

# Estudo experimental para avaliação de um sistema de baixo custo para crioterapia em spray

## Experimental study for evaluation of a low-cost spray cryotherapy system

Altair da Silva Costa Jr.<sup>1,2</sup>, Andre Miotto<sup>2</sup>, Gustavo Andrade de Paulo<sup>1</sup>, Angelo Paulo Ferrari<sup>1,2</sup>, Luiz Hiroto Ota<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil.

<sup>2</sup> Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

DOI: [10.31744/einstein\\_journal/2019AO4533](https://doi.org/10.31744/einstein_journal/2019AO4533)

### RESUMO

**Objetivo:** Avaliar a exequibilidade e a aplicação de um sistema de baixo custo de crioterapia. **Métodos:** Estudo experimental realizado com um suíno da raça Landrace, 25kg, submetido à cervicotoracolaparatomia longitudinal, com exposição de traqueia, tórax e abdome. Procedemos ao congelamento das estruturas em tempos diferentes (5, 10 e 15 segundos) com jato contínuo. A crioterapia foi realizada com gás fluoretado (tetrafluoretano), na forma de spray em tubo, que atinge a temperatura de -47°C (DermaFreeze®, Emdutos; registro ANVISA 80409950001; preço R\$ 394,00). A este tubo, adaptamos um cateter descartável de colangiografia de 1,8mm (Olympus; preço R\$ 280,00). As peças foram ressecadas para análise histopatológica. **Resultados:** Foram obtidas 30 amostras em 10 órgãos diferentes, divididos em três intervalos de tempo distintos. Quando o sistema foi acionado por 5 segundos, gastaram-se 14g de gás; por 10 segundos, 27g; e por 15 segundos, 40g; o gasto médio foi de 2,7g/s pelo cateter de 1,8mm. O sistema confeccionado com tubo de gás e cateter proporcionou resultado efetivo, com dispersão adequada e constante do gás, congelamento adequado e de fácil execução. Apesar da técnica evidenciar congelamento efetivo, na microscopia não houve alteração tecidual. Isso ocorreu porque o pico de lesão tecidual por congelamento ocorre após 48 horas, o que não foi possível avaliar por este método proposto. **Conclusão:** O sistema de crioterapia em spray de baixo custo foi exequível e seguro.

**Descritores:** Crioterapia; Sprays nasais; Broncoscopia; Suínos

### ABSTRACT

**Objective:** To evaluate the feasibility and applicability of a low-cost cryotherapy system. **Methods:** Experimental study with 25kg Landrace pigs submitted to a longitudinal cervico-thoraco-abdominal incision for exposure of the trachea, thorax and abdomen. The tissues were frozen by continuous spray application at different periods of time (5, 10 and 15 seconds). Spray cryotherapy was performed using a fluorinated gas (tetrafluoroethane) delivered at - 47°C temperature (DermaFreeze®, Emdutos; ANVISA registration 80409950001; price R\$ 394,00). via an adapted, disposable 1.8mm cholangiography catheter (Olympus; price R\$ 280,00). The specimens were resected for histopathological analysis. **Results:** Thirty samples were obtained from ten different organs and divided according to spray cryotherapy application time. System activation for 5, 10 or 15 seconds led to consumption of 14g, 27g and 40g of gas respectively (average gas consumption, 2.7g/s using a 1.8mm catheter). The system comprising a spray tube and catheter proved user-friendly and effective, with constant gas dispersion and adequate tissue freezing. In spite of effective freezing, microscopy failed to reveal tissue changes. This may have reflected methodological constraints precluding evaluation at tissue damage peak time (48 hours). **Conclusion:** The low-cost spray cryotherapy system proved feasible and safe.

