

## CRIOCIRURGIA EM CÃES E GATOS – COMO PODEMOS UTILIZÁ-LA? CRYOSURGERY IN DOGS AND CATS - HOW CAN WE USE IT?

Analy Ramos MENDES<sup>1</sup>

### RESUMO

Criocirurgia teve seu início em torno de 1850, quando a aplicação de diversas soluções geladas foi realizada. A criocirurgia moderna começou com o desenvolvimento de aparelhos automatizados utilizando nitrogênio líquido para congelamento. Foi comprovado que um rápido resfriamento do tecido, descongelamento lento e a repetição do ciclo de congelamento e descongelamento são necessários para causar lesão significativa. Em geral, os experimentos de criocirurgia na medicina estão progredindo e esses amplos projetos de pesquisa utilizando modelos animais e seus resultados devem, na atualidade, servir de exemplo para pesquisas sobre as mais diversas formas de aplicabilidade da criocirurgia na medicina veterinária.

Palavras-chave: caninos, crioterapia, dermatologia, felinos, oncologia

### ABSTRACT

Cryosurgery had its beginning around 1850, when the application of various iced solutions were performed. Modern cryosurgery began with the development of automated device cooled by liquid nitrogen. It was shown that rapid cooling of the tissue, slow thawing, and repetition of the cycle of freezing and thawing were needed to cause significant injury. In general, the experiments in medicine are progressing and those extensive research projects using animal models and their results must, at present, serve as an example for research on various forms of application of cryosurgery in veterinary medicine.

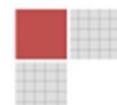
**Keywords:** canine, cryotherapy, dermatology, feline, oncology

### 1. INTRODUÇÃO

A criocirurgia foi inicialmente conceituada como a aplicação de frio com fins terapêuticos, visando a congelação de tecidos o que acarretaria inibição fisiológica ou morte celular (LUCAS & LARSSON, 2006). Como denominações, esta técnica é conhecida como crioterapia, criocauterização, criocongelação e finalmente, a mais apropriada, criocirurgia.

Trata-se de uma terapêutica muito difundida da medicina humana, onde diversas técnicas são desenvolvidas e novos tratamentos surgem dia a dia. A criocirurgia é difundida amplamente nos mais variados setores da medicina humana sendo utilizada em neurologia, cardiologia, oftalmologia, dermatologia, oncologia, entre outras.

<sup>1</sup> Professora Mestre do Curso de Graduação em Medicina Veterinária, Faculdade de Formação Integral e Ensino Superior FAEF – Garça/São Paulo, Brasil. email: [analyramendes@hotmail.com](mailto:analyramendes@hotmail.com)



Já na medicina veterinária são escassos os relatos e as pesquisas realizadas com o emprego desta técnica, e restringe-se à dermatologia e à oncologia. Alguns relatos surgiram na medicina veterinária visando sua aplicabilidade em carcinomas de pele e outras dermatopatias como epiteliomas, papilomas, melanomas, entre outras. Porém, poucos relatos fogem a essas condições. A literatura médica internacional dispõe diversas pesquisas realizadas com sucesso em animais, porém a medicina veterinária pouco tem aproveitado desse valioso recurso, mostrando que a evolução nessa área ainda pode nos trazer muitos benefícios.

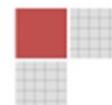
Além disso, a criocirurgia é uma alternativa terapêutica viável na medicina veterinária por possuir baixo custo e ser pouco agressiva, apresentando vantagem de uso em pacientes idosos e que possuem alto risco de serem submetidos a procedimentos anestésicos e cirúrgicos mais agressivos. Este trabalho visa demonstrar novas tendências que podem e devem ser aplicadas na medicina veterinária e que já são consagradas na medicina humana por extensos experimentos em modelos animais.

## 2. DESENVOLVIMENTO

### 2.1 A HISTÓRIA DA CRIOCIRURGIA

A literatura médica relata o uso de temperaturas abaixo de zero desde seu início, embora técnicas utilizando congelamento tenham sido difundidas apenas recentemente como ferramenta cirúrgica. Foi registrado por Hipocrates que o frio poderia ser utilizado para reduzir hemorragias e o inchaço após ferimentos (WHITTAKER, 1984).

Entre 1819 e 1879, o médico inglês James Arnott (1797-1883), relatou o uso do frio como forma de tratamento a diversas enfermidades (ARNOTT, 1851; BIRD et al., 1949). Ele construiu seu próprio aparelho e utilizou cloreto de sódio e gelo picado como tratamento em tumores de mama, de útero e alguns de pele visando redução da dor e hemorragia local (ARNOTT, 1851; BIRD et al., 1949).



