

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA E TRAUMATOLOGIA  
BUCOMAXILOFACIAL**

**RICARDO SMIDT**

**MODELO EXPERIMENTAL PARA A ANÁLISE *IN VITRO* DA CONDUTIBILIDADE  
DE DENTES SUBMETIDOS A VARIAÇÕES DE TEMPERATURA**

Porto Alegre – RS

2006

**RICARDO SMIDT**

**MODELO EXPERIMENTAL PARA A ANÁLISE *IN VITRO* DA CONDUTIBILIDADE  
DE DENTES SUBMETIDOS A VARIAÇÕES DE TEMPERATURA**

Tese apresentada como parte dos requisitos obrigatórios para obtenção do título de Doutor em Odontologia, na área de concentração em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial, pelo Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

Orientador: Prof. Dr. Manoel Sant'Ana Filho

Porto Alegre – RS

2006

*Dedico este trabalho e agradeço de forma especial à **Cristina**, minha esposa, **Florença** e **Bernardo**, meus filhos. Convívio, compreensão, conforto e afeto foram fundamentais na resolução de minhas dúvidas e temores. Com vocês aprendo a resgatar meus sentimentos e desejos verdadeiros. A vocês, meu amor e gratidão.*

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof.Dr. Manoel Sant'Ana Filho, pela orientação tranqüila e hábil. Pela amizade e compreensão a mim dispensadas.

À Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul pelo acolhimento durante minha formação: Graduação, Mestrado e Doutorado.

À Profa. Dra. Nilza Pereira da Costa, coordenadora do Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia PUCRS, pelo exemplo de dedicação a Odontologia.

À Profa. Dra. Marília Gerhardt de Oliveira, pela oportunidade e incentivo na realização deste Doutorado.

Ao Prof. Dr. Pedro Antonio Gonzáles Hernández, Diretor da Faculdade de Odontologia da Universidade Luterana do Brasil ULBRA, pelo apoio e confiança que têm me dado. Uma referência profissional e de liderança.

À equipe de professores do Curso de Especialização em CTBMF da ULBRA, Prof. Luis Eduardo Schneider, Prof.Paulo Valério Presser de Lima, Prof.Felipe Correa Batista, Prof.Ricardo Krause, pela dedicação, responsabilidade e suporte dado durante realização deste curso.

Aos colegas do curso de Doutorado, Ângela Ehlers Bertoja, Antonio César Manentti Fogaça, Elaine Duarte Artuso de Mello, Fernando Santos Cauduro, Gilséia Fernanda Petry Woitchunas, Raphael Carlos Drumond Loro, Rodrigo Gomes Beltrão, pela amizade e companheirismo.

Aos colegas Prof. Dr. Marcos Michelin Naconecy, Prof.Dr. Eduardo Galia Reston, Prof. Sérgio Augusto Quevedo Miguens Jr., Prof. Luis Eduardo Duarte Irala e Frabício Bau Branda, pela colaboração na realização deste trabalho.

Aos funcionários da Secretaria de Pós-Graduação em Odontologia PUCRS Ana Lúcia Prestes, Davenir Meger Brush, Marcos Caetano Correia e Carlos Minossi, pela atenção e ajuda sempre que necessário, com simpatia e dedicação.

Ao Ministério da Educação, por meio da CAPES, investimento na formação de novos docentes e pesquisadores.

## RESUMO

A crioterapia com nitrogênio líquido tem sido terapeuticamente utilizada em diferentes tipos de tecidos. Entretanto, ainda não há registros na literatura referentes à sua utilização em canais radiculares. Assim, o objetivo deste trabalho foi elaborar um modelo experimental *in vitro* para conhecer o comportamento dos tecidos dentários na condução de temperatura com aplicação de nitrogênio líquido intracanal e estabelecer um protocolo para a sua aplicação. Termopares fixos à superfície externa radicular nas regiões apical, média, cervical e no interior do canal foram utilizados como sensores para medidas das variações de temperaturas em um dente mantido em banho de calibração térmica. O agente crioterápico utilizado foi nitrogênio líquido em sistema aberto na forma de spray intracanal na região apical. Os sinais foram digitalizados e analisados em um software. Foram realizados 13 testes com 15 segundos de aplicação divididos em 3 grupos conforme temperatura ambiente: 20°C, 25 °C e 27 °C. As médias de temperatura obtidas foram: intracanal, região apical -45,23°C, superfície externa radicular, região apical -19,77°C, região média -17,46°C e região cervical 4,15°C. Concluiu-se que o modelo experimental permite conhecer a condutividade das estruturas dentárias quando aplicado um agente crioterápico no interior do canal radicular. Também se verificou que a aplicação de nitrogênio líquido por 15 segundos no modelo proposto atinge temperaturas capazes de causar morte celular em estruturas de sustentação dentária localizadas próximas ao ápice radicular.

**Palavras-chave:** Crioterapia; Condutibilidade térmica dentária. Modelo experimental.

## ABSTRACT

Criotherapy with liquid nitrogen has been therapeutically used in different types of tissues. However, there are still no records in literature regarding its use in root canals. Therefore, this paper's objective is to elaborate an experimental model *in vitro* to find out about dental tissue behavior in temperature conductivity with the application of liquid nitrogen, and to establish a protocol for its application. Thermocouples fixed to the external root surface in the apical, medial, coronal and inner part of the canal were used as sensors to measure temperature variation with a tooth kept in thermal calibration. The criotherapeutic agent used was an open system liquid nitrogen in the form of intracanal spray applied to the apical region. The signals were digitalized and analyzed through a software. Thirteen tests were carried out, with 15-second applications, divided in 3 groups and according to the following room temperature: 20°C, 25°C and 27°C. Average temperatures obtained were: intracanal, apical region -45,23°C, external root surface, apical region -19,77°C, medial region -17,46°C and coronal region 4,15°C. It was concluded that the experimental model made possible an understanding of dental structure conductivity when a criotherapeutic agent is applied to the inner root canal. It was also verified that the 15-second applications on the proposed model reach temperatures capable of causing cellular death to dental sustaining structures located near root apice.

**Keywords:** Criotherapy. Dental thermal conductivity. Experimental model.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Desenho Esquemático de um Termopar.....	27
Figura 2 - Fio de Cobre (A) - Fio de Constantã (B) .....	28
Figura 3 - Junção de medição .....	28
Figura 4 - Localização das regiões de medição dentárias .....	29
Figura 5 - Equipamento digital micro-processado para manter a estabilidade térmica .....	30
Figura 6 - Plataforma para fixação dentária .....	31
Figura 7 - Dente fixo na plataforma .....	31
Figura 8 - Dente fixo a plataforma dentro do recipiente térmico cilíndrico preenchido com silicone óleo até a região cervical. ....	32
Figura 9 - Régua de borne : termopares ligados na extremidade inferior, cabos de extensão ligados na extremidade superior .....	33
Figura 10 - Cabos de compensação unidos à placa de aquisição de dados do tipo field logger.....	33
Figura 11 - Conversor RS485/232 - Conversor USB/232.....	34
Figura 12 - Tela principal do aplicativo com suas funções .....	35
Figura 13 - Comando dos displays.....	36
Figura 14 - Visualização na forma gráfica .....	37
Figura 15 - Iniciar teste.....	37
Figura 16 - Análise dos testes realizados.....	38
Figura 17 - Consultar histórico .....	39
Figura 18 - Aparelho de crioterapia (Cryospray ). ....	40
Figura 19 - Agulha descartável 0,7mm X 25mm com adaptador Luer Lock # 308 ....	40
Figura 20 - Dente fixo a plataforma com agulha no interior do canal .....	41
Figura 21 - Incidência radiográfica periapical utilizada para comprovar a relação da ponta da agulha com o ápice radicular e o termopar localizado intracanal na região apical .....	41
Figura 22 - Gráfico de Testes– Variação Temperatura (°C) por Tempo (segundos) .....	42

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Média temperatura intracanal: A – Grupo I; B – Grupo II; e C – Grupo III.....	48
Gráfico 2 - Velocidade da variação de temperatura intracanal, região apical, graus Celsius/segundos.....	50
Gráfico 3 - Média temperatura externa radicular região apical: A – Grupo I; B – Grupo II e C – Grupo III.....	51
Gráfico 4 - Velocidade de variação da temperatura na superfície externa da raiz, região apical, graus Celsius/segundos.....	53
Gráfico 5 - Média temperatura externa radicular região média: A – Grupo I; B – Grupo II e C – Grupo III.....	54
Gráfico 6 - Velocidade de variação da temperatura na superfície externa da raiz, região média, graus Celsius/segundos .....	56
Gráfico 7 - Média temperatura externa radicular região cervical: A – grupo I; B – Grupo II e C – Grupo III.....	57
Gráfico 8 - Velocidade de variação da temperatura na superfície externa da raiz, região cervical, graus Celsius/segundos.....	59
Gráfico 9 - Médias de Temperaturas – Regiões de Medidas - °C/Segundos .....	61

