esclera, coróide e retina (BELLOWS, 1964).

Na mesma época, Lincoff estudou o efeito do congelamento experimental da retina em coelhos no tratamento de descolamentos de retina. Seu objetivo era induzir uma lesão exsudativa no tecido que, quando cicatrizada, produzisse uma adesão corio-retineana com mínimos efeitos nos tecidos adjacentes (LINCOFF e McLEAN, 1965). Ele obteve sucesso utilizando nitrogênio líquido a  $-20^{\circ}\text{C}$ . A etapa seguinte do estudo foi determinar as temperaturas terapêuticas adequadas para o olho humano. Dessa forma, Lincoff e outros estudiosos foram figuras chave no avanço de técnicas cirúrgicas de crioretinopexia no tratamento de descolamentos de retina.

Após a popularização das técnicas de crioretinopexia e criorecção, a crioterapia com diferentes criógenos começou a ser usada no tratamento de diversas doenças oculares com frequente sucesso (FRAUNFELDER, 2008). Em 1972, Zacarian publicou os primeiros casos descrevendo o uso de nitrogênio líquido em torno do olho no tratamento de tumores (ZACARIAN, 1972 *apud* FRAUNFELDER, 2008). Fraunfelder descreveu o uso de criocirurgia no tratamento de carcinomas de células escamosas com localização ocular e periocular, inicialmente em bovinos e em seguida em humanos (FARRIS, 1976; FRAUNFELDER, 1977).

Atualmente, a crioterapia é uma alternativa no tratamento de diversas doenças oftalmológicas em humanos. Entre elas, cita-se pressão intraocular descontrolada (COHEN *et al.*, 2005), descolamento de retina (VECKNEER *et al.*, 2001), hemangioma de retina (SHIELDS *et al.*, 1997), retinoblastoma intraocular (GALLIE *et al.*, 1996 *apud* FRAUNFELDER, 2008) e múltiplas formas de tumores palpebrais e do globo ocular (FRAUNFELDER *et al.*, 1977).

Fraunfelder relata que a crioterapia com nitrogênio líquido para neoplasias de pele, tanto benignas quanto malignas, é o padrão de tratamento na dermatologia (FRAUNFELDER, 2008). Este não é o caso na oftalmologia, pois poucos oftalmologistas utilizam a técnica, provavelmente por falta de familiaridade com o uso e armazenamento do produto. A maioria deles não tem contato com o nitrogênio líquido durante sua formação e, conseqüentemente, não tem conhecimento sobre quando ou como usar a crioterapia no tratamento de afecções oculares.

## 4 SUBSTÂNCIAS CRIOGÊNICAS

A criocirurgia requer um criógeno capaz de congelar na temperatura adequada (PASQUALI, 2015). “Criógeno” é uma palavra de origem grega. Sua etimologia é simples: “crio” significa “frio” e “gen” significa “produzir” (ABRAMOVITS, 2016).

De acordo com Pasquali, uma vez que um tecido é submetido à aplicação de frio, a temperatura que ele atinge é o fator chave no desencadeamento do dano tecidual. Danos extensos aos tecidos ocorrem entre  $-20^{\circ}\text{C}$  e  $-30^{\circ}\text{C}$ , mas a destruição de células cancerígenas neste intervalo é incerta e incompleta (PASQUALI, 2015). Em 1971, Neel e colaboradores fizeram experimentos com tumores em ratos e determinaram que o controle efetivo de tumores requer ciclos rápidos e repetitivos de congelamento utilizando temperaturas abaixo de  $-60^{\circ}\text{C}$  (NEEL *et al.*, 1971). Outros estudos com tecidos animais relatam que as temperaturas letais ficam entre  $-40^{\circ}\text{C}$  e  $-50^{\circ}\text{C}$  (PASQUALI, 2015).

Na literatura em dermatologia é bem estabelecido que um congelamento rápido de tumores de pele com nitrogênio líquido é muito mais efetivo do que um congelamento lento com substâncias crioterápicas alternativas na erradicação de células tumorais (FRAUNFELDER, 1984; KUFLIK e GAGE, 1991; HOLT, 1988). Isso também vale para a oftalmologia, em que um grande número de casos demonstrou a natureza tumoricida do nitrogênio líquido. Entretanto, o método de crioterapia e os tipos de produtos criogênicos utilizadas no tratamento de afecções oculares não são padronizados dentro da oftalmologia. Além disso, os efeitos biológicos e físicoquímicos dos diferentes criógenos sobre os tecidos oculares ainda não foram completamente elucidados (TEHRANI e FRAUNFELDER, 2013).

### 4.1 Dióxido de carbono sólido

O gás de dióxido de carbono é incolor, inodoro, não inflamável e ligeiramente ácido (THIBAULT, 2011). A forma gasosa tem uma vida útil curta devido à dificuldade de armazenamento. Em 1907, William Pusey difundiu o uso do dióxido de carbono sólido, na forma de gelo seco (PUSEY, 1907). Após 1910, o gelo seco tornou-se o criógeno mais popular em função de seu valor mais barato e de sua fácil obtenção (PASQUALI, 2015).

Segundo Thibault, independentemente de ser usado como gelo seco ou na forma gasosa, o dióxido de carbono atinge uma temperatura de  $-78,9^{\circ}\text{C}$  e é um criógeno seguro e barato

(THIBAULT, 2011). A produção de gelo seco requer a aplicação de uma alta pressão sobre um recipiente com dióxido de carbono líquido. Quando esse recipiente é aberto, a pressão reduz rapidamente e o produto sofre sublimação, adquirindo estado físico sólido (expansão adiabática e efeito Joule- Thomson). O primeiro equipamento dessa natureza foi produzido por Pusey, permitindo a produção inicial do gelo seco e também sua compressão e armazenamento em “canetas” de diversos formatos, as quais inicialmente foram usadas no tratamento de tumores (FRAUNFELDER, 2008; PASQUALI, 2015).

Apesar de seu baixo custo, de sua alta durabilidade e de sua fácil disponibilidade, o gelo seco tem uma capacidade de penetração tecidual limitada, de aproximadamente 5 mm. Como vantagem adicional, o dióxido de carbono é menos danoso ao ambiente em relação a outros agentes crioterápicos, como o óxido nitroso (THIBAULT, 2011).

## 4.2 Óxido nitroso

O óxido nitroso foi descoberto pelo cientista inglês Joseph Priestley em 1729 (PRIESTLEY, 1729). Em 1800, o cirurgião Humphry Davy identificou as propriedades analgésicas do gás (DAVY, 1800). O passo seguinte foi o uso do óxido nitroso como anestésico inalatório, propriedade esta que foi descoberta em 1840 por Gardner Quincy (SMITH e HIRSCH, 1991).

O óxido nitroso, também chamado de dinitrogênio monóxido ou “gás hilariante”, é um gás incolor, com odor agradável, baixos pontos de fusão e ebulição, não inflamável, atóxico e de baixa solubilidade (NITROUS OXIDE..., 2015). Como criógeno, pode ser armazenado por tempo ilimitado e atinge temperaturas de até  $-89^{\circ}\text{C}$ , seguindo o princípio do efeito de Joule-Thomson que acontece quando é liberado pela sonda (THIBAULT, 2011). Johnson relata que o óxido nitroso é mais eficaz que o dióxido de carbono no âmbito da criocirurgia (JOHNSON e COLLIN, 1985).

Thibault afirma que o óxido nitroso é menos destrutivo que o nitrogênio líquido, alcançando menor penetração tecidual, restrita a, em média, 5 mm. Além disso, descreve que o período de resfriamento do gás é lento, o que torna seu uso restrito a lesões pequenas, superficiais, não invasivas e benignas (THIBAULT, 2011). Johnson utilizou óxido nitroso no tratamento de triquíase em humanos e obteve resultados satisfatórios, mas enfatizou que esses

resultados foram alcançados devido à sonda especialmente fabricada para o estudo – com uma elevada taxa de fluxo de gás e uma superfície de contato bastante ampla (JOHNSON e COLLIN, 1985). O tempo de congelamento recomendado para o óxido nitroso varia entre 30 segundos e 3 min, dependendo da lesão a tratar. Dá-se mais importância ao tamanho da ponteira de congelamento do que ao tempo de contato. É necessário ressaltar que a crioterapia com óxido nitroso deve ser realizada em um local com ventilação adequada, a fim de evitar o acúmulo de gás em caso de vazamentos, e que os equipamentos devem passar por manutenção frequente (VILLALVA *et al.*, 2002).

O óxido nitroso representa um impacto ambiental importante. Ele é um subproduto de processos de combustão e atividades industriais e é capaz de absorver uma quantidade elevada de energia, o que leva a destruição significativa da camada de ozônio (COELHO, 2015). Seu poder nocivo à camada de ozônio é cerca de 300 vezes maior do que o efeito causado pelo dióxido de carbono. (CORTEZ, 2011).

### **4.3 Gás fréon**

O fréon pode ser definido como diversos tipos de gases carbonados, clorados e fluorados. São gases incolores, inodoros, não inflamáveis e estáveis. A combinação dos gases que compõe o fréon foi descoberta em 1930 pelo químico Thomas Midgley (MIDGLEY, 1930). Atualmente, sabe-se que o fréon é um dos gases que mais contribui para a destruição da camada de ozônio (ALVES, 2016).

Segundo Thibault, os fréons podem alcançar temperaturas entre -40°C e -60°C. Por serem extremamente nocivos ao meio ambiente, seu uso fica restrito a instrumentos de crioterapia que consumam pouca quantidade do produto (THIBAUT, 2011).

### **4.4 Nitrogênio líquido**

O nitrogênio líquido é um gás liquefeito refrigerado, incolor, inodoro e estável, com ponto de ebulição próximo a -196°C (FICHA..., 2015). De acordo com Gage, o nitrogênio líquido foi inicialmente usado após a Segunda Guerra mundial, a partir de 1950, superando os

já consagrados ar e oxigênio liquefeitos, em virtude do potencial explosivo deste último (GAGE, 1998). Nessa época, o nitrogênio líquido se tornou um produto comercial. Ao reconhecer que as características criogênicas dele eram semelhantes às do oxigênio líquido, Herman Allington começou a emprega-lo em lesões benignas e pré-malignas, através de suabes (AFFILIATES..., 2015). Em 1961, o médico Irving Cooper projetou e construiu um aparelho contendo um aplicador protegido por vácuo capaz de regular o grau de queda da temperatura do nitrogênio líquido, o qual alcançava aproximadamente  $-196^{\circ}\text{C}$ . Assim teve início a crioterapia local moderna. Cooper inicialmente utilizou a técnica no tratamento de pacientes com doença de Parkinson (COOPER e LEE, 1961). Em 1972, Zacarian publicou os primeiros casos em que foi empregada criocirurgia com nitrogênio líquido na região periocular e em tumores de órbita (ZACARIAN, 1972 *apud* FRAUNFELDER, 2008).

O ponto de ebulição do nitrogênio líquido é, de longe, o mais baixo de todos os agentes crioterápicos utilizados na medicina, o que o torna o mais eficiente na destruição celular. É bem estabelecido na literatura em dermatologia que um congelamento rápido de tumores de pele com nitrogênio líquido é muito mais efetivo em comparação a um congelamento lento utilizando criógenos alternativos na erradicação de células tumorais. Isso também é válido para tumores oculares, em que um grande número de casos revelou a natureza tumoricida do nitrogênio líquido (TEHRANI e FRAUNFELDER, 2013). Segundo Thibault, este é o fluido criogênico com maior capacidade de penetração tecidual, podendo ser empregado no tratamento de lesões grandes e pequenas. Entretanto, deve-se controlar o processo para garantir que não haja penetração excessiva e destruição de estruturas críticas (THIBAUT, 2011).

De acordo com Abramovits, múltiplos fatores fazem com que o nitrogênio líquido seja o criógeno ideal, tais como ponto de ebulição extremamente baixo, transporte sem necessidade de pressurização, baixo custo de produção, ausência de fumaça tóxica, pouca inflamabilidade e armazenamento em containers de mínima ou nenhuma pressurização. Além disso, ele é a substância crioterápica que congela tecidos na velocidade mais apropriada, cerca de  $50-100^{\circ}\text{C}$  por minuto (ABRAMOVITS, 2016).

O nitrogênio líquido deve ser armazenado em containers criogênicos especialmente designados para este fim, com sistema específico de isolamento térmico e vedação adequada. As fichas de informações de seguranças de produtos químicos (FISPQ) recomendam que se utilize proteção ocular, proteção facial e luvas, já que o gás refrigerado pode causar queimaduras e lesões criogênicas (FICHA..., 2015).

## 5 INSTRUMENTAL

Segundo Bansal *et al* (2012), os sistemas disponíveis para uso da criocirurgia podem ser classificados em abertos ou fechados. Os sistemas abertos caracterizam-se pela aplicação direta do agente crioterápico na lesão com hastes de algodão ou via spray. As hastes de algodão podem ser confeccionadas de acordo com o tamanho da lesão e as ponteiros para spray apresentam orifícios centrais com diversos diâmetros. Esses sistemas são aplicáveis a lesões proliferativas espessas e invasivas, cujo controle da profundidade de destruição é de importância secundária. Os sistemas fechados, representados pelas sondas, oferecem um maior grau de controle, sendo a profundidade de congelamento menos profunda do que com sistemas abertos (BANSAL *et al.*, 2012; LEOPARD, 1975). Os três instrumentos básicos de criocirurgia são os suabes, os sprays e as sondas.

### 5.1 Suabe

A técnica de crioterapia via suabe consiste na aplicação direta do criógeno, normalmente nitrogênio líquido, sobre a lesão (YU *et al.*, 2009). Allington, em 1950, foi o primeiro médico a aplicar nitrogênio líquido no tratamento de tumores de pele através de suabes. Em seu estudo, relatou a perda do potencial dissipador de calor no contato entre a ponta do suabe e a pele. Assim, o método foi considerado ineficiente no tratamento de tumores cutâneos, especialmente os malignos (ALLINGTON, 1950).

A técnica de criocirurgia a partir de suabe de algodão tem como desvantagem a necessidade de separação de porções da substância crioterápica para cada paciente, pois alguns microrganismos, como vírus, podem sobreviver no nitrogênio líquido, contaminando o criógeno. Isso permitiria a transmissão viral caso o mesmo produto fosse utilizado para diferentes pacientes (JONES e DARKVILLE, 1989). Além disso, o suabe permite o congelamento a no máximo 2 a 3 mm de profundidade, o que impossibilita o tratamento de lesões mais profundas (GRAHAM e BARHAM, 2003).

Segundo Pasquali, o suabe como instrumento criocirúrgico deve ser evitado por uma série de razões, entre elas: os suabes não permitem a aplicação controlada do nitrogênio líquido, especialmente no que se refere à temperatura atingida; a aplicação do criógeno não é precisa, de forma que áreas saudáveis podem acabar sendo desnecessariamente atingidas, o que resulta

em efeitos secundários indesejados; e os riscos de contaminação são grandes quando se tenta recongelar a superfície do suabe ao recolocá-lo em contato com o criógeno, causando contaminação de toda a unidade (PASQUALI, 2015). Yu e colaboradores relataram que o suabe carrega somente uma pequena quantidade do criógeno e não consegue manter constante temperatura dos tecidos com os quais entra em contato (YU *et al.*, 2014).

## 5.2 Spray

Muitos cirurgiões utilizam a técnica de spray, que consiste em um reservatório manuseável de nitrogênio líquido acoplado a um bico ou ponteira de pulverização. O nitrogênio líquido dentro do recipiente hermeticamente fechado atinge o ponto de ebulição, o que resulta em uma rápida liberação de gás pressurizado. É possível controlar a velocidade de pulverização, a qual é proporcional ao diâmetro do bico (THIBAUT, 2011).

O spray libera o criógeno diretamente sobre a lesão, e é possível fazer movimentos em espiral, a partir do centro do tecido (ideal para lesões circulares), ou movimentos laterais, de uma borda à outra (ideal para lesões retangulares) (GRAHAM e BARHAM, 2003). É difícil determinar a temperatura do produto quando o nitrogênio líquido sai do bico e se transforma em gás. Entretanto, sabe-se que seu ponto de ebulição é igual a  $-196^{\circ}\text{C}$ , e as temperaturas adequadas para destruir lesões malignas e benignas são em torno de  $-50^{\circ}\text{C}$  e  $-25^{\circ}\text{C}$ , respectivamente. Portanto, a pulverização de nitrogênio líquido em forma de spray deve ser eficiente se aplicada de forma correta para as condições descritas (FRAUNFELDER, 2008).

Deve-se escolher o diâmetro do bico e ajustar a taxa de liberação do gás de modo que o criógeno atinja a superfície exata do tecido. Um aumento no fluxo leva a um aumento na velocidade de congelamento, mas também amplifica o volume de tecido que recebe o tratamento, podendo atingir um tecido saudável (Figura 2) (THIBAUT, 2011).

Os bicos de pulverização normalmente são feitos de bronze e suas diferentes aberturas permitem a liberação do nitrogênio líquido. A superfície pode ser plana ou cônica. Os fabricantes identificam os diferentes diâmetros com letras ou números, mas é importante ter cautela, pois, dependendo da marca, a ordem pode iniciar de forma crescente ou decrescente. Para aberturas maiores, uma maior quantidade da substância é liberada, e o congelamento será mais rápido. Entretanto, aberturas menores permitem um melhor controle de liberação, de forma que não se ultrapasse as margens da lesão (PASQUALI, 2015).