Porém, sal e gelo não eram suficientes para alcançar tão baixas temperaturas requeridas. CAILLETET (1878) demonstrou que o oxigênio e o monóxido de carbono poderiam ser liquefeitos sob alta pressão além de refrigerados.

WHITE (1899) relatou sucesso ao utilizar ar líquido no tratamento de lúpus eritematoso, nevos, verrugas, úlceras varicosas, carbúnculos e epitelomas e afirmou que o epiteloma tratado no início pelo ar líquido poderia ser curado. Na mesma época, William Pusey popularizou o uso da neve de dióxido de carbono sob alta pressão, pois era de mais fácil obtenção em relação ao ar líquido e passou a utilizá-lo demonstrando em um caso de uma adolescente com nevos de pigmentação escura a alta sensibilidade dos melanócitos ao frio (PUSEY, 1935).

Outra questão na época era como o líquido deveria ser aplicado, armazenado e transportado. Whitehouse em 1907 desenvolveu um spray que permitiria mais baixas temperaturas, porém logo caiu em desuso pela dificuldade em limitar a área que o spray abrangia. James Dewar resolveu o problema de transporte desenvolvendo um balão feito de duas paredes de vidro com vácuo entre elas e, ainda hoje, muitos dos recipientes utilizados para armazenagem possuem o mesmo projeto (WHITEHOUSE, 1907).

Em 1950, Allington foi conhecido por ser o primeiro a utilizar o nitrogênio líquido através de cotonete em lesões benignas e, após a segunda guerra mundial, este gás passou a ser livremente difundido e preferível pelo seu potencial explosivo (ALLINGTON, 1950). Zacarian, em 1967, desenvolveu um dispositivo portátil (Figura 1), o Kryospray, que consistia em um equipamento de operação manual com controle de disparo e pontas intercambiáveis que permitiam variações no diâmetro do spray e com probes que poderiam atingir profundidades de até 7 mm (KUFLINK & GAGE, 1990). A partir de então, a criocirurgia com o uso do nitrogênio líquido se difundiu nas mais diversas especialidades médicas como na oftalmologia em cirurgias de catarata, ginecologia, dermatologia, neurologia como em hipofisectomias e principalmente na oncologia em tratamento de diversos tipos de neoplasias (KUFLINK & GAGE, 1990).

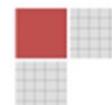




Figura 1. Aplicação da criocirurgia por meio de cotonete (esquerda). Spray de nitrogênio líquido (centro) e crioprobe (direita). (Fonte: MARK, 2004)

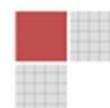
Na medicina veterinária, em 1955, Farrel tratou, pela primeira vez, um caso de sarcóide eqüino com gelo seco. Na década de 70, veterinários norte-americanos e ingleses do “The Animal Medical Center” de Nova Iorque passaram a publicar variados relatos em pequenos animais (LUCAS & LARSSON, 2006). E desde então alguns relatos vêm emergindo na medicina veterinária, porém ainda necessitando de pesquisa e investimentos.

## 2.2 MECANISMOS DA DESTRUIÇÃO TECIDUAL

O mecanismo de morte celular após congelamento recebe considerável atenção desde o início do uso dessa técnica. A formação de cristais de gelo na córnea congelada sob condições de criocirurgia demonstrava uma evidência direta de que os cristais formados intra ou extracelular seriam responsáveis pela morte celular após o congelamento (WHITTAKER, 1984).

Estudos de células ou tecidos isolados demonstraram, através das dimensões dos cristais de gelo e de suas localizações, que estes cristais quando intracelulares são geralmente letais e que extracelularmente não (WHITTAKER, 1984).

A natureza da resposta depende da severidade da injúria produzida pelo congelamento. Supõe-se que pequenas lesões de congelamento provocam apenas inflamação, mas congelamento severo mata as células causando destruição do tecido (GAGE et al., 2009).

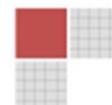


Na década de 60, pesquisas demonstraram que a morte celular e tecidual ocorrem devido à lesão celular direta e à estase vascular que foi obtida logo após o período de descongelamento. A morte celular pela estase vascular ou pela formação de cristais de gelo foi motivo de debate e, no entanto, claramente ambos os mecanismos são causadores de lesão celular (GAGE et al., 2009).