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Análise estatística temperatura intracanal, região Apical .....	49
Tabela 2 - Análise de Variância em medidas repetidas .....	49
Tabela 3 - Análise estatística temperatura superfície externa da raiz, região apical.....	52
Tabela 4 - Análise de Variância em medidas repetidas. ....	52
Tabela 5 - Análise estatística temperatura superfície externa da raiz, região média .....	55
Tabela 6 - Análise de Variância em medidas repetidas. ....	55
Tabela 7 - Análise estatística temperatura superfície externa da raiz, região cervical .....	58
Tabela 8 - Análise de Variância em medidas repetidas .....	58

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

cm	centímetro(s)
mm	milímetro(s)
mm <sup>2</sup> /s	milímetro(s) quadrado(s) por segundo
n <sup>o</sup>	número
Fig.	figura
l	litro(s)
ml	mililitros
CRT	comprimento real de trabalho
FEM	força eletromotriz
%	porcento
s	segundos
kV	quilovoltagem
mA	miliamperagem
≠	diferente
mm <sup>2</sup>	milímetro(s) quadrado(s)
°C	grau(s) Celsius
°C/s	grau(s) Celsius por segundo
®	marca registrada

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>REVISTA DA LITERATURA</b>	<b>15</b>
2.1	CONCEITOS DE CRIOTERAPIA	15
2.2	APARELHAGEM PARA A CRIOTERAPIA	16
2.3	MECANISMO DE DESTRUIÇÃO CELULAR	16
2.4	INOCUIDADE DA APLICAÇÃO DE BAIXAS TEMPERATURAS AOS TECIDOS DENTAIS	19
2.5	ANQUILOSE DENTÁRIA DECORRENTE DE INJÚRIAS TÉRMICAS	20
2.6	PREPARO TECIDUAL APÓS APLICAÇÃO DE AGENTE CRIOTERÁPICO	21
<b>3</b>	<b>PROPOSIÇÕES</b>	<b>24</b>
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b>	<b>25</b>
4.1	DELINEAMENTO DA PESQUISA	25
4.2	HIPÓTESE	25
4.3	MATERIAIS E MÉTODO	26
4.3.1	Desenvolvimento de modelo experimental	26
4.3.2	Proposta de um protocolo de aplicação de nitrogênio líquido intracanal	42
4.3.2.1	<i>Análise Estatística</i>	44
4.3.2.2	<i>Análise da Velocidade de Variação de Temperatura</i>	44
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>45</b>
5.1	RESULTADOS DO MODELO EXPERIMENTAL	45
5.2	RESULTADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA PARA PROPOR UM PROTOCOLO DE APLICAÇÃO DE NITROGÊNIO LÍQUIDO INTRACANAL	47
5.2.1	Análise da temperatura intracanal na região apical durante aplicação de 15 segundos de nitrogênio e 10 segundos após aplicação	48
5.2.2	Análise da temperatura na superfície externa radicular correspondente a região apical durante aplicação de 15 segundos de nitrogênio e 10 segundos após aplicação	51
5.2.3	Análise da temperatura na superfície externa radicular correspondente a região média durante aplicação de 15 segundos de nitrogênio e 10 segundos após aplicação	54
5.2.4	Análise da temperatura na superfície externa radicular correspondente a região cervical durante aplicação de 15 segundos de nitrogênio e 10 segundos após aplicação	57
5.2.5	Protocolo de aplicação de nitrogênio líquido intracanal	60
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	<b>62</b>

<b>7 CONCLUSÃO .....</b>	<b>68</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>69</b>
<b>APÊNDICE.....</b>	<b>73</b>
<b>ANEXO .....</b>	<b>75</b>

# 1 INTRODUÇÃO

As indicações do uso de crioterapia em Odontologia referem-se ao tratamento de lesões benignas localizadas em tecidos moles e tecido ósseo. Pesquisas realizadas no Programa de Pós-graduação da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul têm procurado estabelecer a melhor forma de aplicação do agente crioterápico nestas lesões.

Santos (2002) analisou morfológicamente o efeito de diferentes protocolos de nitrogênio líquido em mucosa bucal de ratos. Realizou a aplicação do nitrogênio líquido com o sistema fechado (sonda) e com sistema aberto na forma de spray e hastes pré-fabricadas com pontas de algodão. Histologicamente avaliou a presença das seguintes variáveis: bolha, coágulo, degeneração hidrópica, hemorragia, úlcera e necrose. Analisou ainda a desestruturação da estratificação epitelial e alterações no epitélio do ventre da língua.

Silva (2003) analisou histologicamente o efeito do spray de nitrogênio líquido na mandíbula de coelhos. As lâminas foram analisadas morfológicamente para as seguintes variáveis: paredes ósseas necrosadas, tecido de granulação, seqüestros ósseos e tecido ósseo neoformado. Verificou que a aplicação do nitrogênio líquido causou necrose nas paredes ósseas e não houve interferência no processo de regeneração óssea.

Os efeitos do congelamento nos tecidos resultando na morte celular são explicados por diversos fenômenos e estão relacionados com a temperatura atingida, a velocidade de congelamento e o aquecimento tecidual.

Batista (2006) fez um estudo *in vitro* da análise do efeito do spray de nitrogênio líquido em culturas de bactérias *Enterococcus faecalis*. A avaliação utilizada foi espectrofotometria em meio líquido. Encontrou discreta redução da

turbidez implicando numa redução da população bacteriana. Já em meio sólido, os resultados indicaram uma diminuição do número de colônias bacterianas dos grupos experimentais em relação ao grupo controle-positivo.

Em relação à aplicação de um agente crioterápico dentro dos canais radiculares dentários, visando auxiliar no tratamento de lesões apicais, não há, até o momento, literatura disponível.

Por isso, este trabalho propõe descrever o uso de crioterapia em canais radiculares. Sentiu-se a necessidade de conhecer os seguintes parâmetros:

Valores de temperatura alcançados com aplicação de nitrogênio líquido intracanal;

Condução destas temperaturas pelos tecidos dentários até a superfície externa da raiz em contato com o ligamento periodontal e próximo do tecido ósseo alveolar.

A justificativa deste trabalho é, portanto, a necessidade de uma pesquisa *in vitro* para elucidar o comportamento dos tecidos dentários na condução de temperatura. Os dados obtidos serão usados como referência para futuros trabalhos em modelo animal, procurando evitar efeitos deletérios das baixas temperaturas em esmalte, dentina, cimento e nas estruturas de sustentação dentária.

O objetivo proposto é a elaboração de um modelo experimental *in vitro* para conhecer o comportamento dos tecidos dentários na condução de temperatura com aplicação de nitrogênio líquido intracanal e estabelecer um protocolo para a sua aplicação.

## 2 REVISTA DA LITERATURA

### 2.1 CONCEITOS DE CRIOTERAPIA

A Criobiologia é a ciência que estuda os efeitos provocados pelo frio nos tecidos e células. O conceito amplo de crioterapia caracteriza-a pela aplicação de baixas temperaturas para alcançar algum fim terapêutico (TURJANSKY; STOLAR, 1995).

A criocirurgia é uma modalidade de crioterapia, que faz uso de baixas temperaturas com o propósito de provocar destruição celular em um determinado tecido vivo (GAGE, 1998).

Criógenos ou agentes criogênicos são gases utilizados com fins médicos para conservação ou destruição de tecidos. Os criógenos mais empregados em medicina são: o nitrogênio líquido, cuja temperatura potencial é de ( $-196^{\circ}\text{C}$ ) e, representa um criógeno inodoro, não tóxico e tampouco inflamável, sendo fácil de transportá-lo. Como se trata de um elemento que se encontra em maior proporção no ar atmosférico, é de fácil obtenção e, sobretudo, um dos mais econômicos. O óxido nítrico, cujo potencial de frio é de ( $-89^{\circ}\text{C}$ ) empregado principalmente em Ginecologia e Otorrinolaringologia e, finalmente, o dióxido de carbono, cuja temperatura chega à ( $-78^{\circ}\text{C}$ ) e, não é inflamável, sendo inodoro e ligeiramente ácido (TURJANSKY; STOLAR, 1995).

O nitrogênio líquido é o único agente criogênico capaz de desvitalizar o tecido ósseo "in situ", mantendo a sua armação inorgânica intacta (EMMINGS et al., 1966; POGREL, 1993; CURI; DIB; PINTO, 1997).

## 2.2 APARELHAGEM PARA A CRIOTERAPIA

Os sistemas utilizados em criocirurgia são classificados em fechado e aberto. No sistema fechado o agente criogênico não entra em contato direto com o tecido, ele circula no interior de uma sonda, que em contato com o tecido, promove o seu congelamento. O sistema aberto refere-se, à aplicação direta do agente criogênico sobre a lesão (YEH, 2000).

O fenômeno físico que explica o congelamento é conhecido como sistema de expansão adiabática do gás ou Joule-Thomson: a saída de um gás mantido sob alta pressão através de um pequeno orifício produz baixas temperaturas, pois, ao se expandir, o gás remove calor do ambiente (LEOPARD, 1975; READE, 1979).

Ferrer-Bernat (1993), relatou a utilização do Cry-Ac 3 da Brymill®, frisando ser um aparelho versátil, pequeno e de baixo custo, dispondo de diversas pontas aplicadoras com diferentes angulações. Atualmente este aparato é largamente empregado em Odontologia e Dermatologia por inúmeros pesquisadores.