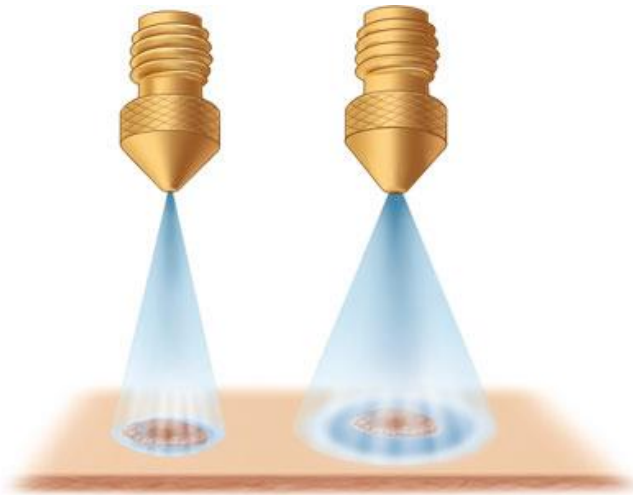


Figura 2: Esquema do diâmetro de abertura dos bicos de spray. Para bicos posicionados à mesma distância, o maior diâmetro libera maior quantidade da substância criogênica, atingindo uma área maior. Fonte: PASQUALI, 2015.

### 5.3 Sonda

As sondas, também denominadas probes, representam circuitos fechados de aplicação de criógenos. Elas são constituídas de metal, por ser um excelente condutor de frio (PASQUALI, 2015). Na área de oftalmologia, estas sondas, também chamadas de probes “*Finger-tip*”, foram inicialmente desenvolvidas para uso em tumores malignos de conjuntiva pelo médico oftalmologista e professor Paul Finger, da Universidade de Nova Iorque. Em função do congelamento uniforme produzido pela superfície espatulada oval, estas sondas se tornaram uma ferramenta cirúrgica versátil, com diversas aplicações (WALKER e FINGER, 2007).

A sonda é colocada à temperatura ambiente sobre a lesão e então é comprimida ligeiramente, fornecendo uma isquemia leve e liberando a substância criogênica. A posição do paciente deve ser estável durante todo o tempo (THIBAUT, 2011). Se a sonda for corretamente aplicada, a temperatura do tecido vai cair de forma rápida, contínua e somente na região circunscrita. Algumas sondas são revestidas com teflon, a fim de reduzir o risco de perfuração do tecido, o que torna as sondas ideais para o tratamento de lesões em superfícies mucosas, como as pálpebras (PASQUALI, 2015).

Alguns cirurgiões optam por fixar a sonda à lesão antes do início do congelamento para obter maior precisão. Isto pode ser feito pela aplicação de uma pequena quantidade de lubrificante ou gel de ultrassom sobre a extremidade da sonda. Em alguns segundos, este material começa a congelar e se adere ao tecido (crioadesão). Uma vez feito o congelamento, é importante esperar o descongelamento ocorrer para retirar a sonda, pois se isso for feito com a superfície ainda congelada, há risco de rasgar o tecido (PASQUALI, 2015).

As sondas contêm um tubo de silicone acoplado para deixar escapar o excesso de vapor do criógeno. Durante o uso, este tubo deve ser direcionado para longe do paciente e do aplicador, para evitar queimaduras. Após 5 a 10 segundos de aplicação, o tubo endurece e permanece na posição até descongelar (MANUAL..., 2016).

Em relação ao tamanho, a sonda deve ser do mesmo tamanho da lesão, de forma a encaixar exatamente no tecido. Caso essa sonda não esteja disponível, deve-se escolher uma sonda menor, pois uma sonda maior cobre as margens e dificulta a visualização do processo. Entretanto, a sonda menor também não é ideal, pois promove o congelamento excessivo do centro da lesão antes que as margens sejam alcançadas na sua totalidade. Existem diversos tipos de sondas para comercialização, e o ideal é que se tenha diversas formas e tamanhos disponíveis (PASQUALI, 2015).

Em oftalmologia, as sondas do tipo “*Finger-tip*” tem sido as mais usadas atualmente. Estas sondas foram projetadas com uma extremidade oval e plana, que proporciona uma superfície de congelamento uniforme, reduzindo o potencial de danos às áreas não-alvo do globo ocular e dos tecidos associados (Figura 3). Tal como acontece com todos os tipos de criopros, a ponta é a única parte da sonda que congela, evitando assim a necessidade de qualquer proteção sobre o eixo da sonda (WALKER e FINGER, 2007). De acordo com o fabricante, as sondas são fabricadas nos tamanhos pequeno, médio e grande. O tamanho pequeno cobre uma área de 8,5 mm<sup>2</sup> e foi projetado para tratar pequenas áreas de neoplasias conjuntivais e corneais, além de triquíase. O tamanho médio tem uma área ativa de 25,2 mm<sup>2</sup>, e deve ser utilizado no tratamento de neoplasias conjuntivais e corneais e pequenos tumores de órbita. Por fim, o tamanho médio compreende uma área de 70 mm<sup>2</sup> e deve ser usado para tratar

áreas amplas de neoplasias conjuntivais, esclerais e corneais, e para auxiliar na tração do globo ocular durante cirurgias de enucleação (FINGER, 2005).

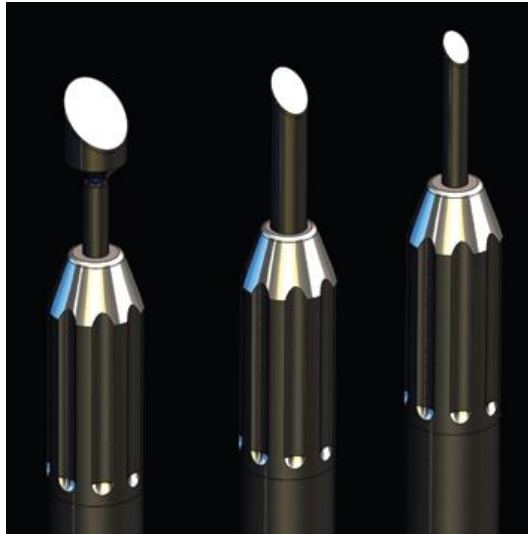


Figura 3: Probes "*Finger-tip*" espatuladas com superfície oval, desenhadas para promover uma superfície uniforme de congelamento. Fonte: WALKER e FINGER, 2007.

Thibault relata que os efeitos secundários com o uso de sondas de circuito fechado são reduzidos devido à precisão na aplicação do fluido criogênico. Além disso, a técnica requer menos experiência e por isso é mais acessível na rotina cirúrgica (THIBAUT, 2011).

## 6 EQUIPAMENTOS

### 6.1 Recipiente de armazenamento do criógeno

O recipiente é uma estrutura metálica de dupla parede, que contém vácuo entre essas paredes e é utilizado para abrigar o material líquido numa temperatura abaixo da temperatura ambiente (Figura 4). No caso do nitrogênio líquido, é possível encontrar o equipamento com relativa facilidade no comércio, uma vez seu uso é comum também em outras profissões. Segundo Pasquali, os recipientes modernos existem em diferentes tamanhos e têm bons sistemas de isolamento, fazendo com que o criógeno dure mais tempo. Além disso, são leves e sua manipulação é segura (PASQUALI, 2015). Os recipientes podem ser preenchidos com mais fluido quando for necessário.



Figura 4: Esquema demonstrando o recipiente de armazenamento do criógeno. Contém tampa, tubo de pescoço, sistema de vácuo, parede dupla de metal e sistema de isolamento. Fonte: PASQUALI, 2015.

### 6.2 Unidades criocirúrgicas

O primeiro dispositivo portátil de criocirurgia disponível comercialmente foi desenvolvido por Michael Bryne, em 1966. Ele serviu de inspiração para os equipamentos atualmente utilizados. Com a existência destas unidades, os suabes de algodão têm sido cada vez menos empregados. Os dispositivos são leves, fáceis de manusear, e contém a substância criogênica em quantidade suficiente para tratar vários pacientes (Figura 5). Os mais modernos

contam com a tecnologia de mensuração da temperatura de congelamento através de tecnologia com radiação infravermelha (PASQUALI, 2015).



Figura 5: Unidades criocirúrgicas Cry-Ac®. Fonte: MANUAL Cry-Ac® do Brasil. Disponível em: <<http://cryac.com.br/images/manuais/cryac.pdf>>

## 6.2 Cones de borracha

Os cones de borracha podem ser empregados para auxiliar na técnica de criocirurgia com pulverização. Esses dispositivos são colocados em volta da lesão, com o objetivo de limitar o alcance do spray, permitindo um congelamento mais preciso e localizado. Os cones podem ser feitos de plástico ou de borracha, mas nunca de metal – caso contrário, iriam congelar também, causando danos ao tecido saudável (Figura 6) (PASQUALI, 2015).



Figura 6- Cones de borracha utilizados para limitar o alcance do spray a uma área definida. Fonte: PASQUALI, 2015

## 7 MECANISMO DE AÇÃO

O mecanismo de destruição celular durante a fase de congelamento na criocirurgia é multifatorial e ainda não foi totalmente elucidado (FRAUNFELDER, 2013). A crioterapia envolve a retirada de calor de um tecido por um dissipador de calor, representado pelo fluido criogênico, e diversas mudanças no tecido que recebe a crioterapia contribuem para a destruição final da lesão (GRAHAM e BARHAM, 2003). A natureza da destruição celular baseia-se em vários processos relacionados com as taxas de variação de temperatura, distância do centro de congelamento, concentrações de solutos intracelular e extracelular após o congelamento, entre outros (PASQUALI, 2015). De acordo com Leopard, os mecanismos provavelmente coexistem durante um procedimento criocirúrgico e a preponderância de cada um varia de acordo com o instrumento utilizado, a natureza do tecido, a distância da crioprobe e a taxa de congelamento. Assim, um entendimento destes mecanismos permite que o cirurgião varie a técnica escolhida de acordo com o local, o tamanho e a profundidade da lesão a ser tratada (LEOPARD, 1975).

Entre os efeitos diretos do congelamento, está a formação de cristais intracelulares e extracelulares, que levam à ruptura das membranas plasmáticas. Com isso, ocorre desidratação celular e entrada de eletrólitos para o meio intracelular em concentrações tóxicas (HOLDEN, 1973; LEOPARD, 1975). A formação de cristais de gelo intracelulares depende da taxa de descongelamento depois de um congelamento rápido, ocasionando um maior dano celular, ideal para tratar lesões malignas. Já os cristais extracelulares se formam quando o congelamento é lento e normalmente isso resulta em destruição tecidual menos intensa (GRAHAM e BARHAM, 2003). Após o congelamento, ocorre um reaquecimento tecidual lento que também contribui para os efeitos diretos da crioterapia. Os cristais extracelulares se desfazem antes dos intracelulares, e essa água extracelular penetra nas células, favorecendo sua ruptura (BENAGLIA *et al.*, 2014).

A inibição enzimática também é um efeito direto da crioterapia, pois o congelamento repentino altera o metabolismo celular e isso torna a célula mais vulnerável aos distúrbios de metabólitos. Além disso, há desnaturação de proteínas das mitocôndrias e dos complexos lipoprotéicos das membranas celulares, em função das baixas temperaturas. A perda de fosfolípidos aumenta a permeabilidade celular, levando a célula ao aumento de volume e posterior lise (BENAGLIA *et al.*, 2014).

Fraunfelder (2008) relata que a fase de descongelamento é tão importante quanto a fase de congelamento no que se refere à destruição celular. A morte celular ideal é alcançada por um congelamento rápido (formação de cristais de gelo e isquemia celular por destruição de vasos sanguíneos) associado a um descongelamento lento (desidratação celular e acúmulo de solutos tóxicos). Quando o congelamento é rápido, a água intracelular não tem tempo suficiente para deixar a célula por difusão e então se formam cristais de gelo intracelulares. Em seguida, com o descongelamento lento, os cristais se tornam mais largos e estáveis, num processo chamado de recristalização. Estes grandes cristais recristalizados são altamente destrutivos para a célula (FRAUNFELDER, 2008). O efeito é reforçado por dois a três ciclos repetidos de congelamento/descongelamento. Caso o descongelamento ocorra rapidamente, os pequenos cristais irão apenas derreter, e não haverá dano celular. Portanto, o descongelamento lento causa maior dano celular que o rápido (LEOPARD, 1975). A profundidade de congelamento relaciona-se com o tempo de contato, pois quanto mais tempo a lesão ficar em contato com o criógeno, maior profundidade tecidual será alcançada.

Investigações recentes *in vitro* e *in vivo* identificaram a apoptose, ou morte celular geneticamente regulada, como um mecanismo de lesão direta. As células da porção central da lesão sofrem necrose pela ação do crioterápico e as células da porção periférica sofrem apoptose, que em geral ocorre de 8 a 12 horas após o congelamento. Ainda de acordo com os autores, a apoptose ocorre ao redor da área necrótica, mas a fronteira entre estes dois eventos não está bem definida (MACCINI *et al.*, 2011).

Efeitos indiretos da crioterapia incluem modificações vasculares que levam à necrose isquêmica do tecido e modificações imunológicas que culminam em dano celular por citotoxicidade (YU, 2014). O fluxo sanguíneo reduz nas primeiras horas após a criocirurgia, e isso se intensifica nas 24 horas seguintes (GAGE, 1998). Nesta fase, ocorre aglutinação, tamponamento e aderência de hemácias entre si e à parede dos vasos (NISHIDA *et al.*, 2011). O resultado dessa estase vascular leva à trombose e à isquemia, seguidas de hipóxia ou anóxia, mudança de pH e morte celular (LEOPARD, 1975). A anóxia celular consequente da perda de circulação é considerada o principal mecanismo de lesão na criocirurgia. Após o descongelamento dos tecidos, a estase microcirculatória se desenvolve rapidamente, iniciando por vasoconstrição e redução de fluxo e culminando na interrupção total (NISHIDA *et al.*, 2011).

Em relação às modificações imunológicas, Pasquali relata que a resposta inflamatória se desenvolve em até 24 horas após a criocirurgia, como resposta à morte celular, especialmente

no centro da lesão, onde a necrose se forma. Ocorre separação epitelial e formação de edema, especialmente nos locais onde a pele perde conexão com os tecidos mais profundos (PASQUALI, 2015). Há migração de células até o ponto focal da lesão, sendo que os neutrófilos são os primeiros a realizar esse processo, seguidos de macrófagos e linfócitos. Em 24 horas a contagem celular na região da lesão aumenta dez vezes. Citocinas inflamatórias são liberadas, além de Interleucina-1 e Fator de Necrose Tumoral (SOUZA *et al.*, 2006). Segundo Leopard, a resposta imunogênica pode ocorrer ou por que as substâncias antigênicas normalmente presentes no interior das células são liberadas quando elas são mortas pelo congelamento, ou devido ao fato de que as baixas temperaturas produzem alterações moleculares que transformam em antígenos alguns componentes intracelulares normais (LEOPARD, 1975).



## 8 VARIÁVEIS CONTROLÁVEIS

As variáveis que estão sob o controle do operador são: o tipo de aparelho, a temperatura de congelamento alcançada, a taxa de resfriamento, a duração e a repetição dos ciclos de congelamento, a fase de aquecimento, o volume de tecido tratado e outras medidas auxiliares.

### 8.1 Tipo de aparelho

A crioterapia pode ser realizada com equipamentos de sistemas abertos ou fechados. O sistema fechado oferece um maior grau de controle da temperatura, mas exige um equipamento mais complexo, delicado e de custo mais elevado. Ele é realizado por contato direto da sonda com a superfície da lesão tecidual. Devido à pequena área de contato com a lesão e ao aspecto plano da sonda, a crioterapia em sistema fechado geralmente é apropriada para lesões uniformes e pequenas. O sistema aberto envolve a aplicação do criógeno sobre o tecido a partir de hastes de algodão ou pulverizadores portáteis. Embora o equipamento tenha menor custo, é mais difícil manter uma temperatura constante e suficientemente baixa durante todo o período de aplicação (YU *et al.*, 2014). A escolha da unidade de crioterapia utilizada dependerá da técnica mais apropriada para cada caso, pois existem muitas unidades diferentes disponíveis comercialmente (Figura 7) (THIBAUT, 2011).

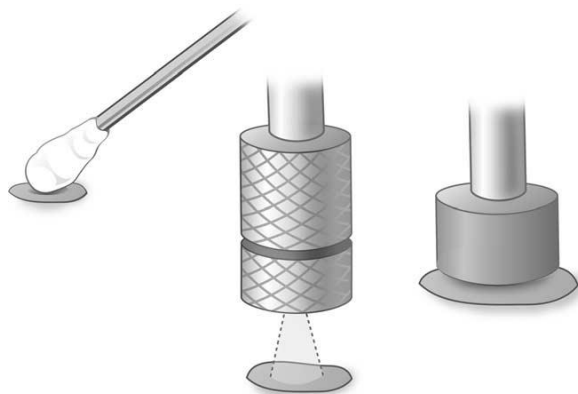


Figura 7: Desenhos esquemáticos de suabe, spray e probe, representando os aparelhos comumente empregadas em criocirurgia. Fonte: GRAHAM e BARHAM, 2003

## 8.2 Temperatura alcançada

Apesar de a temperatura alcançada depender de fatores como a condutividade térmica do tecido e a espessura de suas camadas, além do tipo de aparelho e da duração do congelamento, as mudanças de temperatura mais eficazes são atingidas utilizando sondas grandes, repetindo os ciclos e garantindo um contato íntimo entre a sonda e a lesão (LEOPARD, 1975). A lesão tecidual só é atingida numa temperatura suficientemente baixa, que possibilite a formação dos cristais intracelulares homogêneos, mas é importante ressaltar que tecidos e células tem diferentes suscetibilidades ao frio (PASQUALI, 2015). Em 1965, criocirurgiões trataram tumores de pele a  $-25^{\circ}\text{C}$ , e nessa época acreditava-se que a temperatura ótima para o tratamento de neoplasias malignas seria de  $-35^{\circ}\text{C}$ . Atualmente, a temperatura aceitável varia entre  $-50^{\circ}\text{C}$  e  $-55^{\circ}\text{C}$  (ZACARIAN, 1983 *apud* TEHRANI e FRAUNFELDER, 2013). Isso foi determinado por estudos sobre sistemas de monitoramento de resistência elétrica dos tecidos (FRAUNFELDER, 2008).