Investigações *in vivo* e *in vitro* têm mostrado que os principais mecanismos de destruição tecidual são devido à lesão celular direta que se inicia quando os tecidos entram em hipotermia, e do fracasso da microcirculação que se desenvolve após o descongelamento (GAGE et al., 2009). De qualquer forma, na criocirurgia, o efeito do congelamento na vascularização é claramente uma crítica e talvez dominante causa de morte celular, pois com o descongelamento, o fracasso da microcirculação no tecido é progressivo, resultando em estase vascular dentro de uma hora e levando à morte celular por isquemia (BAUST & GAGE, 2005).

Investigações recentes *in vitro* identificaram apoptose, ou morte celular programada, como um mecanismo de lesão celular direta (HOLLISTER et al., 1998). Isto foi confirmado por experimentos *in vivo* mostrando que a morte celular por necrose se propaga na parte central da lesão criogênica e que a apoptose é evidente na parte periférica da lesão após 8 a 12 horas (GAGE et al., 2009).

Alguns experimentos foram capazes de demonstrar a sequencia de eventos que levam à lesão vascular na criocirurgia. Quando o descongelamento ocorre, essas células, antes congeladas, se tornam congestionadas e edematosas. A causa do edema é o dano às células endoteliais manifestado como um defeito nas junções dessas células, provocando aumento da permeabilidade capilar, edema, agregação plaquetária e trombose. A perda do suporte sanguíneo resulta em necrose celular, exceto na periferia (Figura 2) onde algumas células podem sobreviver em função da temperatura se manter entre 0 e -20°C (HOFFMANN & BISCHOF, 2002).



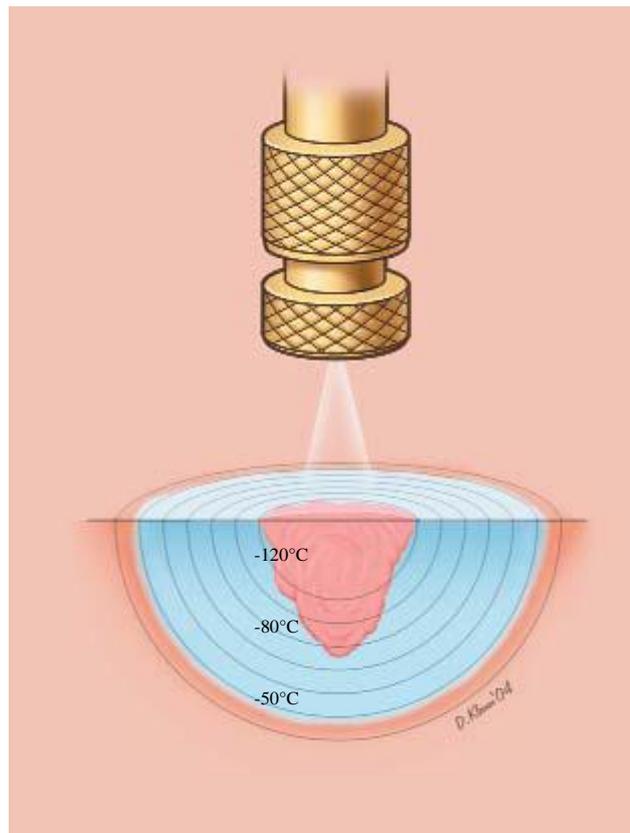
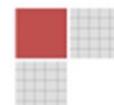


Figura 2. Aplicação da criocirurgia através de spray de nitrogênio líquido demonstrando a temperatura no centro da lesão de  $-120^{\circ}\text{C}$  e na periferia de  $-20^{\circ}\text{C}$ . (Fonte: MARK, 2004)

### 2.3 MÉTODOS DE CONTROLE DE CONGELAMENTO

Como já citadas anteriormente, várias substâncias criógenas foram testadas e utilizadas no decorrer das últimas décadas a fim de se obter uma que gerasse melhores resultados na técnica. O volume de tecido congelado em uma única aplicação está diretamente ligado não apenas ao criógeno utilizado, mas também à temperatura da sonda, à área de contato com o tecido, à duração do contato e à condutividade térmica do tecido (RABIN, 2008).

Sensores de temperatura agulhados, visando medir a temperatura do tecido, entraram em uso na medicina no início da era moderna da criocirurgia, mas estes não fornecem uma visão apropriada do volume congelado. Técnicas de imagem também foram utilizadas e o processo de congelamento passou a ser monitorado por ultra-som, apesar das limitações em função de sombra acústica, sendo



que os sensores de temperatura podem ser associados para uma melhor avaliação (ONIK et al., 1988). Outros meios de acompanhamento do congelamento do tecido são a tomografia computadorizada (TC) e a ressonância magnética (RM) que fornecem uma imagem tridimensional da criocauterização (SALIKEN et al., 1996).