## 2.3 MECANISMO DE DESTRUÇÃO CELULAR

A maioria dos tecidos vitais congelam a uma temperatura próxima a  $-2,2^{\circ}\text{C}$ . Desnaturação de lipoproteínas à  $-5^{\circ}\text{C}$ . Formação de cristais de gelo extracelular  $-10^{\circ}\text{C}$ , formação de cristais de gelo intracelular  $-15^{\circ}\text{C}$ . Contudo, para que a morte celular ocorra, a temperatura deve estar abaixo de  $-20^{\circ}\text{C}$  (LEOPARD, 1975; SHEPHERD, 1976; TAL, 1982; TAL; RIFKIN, 1986; TAL, 1992).

A morte celular resulta da combinação de efeitos celulares diretos, como a formação de cristais de gelo intracelulares e extracelulares, desidratação celular, ruptura da membrana celular, isquemia resultante na falha de microcirculação, desnaturação lipoprotéica das membranas nucleares e mitocondriais e, por fim, as alterações metabólicas citoplasmáticas através da inibição enzimática (EMMINGS;

KOEPF; GAGE, 1967; LEOPARD, 1975; GONGLOFF; GAGE, 1983; WHITTAKER, 1984; POGREL; YEN; TAYLOR, 1996; ISHIDA; RAMOS; SILVA, 1998).

As células próximas à interface tecido-sonda congelam rapidamente. As células mais distantes congelam lentamente por estarem próximas de fontes de calor como os vasos sanguíneos. Estas não atingem a mesma temperatura que aquelas próximas à superfície da sonda (TAL, 1982).

Efeitos do congelamento de acordo com Leopard (1975):

- *Rompimento Celular*: quando a taxa de congelamento é rápida (maior do que 5°C/s), acontece próximo à sonda, formando cristais intra e extracelulares.
- *Desidratação Celular e Distúrbios Eletrolíticos*: ocorrem nas outras áreas, onde a taxa de congelamento é menor do que 0,5°C/s. Há somente a formação de cristais de gelo extracelulares e, com isso, ocorrem os distúrbios eletrolíticos devido à diferença de concentração osmótica do líquido extra e intracelular.

Quando o congelamento é lento, os cristais de gelo são formados no meio extracelular, causando aumento da concentração de íons no fluido extracelular em decorrência da remoção da água por cristalização. Desta forma, devido à diferença de concentração entre os meios intra e extracelular, há uma passagem osmótica de água de dentro para fora das células. Como essa água também é congelada, o processo torna-se constante até que os níveis de eletrólitos atinjam concentrações tóxicas às células levando-as à morte (LEOPARD, 1975; WHITTAKER, 1984; TAL, 1982).

Após o congelamento e reaquecimento de um tecido, um novo congelamento da mesma área ocorre mais rapidamente e, em maior extensão, pois a propagação da temperatura é facilitada. Portanto, o melhor efeito letal é obtido com repetidos ciclos de congelamento e reaquecimento da área tecidual desejada, ao invés de um

único ciclo de congelamento, mesmo sendo este mais longo (EMMINGS; KOEPF; GAGE, 1967; FIORE-DONNO et al., 1984).

Definiu-se, então, que um rápido congelamento, seguido de um reaquecimento lento, sendo em média o dobro do tempo do congelamento, é o mais desejado, e que, repetidos ciclos de congelamento e reaquecimento são ideais para a destruição tecidual (EMMINGS; KOEPF; GAGE, 1967; LEOPARD; POSWILLO, 1974; HAUSAMEN, 1975; CHAPIN, 1976; POSWILLO, 1978; TAL, 1982; FIORE-DONNO et al., 1984).

O processo de recristalização e as reações de desnaturação proteica dependem de um período de reaquecimento prolongado (HAUSAMEN, 1975). Quanto mais prolongado este período, mais destrutivos serão os efeitos destes fenômenos deletérios (EMMINGS; KOEPF; GAGE, 1967; LEOPARD, 1975; READE, 1979).

Segundo Leopard (1975), outro mecanismo de destruição celular refere-se, à inibição enzimática. Como cada enzima celular opera numa temperatura regular média, o congelamento brusco age como inibidor, modificando o metabolismo celular, deixando a célula vulnerável a sofrer danos. Com esta alteração de temperatura, as lipoproteínas da membrana celular e das mitocôndrias, também, sofrem desnaturação.

A crioterapia oferece vantagens únicas, quando comparada a outras modalidades de tratamento, especialmente em tecido ósseo, pois apesar da eficiente destruição celular que provoca, preserva a matriz óssea inorgânica, que serve como substrato à formação de um novo tecido (POGREL et al., 2002).

## 2.4 INOCUIDADE DA APLICAÇÃO DE BAIXAS TEMPERATURAS AOS TECIDOS DENTAIS

Peters et al. (1983) analisaram quinze dentes humanos que continham fissuras na sua face vestibular. As trincas das superfícies foram marcadas por setas e fotografadas com auxílio de um microscópio óptico. Os autores realizaram ainda moldagem com silicone de impressão e confeccionaram modelos com resina ortodôntica destas fissuras. Foi usado como agente criogênico bastão de neve carbônica, que alcança uma temperatura média de  $-74,6^{\circ}\text{C}$ , o tempo de contato com a superfície vestibular dos dentes variou em 15, 45 e 60 segundos. Após aplicação os dentes foram novamente moldados e fotografados para análise. Não foi possível verificar formações de novas fissuras em nenhum dos espécimes e apenas um deles apresentou aumento da rachadura existente anteriormente.

Ingram e Peters (1983) usaram um bastão de dióxido de carbono em dentes de cães por períodos de 5, 15, 60, e 120 segundos e analisaram em microscopia eletrônica. Seus achados apontam que não houve evidências de alteração e nenhuma área de fissura pôde ser evidenciada nas eletromicrografias quando foram comparadas as superfícies de esmalte antes e depois da aplicação do agente térmico.

Peters et al. (1986) analisaram por microscopia eletrônica dez dentes humanos indicados para exodontia por razões ortodônticas e por doença periodontal. Aplicaram bastão de dióxido de carbono por um período de 120 segundos e não encontraram dano à superfície do esmalte.

Barletta (1994) analisou vinte dentes humanos utilizando corante fluorescente penetrante P 149 evidenciado pela luz ultravioleta e microscopia óptica, após aplicação de neve carbônica por 10 segundos. Não encontrou rachadura no esmalte.

## 2.5 ANQUILOSE DENTÁRIA DECORRENTE DE INJÚRIAS TÉRMICAS

Alguns autores têm publicado trabalhos mostrando o efeito de técnicas de tratamento que geram calor intracanal e suas implicações no ligamento periodontal e tecido ósseo alveolar (ATRIZADEH et al., 1971; ERIKSSON; ALBREKTSON, 1983).

A literatura é clara em afirmar que possíveis danos às estruturas de sustentação somente poderiam ocorrer se esta elevação atingisse níveis superiores a 10°C. Sendo a dentina má condutora de temperatura possibilitando o uso controlado de técnicas que liberem calor no interior de canais dentários (MICHELOTTO, et al., 2004).

Shepherd (1976) estudou a aplicação de óxido nitroso, em dentes de ratos para avaliar o comportamento da polpa e tecido gengival com análise histológica e acompanhamento de 2 meses. Aplicação por 90 segundos atingindo uma temperatura de -50°C nas faces oclusais de molares. O resultado foi necrose de odontoblastos e substituição da polpa por um tecido fibroso. Em gengiva, destruição de tecido epitelial acompanhado de cicatrização e reparo em um período de 2 semanas.

Tal e Stahl (1986) analisaram histologicamente o efeito da aplicação de nitrogênio líquido na tábua vestibular da mandíbula de ratos. O tempo de aplicação foi de 5 segundos onde atingiu uma temperatura de - 81°C. Os animais foram sacrificados nos períodos de 1, 24, e 72 horas e 2, 5 e 7 semanas. Observaram necrose da tábua óssea e do ligamento periodontal que levou a anquilose dos dentes envolvidos.

Tal et al. (1991) em trabalho semelhante utilizando cães, observaram completa regeneração do ligamento periodontal 30 dias após congelamento. Não foram encontrados sinais de anquilose ou reabsorção radicular nos espécimes examinados. A preservação da matriz extracelular, nas criolesões, pode prevenir anquilose e reabsorção radicular promovendo regeneração do ligamento periodontal.

## 2.6 PREPARO TECIDUAL APÓS APLICAÇÃO DE AGENTE CRIOTERÁPICO

Bradley (1978), menciona um estudo realizado em porcos, após proceder ao congelamento experimental em cavidades ósseas artificiais, criadas mediante remoção de terceiro molar não irrompido e avaliando microscopicamente, observou três fases distintas no processo de reparação óssea, classificadas como necrótica, osteogênica e remodeladora. Enfatiza que a necrótica ocorre nos primeiros dias, a osteogênica algumas semanas após o congelamento, havendo neoformação subperiosteal e, também, em torno das margens da cavidade de osso não vital, sendo que os espaços medulares foram novamente preenchidos por tecido conjuntivo fibroso e discreta deposição de osso endosteal e, que a remodeladora sucede a osteogênica e acontece após alguns meses.