## 8.3 Taxa de resfriamento

A capacidade de um fluido criogênico de congelar um tecido depende de seu ponto de ebulição, pois quanto menor for esse ponto, maior a capacidade do fluido atuar como um dissipador de calor (FRAUNFELDER, 2008). O ponto de ebulição do nitrogênio líquido é o menor dentre os criógenos disponíveis, tornando-o o mais efetivo na destruição celular (TEHRANI e FRAUNFELDER, 2013). De acordo com Pasquali, a taxa de congelamento pode ser rápida ( $100$  a  $200^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ), moderada ( $10$  a  $100^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ) ou lenta (até  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ) (PASQUALI, 2015). Uma vez que o objetivo é destruir um tecido, é essencial atingir de forma rápida uma temperatura suficientemente baixa, formando cristais de gelo intracelulares que geram danos irreversíveis para o tecido, como necrose e destruição de organelas e membranas celulares. Se a taxa de resfriamento for moderada ou lenta, estes danos podem ser reversíveis, uma vez que predominam os cristais extracelulares e a desidratação celular. As taxas de resfriamento são mais elevadas no centro da lesão, sendo que mais perto da periferia elas se tornam menores.

#### **8.4 Duração e repetição dos ciclos de congelamento**

Segundo Leopard, durante o congelamento os cristais de gelo se expandem lentamente, até que o equilíbrio seja atingido, o que costuma levar cerca de um minuto para ocorrer. Por convenção, a duração do congelamento é medida a partir do momento em que esse equilíbrio é estabelecido. Entretanto, além da dificuldade de avaliar isso com precisão, existem tecidos que já sofrem dano suficiente pela crioterapia antes mesmo de os cristais de gelo atingirem seu tamanho máximo (LEOPARD, 1975).

Segundo Finger, a duração do congelamento necessária para causar a morte de células tumorais é inversamente proporcional à temperatura do tecido. A aplicação do agente crioterápico durante vários minutos aumenta a destruição tecidual devido ao crescimento dos cristais de gelo, mas congelar a temperaturas mais baixas culmina em menos tempo até que ocorra a morte celular (FINGER, 2005).

A repetição de ciclos de congelamento e descongelamento induz maior destruição de células neoplásicas na periferia da lesão que recebe a crioterapia, região que possivelmente não alcança a temperatura letal. Entre estes ciclos deve haver vários minutos de intervalo, permitindo que a estase vascular se desenvolva e assim aumente o efeito destrutivo do segundo ciclo. Em geral, o uso de descongelamento completo, longa duração de congelamento, aumento do intervalo entre os ciclos e repetição de ciclos permite que as temperaturas baixas aplicadas sejam letais e que a resposta destrutiva no tecido seja mais previsível. Na prática oftálmica, a modulação destes parâmetros depende do tamanho e localização da lesão, bem como da presença de estruturas sensíveis adjacentes a ela (FINGER, 2005).

#### **8.5 Fase de reaquecimento**

O descongelamento, ou fase de reaquecimento, é tão crucial quando o congelamento na destruição celular durante a crioterapia. Um reaquecimento lento permite estase vascular mais longa, além de maior exposição dos tecidos a solutos intracelulares tóxicos (WILKES e FRAUNFELDER, 1979). A desidratação celular também é consequência de descongelamento lento. Todos estes efeitos são potencializados por ciclos repetidos, normalmente feitos de duas a três vezes (FRAUNFELDER, 2008). Seim ressalta que o descongelamento é realizado à temperatura ambiente, sem nenhum tipo de aquecimento suplementar. Deve-se evitar a

manipulação do tecido congelado, para não forçar o aumento da temperatura dos cristais de gelo (SEIM, 1980 *apud* THIBAUT, 2011). Caso o descongelamento ocorra rapidamente, os cristais irão apenas derreter, sem causar os danos mecânicos esperados às células (LEOPARD, 1975). Uma taxa suficientemente baixa de descongelamento seria um aquecimento em torno de 10°C a cada minuto (PASQUALI, 2011).

## **8.6 Volume e tipo de tecido tratado**

O tipo de célula que receberá o agente crioterápico também influencia no resultado. Melanócitos são as células mais sensíveis, por isso existe o risco de despigmentação cutânea após a criocirurgia. O colágeno é o tecido mais resistente, de forma que a necrose se torna bem mais rara. Por isso, a crioterapia é adequada em áreas onde a manutenção de elasticidade e função são importantes, como a região periorbital (FRAUNFELDER, 2008).

Embora o formato da probe determine o padrão de congelamento subjacente, o volume de tecido que ela atingirá pode ser aumentado quando se pressiona-a firmemente de forma a invaginar a superfície antes do congelamento. Por outro lado, a aplicação de tração sobre ela diminui a área atingida. Existe um limite para a profundidade de tecido que pode ser congelado e este limite tem relação com o tempo de contato: quanto mais longa a aplicação do criógeno, mais profundo será o congelamento (LEOPARD, 1975; FRAUNFELDER, 2008).

## **8.7 Medidas auxiliares**

As medidas auxiliares visam potencializar os efeitos do congelamento através da redução do aporte sanguíneo para o tecido. Isto pode ser feito através de aplicação prévia de fármacos vasoconstritores, compressão digital de vasos e compressão por pressão firme na sonda durante todo o congelamento (LEOPARD, 1975).

## 9 TERMOPARES

Termopares, também denominados *thermocouples*, são dispositivos elétricos amplamente utilizados como sensores de temperatura com objetivo de mensurar a temperatura interna dos tecidos durante a criocirurgia. Eles são constituídos por duas extremidades condutoras que formam junções elétricas e produzem uma corrente proporcional à mudança de temperatura durante a crioterapia. Quando se congela tumores de pele ou de pálpebras, a temperatura que o tecido atinge pode ser mensurada através de inserção de um *thermocouple*. O monitoramento da temperatura e do volume de tecido congelado é essencial para reduzir os riscos de complicações e garantir que uma injúria tecidual suficiente foi alcançada (PASQUALI, 2015).

Em 1821, o físico Thomas Seebeck descobriu que quando dois metais são unidos em um circuito fechado, uma pequena força eletromotiva (também chamada de potencial elétrico) é gerada se houver diferença de temperatura entre o circuito. Ele determinou que essa força eletromotiva é proporcional à diferença de temperaturas entre os dispositivos, caracterizando o “Efeito Seebeck”. O que se mede com os termopares é o potencial elétrico na agulha em microvolts, e isso é convertido para uma grandeza de temperatura através de um coeficiente, o “coeficiente de Seebeck”. Este efeito é a base física para o funcionamento de um *thermocouple* (PRICE e BIRO, 1983).

O dispositivo consiste de agulhas hipodérmicas finas com fios de metal conectados à sua extremidade proximal, sendo que níquel e cobre são os metais mais comuns. Na prática, utilizam-se duas agulhas. Uma delas é implantada no centro da lesão, de forma mais profunda, e a outra é implanta na periferia, superficialmente (Figura 8). Desta forma, é possível avaliar precisamente a extensão do congelamento e as temperaturas atingidas em toda a lesão (ARAGON, 1998 *apud* THIBAUT, 2011). A geometria dos cristais de gelo é influenciada pelo tipo de tecido e pela sua perfusão sanguínea, de modo que a avaliação visual não indica um congelamento eficiente. Os termopares podem garantir uma extensão efetiva das baixas temperaturas, estimando a ocorrência da necrose tanto em área quanto em profundidade de forma mais confiável (THIBAUT, 2011).

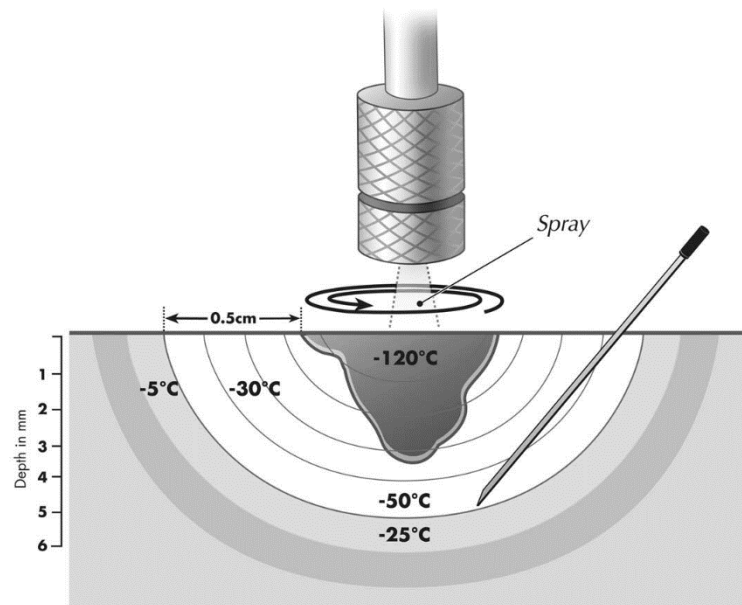


Figura 8: Esquema representando a agulha do termopar inserida em local próximo à lesão e mensuração da temperatura. Fonte: GRAHAM e BARHAM, 2003.

Para realizar criocirurgia na superfície do globo ocular, o método comum não é viável, pois não se pode inserir as agulhas para dentro da córnea ou da esclera sem colocar o olho em risco de infecção, inflamação e formação de cicatrizes. Para superar este obstáculo, Fraunfelder e Wingfield fizeram experimentos que culminaram no desenvolvimento de um termopar em forma de microespátula, o qual pode ser inserido por uma incisão vertical (FRAUNFELDER e WINGFIELD, 1983). Eles perceberam que o contato da crioprobe com a superfície ocular durante 2 a 3 segundos não provocava registro de temperatura no sensor, sugerindo que este seria um tempo seguro para a aplicação de nitrogênio líquido no globo ocular. Outros estudos de Fraunfelder revelaram perda celular do endotélio da córnea com congelamento durante 5 segundos a  $-25^{\circ}\text{C}$ . Com base nisso, diversas neoplasias malignas da superfície ocular foram tratadas com segurança através de crioterapia por um tempo de contato menor que 3 segundos (FRAUNFELDER *et al.*, 1977).

Segundo Abramovits, a inserção precisa dos termopares raramente é alcançada quando o método é utilizado *in vivo*. Em 1996, ele e seus colaboradores utilizaram equipamento de ultrassonografia para guiar a inserção das agulhas na pele de seres humanos. Com este equipamento, foi possível inserir as agulhas finas de forma mais precisa, além de mensurar sua profundidade exata (ABRAMOVITS *et al.*, 1996). A partir daí o emprego do ultrassom tornou-se rotina durante a inserção de termopares para criocirurgia.

Atualmente, além dos termopares, existem pesquisas a respeito do uso de sensores de tecnologia infravermelha para mensurar a temperatura atingida nos tecidos. O objetivo é permitir que a criocirurgia seja feita de forma consistente, determinando-se a exata temperatura necessária para cada tipo de lesão, e com a vantagem de não ser um método invasivo como os termopares em forma de agulhas (PASQUALI, 2015).

## **10 VANTAGENS, DESVANTAGENS E COMPLICAÇÕES**

### **10.1 Vantagens**

Em comparação a outras modalidades de tratamento, a criocirurgia é uma técnica bastante segura, relativamente rápida, de fácil execução, eficaz, conservadora e de baixo custo. Além disso, promove pouco ou nenhum sangramento trans e pós-operatório, sendo ideal para pacientes portadores de coagulopatias. A crioterapia é um método relativamente pouco doloroso, não requer anestesia geral e pode ser realizada em pacientes de alto risco cirúrgico, como idosos ou animais portadores de patologias sistêmicas que dificultariam o procedimento cirúrgico convencional (LEOPARD, 1975; GREINER, 1975 *apud* QUEIROZ e MATERA, 2003).

A crioterapia apresenta um menor potencial de invasão e menor morbidade quando comparada com a intervenção cirúrgica, podendo ser utilizada em lesões em áreas da pele onde não há tecido suficiente para aproximar - como as pálpebras -, ou em lesões grandes, onde não é possível o fechamento com sutura (HOFFMANN e BISCHOF, 2001; GOLDSTEIN, 1976 *apud* QUEIROZ e MATERA, 2003). A criocirurgia demonstra ser uma terapia com uma grande gama de indicações, podendo ser empregada no tratamento de lesões benignas, tumores malignos e pré-malignos, especialmente quando outros métodos de tratamento são impraticáveis (KUFLIK, 1994 *apud* QUEIROZ e MATERA, 2003; BENAGLIA *et al.*, 2014).

De acordo com Leopard, a criocirurgia gera perturbação mínima ao paciente, baixos índices de complicação e previsibilidade razoável em relação ao volume de destruição tecidual, especialmente em lesões superficiais extensas. Além disso, o tratamento pode ser repetido quantas vezes forem necessárias sem aumentar a formação de cicatrizes. A criocirurgia é extremamente útil no tratamento de lesões pré-malignas e pode ser utilizada em conjunto com cirurgia convencional ou radioterapia no controle paliativo de tumores (LEOPARD, 1975).

### **10.2 Desvantagens**

O custo inicial pelo equipamento é alto, embora esse investimento possa ser compensado na ausência de utilização de anestesia geral inalatória e material cirúrgico convencional, além do menor tempo de procedimento. Dependendo do número de



procedimentos realizados semanalmente pelo médico veterinário, o desperdício de nitrogênio líquido pela evaporação pode ser um inconveniente (WITHROW, 2001 *apud* QUEIROZ e MATERA, 2003).

Apesar de as células e tecidos dos animais vertebrados serem altamente suscetíveis aos efeitos da crioterapia, nem todos os agentes patogênicos são totalmente destruídos pela exposição aos criógenos. Tem sido evidenciado que um congelamento lento seguido pelo armazenamento do nitrogênio líquido permite uma excelente criopreservação de vírus, outros microrganismos e células. O sistema fechado de crioprobe não envolve risco de contaminação pois não há exposição de vapor do agente crioterápico. Entretanto, em sistemas abertos, como por exemplo na aplicação via spray, é preciso prevenir a contaminação do material. Deve-se utilizar filtros criogênicos no momento do abastecimento do botijão de nitrogênio líquido. Além disso, é importante filtrar novamente o produto quando ele for transferido para as unidades portáteis de crioterapia. Estes métodos de filtração previnem a transferência de bactérias e fungos (KELMAN e COOPER, 1963 *apud* TEHRANI e FRAUNFELDER, 2013; BELLOWS, 1966; WILKES e FRAUNFELDER, 1979).

Leopard afirma que a criocirurgia não apresenta um efeito destrutivo padronizado, já que alguns tecidos apresentam maior resistência do que outros (LEOPARD, 1975). A dificuldade em julgar a extensão da lesão produzida pode resultar em destruição ineficaz do tecido patológico, pois a lesão pode ser maior que a capacidade de congelamento do instrumental, sendo necessária a realização de várias aplicações (READE, 1979). O uso limita-se a lesões cuja profundidade pode ser alcançada pelo equipamento, de forma que o acesso às mais profundas só pode ser feito quando a cirurgia tradicional é combinada com a criocirurgia (LEOPARD, 1975).

O edema pronunciado, além da extensão da área de necrose, configuram-se como as principais desvantagens no uso da crioterapia. A cicatriz normalmente não é fibrosa, porém a fibrose pode ocorrer em tratamento de lesões muito extensas, sendo que em muitas vezes o período de cicatrização é longo (MARCIANI e TRODAHL, 1975; READE, 1979).

Nem todos os pacientes são bons candidatos à criocirurgia. As contraindicações são raras, mas a literatura em medicina humana as divide em absolutas e gerais (ISHIDA e RAMOS-SILVA, 1998). As contraindicações absolutas são, entre outras, urticária ao frio, doenças autoimunes, diabetes descompensado e agamaglobulinemia. As contraindicações gerais são os tumores sem margens bem definidas, neoplasias localizadas em área de fusão de

tecidos embrionários, lesões na margem livre das pálpebras e carcinomas ulcerados. Outros autores também citam como contraindicações à criocirurgia as doenças que levam ao suprimento vascular prejudicado. É importante ter cautela no uso da técnica em pacientes que recebem anticoagulantes, alérgicos e idosos (ZIMMERMANN e CRAWFORD, 2012).

### 10.3 Complicações

Os efeitos indesejados podem ocorrer durante ou após a criocirurgia, de forma semelhante a qualquer outra técnica cirúrgica. Estes eventos precisam ser corretamente diferenciados das ocorrências esperadas no pós-operatório. Segundo Pasquali, a maioria das sequelas pós-cirúrgicas são temporárias, embora danos permanentes também possam ocorrer. As complicações podem ser atribuídas à criocirurgia feita de forma inapropriada, ou mesmo à técnica correta aplicada na área anatômica errada. Os equipamentos de criocirurgia são facilmente colocados à disposição no comércio, o que leva ao seu uso por operadores não treinados, que muitas vezes não fazem a seleção apropriada do paciente (PASQUALI, 2015).