**Keywords:** Cryotherapy; Nasal sprays; Bronchoscopy; Swine

#### Como citar este artigo:

Costa Jr. AS, Miotto A, Paulo GA, Ferrari AP, Ota LH. Estudo experimental para avaliação de um sistema de baixo custo para crioterapia em spray. *einstein* (São Paulo). 2019;17(2):eAO4533. [http://dx.doi.org/10.31744/einstein\\_journal/2019AO4533](http://dx.doi.org/10.31744/einstein_journal/2019AO4533)

#### Autor correspondente:

Altair da Silva Costa Jr.  
Avenida Albert Einstein 627/701, bloco A1,  
 piso i4 – Morumbi  
CEP: 05652-900 – São Paulo, SP, Brasil  
Tel.: (11) 2151-9886  
E-mail: altair.torax@gmail.com

#### Data de submissão:

5/5/2018

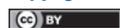
#### Data de aceite:

29/10/2018

#### Conflitos de interesse:

não há.

#### Copyright 2019



Esta obra está licenciada sob  
uma Licença *Creative Commons*  
Atribuição 4.0 Internacional.

## INTRODUÇÃO

Os princípios do resfriamento como terapêutica são conhecidos e utilizados desde a antiguidade. Os egípcios e gregos já conheciam suas características anti-inflamatórias e anestésicas.<sup>(1)</sup>

A crioterapia envolve o congelamento e o descongelamento do tecido-alvo. A temperatura necessária para induzir uma lesão é entre  $-20^{\circ}\text{C}$  e  $-40^{\circ}\text{C}$ , para formar cristais de gelo intracelulares, que são letais. Para atingir a temperatura de tratamento ao redor de  $-40^{\circ}\text{C}$ , é necessária uma taxa rápida de congelamento ( $-0,5^{\circ}\text{C}$  por segundo), que resulta em mais de 90% de morte celular.<sup>(1,2)</sup> Os cristais de gelo intracelulares levam à desidratação celular e um aumento tóxico na concentração de eletrólitos, os quais promovem o fluxo extracelular para dentro da célula. Isso também ocorre por aumento da permeabilidade, devido à desnaturação induzida por congelamento de lipoproteínas da membrana celular. O dano a mitocôndrias e outras organelas leva à morte celular, consequente a edema e ruptura celular, em um efeito conhecido como crionecrose.<sup>(1-3)</sup>

Alguns tecidos, como pele, mucosa e tecido de granulação, são altamente sensíveis à destruição induzida por congelamento (criossensíveis). Outros são menos sensíveis (crioresistentes), como gordura, fibrose, cartilagem e tecidos conjuntivos.<sup>(1-3)</sup>

Com o desenvolvimento da tecnologia e novos materiais, houve um resfriamento melhor e mais rápido. A crioterapia se desenvolveu principalmente na área dermatológica, na qual as lesões ficam expostas e são de fácil acesso. Hoje em dia, esse tipo de tratamento está bem estabelecido na dermatologia, e seu uso tem sido difundido e pesquisado em outras áreas.<sup>(4,5)</sup>

A crioterapia é utilizada na via aérea por meio de dispositivos sofisticados e agentes de refrigeração, como nitrogênio em spray ou gás carbônico por cateter de contato, mas não com gases fluoretados.<sup>(3,5)</sup>