Pogrel et al. (2002), fizeram um estudo envolvendo nove mini-porcos (Yucatan) adultos, 8 dos quais tiveram defeitos artificiais produzidos na região de pré-molares da mandíbula, com 3 cm no diâmetro ântero-posterior e 2 cm de profundidade, em ambos os lados daquele osso, com micromotor sob refrigeração, submetidos ao criospray de nitrogênio líquido com dois ciclos de 1 minuto de congelamento, deixando o reaquecimento ocorrer espontaneamente. Um animal serviu como controle, sem nenhum tipo de tratamento no lado direito, enquanto, no lado esquerdo, teve somente o defeito ósseo. Metade dos defeitos recebeu enxerto ósseo autógeno proveniente do mento e, a outra metade foi fechada primariamente sem receber enxerto. Dois animais foram sacrificados com 3 dias de pós-operatório, para a mensuração da extensão da necrose óssea e, o restante foi sacrificado aos 3 meses, para estimar a área de neoformação óssea. O defeito ósseo considerado isoladamente obteve uma média de profundidade de 0,09mm de necrose óssea, ao passo que o nitrogênio líquido, teria alcançado uma média de profundidade de 0,82mm de necrose óssea, variando de (0,51mm a 1,52mm). Defeitos sem enxerto ósseo exibiram uma taxa de deiscência da ferida e formação de seqüestros com retardo na cicatrização. Os defeitos com enxerto apresentaram uma taxa não significativamente expressiva de formação óssea. Observa-se que o nitrogênio líquido age, desvitalizando a área que circunda o defeito ósseo. A extensão da necrose é usualmente menor que 1mm e, a cura subsequente, é reforçada pelo enxerto ósseo autógeno.

Silva (2003) realizou um estudo em coelhos Nova Zelândia, utilizando 15 animais, em cujas hemimandíbulas direitas foram confeccionados defeitos ósseos, forrados com gaze e, posteriormente, submetidos à aplicação de nitrogênio líquido em dois ciclos de 10 segundos cada, com intervalo de 2,5 minutos, enquanto os defeitos contralaterais serviram como controle. Os animais foram sacrificados aos 2, 15 e 60 dias de pós-operatório para avaliação microscópica da necrose óssea das paredes, tecido de granulação, seqüestros ósseos e neoformação óssea. Concluiu que o congelamento não ocorreu de forma homogênea e, que a presença de seqüestros faz parte do processo de reparação quando usado a crioterapia e, também, que a aplicação de nitrogênio líquido não interferiu com a cronologia e processo de regeneração do tecido ósseo, mostrando-se efetiva quanto à necrose das paredes ósseas. Observou, ainda que a penetração do congelamento, em relação as paredes ósseas do defeito cirúrgico foi de aproximadamente 2,5mm.

Beltrão (2003), realizou estudos para análise clínica dos efeitos do nitrogênio líquido aplicado com hastes de algodão em lábios e palatos de coelhos. Aplicou nitrogênio líquido com o sistema aberto através de dois ciclos de um minuto cada. Entre os ciclos de congelamento, esperou um período de cinco minutos para que houvesse um reaquecimento do local tratado. Utilizou 20 coelhos que foram divididos em grupo lábio e grupo palato de acordo com o local de criocirurgia. Os locais de aplicação tiveram sua espessura medida antes da criocirurgia e as bolas de gelo inicial e final também tiveram seus diâmetros aferidos. As lesões provocadas pelo frio foram acompanhadas até o seu reparo final nos seguintes períodos de observação: 1, 2, 3, 5, 7, 10 e 14 dias. Os resultados obtidos revelaram que em relação à espessura do local de aplicação, em lábio há um aumento significativo entre os dias 1 e 5, com o pico no segundo dia. Em palato há um aumento somente no primeiro dia. Na análise das variáveis qualitativas verificou-se que o edema comporta-se de maneira semelhante à espessura em ambos os grupos. Equimose e hiperemia ocorrem nos primeiros dias. A necrose aparece no dia 1 e o reparo tecidual ocorre no dia 14. Concluiu que: o protocolo utilizado produz necrose tecidual; é possível controlar o tamanho da bola de gelo do dano tecidual e do edema; a extensão do dano tecidual depende do local de aplicação; o padrão de destruição tecidual é o mesmo e a cicatrização ocorre em 14 dias.

Scortegagna (2004), com o objetivo de avaliar o grau de reparação óssea em defeitos cirúrgicos produzidos em mandíbula de coelhos, submetidos à aplicação de nitrogênio líquido e subsequente inserção de enxerto ósseo autógeno, utilizou 15 coelhos, divididos em 3 grupos de cinco espécimes, avaliados nos períodos de 2, 15 e 60 dias de pós-operatório. Os animais foram submetidos à cirurgia para obtenção de defeitos ósseos na borda inferior da mandíbula. Os defeitos da hemimandíbula direita foram tratados com nitrogênio líquido, seguindo um protocolo de 2 ciclos de 10 segundos, com um intervalo de 150 segundos. Após a crioterapia, o defeito ósseo serviu como leito receptor para o enxerto proveniente da hemimandíbula contralateral. Os defeitos ósseos das hemimandíbulas do lado esquerdo não foram submetidos à crioterapia, no entanto, receberam enxerto proveniente do lado direito e utilizados como controle. Os resultados obtidos através da avaliação dos achados microscópicos mediante histomorfometria demonstraram um aumento significativo da área de necrose óssea nos períodos de 2 e 15 dias de pós-operatório, quando comparados com seus controles. No período de 60 dias de pós-operatório, a análise da neoformação óssea no leito receptor revelou diferenças estatisticamente significativas com valores superiores no grupo não submetido à crioterapia. Os dados obtidos permitiram concluir que a crioterapia com nitrogênio líquido pode retardar, porém, não inviabiliza o processo de integração enxerto-leito receptor, podendo ser empregada previamente em leitos ósseos com indicação de enxertos.

### **3 PROPOSIÇÕES**

- Desenvolver modelo experimental para medir a variação de temperatura intracanal e na superfície externa da raiz de um dente durante aplicação de nitrogênio líquido no interior do canal radicular.
- Propor um protocolo de aplicação de nitrogênio líquido intracanal.

## 4 METODOLOGIA

Este trabalho foi idealizado de acordo com o capítulo XIV, art. 94-99, das Normas de Pesquisa em Saúde da PUCRS e do Conselho Nacional de Saúde - Resolução n. 01 de 13 de junho de 1988 e em observância da lei 6638, de 08 de maio de 1979. O projeto de pesquisa foi submetido à apreciação da Comissão Científica e de Ética da Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul pela qual foi aprovado e protocolado sob número 0018/05 em 22 de abril de 2005 (ANEXO A).

### 4.1 DELINEAMENTO DA PESQUISA

Este estudo situa-se no paradigma tradicional e tem uma abordagem descritiva relacional.

### 4.2 HIPÓTESE

A realização de um modelo experimental *in vitro* proporcionará conhecer as temperaturas atingidas intracanal e na superfície externa da raiz de um dente durante aplicação de nitrogênio líquido.

### 4.3 MATERIAIS E MÉTODO

#### 4.3.1 Desenvolvimento de modelo experimental

Utilizou-se um dente pré-molar extraído por razões ortodônticas.

Realizou-se abertura coronária na face oclusal do dente em forma de elipse no sentido vestibulo palatino ou lingual com broca diamantada nº1012 (Meisinger, Düsseldorf, Germany) em alta-rotação sob refrigeração.

Durante abertura manteve-se a broca paralela ao longo eixo do dente até atingir-se a dentina. Após acesso à dentina utilizou-se uma broca de haste média em baixa-rotação de nº4 (Meisinger, Düsseldorf, Germany) para penetração no teto da câmara pulpar.

A seguir com movimentos de dentro para fora se removeu todo o teto da câmara pulpar proporcionando o acesso ao canal radicular.

Após abertura e acesso à câmara pulpar, executou-se a odontometria, a qual foi feita da seguinte forma: irrigação com 0,5 ml de hipoclorito de sódio a 1% colocados em tubetes anestésicos de vidro previamente esterilizados e encaixados em carpule e agulha para anestesia. A penetração foi feita com uma lima tipo K (Maillefer, Ballaigues, Switzerland) nº15 de 21mm no canal radicular até ser vislumbrada a ponta do instrumento no forame apical. Anotada esta medida, subtraiu-se 1mm adotando esta nova mensuração como o Comprimento Real de Trabalho (CRT).

O canal foi preparado através da técnica seriada, ou seja, limas endodônticas de calibre maiores, 15 em diante, no CRT, até o instrumento de número 70 (verde da segunda série) que foi adotado como instrumento memória (maior alargamento do CRT). A cada troca de instrumento, procedeu-se uma irrigação com 0,5 ml de hipoclorito de sódio a 1% para remover a lama dentinária do canal, gerada pelo preparo mecânico.