De acordo com Tehrani, a maior parte das complicações de crioterapia ocular com nitrogênio líquido são relacionadas à inexperiência do cirurgião e contato prolongado da probe ou do spray com a superfície tecidual. Muitas vezes, um cirurgião principiante não consegue ser rápido o suficiente na quebra do contato entre o criógeno e a lesão, levando a um supercongelamento (TEHRANI e FRAUNFELDER, 2013).

Dependendo do tecido submetido à criocirurgia, as complicações oculares mais comuns incluem uveíte transitória, quemose temporária, hemorragia subconjuntival, dano ao endotélio corneano, paralisia dos músculos extraoculares e atrofia de íris (WINGFIELD e FRAUNFELDER, 1979). Existem alguns relatos, embora raros, de *melting* escleral após crioterapia com nitrogênio líquido em humanos (TUCKER *et al.*, 1993).

Muitos pacientes humanos relatam a sensação de queimação quando submetidos à criocirurgia, embora isso seja mais pronunciado durante a fase de descongelamento e atenuado pelo efeito anestésico do próprio frio. A maior parte do desconforto deve diminuir significativamente dentro de trinta minutos, mas a utilização de fármacos analgésicos pode ser necessária durante um curto tempo após o procedimento. Além disso, compressas frias aplicadas sobre a região, quando isso for possível, podem trazer benefícios à redução da dor (GRAHAM e BARHAM, 2003).

O grau de dor dependerá da sensibilidade individual do paciente ao frio, de seu limiar de dor, do tipo de pele, da profundidade de congelamento e de experiências dolorosas prévias. A dor é mais intensa durante o descongelamento do que durante o congelamento, devido ao edema nas terminações nervosas (PASQUALI, 2015). É importante que o cirurgião alerte o tutor do animal sobre este possível atraso na sensação de dor, o qual pode levar à apatia ou até mesmo a síncope pós-operatórias.

Hemorragias agudas são raras, mas pequenos sangramentos podem ocorrer devido aos efeitos fisiológicos da criocirurgia associados à degradação mecânica do tecido. A causa da hemorragia costuma ser a separação de uma superfície mucosa em função do congelamento, o que pode ser evitado com o uso de lubrificantes na sonda antes do contato com o tecido. Além disso, é necessário aguardar o descongelamento antes de retirar a sonda, evitando traumatismos da mucosa aderida ao equipamento através do gelo formado (GRAHAM e BARHAM, 2003). Tratamentos hemostáticos tópicos podem ser necessários para evitar a formação de jatos de sangue (quando a criocirurgia em spray for o método empregado) ou o contato do sangue com a crioprobe (causando aderências). Mesmo quando tudo isso é realizado, os vasos podem dilatar-se com o descongelamento, levando à hemorragia imediata (PASQUALI, 2015).

A insuflação dos tecidos com gás nitrogênio pode ocorrer quando o produto adentra um espaço entre a epiderme e o tecido subcutâneo, geralmente através de uma abertura na superfície da pele. Apesar de ser mais comum em áreas de pele frouxa, como em torno do olho, é um efeito raro. A insuflação não causa danos permanentes e normalmente resolve-se nas primeiras 24 horas após o procedimento. Para acelerar a resolução, pode-se pressionar suavemente a área edemaciada. Para evitar a insuflação, é possível utilizar cones de borracha que delimitem o tecido atingido pelo criógeno, já que o problema ocorre majoritariamente quando se aplica o nitrogênio líquido em sistema aberto, via spray (LEOPARD, 1975; PASQUALI, 2015).

O edema pós-cirúrgico é um evento esperado (Figura 9). Existem vários fatores relevantes para prever sua gravidade, incluindo suscetibilidade e idade do paciente, localização anatômica da lesão, tipo de pele e intensidade do congelamento (PASQUALI, 2015). Tratamento com corticosteroides via oral pode ser benéfico em alguns casos de edema severo, como o edema periorbital, mas tem o efeito indesejado de retardar a cicatrização. O edema tende a se resolver dentro de alguns dias após o procedimento (GRAHAM e BARHAM, 2003).



Figura 9: Aparência clínica da córnea de um cão com ceratite pigmentar antes e após a criocirurgia, demonstrando marcado edema corneal resultante. Fonte: AZOULAY, 2013.

Com o tratamento de lesões superfícies, tais como tumores benignos, a formação de bolhas após a criocirurgia é um processo esperado. A separação entre a epiderme e a derme é necessária para que o tratamento seja efetivo. Além disso, a bolha é protetora, uma vez que serve de compartimento estéril para dar suporte à ferida que está em processo de cicatrização abaixo dela. Se as bolhas forem largas e hemorrágicas, pode ser necessária a drenagem do conteúdo associada à antibioticoterapia, diminuindo o desconforto associado (GRAHAM e BARHAM, 2003).

Outra possível complicação é a infecção pós-operatória. Os sinais clínicos de infecção são hiperemia, dor, calor e presença de secreção purulenta no tecido tratado por criocirurgia. Infecções são infrequentes, pois o frio destrói grande parte da microbiota do tecido, e mais comuns em procedimentos que alcançam maior profundidade. Em alguns casos, pomadas antibióticas tópicas são suficientes, mas em pacientes imunocomprometidos ou com má cicatrização de feridas, uma terapia mais agressiva pode ser necessária (GRAHAM e BARHAM, 2003; PASQUALI, 2015).

Alterações pigmentares são possíveis, pois os melanócitos são muito sensíveis ao frio e sua destruição ocorre entre  $-4^{\circ}\text{C}$  e  $-7^{\circ}\text{C}$ . A criocirurgia atinge temperaturas bem menores, de forma que a perda de pigmento é uma consequência extremamente previsível (Figura 10). Os humanos de pele escura têm maior tendência à hipopigmentação, e é provável que o mesmo valha para os animais. Quanto maior o tempo de congelamento, maior a hipopigmentação, e esta tende a ser permanente. Além disso, a hiperpigmentação pós-inflamatória também é um efeito colateral da criocirurgia, embora este pigmento tenda a desaparecer lentamente com o passar do tempo (GRAHAM e BARHAM, 2003).



Figura 10: Aparência clínica das pálpebras de um cão após ser submetido a duas sessões de crioterapia para tratamento de distiquíase, evidenciando despigmentação das margens palpebrais e edema intenso. Fonte: LOPES, 2012.

A crioterapia não costuma induzir a formação de cicatrizes. Entretanto, se o congelamento for severo e prolongamento, este efeito indesejado torna-se possível. O tecido hipertrófico se localiza no centro do sítio cirúrgico. Cicatrizes de retração podem ocorrer entre o canto medial do olho e a ponte nasal, gerando ectrópio (GRAHAM e BARHAM, 2003). A necrose de cartilagens após o congelamento é extremamente rara, exceto as que estão invadidas por tumores, especialmente CCE e carcinomas de células basais (LEOPARD, 1975).

## 11 DOENÇAS OCULARES

Em oftalmologia, a crioterapia baseia-se na capacidade de destruir tecidos oculares sem atingir estruturas anatômicas vitais. Essa destruição seletiva pode ser feita em diversas porções do olho, incluindo o endotélio corneano, células pigmentares da úvea, músculos irídicos, músculos do corpo ciliar, retina neurosensorial e pigmentar, além da pequena vasculatura da úvea e da retina (ARAGON, 1998 *apud* THIBAULT, 2011). A crioterapia faz com que seja possível tratar o glaucoma, mas também anormalidades ciliares, tumores oculares e perioculares, tecidos de granulação, folículos pilosos anormais, assim como outras doenças menos comuns. Esta modalidade pode ser empregada no olho visual e repetida se necessário (CLERC, 1997 *apud* THIBAULT, 2011).

Existem dois métodos de utilização terapêutica em criocirurgia ocular: crioadesão e crionecrose. A crioadesão é feita quando a probe adere-se à uma estrutura ocular, podendo ser aplicada na extração do cristalino luxado, na coleta de material para diagnóstico laboratorial, no debridamento de úlceras de córnea e na manipulação do globo ocular. A crionecrose é empregada no tratamento de neoplasias, glaucoma, ceratite superficial crônica, sinéquias e descolamento de retina. A adesão da probe aos tecidos inicia-se a temperaturas de  $-2^{\circ}\text{C}$ , enquanto a crionecrose inicia-se somente à  $-20^{\circ}\text{C}$  (RICKARDS, 1980 *apud* THIBAULT, 2011).

### 11.1 Anormalidades ciliares

Entre as anormalidades ciliares, destaca-se a distiquíase, a triquíase e os cílios ectópicos. A distiquíase é caracterizada pela presença de cílios emergindo das aberturas das glândulas de Meibômio. Na triquíase, cílios ou pelos adjacentes emergem de locais normais, mas em direção à córnea, permanecendo em contato direto com ela. A ectopia ciliar ocorre quando cílios surgem a partir das glândulas de Meibômio e emergem através da conjuntiva palpebral ou bulbar. Estes podem ser de difícil visualização a olho nu, sendo necessário o auxílio de fonte de luz e magnificação para diagnóstico definitivo. Todas as desordens ciliares produzem sinais clínicos semelhantes, como epífora, blefarospasmo, hiperemia conjuntival crônica e ulceração corneana (MAGGS, 2008).

Muitos tratamentos já foram utilizados na correção da distiquíase. As técnicas de excisão cirúrgica foram abandonadas em função de complicações pós-operatórias, como a

formação de entrópio, cicatrização excessiva das margens palpebrais e destruição das glândulas de Meibômio. A simples remoção dos pelos com fórceps também já foi utilizada, mas nessa técnica não há destruição do folículo piloso, que volta a emergir em algumas semanas. Segundo Maggs, a crioepilação é o método mais utilizado atualmente, baseado na suscetibilidade seletiva dos folículos pilosos ao frio, com maior resistência dos tecidos adjacentes. Óxido nitroso ou nitrogênio líquido são aplicados à conjuntiva que se sobrepõe às glândulas Meibomianas contendo os cílios anormais, 3 a 4 mm de distância da margem palpebral livre, atingindo  $-25^{\circ}\text{C}$  (Figura 11). O congelamento a essa temperatura é capaz de destruir os folículos, poupando o tecido palpebral adjacente. Dois ciclos de congelamento-descongelamento são utilizados. O primeiro congelamento deve durar 60 segundos, e o segundo, 30 segundos. Temperaturas abaixo de  $-30^{\circ}\text{C}$  facilmente produzem necrose tecidual envolvendo as pálpebras, por isso o uso de termopares é importante para garantir a temperatura tecidual não alcance valores abaixo de  $-25^{\circ}\text{C}$ . Após a descongelação do segundo ciclo, todos os cílios visíveis são manualmente removidos (MAGGS, 2008; STADES, 2013)

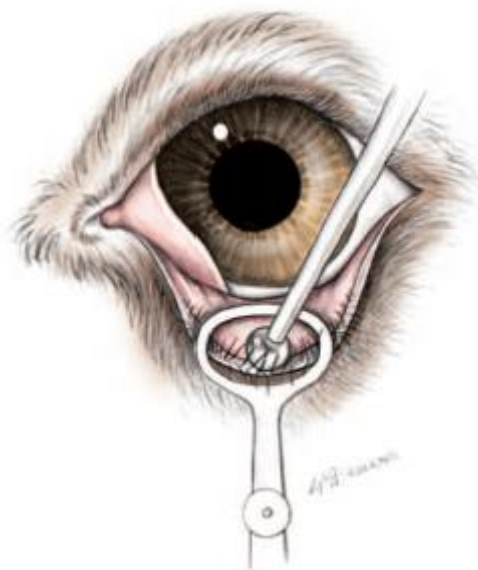


Figura 11: Representação esquemática de crioepilação no tratamento de distiquíase em cão. O fórceps de calázio isola a área, a pálpebra é evertida e a crioprobe é aplicada sobre a glândula tarsal, de onde se origina o cílio anormal. Fonte: MAGGS, 2008.

No pós-operatório, as pálpebras e as glândulas sofrem crionecrose, mas os tecidos não-foliculares são poupados. Em quatro semanas, as glândulas regeneram-se sem cílios, embora

novos cílios possam emergir de áreas não tratadas. O edema pós-operatório pode ser reduzido através do uso peri-operatório de anti-inflamatórios esteroidais ou não esteroidais, mas ele costuma durar somente entre dois e quatro dias. Também é indicado o protocolo com pomadas oftálmicas à base de antibióticos e corticosteroides, a fim de reduzir o edema conjuntival, e de anti-inflamatório não esteroide por via oral, no intuito de promover analgesia. Pode ocorrer alguma despigmentação da margem palpebral em até 72 horas, mas a maior parte deste pigmento retorna dentro de seis meses (MAGGS, 2008). Despigmentação permanente, formação de cicatrizes e distorção palpebral são complicações possíveis (STADES, 2013)

A criocirurgia também pode ser empregada no tratamento de triquíase. A técnica é especialmente útil quando há um grande número de pelos emergindo da superfície interna do canto medial do olho, na carúncula mediana (MAGGS, 2008).

Chambers e Slatter, em 1984, publicaram um relato clínico e experimental em que utilizaram crioterapia a base de óxido nítrico no tratamento de distiquíase e triquíase em oito cães. A terapia foi realizada com probe de 3 mm a  $-89^{\circ}\text{C}$ , aplicada a cerca de 2 mm de distância da margem palpebral livre. Utilizou-se fórceps de calázio para estabilizar a pálpebra. O primeiro ciclo de congelamento durou 30 segundos e o segundo 15 segundos. Todos os animais foram examinados em duas e quatro semanas após o procedimento. Em cem por cento dos cães, um ou mais pontos de despigmentação foram observados na margem palpebral, mas somente se a pálpebra fosse evertida para o exame. A repigmentação ocorreu em até dois meses, e não houve recidiva dos cílios anormais nos seis meses seguintes. Apenas um dos cães tinha triquíase, e nesse caso houve aplicação direta da crioprobe sobre o epitélio palpebral adjacente ao cílio anormal. A despigmentação resultante tinha o tamanho exato da bola de gelo. A repigmentação iniciou-se quatro semanas após a crioterapia, mas não estava completa em dez semanas. Epífora, ulcerações corneanas e demais sinais clínicos decorrentes das anormalidades ciliares foram resolvidos em todos os casos. Os autores concluíram que a criocirurgia é um tratamento efetivo para triquíase e distiquíase em cães, e deve ser considerada o tratamento de escolha (CHAMBERS e SLATTER, 1984).

## **11.2 Neoplasias oculares**

Os olhos e a região periocular são a origem de uma grande variedade de neoplasias (WILCOCK, 2008). Elas podem ser caracterizadas de acordo com o tecido envolvido, incluindo



a órbita, estruturas anexas, córnea, conjuntivas, úvea, retina e nervo óptico. As neoplasias oculares podem ser primárias (originadas no olho) ou metástases de outros tumores que ganham acesso aos tecidos oculares via sistema vascular ou via extensão direta a partir de tecido adjacente. Muitos neoplasmas oculares primários se comportam como benignos, mas o diagnóstico histopatológico evidencia sua malignidade. Seu crescimento pode induzir alterações significativas na órbita e na superfície ocular (BERNHARD e SIMON, 2013).

No tratamento do câncer, o objetivo primário é remover ou destruir todo o tecido maligno. Uma crioprobe de ponta arredondada reta fornece cobertura limitada e requer múltiplas aplicações sobre a lesão, sem garantia de que toda a área afetada tenha recebido o tratamento, devido à sobreposição de aplicações manuais. A principal preocupação é ter certeza que toda a superfície-alvo foi tratada. As crioprobos do tipo “*finger*” foram inicialmente desenhadas para promover tratamento amplo e uniforme sobre as lesões neoplásicas oculares. Elas são espatuladas e de ampla superfície, permitindo uma crionecrose completa das neoplasias (WALKER e FINGER, 2008).

Existem fatores de extrema importância quando se considera a criocirurgia como uma possível técnica a ser empregada no tratamento de neoplasias. Segundo Pasquali, é necessário ter certeza sobre a natureza do tumor, além de seu tamanho e formato, antes de decidir o melhor tratamento. Algumas neoplasias tem um componente subepitelial mais largo do que a superfície da lesão, sendo necessário que o cirurgião tenha conhecimento prévio dessa condição para evitar o risco de deixar células tumorais residuais após a criocirurgia (PASQUALI, 2015).

### 11.2.1 Neoplasias palpebrais

As neoplasias palpebrais são relativamente comuns em todas as espécies (MAGGS, 2008). Complicações advindas deste tipo neoplásico envolvem a indução de processos irritativos sobre a córnea, lagoftalmia, hemorragia e possibilidade de evolução maligna, comprometendo outras estruturas (BEDFORD, 1999). Independentemente de seu grau histológico de malignidade, estes tumores podem ocasionar o mau-fechamento das pálpebras com consequente exposição ocular e úlcera de córnea (MONTIANI-FERREIRA *et al.*, 2008). De forma geral, as neoplasias palpebrais representam um desafio aos cirurgiões veterinários, pois é preciso conciliar a destruição tumoral com a manutenção da integridade funcional e cosmética das pálpebras (HOLMBERG e WITHROW, 1979).