## OBJETIVO

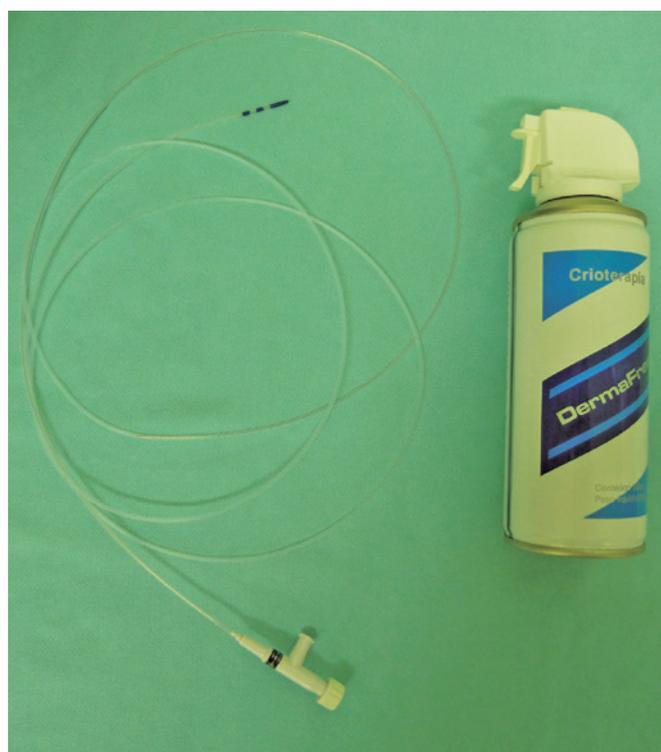
Avaliar a exequibilidade e a aplicação prática de um sistema de baixo custo de crioterapia.

## MÉTODOS

Estudo experimental, em que foram utilizados suínos da raça Landrace, com peso de 20 a 25kg. Os animais receberam os cuidados de acordo com as normas estabelecidas no *Guide for the Care and Use of Laboratory Animal* (Institute of Laboratory Animal Resources; National Academy of Sciences, Washington, D.C., 1996), e segundo os Princípios Éticos na Experimentação

Animal da Legislação Brasileira e do Colégio Brasileiro de Experimentação.<sup>(6-8)</sup> Previamente, no mesmo dia, mais cedo, os animais foram submetidos a procedimentos decorrentes de um curso avançado de endoscopia digestiva terapêutica.

A crioterapia foi realizada com um gás fluoretado (tetrafluoretano), na forma de spray em tubo, que atinge a temperatura de  $-47^{\circ}\text{C}$  (DermaFreeze®, Emdut, registro ANVISA 80409950001), valor de R\$ 394,00.<sup>(4)</sup> A este tubo, adaptamos um cateter descartável de colangiografia de 1,8mm (Olympus), no valor de R\$ 280,00 (Figura 1).

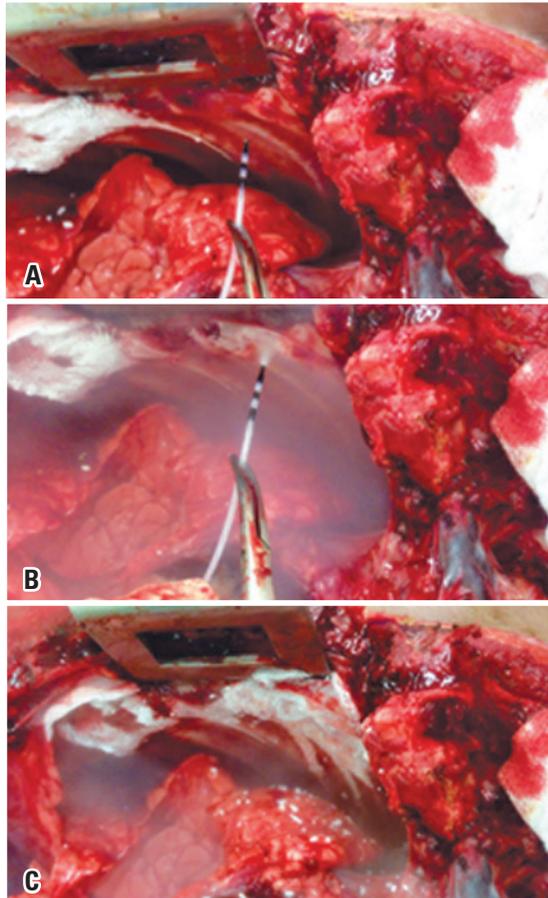


**Figura 1.** Tubo de gás fluoretado (DermaFreeze®) e cateter de colangiografia endoscópica descartável (PR-225Q/PR427G, 1,8mm, Olympus®)