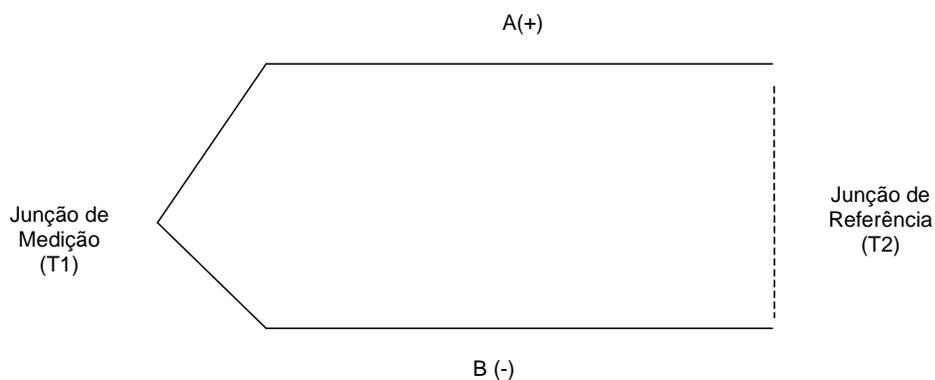
O preparo em profundidade foi evidenciado por meio de tomada radiográfica.

Realizou-se tomada radiográfica, utilizando-se filme periapical Insight® (Eastman Kodak Co – Rochester – NY – EUA) e um aparelho de raios X Spectro 70® (Dabi Atlante – Ribeirão Preto – SP – BR). O fator de exposição foi 0,2 s, 70kV, 10 mA.

A radiografia foi processada através do método automático Dent-X 9000® (Nova Iorque, EUA), com soluções processadoras novas e ciclo seco a seco de 4,5 segundos. A radiografia foi acondicionada em montagem plástica.

A fim de medir variações de temperatura em pequenas superfícies optou-se pela utilização de termopares para o sistema de aquisição de dados. Segundo Borchardt e Gomes (1979) o termopar do tipo T (cobre – constantã) é o mais indicado para uso em temperaturas que variam entre - 180°C a 260°C. Dentro de uma faixa de -60°C a 40°C é admissível um erro de  $\pm 0,4^\circ\text{C}$ .

A medição de temperatura através de termopares parte do princípio de que dois condutores metálicos diferentes A e B unidos em uma de suas extremidades, ao qual se dá o nome de junção de medição, e expostas a uma variação de temperatura, geram uma força eletromotriz (F.E.M.), da ordem de milivolts, que pode ser registrada na outra extremidade, junção de referência - Efeito Seebeck.



**Figura 1 - Desenho Esquemático de um Termopar**

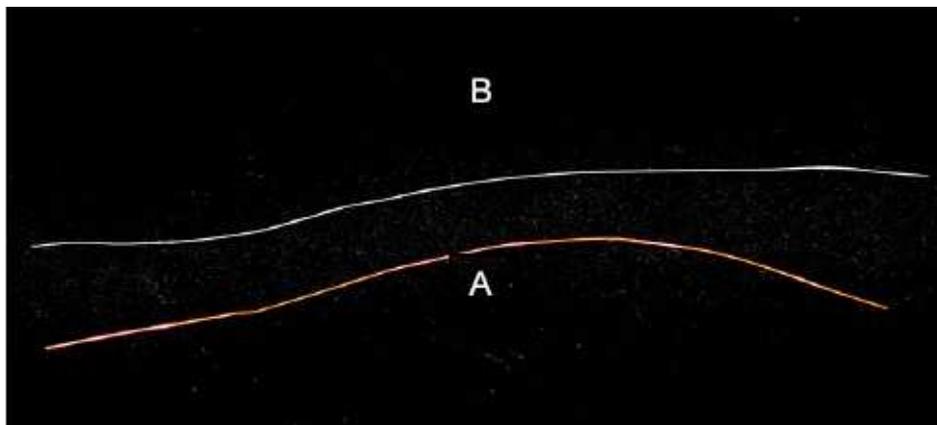


Figura 2 - Fio de Cobre (A) - Fio de Constantã (B)



Figura 3 - Junção de medição

Utilizaram-se termopares do tipo T (SALCAS Industria e Comércio LTDA, São Paulo, SP, Brasil).

Um dos fatores importantes no monitoramento da temperatura com termopares é o estabelecimento firme entre termopar e a superfície do dente. Fixaram-se com resina fotopolimerizável, cor A3 Charisma® (Heraeus Kulzer, Germany) à superfície radicular 3 termopares em regiões referentes aos terços cervical, médio e apical e um termopar no interior do canal radicular localizado no forame apical. A superfície radicular foi condicionada com ácido fosfórico a 37%, pelo tempo de 15 segundos, seguido de lavagem abundante pelo mesmo período e

leve secagem. Em seguida, duas camadas do sistema adesivo Single Bond® (3M Espe, St. Paulo, MN, EUA) foram aplicadas sobre a superfície condicionada. O excesso do solvente do sistema adesivo foi removido com a aplicação de um leve jato de ar. A polimerização foi pelo tempo de 20 segundos após a segunda camada, conforme as instruções do fabricante. A resina composta foi colocada sobre o adesivo e após a verificação do coreto posicionamento do termopar, o material foi polimerizado com um aparelho Visilux®, (3M, Espe, St. Paulo, MN, EUA) pelo tempo de 40 segundos, de acordo com o fabricante. O aparelho foi previamente avaliado com relação ao seu comprimento de onda, o qual garantia a mais adequada polimerização.

Não se realizaram desgastes à superfície dentária para adaptação e colagem dos termopares para evitar a remoção de cimento radicular o que poderia resultar em leitura de temperaturas mais baixas.

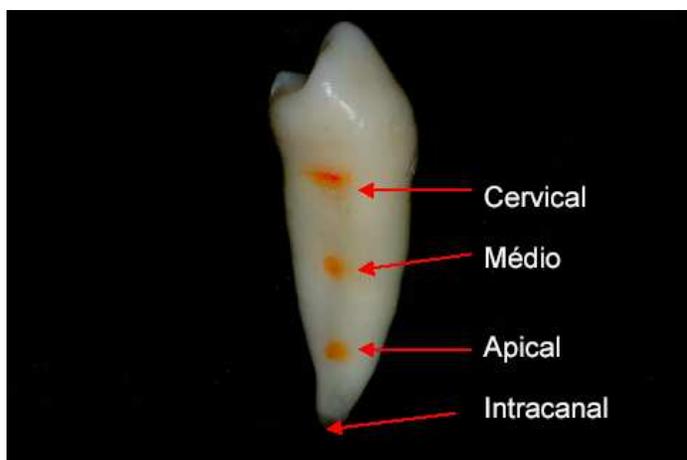


Figura 4 - Localização das regiões de medição dentárias

A partir de sua união na junção de medição os termopares foram isolados com verniz para não haver contato entre eles.

A seguir montou-se uma caixa termoplástica de formato retangular que mede 25 cm de comprimento, 20 cm de largura e 10 cm de altura.

Na sua superfície superior fixou-se um recipiente térmico cilíndrico construído em alumínio usinado e cromado de diâmetro interno 46 mm e 53 mm de profundidade. Na base deste recipiente instalaram-se duas resistências elétricas tubulares embutidas em seu corpo com a finalidade de gerar calor em seu interior.

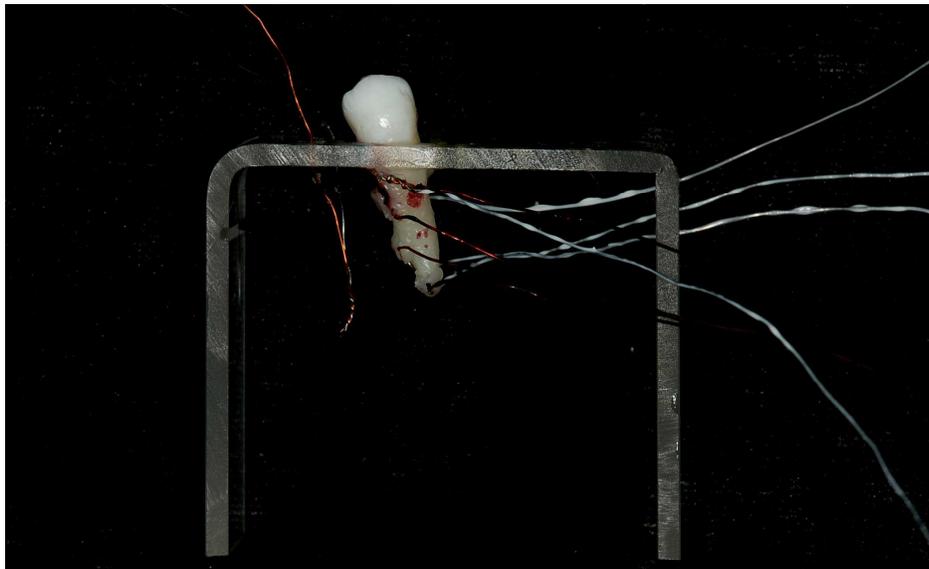
A manutenção da temperatura no recipiente foi obtida através de um regime permanente de condução de calor controlado por equipamento digital micro-processado (Temp Industrial Elétrica Ltda, Porto Alegre, RS, Brasil) que garante a estabilidade térmica, programou-se este equipamento para manter a temperatura próxima à raiz dentária em 36°C, temperatura corporal média.