A excisão cirúrgica convencional ampla minimiza a possibilidade de recorrência do tumor, mas pode resultar em defeitos palpebrais permanentes, como entrópio, ectrópio, além de danos ao sistema nasolacrimal (HOLMBERG e WITHROW, 1979). A crioterapia é uma alternativa interessante para a remoção cirúrgica, especialmente para neoplasias benignas ou ligeiramente agressivas, como é o caso da maior parte dos tumores palpebrais de cães (Figura 12). Ademais, tem sido demonstrado que a criocirurgia é efetiva no tratamento de neoplasias palpebrais em felinos (THIBAUT, 2011).

Em 1979, Holmberg e Withrow publicaram um estudo clínico em que avaliaram os efeitos da criocirurgia sobre os tumores palpebrais de 14 cães. Em todos os animais foi utilizado o fórceps de calázio para imobilização da região e uma parte do tecido tumoral foi previamente removida com lâmina de bisturi para diagnóstico histopatológico. Foi utilizado spray de nitrogênio líquido sobre a lesão, com 3 a 5 mm de margem de segurança. Foram realizados pelo menos dois ciclos de congelamento, e a temperatura foi mensurada por termopares acoplados. A técnica demonstrou resultados favoráveis. A integridade funcional das pálpebras foi mantida, e houve recorrência do tumor em dois cães. Em ambos os casos se tratava de papilomas, um tipo de tumor suscetível à criocirurgia. Assim, a recorrência foi associada a um provável congelamento inadequado dos tecidos envolvidos (HOLMBERG e WITHROW, 1979).

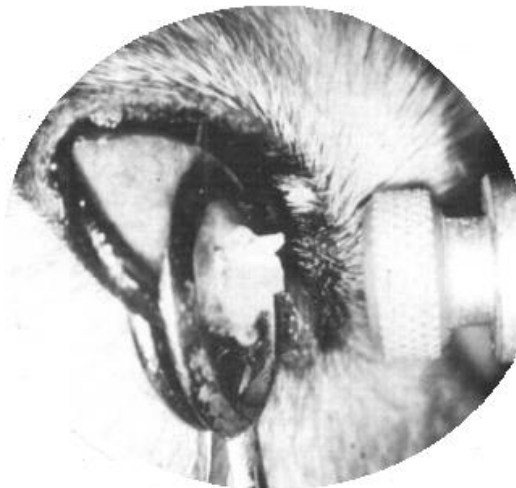


Figura 12: Aplicação de spray de nitrogênio líquido sobre a superfície de um tumor palpebral em um cão. Fonte: HOLMBERG e WITHROW, 1979.

Em outro estudo, os mesmos autores empregaram a criocirurgia nas pálpebras de 20 cães aleatoriamente escolhidos, a fim de determinar as sequelas da criolesão sobre as pálpebras.

O spray de nitrogênio líquido foi usado em dois ciclos de congelamento sobre um ponto no centro da margem palpebral. Nas primeiras três semanas após o procedimento, observou-se edema, conjuntivite, descarga ocular e prurido. Entretanto, os efeitos definitivos da criolesão nas pálpebras tratadas foram mínimos. Em nenhum cão desenvolveu-se ceratite de exposição, epífora, entrópico ou ectrópico. Como vantagens, os autores relatam que a técnica é extremamente rápida, podendo ser realizada em cerca de dez minutos, e somente sedação é requerida, dispensando anestesia geral. A resistência ao frio das pálpebras saudáveis faz com que a criocirurgia seja uma alternativa aceitável no tratamento de tumores palpebrais (HOLMBERG e WITHROW, 1979).

Em 1980, Fraunfelder e colaboradores empregaram a criocirurgia no tratamento de 310 neoplasias palpebrais malignas de pacientes humanos. A técnica escolhida foi a aspersão via spray de nitrogênio líquido sobre as lesões. O autor concluiu que os resultados da criocirurgia nas pálpebras são comparáveis ou até mesmo superiores a outras modalidades terapêuticas, com base nas taxas de cura, aspectos cosméticos, poucas complicações lacrimais e baixo custo. Entretanto, edema palpebral, descarga serosa e formação de cicatrizes podem ser incômodos no pós-operatório imediato. Além disso, a técnica criocirúrgica é sofisticada, de forma que cirurgiões inexperientes podem obter resultados ruins. O ideal é que os cirurgiões sejam treinados e experientes para poder oferecer aos pacientes as vantagens desta técnica (FRAUNFELDER *et al.*, 1980).

### 11.2.2 Neoplasias de terceira pálpebra

A terceira pálpebra, ou membrana nictitante, é uma membrana móvel, protetora e glandular situada entre a córnea e a pálpebra inferior, na porção medial do saco conjuntival inferior. Essa estrutura tem funções extremamente importantes, como a produção de parte da porção aquosa da lágrima, a proteção da córnea e a distribuição do filme lacrimal pré-corneano. CCEs envolvendo a terceira pálpebra são mais comuns em bovinos e equinos, especialmente quando ela é pouco pigmentada. Este tipo de neoplasia também pode ocorrer em pequenos animais, mas linfomas, hemangiomas, hemangiossarcomas e adenocarcinomas também são comuns (MAGGS, 2008).

Em 2002, Multari e colaboradores publicaram um relato de caso de hemangiossarcoma de terceira pálpebra em um felino de quinze anos da raça *Short-hair*. No exame clínico,

observou-se uma massa pequena e avermelhada emergindo a partir da superfície anterior da terceira pálpebra do olho esquerdo. Foi realizada biópsia e exame histopatológico da lesão, que confirmaram o diagnóstico de hemangiossarcoma. Para o tratamento, optou-se por combinar a excisão cirúrgica com a crioterapia. Aplicou-se a crioprobe com óxido nitroso em dois ciclos de congelamento de dois minutos cada. Assim, foi possível alcançar a temperatura de  $-70^{\circ}\text{C}$  e produzir uma bola de gelo de 6 mm. No pós-operatório imediato houve granulação da ferida cirúrgica, que estava completamente recuperada em um mês (Figura 13). Os autores concluíram que a excisão cirúrgica em combinação com a crioterapia é o método de escolha para esta neoplasia (MULTARI *et al.*, 2002).



Figura 13: Aparência clínica da terceira pálpebra de um felino com hemangiossarcoma antes e após a excisão cirúrgica combinada com criocirurgia, demonstrando a presença de tecido de granulação resultante. Fonte: MULTARI *et al.*, 2002.

Shnaiderman-Torban e colaboradores, em 2016, publicaram um relato de caso a respeito de um mastocitoma envolvendo a terceira pálpebra de uma égua de quatro anos da raça *Missouri Fox Trotter*. A massa avermelhada e ulcerada protuía-se a partir da membrana nictitante do olho esquerdo e envolvia também a conjuntiva palpebral adjacente. Optou-se por remoção cirúrgica associada à crioterapia. Neste caso, o nitrogênio líquido foi aplicado utilizando-se uma haste de cobre de quatro milímetros de diâmetro. Dois ciclos de congelamento e descongelamento foram realizados, sendo que cada ciclo durou o tempo necessário para que o tecido formasse a bola de gelo, dispensando-se o uso de termopares. No pós-operatório imediato observou-se a presença de uma cicatriz avermelhada no sítio cirúrgico, além de hiperemia palpebral. Não houve recidiva do tumor nos nove meses seguintes. Os autores consideraram que o tratamento cirúrgico combinado à crioterapia adjuvante foi efetivo (SHNAIDERMAN-TORBAN *et al.*, 2016).

### 11.2.3 Neoplasias conjuntivais

A conjuntiva ocular é uma membrana mucosa móvel que recobre a superfície interior das pálpebras, as superfícies interna e externa da terceira pálpebra e a porção anterior do globo ocular, adjacente ao limbo (MAGGS, 2008). Ela é associada a muitas doenças do bulbo do olho e de seus anexos devido a sua grande exposição e proximidade com as estruturas oculares (HENDRIX 2013). As neoplasias conjuntivais podem ocorrer em qualquer espécie, tanto de forma primária quanto doença metastática. O CCE é o tumor mais comum. Outros tipos já relatados incluem hemangiomas e hemangiossarcomas, melanomas, papilomas e mastocitomas (MAGGS, 2008).

Na espécie canina, os melanomas conjuntivais acometem principalmente as conjuntivas da terceira pálpebra, mas também já foram relatados na conjuntiva palpebral superior (COLLINS *et al.*, 1993 *apud* HENDRIX, 2013). Estes tumores tendem a ser malignos, de forma que recorrências e metástases são comuns (HENDRIX, 2013). A excisão cirúrgica combinada com a crioterapia demonstra ser o tratamento mais efetivo (COLLINS *et al.*, 1993 *apud* HENDRIX, 2013). Entretanto, Dubielzig recomenda que após a primeira recorrência seja feita a excisão cirúrgica agressiva, com enucleação do globo ocular (DUBIELZIG *et al.*, 2010). Em medicina humana, há relato de *melting* escleral induzido por crioterapia após excisão cirúrgica de um melanoma conjuntival, o que indica que é preciso ter cuidado com as complicações pós-operatórias (TUCKER *et al.*, 1993).

Nos equinos, os CCE conjuntivais são uma condição bastante comum, cuja ocorrência aumenta com o avançar da idade e com a exposição à luz ultravioleta. Além disso, esse tipo de tumor ocorre mais em animais com as conjuntivas e a região peri-ocular despigmentadas (DUBIELZIG *et al.*, 2010). Em 2005, Kaps e colaboradores empregaram a ceratectomia combinada à crioterapia no tratamento de um CCE primário que alcançava o limbo temporal e a conjuntiva ocular de um equino de doze anos. Foi utilizada uma probe oval conectada à sistema de óxido nítrico durante dois ciclos de congelamento, por tempo suficiente para garantir que toda o sítio cirúrgico fosse congelado. Após sete meses, houve recorrência do tumor e invasão corneal e intraocular, o que levou à remoção completa do bulbo ocular (KAPS *et al.*, 2005). A criocirurgia é o tratamento de eleição para CCE ocular primário nos equinos, com taxa de sucesso de 86,6% (JOYCE, 1976). Sendo assim, Kaps atribuiu o insucesso à uma remoção incompleta do tecido neoplásico durante o primeiro procedimento cirúrgico, associado a ausência de controle da temperatura tecidual alcançada durante a crioterapia.

#### 11.2.4 Neoplasias corneoesclerais

A córnea e a esclera não costumam ser locais de origem para tumores primários. Sua função é atuar como barreiras que previnem a disseminação de neoplasias intraoculares para outras partes do corpo, e de neoplasias de anexos oculares ou da órbita ocular para dentro do olho (MAGGS, 2008). Portanto, neoplasias de córnea, de limbo e de esclera geralmente são raras em cães. As mais comuns incluem CCEs, melanomas, papilomas, linfomas, hemangiomas e hemangiossarcomas. Em felinos, esses tumores também são raros, sendo a maior parte representada por melanomas de limbo. (LEDBETTER e GILGER, 2013). Em equinos, o CCE é o tipo de neoplasia corneal mais comum (GILGER 2011).

Em cães, o CCE corneal é uma lesão neoplásica caracterizada por uma massa rósea e irregular que emerge a partir da superfície epitelial da córnea (BUSSE *et al.*, 2008; MONTIANI-FERREIRA *et al.*, 2008). Em 2010, Pigatto e colaboradores publicaram um estudo em que um canino de oito anos com CCE corneal foi tratado com ceratectomia lamelar superficial e criocirurgia. Preconizou-se o uso de óxido nitroso em duplo ciclo de congelamento. Após a cirurgia, o olho estava confortável e apresentava mínima descarga ocular. Após setenta dias de acompanhamento, o resultado pós-operatório foi satisfatório e não havia evidência de inflamação (Figura 14). Além disso, não houve recorrência da neoplasia nos dois anos seguintes (PIGATTO *et al.*, 2010).

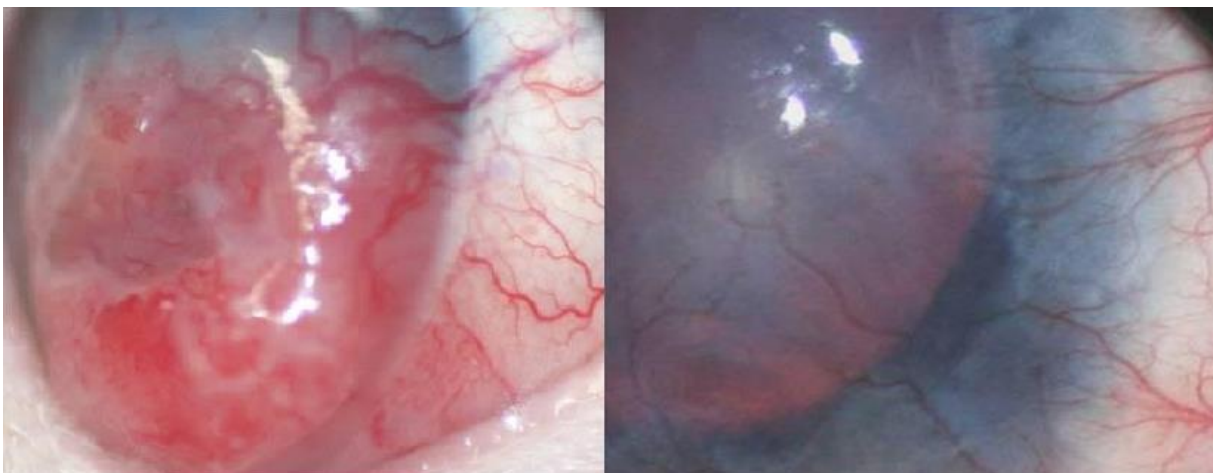


Figura 14: Aspecto clínico de CCE corneal em cão, e aparência 70 dias após ceratectomia lamelar anterior e crioterapia com óxido nitroso. Fonte: PIGATTO *et al.*, 2010

Na espécie canina, o melanoma de limbo aparece tipicamente como uma massa bem definida, elevada e pigmentada, com extensão local até a conjuntiva adjacente, córnea e esclera (LEDBETTER e GILGER, 2013). Em 2009, Featherstone e colaboradores avaliaram a eficácia e as complicações na ceratectomia lamelar parcial seguida da crioterapia no tratamento de melanoma de limbo em quatorze cães (Figura 15). Foi utilizado o gás fréon (1,1,1,2-tetrafluoretano) via spray através de um orifício circular de dois mm, em ciclos duplos ou triplos de congelamento. Entre as complicações iniciais, citou-se uveíte anterior, formação de tecido de granulação e ulceração, lipidose e edema corneal. Estas repercussões corneais localizavam-se no sítio operatório e foram consideradas brandas ou sem significância clínica. O acompanhamento pós-operatório foi, em média, de dois anos, e não houve evidência clínica de recorrência das neoplasias em nenhum dos quatorze olhos. Além disso, todos os olhos mantiveram-se visuais após o procedimento. Não houve diferença significativa de resultados entre os olhos que receberam dois ou três ciclos de congelamento. Os autores concluíram que a criocirurgia mostrou-se ser uma técnica adjuvante altamente eficiente, simples e barata no tratamento do melanoma de limbo em cães (FEATHERSTONE *et al.*, 2009).

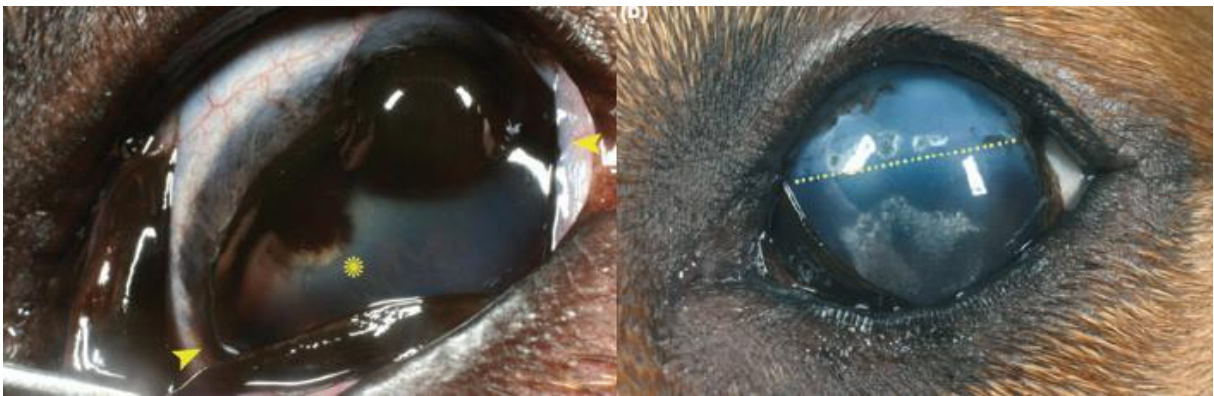


Figura 15: Fotografia trans-operatória de um melanoma de limbo extenso em um cão e aspecto clínico dezoito meses após criocirurgia e realização de enxerto corneoescleral. Fonte: FEATHERSTONE, 2009.