Os animais foram colocados em posição supina na mesa, e realizamos uma cervicotoracolaparotomia longitudinal com exposição de traqueia, tórax e abdome. Antes dos procedimentos, foi realizada a ressecção de uma amostra do tecido normal, para análise comparativa. Procedemos ao congelamento das estruturas em tempos diferentes (5, 10 e 15 segundos) com jato contínuo do gás fluoretado. Após o congelamento da região, aguardamos cerca de 15 minutos, e as peças fo-

ram ressecadas para análise histopatológica. Os animais permaneceram anestesiados, intubados e em ventilação mecânica até serem sacrificados.

Foram produzidas lesões por frio em três lugares distintos nas seguintes regiões: laringe, traqueia, esôfago, pulmão, pleura parietal (Figura 2), baço, fígado, estômago, intestino delgado e coração-átrio. Cada peça foi imersa em solução de formol a 10%, neutra e tamporada, durante 24 horas.



**Figura 2.** Técnica de congelamento na pleura. (A) Preparo e posicionamento do cateter. (B) Aplicação do jato de gás fluoretado. (C) Resultado imediato do congelamento

Obtivemos fragmentos representativos de todos os tecidos, com espessura média de 5mm. A amostra foi desidratada, diafanizada e incluída em parafina. Os cortes histológicos com 5 $\mu$ m de espessura foram submetidos à coloração por hematoxilina/eosina (HE) e analisados em microscopia óptica, em aumentos de 40x e 100x.

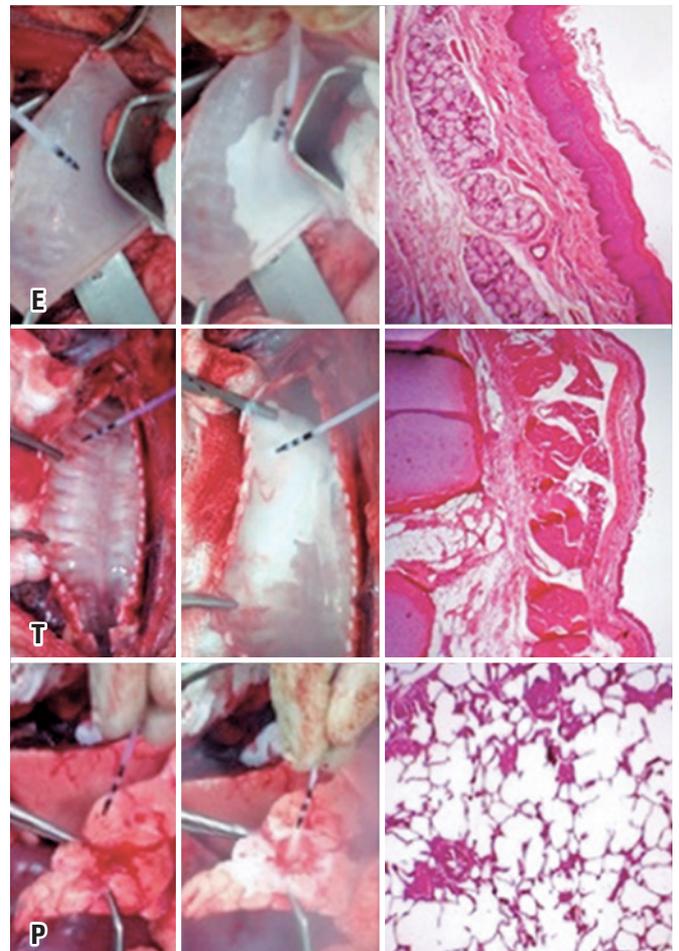
O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais das instituições – CEUA/UNIFESP 2402080414 e CEUA-HIAE 1919-13.