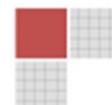
## 2.4 O CICLO DE CONGELAMENTO-DESCONGELAMENTO

Um fator chave para a injúria celular provocada pelo o ciclo de congelamento é a temperatura do tecido. Muitos experimentos confirmaram que a temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$  é adequada para destruição tecidual no tratamento de neoplasias. Certamente um dano celular extenso ocorre em temperaturas entre  $-20$  e  $-30^{\circ}\text{C}$ , porém a destruição das células tumorais nesta faixa de temperatura é incerta e incompleta (GAGE et al., 2009). NEEL et al. (1971) ajustaram a temperatura necessária para destruição tumoral em  $-60^{\circ}\text{C}$  em neoplasias de animais, frisando a necessidade de congelamentos repetidos. Em diversos tecidos animais, foi estabelecida temperatura letal na faixa de  $-40$  a  $-50^{\circ}\text{C}$ , porém até hoje não foi estabelecido uma temperatura letal adequada em tratamento de neoplasias, visto que esta temperatura varia conforme o tecido em questão, o que demonstra a diversidade de temperaturas obtidas em diversos experimentos (GAGE et al., 2009).

Em relação à duração do congelamento, ou seja, o tempo sob o qual o tecido deve permanecer congelado, não é bem estabelecido. Alguns experimentos demonstram que quanto maior o tempo de congelamento, maior a destruição tecidual obtida (BURGE et al., 1984). No entanto, em geral, o tempo de congelamento não é importante se este é realizado a temperaturas inferiores a  $-50^{\circ}\text{C}$ .

Em relação ao descongelamento, quando lento, este passa a ser um fator potencialmente destrutivo, pois pesquisas têm demonstrado que o descongelamento rápido aumenta a chance de sobrevivência da célula. Portanto, quanto maior a duração do degelo, maior dano às células em função de um maior crescimento dos cristais de gelo criando forças de cisalhamento que destroem o tecido (GAGE et al., 2009). WHITTAKER (1984) demonstrou que após o segundo ciclo de congelamento, são formados maiores cristais de gelo se comparados aos cristais do primeiro ciclo e, isto ocorre, provavelmente, pelo descongelamento lento após o primeiro ciclo.

Desde os primeiros relatos sobre criocirurgia, frisou-se a necessidade de ciclos repetidos de congelamento no tratamento de neoplasias (CAHAN, 1965). Foi demonstrado que o segundo ciclo



de congelamento uma maior área de congelamento e de forma mais rápida, alcançando um maior volume de células lesadas e mais próximos da periferia deste tecido. A principal razão para a realização de repetidos ciclos de congelamento e descongelamento é estender o efeito letal na zona mais quente, ou seja, na periferia do tecido-alvo (CAHAN, 1965).

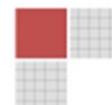
O intervalo de tempo entre os ciclos de congelamento e descongelamento é um fator importante, mas pouco estudado, porém, já foi demonstrado que quanto maior este intervalo de tempo são formados cristais de gelo intracelulares de maior tamanho causando maior dano celular (WHITTAKER, 1984).

Os diversos tipos de células têm diferentes sensibilidades às temperaturas de congelação. As células das glândulas sebáceas e dos folículos pilosos morrem em temperaturas na faixa de 0 a -30°C, osteócitos são mortos em cerca de -10°C (GAGE et al., 2009). Células normais de fígado, rins e próstata são mortas em cerca de -15 a -20°C (RIVOIRE et al., 1996). Fibroblastos são resistentes às lesões de congelamento e as células tumorais se mostram variáveis e resistentes à criocirurgia. Apesar de lesar as células dos mais diversos tecidos, a criocirurgia pode manter a estrutura de um tecido, como por exemplo, grandes vasos, ossos e nervos permanecem intactos em sua função, o que é importante na cicatrização das feridas (LI et al., 1980).

## 2.5 CICATRIZAÇÃO

A cicatrização da ferida criogênica está diretamente relacionada com o tipo de tecido e com a intensidade do congelamento, mas geralmente é favorável apesar de ser por segunda intenção e possuir como característica atraso na cicatrização tecidual. Pequenas lesões de congelamento, como a produzida pela curta exposição a uma temperatura de -10°C, resultam provavelmente em pouca perda de tecido e rápida cicatrização. Já uma temperatura entre -20 e -30°C provocará uma maior perda de tecido e, conseqüentemente, uma cicatrização mais prolongada (GAGE et al., 2009).