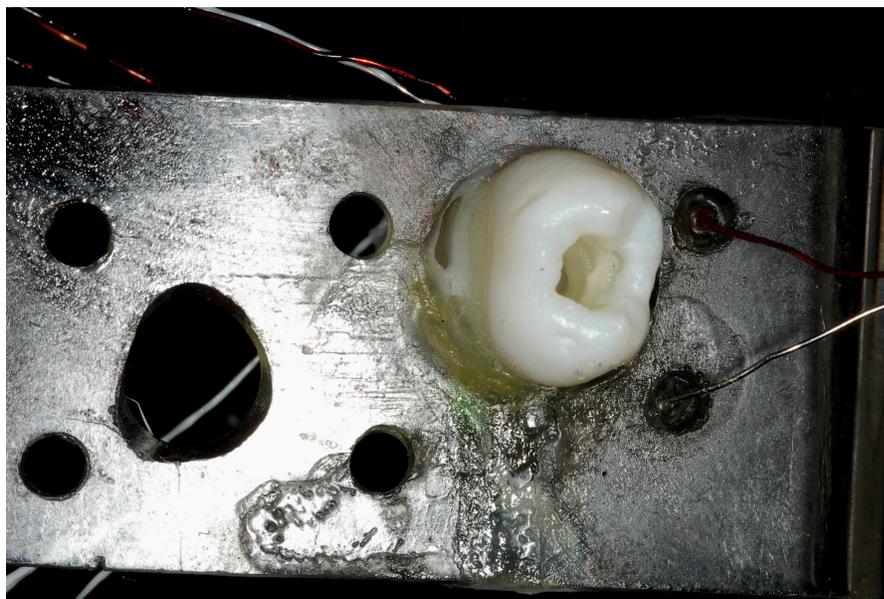
**Figura 5 - Equipamento digital micro-processado para manter a estabilidade térmica**

Preencheu-se 2/3 deste recipiente térmico com silicone óleo, de viscosidade 1000 mm<sup>2</sup>/s a temperatura de 25°C. O silicone tem propriedade isolante e atua neste sentido junto com o verniz aplicado nos termopares.

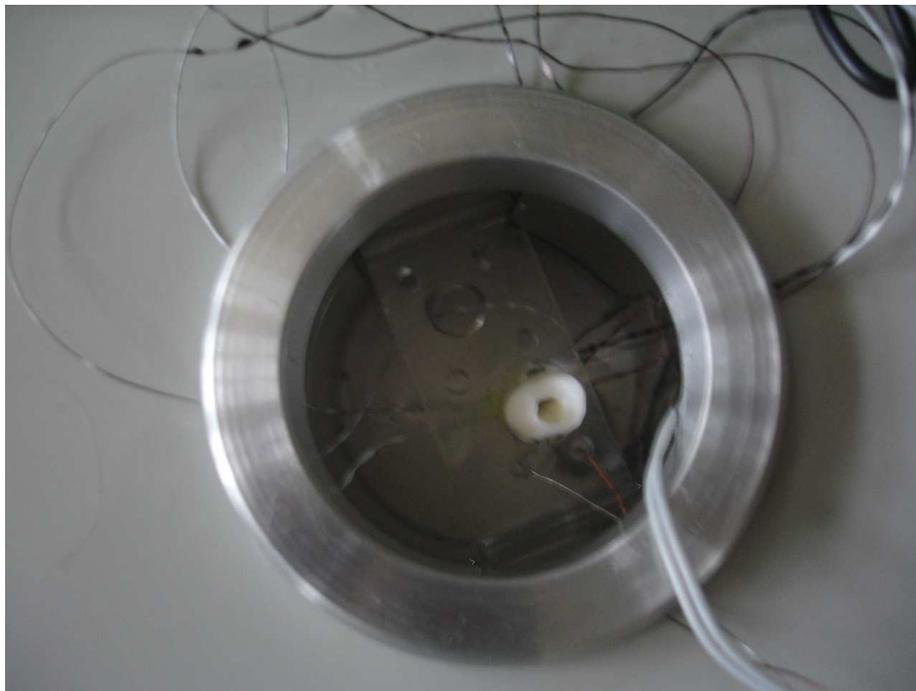
No interior deste recipiente foi colocada uma plataforma para fixação dentária, que permite manter um dente em posição vertical com a raiz mergulhada no silicone e sua coroa fora.



**Figura 6 - Plataforma para fixação dentária**



**Figura 7 - Dente fixo na plataforma**



**Figura 8 - Dente fixo a plataforma dentro do recipiente térmico cilíndrico preenchido com silicone óleo até a região cervical.**

Os termopares colados nas superfícies dentárias anteriormente descritas foram fixos em suas junções de referência na superfície superior da caixa termoplástica em uma régua de borne. Para cada um dos termopares, a partir desta régua, equivale um cabo de compensação, unindo-se sempre fio de cobre do termopar com fio de cobre do cabo de compensação e fio de constantã do termopar com fio de constantã do cabo de compensação.

Os cabos de compensação transmitem as diferenças de força eletromotriz existente entre as duas junções dos termopares até uma placa de aquisição de dados do tipo field logger (Temp Industrial Elétrica Ltda, Porto Alegre, RS, Brasil) que amplifica este sinal e o transforma de sinal analógico em digital.

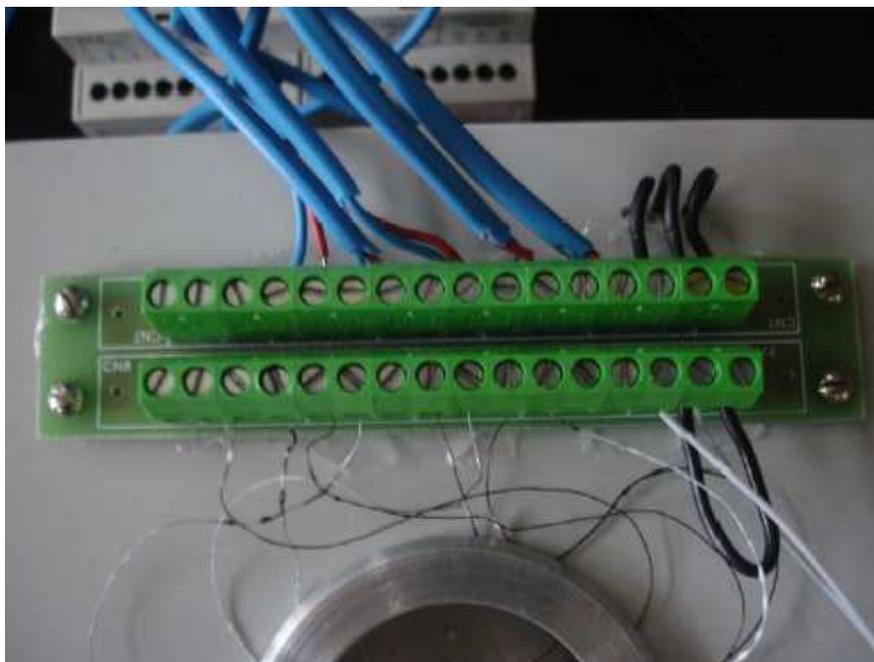


Figura 9 - Régua de borne : termopares ligados na extremidade inferior, cabos de compensação ligados na extremidade superior



Figura 10 - Cabos de compensação unidos à placa de aquisição de dados do tipo field logger

Os sinais convertidos em formato digital, pela placa de aquisição, são transmitidos por um conversor RS485/232 ao conversor USB/232 via comunicação serial até um computador.



Figura 11 - Conversor RS485/232 - Conversor USB/232

No computador os sinais em milivolts são convertidos em temperatura por um software (aplicativo) especialmente desenvolvido para um sistema de aquisição de dados de temperatura e ensaios em um dente.

As características da configuração do aplicativo são:

- Configuração para uso da porta serial, toda a rede ligada na COM1 do micro;
- Monitoração com o valor digital das medidas, criação de gráfico de tendências e apresentação dos status do processo;
- Tempo de aquisição de cada uma das medidas: 01 segundo;
- Tempo entre registros no gráfico de histórico: 01 segundo;
- Capacidade do histórico: 1.000.000 de registros;

- Possibilidade de impressão do histórico.

A seguir serão apresentadas as telas do aplicativo. O objetivo é proporcionar ao usuário um panorama geral do ensaio, onde estão contidas as variáveis de temperatura desejadas assim como os botões para execução das funções descritas nos mesmos.

**Zona 01** 0,0°C Indicar a temperatura que está sendo medida pelo Field Logger.

**Visualizar Gráfico** Permite ao usuário visualizar de forma gráfica o ensaio

**Salvar Posições** Salva as posições dos pontos sobre o desenho do dente

**Histórico** Permite ao usuário fazer uma análise histórica dos ensaios realizados

**Iniciar Registro** Permite ao usuário iniciar e configurar um nome para o ensaio

**Batelada Atual** Nome atual do ensaio que está sendo realizado

**Relatório** Permite ao usuário imprimir o ensaio desejado

**Sair do Aplicativo** Permite ao usuário sair do aplicativo

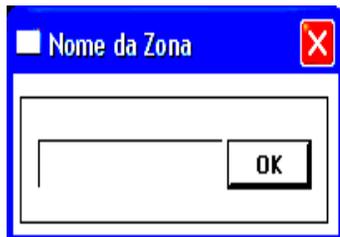
Figura 12 - Tela principal do aplicativo com suas funções

O aplicativo permite ao usuário deslocar os displays sobre o desenho do dente e da mesma forma mudar o nome relacionado ao ponto sobre o qual ele está situado. Abaixo seguem as relações de cores dos displays e os canais do Field Logger a que estão associados. A relação cor X canal é sempre a mesma.