## RESULTADOS

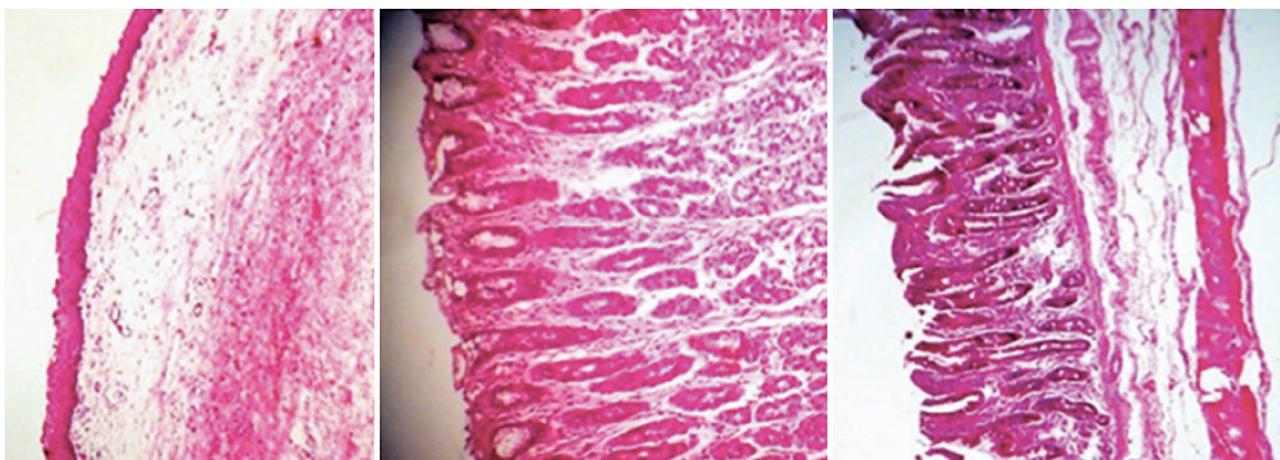
Foram obtidas 30 amostras em 10 órgãos diferentes, divididos em três intervalos de tempo distintos. Quando o sistema foi acionado por 5 segundos, gastaram-se 14g de gás; por 10 segundos, 27g; e por 15 segundos, 40g, com gasto médio de 2,7g/s com o cateter de 1,8mm.

Durante os procedimentos com a utilização do spray, foi nítido o congelamento das estruturas, conforme documentado nas figuras 2 e 3. O sistema com o tubo de spray e o cateter de 1,8mm não apresentaram nenhuma intercorrência.

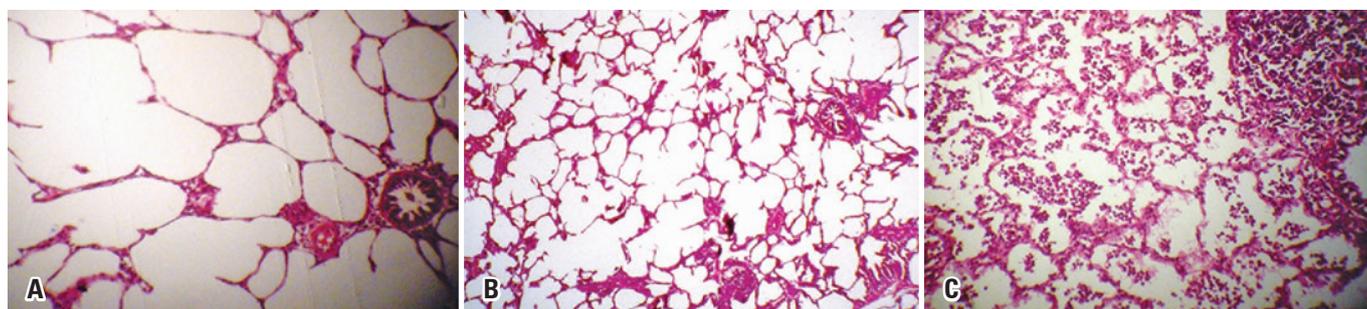
Após o congelamento, aguardamos 15 minutos, que foi o tempo suficiente para ocorrer o descongelamento das estruturas. Então, o local foi ressecado e colocado em formol. A análise histológica com coloração de HE não evidenciou diferença entre os três tempos de exposição utilizados, quando comparados com a amostra inicial de controle (Figura 3, 4 e 5).