Embora haja desvitalização tecidual em função do congelamento, a matriz celular é pouco alterada o que é de suma importância para a reparação. A cicatrização é um processo ativo que se inicia com reação inflamatória na borda da lesão, induzida por fatores quimiotáticos, que provocam, inicialmente, infiltração de neutrófilos, seguida por células mononucleares, isto tudo estimulada por mediadores da inflamação (prostaglandinas, histamina e citocinas). Em seguida, há hipotermia e



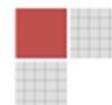
edema que se desenvolve com o descongelamento tecidual. Há sugestões de que o infiltrado inflamatório contribui para o desenvolvimento de apoptose e destruição tecidual (SCHACHT et al., 2002). Como há formação de tecido de granulação, fibroblastos se diferenciam em miofibroblastos e colágeno danificado é substituído por um novo colágeno (SCHACHT et al., 2002).

## 2.6 CRIOCIRURGIA E SUAS APLICAÇÕES

A criocirurgia é utilizada vastamente em medicina humana para diferentes tratamentos nos mais variados órgãos e tecidos. Ainda existem poucas pesquisas relacionadas ao seu uso em medicina veterinária e as que existem relatam principalmente seu uso em dermatologia e oncologia e são restritos a relatos de casos.

A observação clínica dos efeitos do congelamento da pele é descrita desde meados de 1900 em medicina. Foi demonstrada importante sensibilidade dos melanócitos, folículos pilosos e tecido glandular a suaves temperaturas de congelamento (GAGE et al., 2009). Foi comprovada a resistência das fibras de colágeno a danos pela criocirurgia sendo esta a base para uma cicatrização favorável (LI et al., 1980). Dessa forma, Dawber (2002) indicou a crioterapia para mais de 60 tipos de lesões dermatológicas em humanos. Em medicina veterinária, a pele e o tecido subcutâneo tem sido alvo de criocirurgia principalmente em lesões cutâneas benignas e malignas como o adenoma sebáceo, tumor maligno da bainha de nervo periférico, hemangioma, carcinoma de células escamosas, hemangiossarcoma, entre outros (LUCAS & LARSON, 2006; DE QUEIROZ et al., 2008).

MURPHY et al. (2011) relataram o uso de criocirurgia na cavidade nasal de um cão com recidiva pós radioterapia de adenocarcinoma, utilizando a tomografia computadorizada para mensurar a área atingida pelo congelamento, alcançando assim sobrevida de 21 meses. Também foi descrito o emprego da crioterapia após ressecção cirúrgica em um adenoma papilar displásico intra-traqueal em um gato visando prevenir recorrência alcançando sobrevida de 16 meses, quando houve recorrência e, após repetição do procedimento, o animal desenvolveu pneumotórax e foi eutanasiado (DRYNAN et al., 2010). IZUMI et al. (2005) investigaram a viabilidade da inserção trans-torácica de uma crioprobe no parênquima pulmonar de suínos em um ou dois ciclos de



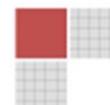
congelamento, sendo que com dois ciclos foi aumentado o tempo de sangramento e diminuído o vazamento de ar.

DUTTA et al. (1977) utilizaram técnicas de congelamento agressivo em fígado de cães com auxílio de crioprobe e aplicando o nitrogênio líquido dentro de um funil na superfície do fígado, porém foram observadas rachaduras na superfície hepática, causando hemorragia, o que foi resolvido diminuindo a taxa de resfriamento e colocando uma fina camada de feltro entre a sonda e o fígado. JANZEN et al. (2005) experimentaram o uso de criocirurgia na pelve renal de suínos e demonstrou que este sistema de coleta foi preservado durante a técnica. Foi produzido congelamento dentro da pelve renal em suínos e não foram observadas fístulas urinárias ou extravasamento de urina, o que corrobora a utilização segura para utilização da técnica para remoção de pequenos tumores renais (SUNG et al., 2003).

RAND et al. (1985) utilizaram adenocarcinoma mamário induzido por vírus em ratos para analisar o efeito da criocirurgia *in situ*, mantendo repetidos congelamentos para prevenir recidas. Após lesões criogênicas, acompanhadas com ultra-sonografia, em único ou múltiplos ciclos em tecido mamário de ovinos foi observada a cicatrização por deposição de colágeno e após cinco meses, foi constatada que lóbulos tinham sido lesados (RABIN, 2008).

A técnica de congelamento via endoscopia foi realizada em esôfago de cães com nitrogênio líquido por 2 a 4 segundos ocorrendo necrose superficial da mucosa esofágica que cicatrizou com infiltração celular e reepitelização (PASRICHA et al., 1999). Tecidos cardíacos também são sensíveis a danos de congelamento. Congelamento do miocárdio produz lesão típica e cicatrização pela formação de tecido fibroso, sendo que o uso extensivo de crioablação clínica no tratamento das taquiarritmias é o estímulo para muitos desses experimentos (GAGE et al., 2009).