O globo ocular e seus anexos estão entre as áreas mais predispostas ao aparecimento de neoplasias nos equinos (BOSCH e KLEIN, 2005). Entretanto, tumores corneoesclerais são pouco comuns, predominando o CCE (LAVACH e SEVERIN, 1977). Esse tipo de neoplasia costuma emergir do limbo e invadir a conjuntiva bulbar e a córnea à medida em que se multiplica (BOSCH e KLEIN, 2005). No ano de 2005, Bosch e Klein publicaram um estudo retrospectivo em que determinaram a eficácia da ceratectomia aliada à criocirurgia no

tratamento de CCEs corneoesclerais em trezes equinos, em relação às taxas de recorrência e efeitos na visão. Em todos os casos, a criocirurgia foi realizada após a ceratectomia, empregando uma crioprobe acoplada à unidade de nitrogênio líquido, em dois ciclos de congelamento (Figura 16). Foram escolhidas probes correspondentes ao tamanho da base de cada tumor. Cada congelamento durou o tempo suficiente para a bola de gelo ultrapassar três mm da margem visível das lesões, de forma que não foram utilizados termopares para mensurar as temperaturas alcançadas. No pós-operatório imediato houve desenvolvimento de edema de córnea em todos os casos, mas ele foi diminuindo drasticamente nos dias seguintes. Como resultados, houve sucesso nos dez casos em que os tumores tinham área menor que 1 cm<sup>2</sup> (Figura 17), e recorrência do tumor nos outros quatro casos, cujas neoplasias tinham área superior à 2 cm<sup>2</sup>. Assim, o estudo relacionou o sucesso da terapia com o tamanho inicial do tumor. Os autores concluíram que a ceratectomia superficial seguida de crioterapia é um procedimento simples e eficiente no tratamento de pequenos CCEs de limbo em pacientes equinos. Os tumores com área menor que 2 cm<sup>2</sup> são os melhores candidatos a esse tipo de tratamento. Com tumores maiores, outras modalidades terapêuticas devem ser escolhidas (BOSCH e KLEIN, 2005).



Figura 16: CCE de limbo em equino e tratamento criocirúrgico com nitrogênio líquido.  
Fonte: BOSCH e KLEIN, 2005.





Figura 17: Mesmo olho demonstrado na figura 16, quatro meses após a criocirurgia. Fonte: BOSCH e KLEIN, 2005.

### 11.3 Glaucoma

O glaucoma compreende um grupo de diversas doenças diferentes, sendo comum o fato de que em todas elas a PIO está elevada demais para permitir o funcionamento normal do nervo óptico, da retina e de outras estruturas (MILLER, 2008). A PIO é determinada pelo equilíbrio entre a produção de humor aquoso pelo corpo ciliar e a drenagem deste através do ângulo irido-corneal (COOK, 1997). Valores de PIO superiores à 25 mmHg nos cães e à 27 mmHg nos gatos, conjuntamente com sinais clínicos compatíveis, são suficientes para um diagnóstico presuntivo de glaucoma (MILLER, 2008). Um dos sinais mais comuns do aumento da PIO é a presença de vasos episclerais ingurgitados e hiperemia conjuntival (GIONFRIDDO, 1995). A dor é outro sinal clínico importante (MILLER, 2008).

De acordo com sua causa, o glaucoma pode ser classificado como primário, secundário ou congênito (PLUMMER *et al.*, 2013). No glaucoma primário, o aumento da PIO deve-se à obstrução da drenagem do humor aquoso pelo ângulo irido-corneal, na ausência de outras afecções intra-oculares pré-existentes (JEGOU, 1989 *apud* THIBAUT, 2011). No glaucoma secundário, a elevação da PIO deve-se à doença intra-ocular pré-existente ou concorrente que culmine na obstrução física da drenagem do humor aquoso. As causas mais frequentes para o glaucoma secundário incluem luxações ou subluxações da lente, cataratas, uveítes, neoplasias intraoculares, traumas ou complicações pós-operatórias (PLUMMER, 2013). O glaucoma congênito é caracterizado pela elevação anormal da PIO associada à goniodisgenesia, sendo uma condição rara nos animais domésticos e presente desde o nascimento ou logo após (MILLER, 2008; PLUMMER, 2013).

Uma vez diagnosticado o glaucoma, a possibilidade de preservação da função visual deve ser avaliada no planejamento das opções terapêuticas. Em olhos visuais, o tratamento visa manter a PIO dentro dos valores de referência e evitar o desenvolvimento de doenças que possam prejudicar a visão, como catarata ou descolamento de retina. Para olhos não visuais, o objetivo do tratamento cirúrgico é aliviar o desconforto associado a PIO elevada e evitar as complicações decorrentes do aumento do globo ocular (COOK, 1997).

A criocirurgia visa reduzir a taxa de produção do humor aquoso a partir da destruição parcial e seletiva do epitélio secretor do corpo ciliar, equilibrando-a com a baixa drenagem que costuma ocorrer em olhos glaucomatosos. Dessa forma, espera-se reestabelecer o equilíbrio necessário à manutenção da PIO normal. A destruição do corpo ciliar é acompanhada por uma resposta inflamatória à necrose tecidual. Complicações decorrentes desta inflamação são fator importante para o sucesso do procedimento cirúrgico (COOK, 1997).

A crioterapia sobre o corpo ciliar para tratamento do glaucoma foi inicialmente descrita em humanos em 1950 e em cães em 1980 (BIETTI, 1950; RICKARDS, 1980). As técnicas de congelamento utilizam óxido nitroso ou nitrogênio líquido em criopros de 2,5 a 4 mm, aplicadas sobre a conjuntiva bulbar, a uma distância de aproximadamente 5 mm em direção caudal ao limbo (ROBERTS *et al.*, 1984). A bola de gelo se estende profundamente, de forma a envolver o corpo ciliar e seu epitélio (TINSLEY e BETTS, 1993). O objetivo do procedimento não é produzir uma necrose massiva, mas sim causar áreas focais de atrofia e fibrose do corpo ciliar e seu epitélio, resultando em redução na produção do humor aquoso (TINSLEY e BETTS, 1993). Para reduzir a atividade secretória do corpo ciliar sem que a necrose tecidual seja muito intensa, temperaturas entre -12°C e -15°C são desejadas (COOK, 1997).

Os sistemas que utilizam nitrogênio líquido têm a vantagem de produzir mais rapidamente o congelamento e são mais eficientes em promover a crionecrose controlada. Em 15 a 25 segundos se observa a bola de gelo estendendo-se 1 mm para a periferia da córnea, o que é associado a uma temperatura do corpo ciliar de -10°C (ROBERTS *et al.*, 1984). O congelamento deve ser feito em quatro a oito sítios na metade superior do globo, evitando-se atingir as artérias ciliares longas (BRIGHTMAN *et al.*, 1982). Com óxido nitroso, o congelamento deve durar entre 2 e 2,5 min. Com unidades de nitrogênio líquido, o tempo de contato é determinado pelo tamanho da bola de gelo. Em ambos os sistemas, o ciclo é repetido em cada sítio (ROBERTS *et al.*, 1984). O procedimento pode ser novamente realizado se os resultados iniciais não forem satisfatórios (TINSLEY e BETTS, 1993).

A criocirurgia pode induzir uveíte com blefarospasmo, quemose, conjuntivite, tecido de granulação corneal, despigmentação de íris e *flare* aquoso clinicamente aparente. Em alguns casos já houve relato de aumento transitório da PIO. Em 1983, Vestre relatou a ocorrência de panuveíte e descolamento de retina em 14 de 22 cães submetidos à técnica (VESTRE e BRIGHTMAN, 1983). Por isso, alguns autores indicam o procedimento somente para olhos não visuais e buftálmicos (VESTRE e BRIGHTMAN, 1983; ROBERTS *et al.*, 1984). Estudos histológicos confirmam edema de coroide e de corpo ciliar, efusão extracelular e ingurgitamento de vasos alguns minutos após o tratamento. Perda celular no epitélio do corpo ciliar e necrose da íris são identificados após uma semana. Entretanto, esses efeitos não se mantêm presentes após seis meses, o que leva à conclusão de que ocorre regeneração parcial do epitélio, embora a PIO permaneça menor do que antes da criocirurgia (COOK, 1997).

#### **11.4 Ceratite pigmentar**

A melanose corneal, também denominada ceratite pigmentar, consiste na deposição de melanina sobre o epitélio da córnea e eventualmente sobre o estroma anterior, devido à proliferação e migração de melanócitos durante a ocorrência de inflamação corneal (MAGGS, 2008). Os melanócitos se originam da conjuntiva do limbo e se depositam na córnea via neovascularização, mas a melanina também pode ser depositada por macrófagos e fibroblastos (LEDBETTER e GILGER, 2013).

A melanose corneal é uma resposta inespecífica à irritação crônica da córnea, podendo ocorrer devido à excesso de exposição (lagofthalmia, disfunção de nervo facial e macrofissura palpebral), excesso de fricção (distiquíase, cílios ectópicos, entrópio e dobras de pregas nasais), anormalidades do filme lacrimal (ceratoconjuntivite seca) ou estimulação imunológica crônica (ceratoconjuntivite superficial crônica). Nestas doenças, a remoção do estímulo inflamatório inibe ou reduz a progressão da pigmentação, mas não faz com que o aspecto normal da córnea seja restaurado (MAGGS, 2008).

A tendência ao desenvolvimento de melanose corneal varia entre as espécies, sendo os gatos e equinos moderadamente suscetíveis e os cães extremamente suscetíveis. Quando a irritação se torna severa, a melanose pode ser acompanhada por adelgaçamento do epitélio corneal, metaplasia, vascularização e queratinização. A ceratite pigmentar não é um diagnóstico, mas um sinal inespecífico de irritação corneal crônica, sendo necessário investigar

as causas de base (MAGGS, 2008). A terapia específica para a ceratite pigmentar dependerá da sua etiologia (WILLIAMS *et al.*, 1995). Quando o tratamento for insuficiente ou tardio, a pigmentação corneal poderá progredir, levando à dificuldade visual ou mesmo cegueira (AZOULAY, 2013).

Dada a sensibilidade dos melanócitos ao frio, a crioterapia pode ser uma técnica alternativa na redução da pigmentação corneal (AZOULAY, 2013). Em 1986, Holmberg e colaboradores empregaram a criocirurgia no tratamento de nove cães da raça Pastor Alemão com pigmentação corneal severa ocasionada por ceratite superficial crônica (pannus corneal). Todos os cães estavam cegos devido ao depósito de pigmento. As córneas foram tratadas com spray de nitrogênio líquido em dois ciclos de congelamento de 15 segundos cada. Dois dos nove cães demonstraram desconforto ocular significativo através de blefarospasmo e prurido, mas em 36 horas todos já exibiam melhora, mantendo os olhos normalmente abertos. O edema de córnea ocorreu em todos os casos, mas todas as córneas estavam completamente reepitelizadas após uma semana da cirurgia. No terceiro dia após o procedimento, sete dos nove cães já tinham reestabelecido a função visual, embora pequenos pontos de pigmentação tenham permanecido em todas as córneas. Os cães que receberam o tratamento com corticosteroide tópico de forma adequada após a cirurgia permaneceram com a função visual nos dois anos seguintes. Nos casos em que a medicação não foi mantida, houve repigmentação e perda visual em alguns meses. Os autores concluíram que a criocirurgia é efetiva na redução da pigmentação corneal, mas o controle da doença de base é essencial para manutenção da função visual (HOLMBERG *et al.*, 1986).

Em 2013, Azoulay publicou um estudo em que objetivou avaliar o uso da crioterapia na remoção da pigmentação corneal quando as terapias convencionais não se mostraram eficientes. Nove cães com pigmentação unilateral ou bilateral, totalizando 16 córneas, foram estudados. As doenças de base eram ceratoconjuntivite seca ou ceratite superficial crônica. Os casos de ceratoconjuntivite seca já haviam sido tratados com ciclosporina 0,2%, ácido hialurônico e antibióticos tópicos. Os cães com ceratite superficial crônica já haviam recebido ciclosporina 0,2% e dexametasona 0,1%, ambos em forma de colírios. O criógeno utilizado era composto por dimetil-éter, isobutano e propano e foi aplicado por um dispositivo de aerossol originalmente desenvolvido para uso em dermatologia humana. O cirurgião esperava 15 segundos para o criógeno evaporar, garantindo que a crioprobe alcançasse a temperatura de -55°C antes da aplicação sobre a córnea. Foram realizados dois ciclos de congelamento de 50 segundos cada. Uma vez que a córnea ficasse branca, a probe era movida para outra região.

Como resultados, a maioria dos depósitos pigmentares desapareceram entre 5 e 15 dias após a criocirurgia. Os cães apresentaram edema corneal e inflamação córneo-conjuntival no período pós-operatório. Três deles desenvolveram úlceras corneais superficiais, mas todos esses efeitos se resolveram em até um mês após o procedimento. Foi possível realizar acompanhamento de cinco cães durante 90 dias, nos quais foi observada repigmentação parcial ou total quando a causa de base não foi tratada (Figura 18), e em dois destes foi repetida a criocirurgia. O autor concluiu que a crioterapia é um tratamento adjuvante efetivo para a pigmentação corneal severa e refratária, mas o tratamento etiológico permanece necessário para prevenir a repigmentação (AZOULAY, 2013).

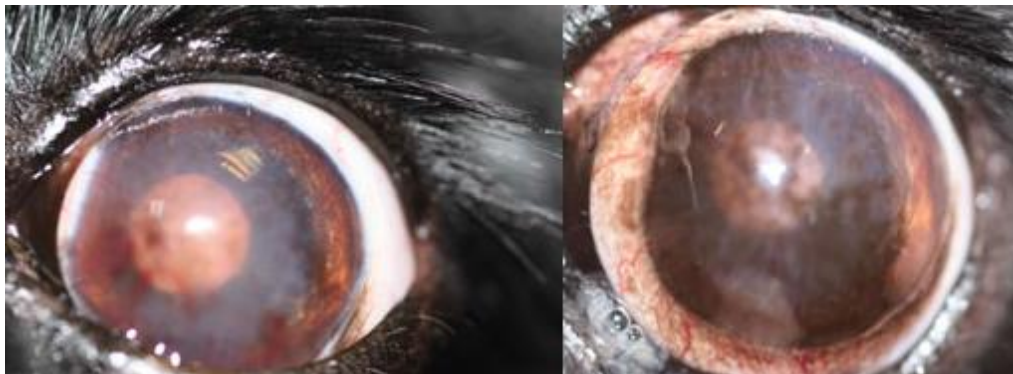


Figura 18: Mesmo cão da figura 9, 60 e 300 dias após a criocirurgia, respectivamente. Apesar da repigmentação parcial, o olho recuperou a função visual. Fonte: AZOULAY, 2013.

### 11.5 Descolamento de retina

O descolamento de retina ocorre quando a retina se separa da coroide subjacente, o que acontece mais precisamente entre a retina neurosensorial e o epitélio pigmentar, resultando no acúmulo de fluido entre as duas camadas (VAINISI e WOLFER, 2004; OFRI, 2008). Isso ocorre porque o epitélio pigmentar e a neuroretina possuem origens embriológicas distintas, existindo um potencial espaço entre as duas estruturas. O contato íntimo entre os fotorreceptores e as células epiteliais é rompido e devido ao elevado metabolismo da retina, alterações graves e irreversíveis podem ocorrer com a separação (OFRI, 2008).

Existem três tipos de descolamento. O descolamento regmatogênico ocorre quando há uma ruptura na retina que permite que o fluido vítreo adentre pelo orifício, descolando a neuroretina do seu epitélio pigmentar. O descolamento não-regmatogênico pode ser

classificado como exsudativo, quando há um acúmulo de fluido retinal secundário à quebra da barreira óculo-sanguínea (por hipertensão, por exemplo), ou como tracional, quando há uma força externa que atua sobre o vítreo (VAINISI e WOLFER, 2004).

O descolamento de retina pode ocorrer após uma cirurgia de remoção de catarata ou como resultado de uma condição herdada, como degeneração vítrea, luxação de lente, displasia de retina, entre outras. A cirurgia de reimplante da retina no cão tornou-se mais importante à medida em que aumenta a expectativa de vida e o cuidado com os animais. Ela representa uma das últimas barreiras que os veterinários oftalmologistas precisam cruzar para alcançar o nível de especialização da oftalmologia humana (VAINISI e WOLFER, 2004).

Em caso de descolamento devido à uma ruptura da retina, o alívio da tensão e a selagem da ruptura através de retinopexia permitirá que o epitélio pigmentar restabeleça a pressão negativa subretinal, e então a retina poderá retornar à posição normal. É contraindicado realizar intervenção cirúrgica em descolamentos não regmatogênicos, ou seja, que não resultem de rupturas na retina (SULLIVAN, 1997).

A retinopexia pode ser realizada através da criocirurgia, utilizando probes específicas. O objetivo é causar adesões focais entre a retina e a coroide nos locais em que há ruptura. Quando se utiliza a crioprobe, é importante tratar a porção periférica da retina e não o corpo ciliar. Na maioria dos cães, essa área localiza-se cerca de 10 mm posterior ao limbo. Deve-se realizar peritomia para elevar a conjuntiva e a cápsula de Tenon na região da ruptura (SULLIVAN, 1997). Vainisi e Wolfer recomendam a aplicação da crioprobe em 10 a 12 locais contíguos ao redor do globo ocular (VAINISI e WOLFER, 2004). É necessário o cuidado para não congelar excessivamente, o que pode resultar em dano à retina ou mesmo descolamento ainda maior. Deve-se interromper o congelamento assim que a probe se aderir à esclera, o que ocorre em 6 a 7 segundos, ou quando uma mancha branca for observada com auxílio de oftalmoscópio. Em dez a doze dias forma-se a adesão corioretinal (BLOCH *et al.*, 1971). A técnica cirúrgica é facilitada pelo uso de bloqueadores neuromusculares, os quais facilitam a manipulação do globo ocular e o mantém na posição desejada (SULLIVAN, 1997). Na literatura veterinária já foi descrita a retinopexia pneumática, que consiste na injeção de gases expansivos dentro do olho após a crioterapia, no intuito de tamponar a retina (VAINISI *et al.*, 2013). Entretanto, a bolha de gás é móvel e o paciente precisa ficar imóvel para que a bolha consiga tamponar a região correta na retina, o que não se consegue com os animais. Assim, a retinopexia pneumática tem valor limitado em medicina veterinária (VAINISI e WOLFER, 2004).