**Figura 3.** Congelamento e histologia do esôfago (E), traqueia (T) e pulmão (P)



**Figura 4.** Histologia após congelamento da laringe, estômago e intestino delgado



**Figura 5.** Cortes histológicos do pulmão. (A) Sem exposição ao gás. (B) Exposição de 10 segundos. (C) Exposição de 15 segundos

## DISCUSSÃO

Em termodinâmica, o efeito Joule-Thomson descreve a variação da temperatura de um gás ou líquido pressurizado, quando ele passa por meio de uma válvula, desde que ele esteja dentro de um recipiente fechado, isolado, sem troca de calor com o ambiente. À temperatura ambiente, todos os gases sob a expansão, exceto hidrogênio, hélio e neônio, resfriam-se – é o experimento de Joule-Thomson.<sup>(1,2,9)</sup>

Os gases são pressurizados até se liquefazem e, assim, são armazenados em tubos ou latas de spray. Um exemplo são os desodorantes em latas que utilizamos diariamente. É fácil notar que, à medida em que o gás sai da lata, ocorre o esfriamento do próprio gás e da região próxima da válvula. Por meio deste princípio físico, a crioterapia pode ser utilizada para tratamento por meio de certos gases armazenados em recipientes fechados. Um deles é o gás fluoretado (tetrafluoretano), como nome comercial de DermaFreeze®.<sup>(1,2,5)</sup>

A crioterapia é a aplicação de baixa temperatura, capaz de modificar o meio celular e a vasoconstrição, diminuir a inflamação, e promover a analgesia e até ne-

crose tecidual.<sup>(1,5)</sup> Depende da intensidade e do tempo de exposição ao frio. A quantidade de tecido destruído por crioterapia depende de vários fatores, como taxa de congelamento, taxa de descongelamento, temperatura mínima alcançada, quantidade de água nas células, número de ciclos de congelamento e descongelamento, e sensibilidade do tecido.<sup>(9-11)</sup>

O uso de crioterapia é conhecido e mais utilizado em pele, mucosas e via aérea. Porém, a limitação está no tipo de sistema a ser usado ou de gás. O nitrogênio líquido requer normas de segurança rígidas, logística para armazenamento, recipientes específicos e treinamento para manuseio. Pode ser utilizado em consultório e tratamentos ambulatoriais.<sup>(2,6)</sup> O uso em via aérea só é possível na forma de spray. A dispositivo de crioterapia spray *TrueFreeze System* (CSA Medical) é usado para aplicar spray de nitrogênio líquido por um cateter flexível passado através do canal de trabalho de um broncoscópio terapêutico.<sup>(3,5,10,12)</sup> Porém, é um aparelho grande e não disponível no Brasil e, portanto, seu custo e seu acesso são fatores limitantes.

A utilização de crioterapia na via aérea é restrita em nosso meio, devido ao seu alto custo pela necessidade

de importação, registro na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), carga tributária, pelo custo Brasil. Esse cenário foi um dos estímulos para o desenvolvimento de novas tecnologias em território nacional, com potencial para uso na via aérea.

Neste estudo experimental inicial, não foi planejado manter o animal vivo, pois o foco era testar se o sistema em questão era factível. O sistema confeccionado com tubo de gás e cateter de endoscopia proporcionou resultado efetivo, com dispersão adequada e constante do gás, congelamento adequado e de fácil execução.