Células ósseas são muito sensíveis ao congelamento. Experimentos com o congelamento da diáfise do fêmur de cães pelo mostrou que os osteócitos morrem em temperaturas mais frias do que  $-5^{\circ}\text{C}$ , e que osso desvitalizado foi lentamente substituído por um novo osso ao longo de um período de cerca de um ano (GAGE et al., 2009). Porém, o osso é enfraquecido na realização do reparo e a utilização de enxertos ósseos ou outros agentes de apoio podem somar força e facilitar a cicatrização. Estas experiências têm apoiado o tratamento atual de tumores ósseos selecionados por curetagem e criocirurgia coadjuvante (MELLER et al., 2008). A criocirurgia óssea também foi



descrita como tratamento para osteonecrose da cabeça do fêmur em cães (CONZEMIUS et al., 2002).

Experimentos em gatos, cães e coelhos estabeleceram o uso atual da criocirurgia em doenças oculares, incluindo descolamento de retina, glaucoma e a excisão da lente para tratamento de catarata; mas a aplicabilidade para o tratamento de tumores ainda é limitada (LINCOFF et al., 1964; GEYER et al., 1997; WHITMORE et al., 1993)

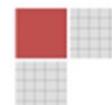
Permpngkosol et al. (2006) investigaram a aplicação da crioablação em vesícula urinária nos suínos e produziram uma necrose transmural controlável com ciclos únicos ou repetidos, não sendo relatada perfuração da bexiga. Embora congelamento de tumores da bexiga teve alguns experimentos há anos atrás, o uso clínico é raro (MARUOKA & NAGAYAMA, 2004). Criohipofisectomia foi realizada em um gato com acromegalia secundário ao um tumor pituitário, o que demonstra a aplicabilidade da crioterapia inclusive em SNC (BLOIS & HOLMBERG, 2008).

A criocirurgia pode ser limitada em alguns órgãos como o pâncreas. O congelamento de 50% do pâncreas em cães provocou pancreatite hemorrágica aguda em todos os animais e uma taxa de mortalidade de 38%, mas nenhum dos animais sobreviventes desenvolveu insuficiência pancreática (McINTOSH et al., 1982).

Em face de todas essas possíveis aplicações da criocirurgia, também foi relatado que anticorpos específicos do tecido foram detectados sorologicamente após a utilização da crioterapia (GAGE et al., 2009). Foi descrita remissão das lesões metastáticas após os ciclos repetidos de congelamento de câncer de próstata em pacientes humanos em função destes anticorpos (GAGE et al., 2009). Outros efeitos adversos de uma resposta imunológica têm sido discutidos como lesão aguda pulmonar, hepática e renal provavelmente devido à liberação de citocinas sendo estas relacionadas principalmente ao diâmetro da lesão congelada (GAGE et al., 2009).

### 3. CONCLUSÕES

A criocirurgia é uma técnica consagrada em diversos segmentos da medicina humana possuindo uso rotineiro em procedimentos clínicos e cirúrgicos. Já foi demonstrado a imensa variedade e possibilidades da aplicação desta técnica em diferentes tecidos, apresentando, em geral, excelentes respostas. A grande maioria destas possibilidades é fundamentada em extensos



experimentos utilizando modelos animais. Este trabalho visou ampliar o conceito da criocirurgia e abordar suas variedades para que, futuramente, essas técnicas possam ser seguramente aplicadas também na medicina veterinária, já que na atualidade a crioterapia, que é uma técnica de fácil uso e de baixo custo, é utilizada quase que exclusivamente na oncologia veterinária.

#### 4. REFERÊNCIAS

ALLINGTON, H. Liquid nitrogen in the treatment of skin diseases. **Calif. Med.** v.72, p. 153-155, 1950.

ARNOTT, J. On the treatment of cancer by the regulated application of an anaesthetic temperature. London: Churchill, 1851.

BAUST, J.G.; GAGE, A. A. The molecular basis of cryosurgery. **BJU Int.** v. 95, p. 1187–1191, 2005.

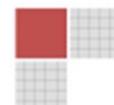
BIRD, H. James Arnott, MD (Aberdeen), 1797-1883, a pioneer in refrigeration. **Anaesthesia.** v.4, p. 10-17, 1949.

BLOIS, S. L.; HOLMBER, D. L. Cryohypophysectomy used in the treatment of a case of feline acromegaly. **Journal of Small Animal Practice.** v.49, p. 596–600, 2008.