Zona 01	Zona 02	Zona 03	Zona 04	Zona 05	Zona 06
0,0°C	0,0°C	0,0°C	0,0°C	0,0°C	0,0°C
CANAL 1	CANAL 2	CANAL 3	CANAL 4	CANAL 5	CANAL 6

### **Alterando o nome do canal**

Para alterar o nome usado no display o usuário deverá posicionar o mouse sobre a zona numérica do display, dando um duplo clique com o botão do mouse sobre esta área surgirá a janela abaixo:



Entrar com o nome desejado, máximo de 10 caracteres, e pressionar OK. Está configurado um nome para o ponto de monitoração. Este nome aparecerá no gráfico on-line.

### **Desabilitando a visualização de uma canal**

Para o usuário desabilitar a visualização de um determinado canal no gráfico, ele deverá posicionar o mouse sobre o nome dado ao canal e dar um duplo clique com o botão esquerdo do mouse. Neste caso a cor será trocada pelo cinza, indicando que a visualização deste ponto no gráfico não está sendo mostrada. Para voltar a situação inicial repetir o procedimento.

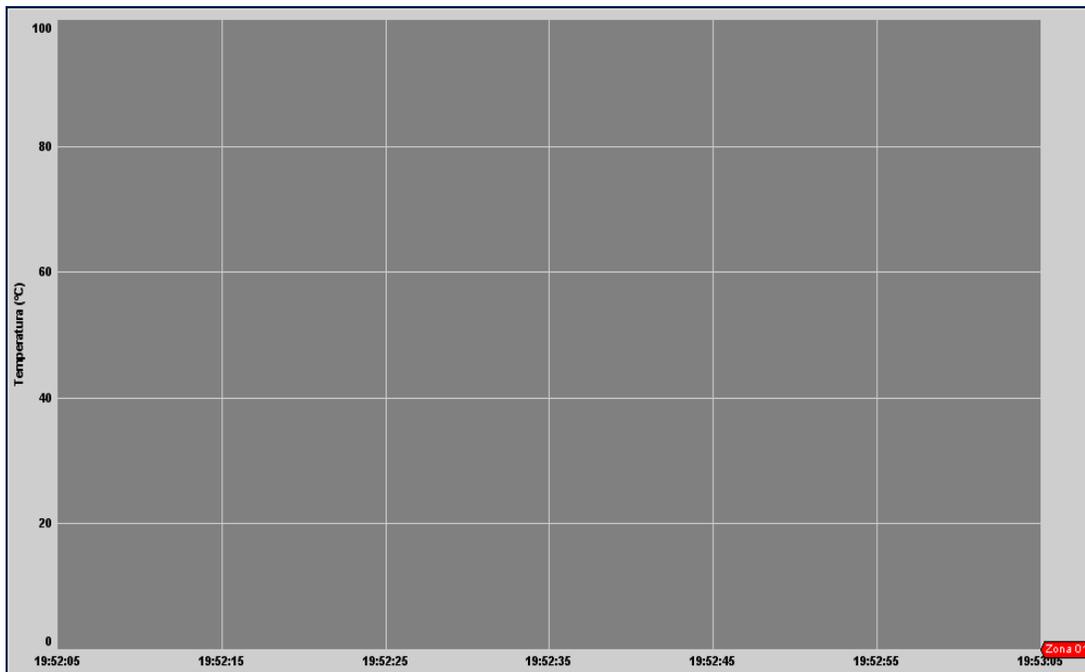
### **Mudando os displays de local**

Para mudar a posição dos displays o usuário deverá aproximar o mouse na borda dos mesmos, e então manter pressionado o botão esquerdo. Mantendo este estado mover o mouse até o ponto onde se deseja colocar o display. Após feitas as distribuições o usuário deverá pressionar o o botão "Salvar Posições". Isto fará com que o software memorize as posições dos displays.

**Figura 13 - Comando dos displays**

### VISUALIZANDO O GRÁFICO

Pressionando o botão “Visualizar Gráfico” o usuário poderá ver de forma gráfica os dados que estão sendo coletados. Abaixo está a apresentação do gráfico



Dando um duplo clique sobre o gráfico pode-se configurar suas escalas do eixo Y(faixa de temperatura) e X(tempo). No gráfico aparecerá também o nome de cada canal configurado.

**Figura 14 - Visualização na forma gráfica**

### INICIANDO A AQUISIÇÃO DE DADOS

Para iniciar a aquisição de dados o usuário deverá pressionar o botão “Iniciar Registro”, isto fará com que os dados sejam armazenados em um arquivo para posterior análise. A tela para configurar o nome está apresentada abaixo:

Uma janela de diálogo com o título 'Nome da Batelada'. Possui um campo de entrada de texto vazio, um botão 'OK' e um botão 'Sair'.

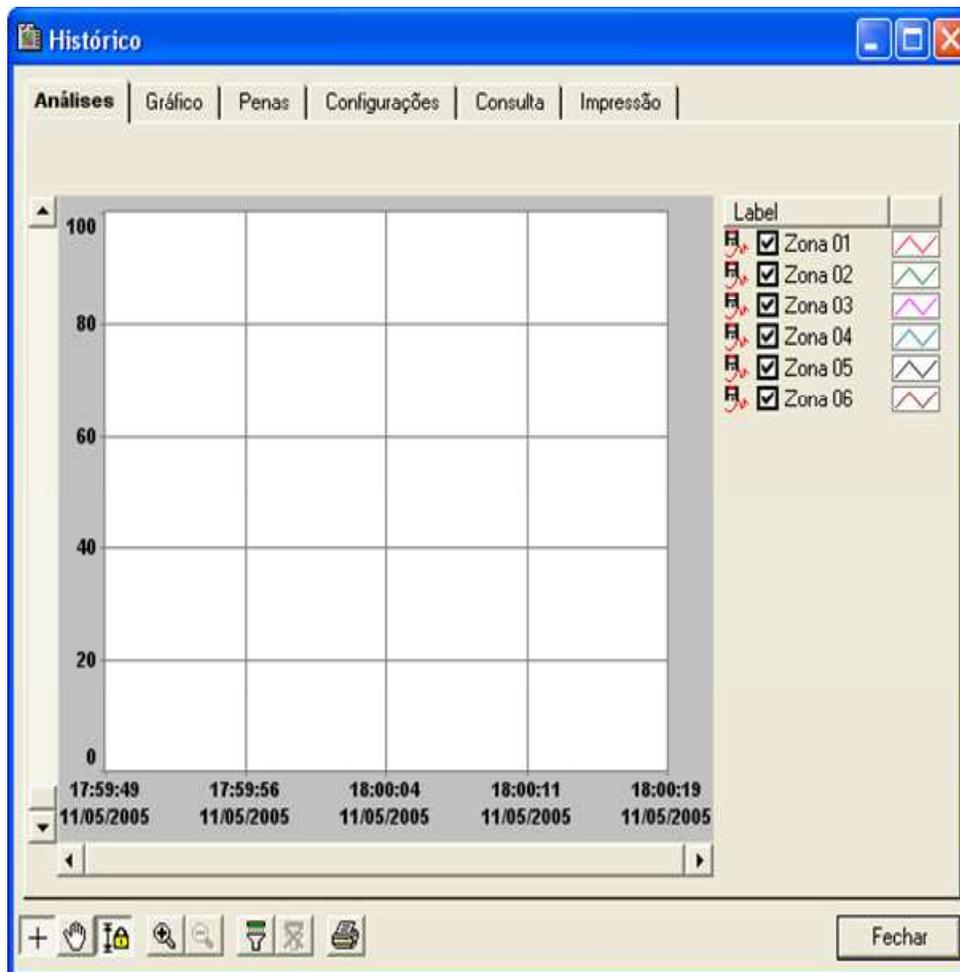
**Cuidar para não repetir o nome dado ao ensaio, pois dados podem ser perdidos.**

OK – Inicia o registro  
Sair – Encerra a seção

**Figura 15 - Iniciar teste**

## HISTÓRICO

Esta função permite ao operador visualizar e analisar os dados históricos dos ensaios já realizados. Quando chamada ela surgirá maximizada e já na aba "Análises"



- ↑ Realiza o deslocamento dos dados nas direções horizontal e vertical
- ↑ Bloqueia o deslocamento vertical
- ↑ Zoom in: aproxima o gráfico
- ↑ Zoom out: afasta o gráfico
- ↑ Atualiza os dados da consulta
- ↑ Imprime o gráfico da análise histórica

Visualizando a tela a acima pode-se verificar no canto superior direito as cores atribuídas para cada grandeza. Individualmente o operador poderá: selecionar/deselecionar o que irá visualizar, alterar a cor do traço e por fim alterar a forma do traço.