A terapia pós-retinopexia inclui o uso de antibióticos, além de anti-inflamatórios tópicos e sistêmicos. Inicialmente pode parecer que o descolamento aumentou, como resultado da coriorretinite induzida. A extensão do resultado cirúrgico somente será conhecida dentro de três a quatro semanas (SULLIVAN, 1997).

### 11.6 Hidrocistoma apócrino

Neoplasias palpebrais e lesões semelhantes a neoplasias são mais comuns em cães. Entretanto, em felinos os tumores malignos superam os benignos (WILLIAMS *et al.*, 1981). Os tumores de glândulas sudoríparas em gatos normalmente ocorrem de forma individual, mais comumente na cabeça, pescoço, axila, membros e cauda (SCOTT *et al.*, 2001). O hidrocistoma apócrino é um tumor benigno derivado das glândulas sudoríparas apócrinas das pálpebras, denominadas Glândulas de Moll, e representa entre 3 e 7% das neoplasias palpebrais de felinos (CHAITMAN *et al.*, 1999).

A etiologia do hidrocistoma apócrino não é completamente elucidada, mas na literatura encontra-se duas teorias principais. Alguns autores acreditam que a lesão resulta de um processo proliferativo devido às projeções papilares a partir da parede do cisto, considerando-o, portanto, um cistoadenoma (SMITH e CHERNOSKY, 1974). Outros o descrevem como resultado de um processo de retenção por obstrução de ducto excretor (SHIELDS *et al.*, 1993). O hidrocistoma pode ocorrer nas pálpebras superior e inferior e nos cantos medial e lateral do olho, sendo mais comumente originados no canto medial (CHAITMAN *et al.*, 1999). Macroscopicamente, as lesões são escuras, arredondadas, repletas de líquido, não dolorosas e de tamanho variável (DUBIELZIG *et al.*, 2010). Os hidrocistomas apócrinos já foram relatados em felinos das raças Persa, Domestic Shorthair e Himalaia (CHAITMAN *et al.*, 1999; SIVAGURUNATHAN *et al.*, 2010; KAHANE *et al.*, 2014; PIGATTO *et al.*, 2016).

As alternativas terapêuticas incluem excisão cirúrgica, drenagem por aspiração, criocirurgia à base de nitrogênio líquido e ablação química (YANG *et al.*, 2007). Em 2010, Sivagurunathan e colaboradores publicaram um caso de hidrocistomas apócrinos múltiplos na pálpebra de um felino de doze anos da raça *Domestic Shorthair*. As massas tinham crescimento lento e localizavam-se nas pálpebras do olho esquerdo e na região periocular. A excisão cirúrgica foi realizada e o exame histopatológico confirmou o diagnóstico. Em seguida, foi realizada criocirurgia empregando nitrogênio líquido em dois ciclos de congelamento, sendo o

primeiro de 40 segundos e o segundo de 20 segundos, com um intervalo de 20 min entre eles. Um mês após o procedimento, apenas um único nódulo de 3mm de diâmetro na margem da pálpebra inferior era visível (Figura 19). Os pelos ao redor da área afetada voltaram a crescer. Oito meses após o procedimento, um nódulo de 5 mm surgiu na pálpebra superior. Devido à ausência de desconforto ocular e recuperação pós-anestésica lenta do paciente, não foi realizada nova intervenção cirúrgica. Os autores concluíram que a combinação de excisão cirúrgica, drenagem e criocirurgia demonstrou um bom prognóstico, mas a recorrência é possível quando o primeiro ciclo de congelamento não alcança temperaturas suficientemente baixas (SIVAGURUNATHAN *et al.*, 2010).



Figura 19- Hidrocistomas apócrinos múltiplos em forma de nódulos pigmentados e extensos ao redor das margens palpebrais de um felino e aparência clínica um mês após a criocirurgia. Fonte: SIVAGURUNATHAN *et al.*, 2010



## 12 CONCLUSÃO

Apesar de a criocirurgia ser utilizada na medicina humana há mais de um século, ela representa um campo relativamente novo na rotina veterinária. A morte celular ideal é alcançada por um congelamento rápido, com formação de cristais de gelo e isquemia celular por destruição de vasos sanguíneos, associado a um descongelamento lento, levando à desidratação celular e ao acúmulo de solutos tóxicos. Diversos instrumentos e técnicas estão à disposição do cirurgião, que é responsável por definir o protocolo mais adequado para cada paciente, considerando a extensão e a natureza do tecido, além de características inerentes ao próprio animal. A criocirurgia pode ser extremamente útil no tratamento de doenças do globo ocular e de seus anexos, desde que empregada da forma correta. Poucos oftalmologistas utilizam a técnica, provavelmente por falta de familiaridade com os procedimentos de utilização e de armazenamento. A maioria deles não tem contato com os agentes crioterápicos durante sua formação, e conseqüentemente não possui conhecimento sobre quando ou como emprega-los. A presente revisão identificou a criocirurgia como um campo vasto e promissor na oftalmologia veterinária. Sendo assim, estudos são necessários para padronizar a técnica e torná-la uma prática mais utilizada no tratamento das afecções oculares em animais.

## REFERÊNCIAS

- ABRAMOVITS, W. Cryogens. In: ABRAMOVITS, William.; GRAHAM, Gloria.; HARSHAI, Yaron.; STRUMIA, Renata. (Ed.). **Dermatologic Cryosurgery**. Londres: Springer, 2016. p. 17-18.
- ABRAMOVITS, W.; PRUIKSMA, R.; BOSE, S. Ultrasound-guided thermocouple placement for cryosurgery. **American Society for Dermatologic Surgery**, Texas, v. 22, n. 9, p. 771-773, set, 1996.
- AFFILIATES in dermatology – medical group. São Francisco, 2015. Autor desconhecido. Disponível em:  
<<http://affiliatesindermatology.com>> Acesso em: 10 set. 2016.
- ALLINGTON, H. V. Liquid nitrogen in the treatment of skin diseases. **California Medicine**, Oakland, v. 72, n. 3, p.153-155, mar. 1950.
- ALVES, LÍRIA. Gás freon. **Alunos Online**, Brasil, 2016. Disponível em:  
<<http://alunosonline.uol.com.br/quimica/gas-freon.html>> Acesso em: 12 set. 2016.
- AMOILS, S. P. The joule thomson cryoprobe. **Archives of Ophthalmology**, Joanesburgo, v. 78, n. 2, p. 201-207, ago. 1967.
- ARNOTT, J. On the treatment of cancer by the regulated application of an anaesthetic temperature. [s. n.], Londres. 1851.
- AZOULAY, T. Adjunctive cryotherapy for pigmentary keratitis in dogs: a study of 16 corneas. **Veterinary Ophthalmology**, Estrasburgo, v. 17, n. 4, p. 241-249, jul. 2014.
- BANSAL, A.; JAIN, S.; GUPTA, S. Cryosurgery in treatment of oro-facial lesions. **Indian Journal of Dental Research**, Barwala, v. 23, n. 2, p. 297-302, jan. 2012.
- BEDFORD, P. Diseases and surgery of the canine eyelid. In: GELATT, K. **Textbook of Veterinary Ophthalmology**. 3 ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1999. p. 535- 568.
- BELLOWS, J. G. Indications and technique of cryoextraction of cataracts. **Archives of Ophthalmology**, Chicago, v. 73, n. 4, p. 476-481, abr. 1965.
- BELLOWS, J. G. The application of cryogenic techniques in ophthalmology. **American Journal of Ophthalmology**, Chicago, v. 57, p. 29-33, jan. 1964.
- BENAGLIA, M. B.; JARDIM, E. C. G.; MENDONÇA, J. C. G. **Criocirurgia em odontologia: vantagens e desvantagens**. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, Campo Grande, v. 7, n. 3, p. 58-67, jun. 2014.
- BERNHARD, M. S.; SIMON, A. P. Diseases and surgery of the canine orbit. In: GELATT, K; GILGER, B.C.; KERN, T.J. **Veterinary Ophthalmology**. 5 ed. Ames: Wiley-Blackwell, 2013. v. 2. cap. 13. p. 793 - 831.
- BIETTI, G. **Surgical intervention of the ciliary body: new trends in the relief of glaucoma**. **Journal of the American Medical Association**, Pavia, v. 142, n. 12, p. 887-889, mar. 1950.
- BLOCH, D.; O'CONNOR, P.; LINCOFF, H. **The mechanism of the cryosurgical adesion: III statistical analysis**. **American Journal of Ophthalmology**, Nova Iorque, v. 71, n. 3, p. 666-673, mar. 1971.

BOSCH, G.; KLEIN, W. R. Superficial keratectomy and cryosurgery as therapy for limbal neoplasms in 13 horses. **Veterinary Ophthalmology**, Utrecht, v. 8, n. 4, p. 241-246, jul. 2005.

BRIGHTMAN, A.; VESTRE, W.; HELPER, L. *et al.* Cryosurgery for the treatment of canine glaucoma. **Journal of the American Animal Hospital Association**, [S. I.], v. 18, p. 319-322. 1982.

BUSSE, C.; SANSOM, J., DUBIELZIG, R. R. *et al.* Corneal squamous cell carcinoma in a Border Collie. **Veterinary Ophthalmology**, Reino Unido, v. 11, n. 1, p. 55-58, jan. 2008.

CAILLETET, L. Recherches sur la liquéfaction des gaz. **Annales de Chimie et de Physique**, Paris, v. 15, p. 134-133, set. 1878.

CHAITMAN, J.; WOERDT, A.; BARTICK, T. E. Multiple eyelid cysts resembling apocrine hidrocystomas in three Persian cats and one Himalayan cat. **Veterinary Pathology**, [S. I.], v. 36, n. 5, p. 474-476, set. 1999.

CHAMBERS, E. D.; SLATTER, D. H. **Cryotherapy (N<sub>2</sub>O) of canine distichiasis and trichiasis: an experimental and clinical report.** **Journal of Small Animal Practice**, San Diego, v. 25, p. 647-659, nov. 1984.

COELHO, P. História do gás do riso – óxido nitroso. **Engenharia Química Santos SP**, Brasil, 2015. Disponível em: <<http://www.engquimicasantosp.com.br/2015/02/historia-do-gas-do-riso-oxido-nitroso.html>> Acesso em: 5 set. 2016.

COHEN, N. G. *et al.* Cyclocryotherapy versus transscleral diode laser cyclophotocoagulation for uncontrolled intraocular pressure. **Ophthalmic Surgery, Lasers & Imaging**, Petah Tikva, v. 36, n. 4, p. 272-279, ago. 2005.

COOK, C. Surgery for glaucoma. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, São Francisco, v. 27, n. 5, p. 1109-1129, set. 1997.

COOPER, I. S. Cryogenic surgery: a new method of destruction or extirpation of benign or malignant tissues. **New England Journal of Medicine**, Nova Iorque, v. 268, n. 14, p.743-749, abr. 1963

COOPER, I. S.; LEE, A. J. Cryostatic congelation: a system for producing a limited controlled region of cooling of freezing of biological tissue. **Journal of Nervous & Mental Disease**, Nova Iorque, v. 133, n. 3, p. 259-263, set. 1961.

COOPER, S. M.; DAWBER, R. P. R. The history of cryosurgery. **Journal of The Royal Society of Medicine**, Oxford, v. 94, n. 4, p.196-201, abr. 2001.

COOPER, S.; HIROSE, T. Application of cryogenic surgery to resection of parenchymal organs. **The New England Journal Of Medicine**, Nova Iorque, v. 274, n. 1, p.15-18, jan. 1966.

CORTEZ, H. Como o óxido nitroso, gás do efeito estufa, é decomposto. **Portal Eco Debate**, Brasil, ago. 2011. Disponível em: <<https://www.ecodebate.com.br/2011/08/25/como-o-oxido-nitroso-n2o-gas-do-efeito-estufa-e-decomposto>> Acesso em: 5 set. 2016.

DAVY, H. Researches, chemical and philosophical chiefly concerning nitrous oxide, or dephlogisticated nitrous air, and its respiration. **Bigs and Cottle**, Londres, 1800. Disponível

em: <[https://www.woodlibrarymuseum.org/library/pdf/s\\_ADVO.pdf](https://www.woodlibrarymuseum.org/library/pdf/s_ADVO.pdf)>. Acesso em: 4 set. 2016.

DUBIELZIG, R. R.; KETRING, K. L.; MCLELAN, G. J. *et al.* Diseases of the eyelid and conjunctiva. *In: Veterinary Ocular Pathology: A Comparative Review*. Madison: Elsevier-Saunders, 2010. p. 153, 158.

FARRIS, H. E.; FRAUNFELDER, F. T. Cryosurgical treatment of ocular squamous cell carcinoma of cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Portland, v. 168, n. 3, p. 213-216, fev. 1976.

FEATHERSTONE, H. J.; RENWICK, P.; HEINRICH, C. L. *et al.* Efficacy of lamellar resection, cryotherapy, and adjunctive grafting for the treatment of canine limbal melanoma. **Veterinary Ophthalmology**, Reino Unido, v. 12, n. 1, p. 65-72, nov. 2009.

FICHA de informações de segurança de produtos químicos – nitrogênio líquido refrigerado. **White Martins**, Brasil, out. 2015. Autor desconhecido. Disponível em: <<http://www.if.ufrj.br/wp-uploads/2013/02/P4630-LN2-492706.pdf>> Acesso em: 6 set. 2016.

FINGER, P. T. “Finger-tip” cryotherapy probes: treatment of squamous and melanocytic conjunctival neoplasia. **British Journal of Ophthalmology**, Nova Iorque, v. 89, p. 942-945, jan. 2005.

FRAUNFELDER, F.T. *et al.* The role of cryosurgery in external ocular and periocular disease. **American Academy of Ophthalmology and Otolaryngology**, Portland, v. 83, p. 713-724, jul. 1977.

FRAUNFELDER, F. T. *et al.* Results of cryotherapy for eyelid malignancies. **American Journal of Ophthalmology**, Oregon, v. 97, n. 2, p. 184-188, fev. 1984.

FRAUNFELDER, F.T.; FARRIS, H.E.; WALLACE, T.R. Cryosurgery for ocular and periocular lesions. **The Journal of Dermatologic Surgery and Oncology**, Portland, v. 3, n. 4, p. 422-427, jul. 1977.

FRAUNFELDER, F. T., WALLACE, T. R., FARRIS, H. E. *et al.* The role of cryosurgery in external ocular and periocular disease. **Transactions. Section on Ophthalmology. American Academy of Ophthalmology and Otolaryngology**, Portland, v. 83, p. 713-724. jul. 1977.

FRAUNFELDER, F. T.; WINGFIELD, D. Management of intraepithelial conjunctival tumors and squamous cell carcinomas. **American Journal of Ophthalmology**, Portland, v. 95, n. 3, p. 359-363, mar. 1983.

FRAUNFELDER, F. T.; ZACARIAN, S. A.; LIMMER, B. L. *et al.* Cryosurgery for malignancies of the eyelid. **Ophthalmology**, Portland, v. 87, n. 6, p. 461-465, jun. 1980.

FRAUNFELDER, F. W. Liquid nitrogen cryotherapy for surface eye disease: an AOS thesis. **Transactions of the American Ophthalmological Society**, Portland, v. 106, p.301-324, dez. 2008.

GAGE, A. A. History of cryosurgery. **Seminars In Surgical Oncology**, Nova Iorque, v. 14, n. 2, p. 99-109, mar. 1998.

GAGE, A. A.; BAUST, J. Mechanisms of tissue injury in cryosurgery. **Cryobiology**, Nova Iorque, v. 37, n. 3, p.171-186, nov. 1998.