BURGE, S.M.; SHEPHERD, J.P., DAWBER, R.P. Effect of freezing the helix and the rim or edge of the human and pig ear. **J Dermatol Surg Oncol.** V.10, p. 816–819, 1984.

CAHAN, W.G. Cryosurgery of malignant and benign tumors. **Fed Proc.** v.24, p.241–248, 1965.

CAILLETET, L. Recherches sur la liquéfaction des gaz. **Ann Chemil Physique.** v.15, p. 132-144, 1878.



CONZEMIUS, M.G.; BROWN, T.D.; ZHANG, Y.; ROBINSON, R.A. A new animal model of femoral head osteonecrosis: one that progresses to human-like mechanical failure. **J Orthop Res.** v.20(2), p.303-309, 2002

DAWBER, R. Cryosurgery: unapproved uses, dosages, or indications. **Clinics in Dermatology.** v.20, p. 563-570, 2002.

DE QUEIROZ, G.F.; MATERA, J.M.; ZAIDAN DAGLI, M.L. Clinical Study of Cryosurgery Efficacy in the Treatment of Skin and Subcutaneous Tumors in Dogs and Cats. **Veterinary Surgery.** v.37, p. 438–443, 2008.

DRYNAN, E.A.; MOLES, A.D.; RAISIS, A.L. Anaesthetic and surgical management of an intra-tracheal mass in a cat. **Journal of Feline Medicine and Surgery.** v.13, p.460-462, 2011.

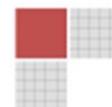
DUTTA, P.; MONTES, M.; GAGE, A.A. Experimental hepatic cryosurgery. **Cryobiology.** v.14, p. 598–608, 1977.

GAGE, A.A.; BAUST, J.M.; BAUST, J.G. Experimental cryosurgery investigations in vivo. **Cryobiology.** v.59(3), p.229, 2009.

GEYER, O.; MICHAELI-COHEN, A.; SILVER, D.M.; NEUDORFER, M.; LAZAR, M. The mechanism of intraocular pressure rise during cyclocryotherapy. **Invest Ophthalmol Vis Sci.** v.38, p.1012–1017, 1997.

HOFFMAN, N.E.; BISCHOF, J.C. The cryobiology of cryosurgical injury. **Urology.**v.60, p. 40–49, 2002.

HOLLISTER, W.R.; MATHEW, A.J.; BAUST, J.G.; VAN BUSKIRK, R.G. Effects of freezing on cell viability and mechanisms of cell death in a human prostate cell line. **Mol. Urol.** v.2 p.13–18, 1998.



IZUMI, Y.; OYAMA, T.; IKEDA, E.; KAWAMURA, M.; KOBAYASHI, K. The acute effects of transthoracic cryoablation on normal lung evaluated in a porcine model. **Ann Thorac Surg.** v.79, p. 318–322, 2005.

JANZEN, N.K.; PERRY, K.T.; HAN, K.R.; KRISTO, B.; RAMAN, S.; SAID, J.W.; BELLDEGRUN, A.S.; SCHULAM, P.G. The effects of intentional cryoablation and radio frequency ablation of renal tissue involving the collecting system in a porcine model. **J Urol.** v.173, p. 1368–1374, 2005.

KUFLINK, E.G.; GAGE, A.A. History in: KUFLINK, E.G.; GAGE, A.A., eds. **Cryosurgical treatment for skin cancer.** New York: Igaku-Shoin, p.1-13, 1990.

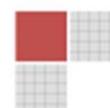
LI, A.K.; EHRLICH, H.P.; TRELSTAD, R.L.; KOROLY, M.J.; SCHATTENKERK, M.E.; MALT, R.A. Differences in healing of skin wounds caused by burn and freeze injuries. **Ann Surg.** v. 191, p. 244–248, 1980.

LINCOFF, H.A.; McLEAN, J.M.; NANO, H. Cryosurgical treatment of retinal detachment. **Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol.** v.68, p. 412–432, 1964.

LUCAS, R.; LARSSON, C.E. Crioterapia na clínica veterinária: avaliação da praticabilidade, e efetividade em carcinoma espinocelular de felinos. **Braz. J. vet. Res. anim. Sci.** São Paulo, v. 43, suplemento, p. 33-42, 2006.

MARK, D.A. Cryosurgery for Common Skin Conditions. **Am Fam Physician.** v.69, p.2365-2372., 2004.

MARUOKA, M.; NAGAYAMA, T. Cryosurgery of the urinary bladder cancer. **Low Temp Med.** v.30, p. 1–3, 2004.