A crioterapia já é utilizada na broncoscopia em algumas situações, com nitrogênio em spray ou aparelhos de gás carbônico com cateteres de contato.<sup>(5)</sup> Infelizmente, por falta de estudos na área, o uso do spray com gás fluoretado ainda não se expandiu para as vias aéreas.

Apesar de a técnica evidenciar macroscopicamente um congelamento efetivo, no aspecto microscópico não houve alteração tecidual. Tal ocorrido é justificado pelo pouco tempo de permanência do tecido congelado no animal, pois, como não foi meta do trabalho deixar o animal vivo, a peça cirúrgica foi retirada 15 minutos após o procedimento. O pico de lesão tecidual por congelamento ocorre após 48 horas, o que não foi possível avaliar por este método proposto.<sup>(1,5,11,12)</sup>

Novos estudos precisam ser realizados para detectar a extensão de lesões na crioterapia do sistema respiratório com gás fluoretado.

## CONCLUSÃO

Nesta avaliação experimental, o sistema de crioterapia em spray de baixo custo foi exequível, prático e seguro.

## INFORMAÇÃO DOS AUTORES

Costa Jr. AS: <http://orcid.org/0000-0003-0912-2330>

Miotto A: <http://orcid.org/0000-0002-4260-0595>

Paulo GA: <http://orcid.org/0000-0002-7926-9373>

Ferrari AP: <http://orcid.org/0000-0002-7062-288X>

Ota LH: <http://orcid.org/0000-0002-2301-6318>

## REFERÊNCIAS

1. Benaglia MB, Jardim EC, Mendonca JC. Criocirurgia em odontologia: vantagens e desvantagens. *Brazilian J Surg Clin Res.* 2014;7(3):58-67.
2. Moura-Netto C, Yamazaki AK, Cardoso LN, Cabrales RJ, Prokopowitsch I. Avaliação da temperatura mínima alcançada por cinco gases refrigerantes. *Rev Inst Ciênc Saúde.* 2007;25(4):403-5.
3. Bhora FY, Ayub A, Forleiter CM, Huang CY, Alshehri K, Rehmani S, et al. Treatment of benign tracheal stenosis using endoluminal spray cryotherapy. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg.* 2016;142(11):1082-7.
4. Dawber R. Cryosurgery: unapproved uses, dosages, or indications. *Clin Dermatol.* 2002;20(5):563-70. Review.
5. Moore RF, Lile DJ, Abbas AE. Current status of spray cryotherapy for airway disease. *J Thorac Dis.* 2017;9(S2 Suppl 2):S122-9. Review.
6. Martinez FC, Nohales CP, Canal CP, Martin MJ, Catalán MH, Canadas GO. Dermatological cryosurgery in primary care with dimethyl ether propane spray in comparison with liquid nitrogen. *Aten Primaria.* 1996;18(5):211-6.
7. Rezende AH, Peluzio MC, Sabarense CM. Experimentação animal: ética e legislação brasileira. *Rev Nutr.* 2008;21(2):237-42.
8. Schnaider TB, Souza C. Aspectos éticos da experimentação animal. *Rev Bras Anestesiol.* 2003;53(2):278-85.
9. Deygas N, Froudarakis M, Ozenne G, Vergnon JM. Cryotherapy in early superficial bronchogenic carcinoma. *Chest.* 2001;120(1):26-31.
10. Finley DJ, Dycoco J, Sarkar S, Krinsky WS, Sherwood JT, Dekeraty D, et al. Airway spray cryotherapy: initial outcomes from a multiinstitutional registry. *Ann Thorac Surg.* 2012;94(1):199-203; discussion 203-4.
11. Krinsky WS, Broussard JN, Sarkar SA, Harley DP. Bronchoscopic spray cryotherapy: assessment of safety and depth of airway injury. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2010;139(3):781-2.
12. Moorjani N, Beeson JE, Evans JM, Maiwand MO. Cryosurgery for the treatment of benign tracheo-bronchial lesions. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2004;3(4):547-50.