- GILGER, B. C. Diseases and surgery of the cornea. *In: GILGER, B. C. Equine Ophthalmology*. 2. ed. Carolina do Norte: Saunders, 2011. p. 181-266.
- GIONFRIDDO, J. R. Recognizing and managing acute and chronic cases of glaucoma. *Veterinary Medicine*, Kansas, v. 90, p. 265-275, mar. 1995.
- GRAHAM, G. F.; BARHAM, K. L. Cryosurgery. *Current Problems in Dermatology*, Carolina do Norte, v. 15, n. 6, p. 229-250, dez. 2003.
- HIPPOCRATES. **Aphorisms**: seção V. Traduzido por Francis Adams. Disponível em: <<http://classics.mit.edu/Hippocrates/aphorisms.5.v.html>>. Acesso em: 13 ago. 2016.
- HOFFMAN, N. E.; BISCHOF, J. C. **Cryosurgery of normal and tumor tissue in the dorsal skin fala chambre**: Part I - Termal response. *Journal of Biomechanical Engineering*, Minnesota, v. 123, p. 301-309, ago. 2001.
- HOLDEN, H. B. **Cryosurgery**: its scientific basis and clinical application. *The Practitioner*, Michigan, v. 210, n. 258, p. 543-550, abr. 1973.
- HOLMBERG, D. L.; SCHEIFER, H. B.; PARENT, J. **The cryosurgical treatment of pigmentary keratitis in dogs**: an experimental and clinical study. *Veterinary Surgery*, v. 15, n. 1, p. 1-4, jan. 1986.
- HOLMBERG, D. L.; WITHROW, S. J. **Cryosurgical treatment of palpebral neoplasms**: clinical and experimental results. *Veterinary Surgery*, Canadá, v. 8, n. 3, p. 68-73, jul. 1979.
- HOLT, P. J. A. Cryotherapy for skin cancer: results over a 5-year period using liquid nitrogen spray cryosurgery. *British Journal of Dermatology*, Cardiff, v. 119, n. 2, p. 231-240, ago. 1988.
- ISHIDA, C. E.; RAMOS-SILVA, M. Cryosurgery in oral lesions. *International Journal of Dermatology*, Rio de Janeiro, v. 37, n. 4, p. 283-285, abr. 1998.
- JOHNSON, R. L. C.; COLLIN, J. R. O. Treatment of trichiasis with a lid cryoprobe. *British Journal of Ophthalmology*, Londres, v. 69, p. 267-270, 1985. Disponível em: <<http://bjo.bmj.com/content/69/4/267.full.pdf>>. Acesso em: 5 set. 2016.
- JONES, S. K.; DARVILLE, J. M. Transmission of virus by cryotherapy and multi-use caustic pencils: a problem for dermatologists?. *British Journal of Dermatology*, Bristol, v. 121, n. 4, p. 481-486, out. 1989.
- KAHANE, N.; OFRI, R.; PRAGER, O. *et al.* Apocrine hidrocystoma in four persian cats. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, Rehovot, v. 69, n. 1, p. 29-34, mar. 2014.
- KAPS, S.; RICHTER, M.; PHILIPP, M. *et al.* Primary invasive ocular squamous cell carcinoma in a horse. *Veterinary Ophthalmology*, Zurique, v. 8, n. 3, p. 193-197, mai. 2005.
- KRAWICZ, T. Intracapsular extraction of intumescent cataract by application of low temperature. *British Journal of Ophthalmology*, Lublin, v. 45, n. 4, p. 279-283, abr. 1961.
- KUFLIK, E. G.; GAGE, A. A. The five-year cure rate achieved by cryosurgery for skin cancer. *Journal of the American Academy of Dermatology*, New Jersey, v. 24, n. 6, p. 1002-1004, jun. 1991.
- LAVACH, J. D.; SEVERIN, G. A. **Neoplasia of the equine eye, adnexa and orbit**: a review of 68 cases. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, Toulouse, v. 170, n. 2, p. 202-203, jan. 1977.

- LEDBETTER, E. C.; GILGER, B. C. Diseases and surgery of the canine cornea and sclera. *In: GELATT, K; GILGER, B.C.; KERN, T.J. Veterinary Ophthalmology*. 5 ed. Ames: Wiley-Blackwell, 2013. v. 2. cap. 18. p. 976-1049.
- LEOPARD, P. J. Cryosurgery and its application to oral surgery. **The British Journal of Oral Surgery**, North Staffordshire, v. 13, n. 2, p. 128-152, dez. 1975.
- LINCOFF, A. H.; McLEAN, J. M. Cryosurgery in treating retinal detachment and other eye disorders. **British Journal of Ophthalmology**, Nova Iorque, v. 49, n. 7, p. 337-346, jul. 1965.
- LOPES, M. G. **Uso de criocirurgia em distiquíase bilateral em cão - relato de caso**. 2012. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização). Instituto Qualittas, Goiânia. 2012.
- LUBRITZ, R. R. Cryosurgery. *In: PARISH, Lawrence C. Clinics in dermatology*. 4. ed. Louisiana: Elsevier, 1987. cap. 11. p. 120-127.
- MACCINI, M.; SEHRT, D.; CHICOLI, F. A. *et al.* **Biophysiologic considerations in cryoablation: a practical mechanistic molecular review**. **International Brazilian Journal of Urology**, Colorado, v. 37, n. 6, p. 693-696, nov. 2011.
- MAGGS, D. J. Cornea and sclera. *In: MAGGS, D. J.; MILER, P. E.; OFRI, R. Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*. 4 ed. Saunders, 2008. cap. 10. p. 175-202.
- MAGGS, D. J. Eyelids. *In: MAGGS, D. J.; MILER, P. E.; OFRI, R. Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*. 4 ed. Saunders, 2008. cap. 6. p. 107 -134.
- MAGGS, D. J. Third eyelid. *In: MAGGS, D. J.; MILER, P. E.; OFRI, R. Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*. 4 ed. Saunders, 2008. cap. 8. p. 151-156.
- MANUAL Cry-Ac. Cry-Ac® do Brasil. **Cry-Ac**, Brasil, 2016. Autor desconhecido. Disponível em: <<http://cryac.com.br/images/manuais/cryac.pdf>>. Acesso em: 4 out. 2016.
- MARCIANI, R. D.; TRODAHL, J. M. Postoperative sequelae of cryosurgery. **Journal of Oral Surgery**, Carolina do Norte, v. 33, n. 6, p. 458-461, jun. 1975.
- MIDGLEY, T.; HENNE, A. L. Organic fluorides as refrigerants. **Industrial And Engineering Chemistry**, Ohio, v. 22, n. 5, p. 542-545, mai. 1930.
- MILLER, P. E. The glaucomas. *In: MAGGS, D. J.; MILER, P. E.; OFRI, R. Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*. 4 ed. Saunders, 2008. cap. 12. p. 230-257.
- MONTIANI-FERREIRA, F.; KIUPEL, M.; MUZOLON, P. *et al.* **Corneal squamous cell carcinoma in a dog: a case report**. **Veterinary ophthalmology**, Curitiba, v. 11, n. 4, p. 269-272, jul. 2008.
- MONTIANI-FERREIRA, F.; WOUK, A. F. P.; LIMA, A. S. *et al.* Neoplasias oculares em pequenos animais. *In: DALECK, C.R.; NARDI, A.B. de; RODASKI, S. Oncologia em Cães e Gatos*. São Paulo: Roca, 2008. p. 294-311.
- MULTARI, D.; VASCELLARI, M.; MUTINELLI, F. Hemangiosarcoma of the third eyelid in a cat. **Veterinary Ophthalmology**, Itália, v. 5, n. 4, p. 273-276, nov. 2002.
- NEEL, B. H.; KETCHAM, A. S.; HAMMOND, W. G. Requisites for successful cryogenic surgery of cancer. **Archives of Surgery**, Minnesota, v. 102, n. 1, p. 45-48, jan. 1971.

NISHIDA, H.; YAMAMOTO, N.; TANZAWA, Y. *et al.* Cryoimmunology for malignant bone and soft-tissue tumors. **International Journal of Clinical Oncology**, Japão, v. 16, p. 109-117, mar. 2011.

NITROUS oxide – chemical compound. *In: Encyclopaedia Britannica*. Autor desconhecido. Disponível em:

<<https://global.britannica.com/science/nitrous-oxide>>. Acesso em: 4 set. 2016.

OFRI, R. Retina. *In: MAGGS, D. J.; MILER, P. E.; OFRI, R. Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*. 4 ed. Saunders, 2008. cap. 15. p. 285-317.

PASQUALI, P. **Cryosurgery: a practical manual**. Tarragona: Springer, 2015. 315 p.

Disponível em: <<http://www.springer.com/us/book/9783662439388>>. Acesso em: 13 ago. 2016.

PIGATTO, J. A. T.; ALBUQUERQUE, L.; BECKER, M. P. *et al.* Eyelid hidrocystomas in a cat. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 44, n. 1, p. 1-4, jul. 2016.

PIGATTO, J. A. T.; HÜNNING, P. S.; PEREIRA, F. Q. *et al.* Corneal squamous cell carcinoma in a dog. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 38, n. 2, p. 197-200, jan. 2010.

PLUMMER, C. E.; REGNIER, A.; GELATT, K. The canine glaucomas. *In: GELATT, K; GILGER, B.C.; KERN, T.J. Veterinary Ophthalmology*. 5 ed. Ames: Wiley-Blackwell, 2013. v. 2. cap. 19. p. 1050-1145.

PRICE, E.; BIRO, L. Use of thermocouples in cryosurgery. **The Journal of Dermatologic Surgery and Oncology**, Nova Iorque, v. 9, n. 3, p. 215-218, mar. 1983.

PRIESTLEY, J. Experiments and observations relating to various branches of natural philosophy. [s. n.], Londres, 1729. Disponível em:

<<https://ia800501.us.archive.org/10/items/experimentsobse00prie/experimentsobse00prie.pdf>>. Acesso em: 4 set. 2016.

PUSEY, W. A. The use of carbon dioxide snow in the treatment of nevi and other lesions of the skin. **The Journal of the American Medical Association**, Chicago, v.49, n. 16, p.1354-1356, out. 1907.

QUEIROZ, G. F.; MATERA, J. M. **Princípios gerais de criocirurgia no tratamento de tumores em pequenos animais: revisão de literatura**. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária**, Londrina, v. 6, n. 1/3, p. 53-62. 2003. Disponível em:

<<https://cirurgiavet.files.wordpress.com/2012/02/crio1.pdf>> Acesso em: 01 nov. 2016.

READE, P. C. Cryosurgery in clinical dental practice. **International Dental Journal**, [S.I.], v. 29, n. 1, p. 1-11, mar. 1979.

RICKARDS, D. A. Cryosurgery in small animal ophthalmology. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, [S. I.], v. 10, p. 271-282. 1980.

RICKARDS, D. A.; CARTER, K. L. Cryosurgery in canine pannus. **Canine Practice**, [S. I.], v. 5, n. 3, p. 48-50. 1978.

ROBERTS, S.; SEVERIN, G.; LAVACH, J. **Cyclocryosurgery part II: clinical comparison of liquid nitrogen and nitrous oxide cryotherapy on glaucomatous eyes**. **Journal of the American Animal Hospital Association**, [S. I.], v.20, p. 828-833. 1984.

SCOTT, D. W.; MILLER, W. H.; GRIFFIN, G. E. Neoplastic and non-neoplastic tumors. *In: Muller and Kirk's Small Animal Dermatology*. 6 ed. Philadelphia: Saunders, 2001. cap. 20. p. 1236-1414.

SHIELDS, J. A.; EAGLE, R. C.; SHIELD, C. L. *et al.* Apocrine hidrocystoma of the eyelid. **Archives of Ophthalmology**, Philadelphia, v. 111, p. 866-867. 1993.

SHIELDS, J.A.; SHIELDS, C. L.; DEGLIN, E. Retinal capillary hemangioma in marshall-stickler syndrome. **American Journal of Ophthalmology**, Philadelphia, v. 124, n. 1, p. 120-122, jul. 1997.

SHNAIDERMAN-TORBAN, A.; TATZ, A.; OREFF, G. *et al.* Mast cell tumour in the third eyelid of a mare. **Equine Veterinary Education**, Israel, fev. 2016. Disponível em: < <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/eve.12557/full>> Acesso em: 8 nov. 2016.

SIVAGURUNATHAN A.; GOODHEAD A. D.; DU PLESSIS, E. C. Multiple eyelid apocrine hidrocystoma in a domestic short-haired cat. **Journal of the South African Veterinary Association**, África do Sul, v. 81, n.1, p. 65-68. 2010.

SMITH, G. B.; HIRSCH, N. P. Gardney Quincy Colton: pioneer of nitrous oxide anesthesia. **Anesthesia & Analgesia**, New Haven, v. 72, p. 382-391, mar. 1991.

SMITH, J. D.; CHERNOSKY, M. E. Apocrine hidrocystoma (cystadenoma). **Archives of Dermatology**, Texas, v. 109, n. 5, p. 700-702, mai. 1974.

SOUZA, R. C.; CUNHA, J. M.; FERREIRA, S. H. *et al.* Different inflammatory mediators induce inflammation and pain after application of liquid nitrogen to the skin. **Cryobiology**, Curitiba, v. 53, n. 3, p. 319-329, set. 2006.

STADES, F.C.; WOERDT, A.V.D. Diseases and surgery of the canine eyelid. *In: GELATT, K; GILGER, B.C.; KERN, T.J. Veterinary Ophthalmology*. 5 ed. Ames: Wiley-Blackwell, 2013. v. 2. cap. 14. p. 832 – 893.

SULLIVAN, T. C. Surgery for retinal detachment. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, Seattle, v. 27, n. 5, p. 1193-1214, set. 1997.

SULLIVAN, T. C.; DAVIDSON, M. G.; NASISSE, M. P. *et al.* Canine retinopexy – a determination of surgical landmarks and a comparison of cryoapplication and diode laser methods. **Progress in Veterinary and Comparative Ophthalmology**, Seattle, v. 7, n. 2, p. 89-95. 1997.

TEHRANI, S.; FRAUNFELDER, F. W. Cryotherapy in ophthalmology. **Open Journal of Ophthalmology**, Portland, v. 3, n. 4, p. 103-117, nov. 2013.

THIBAUT, D. J. La cryothérapie em ophtalmologie vétérinaire (traitement du glaucome excepté). 2011. Dissertação de doutorado – **Escola Nacional Veterinária de Toulouse**, Universidade de Toulouse, Toulouse, 2011.

TINSLEY, D. M.; BETTS, D. M. **Glaucoma**: past and present managment techniques. **Iowa State University Veterinarian**, Iowa, v. 55, n. 1, p. 36-45. 1993. Disponível em: < [http://lib.dr.iastate.edu/iowastate\\_veterinarian/vol55/iss1/10/](http://lib.dr.iastate.edu/iowastate_veterinarian/vol55/iss1/10/)> Acesso em: 13 nov. 2016.

TUCKER, S. M. *et al.* Scleral melt after cryotherapy for conjunctival melanoma. **Ophthalmology**, Toronto, v. 100, n. 4, p. 574-577, out. 1993.



- VAINISI, S. J.; WOLFER, J. C. Canine retinal surgery. **Veterinary Ophthalmology**, Toronto, v. 7, n. 5, p. 291-306, 2004.
- VAINISI, S. J.; WOLFER, J. C.; HOFFMAN, A. R. Surgery of the canine posterior segment. *In*: GELATT, K; GILGER, B.C.; KERN, T.J. **Veterinary Ophthalmology**. 5 ed. Ames: Wiley-Blackwell, 2013. v. 2. cap. 25. p. 1393-1431.
- VECKNEER, M. *et al.* Randomized clinical trial of cryotherapy versus laser photocoagulation for retinopathy in conventional retinal detachment surgery. **American Journal of Ophthalmology**, Rotterdam, v. 132, n. 3, p. 343-347, set. 2001.
- VESTRE, W.; BRIGHTMAN, A. Effects of cyclocryosurgery on the clinically normal canine eye. **American Journal of Veterinary Research**, [S. I.], v. 44, n. 2, p. 187-194, fev. 1983.
- VILLALVA, C. M. *et al.* Crioterapia con óxido nítrico em atenção primária. **Atenção Primária**, Ourense, v. 31, n. 2, p. 87-92, jun. 2002.
- WALKER, J. J.; FINGER, P. T. Cryotherapy for ocular tumors: new “finger-tip” cryoprobes provide a wide range of uses and applications. **US Ophthalmic Review**, Nova Iorque, v. 3, p. 24-25. 2007. Disponível em:  
<<http://www.touchophthalmology.com/sites/www.touchophthalmology.com/files/walker.pdf>>  
Acesso em: 4 out. 2016.
- WHITE, A.C. Liquid air: its application in medicine and surgery. **Medication Reconciliation**, [S.I.], v.56, p.109-112. 1899.
- WILCOCK, B. P. General pathology of the eye. *In*: MAGGS, D. J.; MILER, P. E.; OFRI, R. **Slatter’s Fundamentals of Veterinary Ophthalmology**. 4 ed. Saunders, 2008. cap. 4. p. 62 - 80.
- WILKES, T. D.; FRAUNFELDER, F. T. Principles of Cryosurgery. **Ophthalmic Surgery**, [S. I.], v. 10, n. 8, p. 21-30, ago. 1979.
- WILLIAMS, D. L.; HOEY, A. J.; SMITHERMAN, P. Comparison of topical cyclosporin and dexamethasone for the treatment of chronic superficial keratitis. **Veterinary Record**, Londres, v. 137, n. 25, p. 635-639, dez. 1995.
- WILLIAMS, L. W.; GELLAT, K.; GWIN, R. M. Ophthalmic neoplasms in the cat. **Journal of the American Animal Hospital Association**, [S. I.], v. 17, p. 999-1008. 1981.
- WINGFIELD, D. L., FRAUNFELDER, F. T. Possible complications secondary to cryotherapy. **Ophthalmic Surgery**, [S. I.], v. 10, n. 8, p. 47-55, ago. 1979.
- YANG, S. H.; LIU, C. H.; HSU, C. D. *et al.* Use of chemical ablation with trichloroacetic acid to treat eyelid apocrine hidrocystomas in a cat. **Journal of the American Medical Association**, Taiwan, v. 230, n. 8, p 1170-1173, abr. 2015.
- YU, C. *et al.* Cotton-swab cryotherapy for oral leukoplakia. **Journal of the Sciences and Specialties of the Head and Neck**, Taiwan, v. 31, n. 8, p. 938-988, mar. 2009.
- YU, C. *et al.* Cryotherapy for oral precancers and cancers. **Journal of the Formosan Medical Association**, Taiwan, v. 113, n. 5, p. 272-277, mai. 2014.
- ZIMMERMAN, E. E.; CRAWFORD, P. Cutaneous cryosurgery. **American Family Physician**, Nevada, v. 86, n. 12, p. 1118-1124, dez, 2012.