McINTOSH, G.S.; HOBBS, K.E.; O'REILLY, A.P. In situ freezing of the pancreas and portal vein in the pig. **Cryobiology**. v.22, p. 183–190, 1985.

MELLER, I.; WEINBROUM, A.; BICKELS, J.; DADIA, S.; NIRKIN, A.; MERIMSKY, O.; ISSAKOV, J.; FLUSSER, G.; MAROUANI, N.; COHEN, N.; KOLLENDER, Y. Fifteen years of bone tumor cryosurgery: a single-center experience of 440 procedures and long-term follow-up. **Eur J Surg Oncol**. v.34, p.921–927, 2008.

MURPHY, S. M.; LAWRENCE, J. A.; SCHMIEDT, C. W.; DAVIS, K. W.; LEE JR., F. T.; FORREST, L. J.; BJORLING, D. E. Image-guided transnasal cryoablation of a recurrent nasal adenocarcinoma in a dog. **Journal of Small Animal Practice**. v.52, p. 329–333, 2011.

NEEL, H.B. 3<sup>rd</sup>; KETCHAM, A.S.; HAMMOND, W.G. Requisites for successful cryogenic surgery of cancer. **Arch Surg**. v. 102, p. 45–48, 1971.

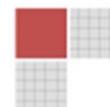
ONIK, G.; COBB, C.; COHEN, J.; ZABKAR, J.; PORTERFIELD, B. US characteristics of frozen prostate. **Radiology**. v. 168, p. 629–631, 1988.

PASRICHA, P.J.; HILL, S.; WADWA, K.S.; GISLASON, G.T.; OKOLO, P.I. 3<sup>rd</sup>; MAGEE, C.A.; CANTO, M.I.; KUO, W.H; BAUST, J.G.; KALLO, A.N. Endoscopic cryotherapy: experimental results and first clinical use. **Gastrointest Endosc**. v.49, p. 627–631, 1999.

PERMPONGKOSOL, S.; NICOL, T.L.; KAVOUSSI, L.R.; JARRETT, T.W. Percutaneous bladder cryoablation in porcine model. **J Endourol**. v.20, p. 991–995, 2006.

PUSEY, W. The use of carbon dioxide snow in the treatment of naevi and other lesions of the skin. **JAMA**. v. 49, p. 1354-1356, 1935.

RABIN, Y. Key issues in bioheat transfer simulations for the application of cryosurgery planning. **Cryobiology**. v. 56, p. 248–250, 2008.



RAND, R.W.; RAND, R.P.; EGGERDING, F.A.; FIELD, M.; DENBESTEN, L.; KING, W.; CAMICI, S. Cryolumpectomy for breast cancer: an experimental study. **Cryobiology**. v.22, p. 307–318, 1985.

RIVOIRE, M.L.; VOIGLIO, E.J.; KAEMMERLEN, P.; MOLINA, G.; TREILLEUX, I.; FINZY, J.; DELAY, E.; GORY, F. Hepatic cryosurgery precision: evaluation of ultrasonography, thermometry, and impedancemetry in a pig model. **J Surg Oncol**. v.61, p. 242–248, 1996.

SALIKEN, J.C.; McKINNON, J.G.; GRAY, R. CT for monitoring cryotherapy. **AJR Am J Roentgenol**. v. 166, p. 166:853–855, 1996.

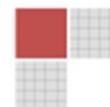
SCHACHT, V.; BECKER, K.; SZEIMIES, R.M.; ABELS, C. Apoptosis and leucocyte-endothelium interactions contribute to the delayed effects of cryotherapy on tumours in vivo. **Arch Dermatol Res**. v. 294, p. 341–348, 2002.

SUNG, G.T.; GILL, I.S.; HSU, T.H.; MERANEY, A.M.; SKACEL, M.; BRAINARD, J.A.; REMER, E.M. Effect of intentional cryo-injury to the renal collecting system. **J Urol**. v.170, p. 619–622, 2003.

WHITE, A.C. Liquid air: its application in medicine and surgery. **Med. Rec.** v.56, p. 109-112, 1899.

WHITEHOUSE, H. Liquid air in dermatology its indications and limitations. **JAMA**. v.49, p. 371-377, 1907.

WHITMORE, W.G.; CURTIN, B.J.; FOF, D. The modulation of ocular growth in rabbits with peripheral retinal ablation. **Ophthalmology**. v.100, p. 1003–1008, 1993.



WHITTAKER, D.K. Mechanisms of tissue destruction following cryosurgery. **Annals of the Royal College of Surgeons of England**. v. 66, p. 313-318, 1984.