**Figura 16 - Análise dos testes realizados**

### Consulta ao Histórico:

Para fazer uma consulta a um ensaio específico o operador deverá pressionar na aba "Configurações" será apresentada a tela abaixo. O arquivo fonte não pode ser alterado de forma nenhuma.

No campo "Batelada" o operador deverá escolher o critérios da consulta, abaixo seguem as descrições dos campos:

**Todas as Bateladas:** este critério permitirá ao operador visualizar no gráfico da aba "Análises" todos os dados contidos no histórico.

**Última Batelada:** este critério permitirá ao operador visualizar no gráfico da aba "Análises" o último ensaio realizado.

**Batelada Específica:** este critério permitirá ao operador visualizar na aba "Análises" um ensaio específico já realizado. Abaixo seguem os complementos para a consulta:

**Valor:** é onde o operador deverá procurar o nome do ensaio para realizar a visualização.

**Figura 17 - Consultar histórico**

Para a aplicação do nitrogênio líquido no interior do canal do dente foi utilizado um criostato CRY-AC-3®, modelo #B-700, fabricado pela empresa BRYMILL(Ellington, Connecticut, USA) e importado pela empresa CRY- AC do Brasil ( São Paulo,SP, Brasil). Este aparelho apresenta-se na forma de um cilindro com capacidade de armazenamento de 0,5l de nitrogênio líquido (Figura 18). Na sua parte superior encontra-se uma válvula de alívio da pressão interna para que o aparelho não estoure devido à ebulição do nitrogênio líquido e um gatilho que libera o conteúdo sob pressão quando acionado.



Figura 18 - Aparelho de crioterapia (Cryospray ).

Foram utilizadas para a aplicação do nitrogênio líquido intracanal agulhas descartáveis BD Plastipak® (Becton Dickinson, Curitiba, PR, Brasil) de 0,7mm de diâmetro por 25 mm de comprimento com adaptador Luer Lock (# 308).

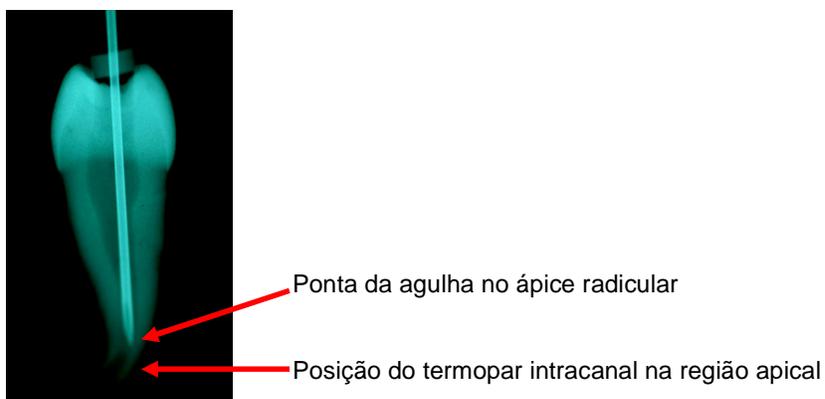
O nitrogênio líquido (White Martins, Canoas, RS, Brasil), armazenado em botijões próprios, era transferido para o criostato aproximadamente 1h antes do experimento.



Figura 19 - Agulha descartável 0,7mm X 25mm com adaptador Luer Lock # 308

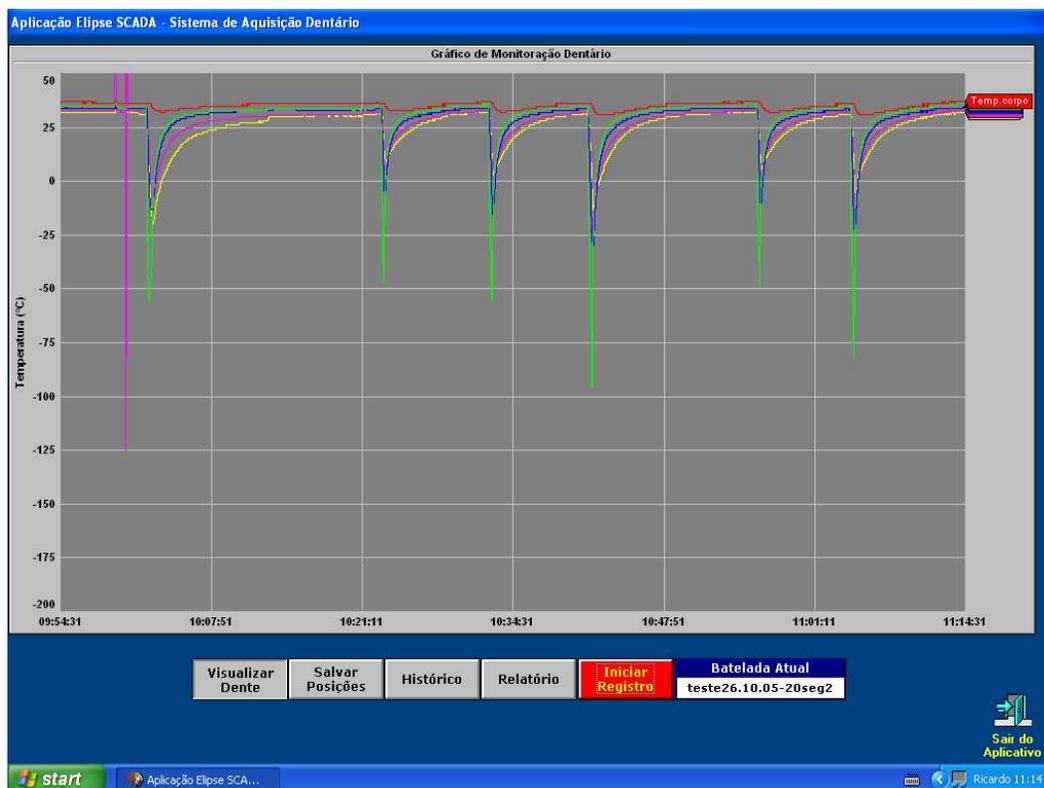


**Figura 20 - Dente fixo a plataforma com agulha no interior do canal**



**Figura 21 - Incidência radiográfica periapical utilizada para comprovar a relação da ponta da agulha com o ápice radicular e o termopar localizado intracanal na região apical**

Com o posicionamento da agulha intracanal e com sua ponta em posição apical, iniciou-se a aplicação de nitrogênio líquido. As variações de temperatura durante o tempo de aplicação e após este, até o retorno da temperatura ser igual às medidas no início de cada experimento foram sendo registradas em forma de gráfico.



**Figura 22 - Gráfico de Testes– Variação Temperatura (°C) por Tempo (segundos)**

Os valores referentes às variações das temperaturas observados a cada segundo de realização dos testes em todos os locais de medição foram transferidos para planilhas e estas foram numeradas de acordo com o número do teste, data, hora e temperatura ambiente (Apêndice).

#### **4.3.2 Proposta de um protocolo de aplicação de nitrogênio líquido intracanal**

Realizaram-se testes iniciais com diferentes tempos de aplicação de nitrogênio líquido no interior do canal radicular observando-se as temperaturas atingidas nos locais escolhidos para medição.

Com a aplicação de 15 segundos de nitrogênio líquido intracanal atingiram-se temperaturas médias na superfície externa radicular, região apical, média e cervical, mais indicadas para uso de crioterapia no interior de um canal dentário procurando evitar lesões irreversíveis em seus tecidos de sustentação.

Verificou-se ainda, durante a realização destes testes iniciais, que poderia haver influência da temperatura ambiente nas médias de temperaturas obtidas.

Realizou-se então 13 experimentos, com 15 segundos de aplicação, divididos em 3 grupos com temperaturas ambiente diferentes. Os testes foram numerados registrando dia, hora e temperatura ambiente de execução.

- Grupo I - Temperatura ambiente 20°C - testes 1, 2, 3, 4 e 5;
- Grupo II - Temperatura ambiente 25°C - testes 6, 7, 8 e 9;
- Grupo III - Temperatura ambiente 27°C - testes 10, 11, 12 e 13.

As variáveis experimentais foram:

- Variáveis independentes: Tempo de aplicação do crioterápico e Temperatura Ambiente.
- Variável dependente: Temperatura medida intracanal e na superfície externa da raiz.

Os dados coletados referentes às temperaturas medidas pelos termopares em diferentes tempos de aplicação e temperaturas ambientes foram analisados preliminarmente para uso de estatística paramétrica.

Selecionaram-se os momentos em que houve as maiores variações de temperatura. Escolheram-se os tempos 5,10,15,20 e 25 segundos de teste.

Foram calculadas as médias de temperaturas nestes tempos em cada região de medição para todos os grupos.

Com as médias de cada tempo produziram-se novos gráficos para cada grupo onde foram comparadas as variações de temperaturas em diferentes tempos e temperaturas ambiente. Os dados coletados foram submetidos à análise estatística.

#### *4.3.2.1 Análise Estatística*

Através de Análise de Variância utilizando o delineamento em medidas repetidas para cada localização de medição foi avaliada a interação entre temperatura ambiente e o tempo de aplicação em relação à temperatura alcançada. Sempre que significativa a Análise de Variância o Teste de Comparação Múltiplas de Tukey foi utilizado como complemento.

O software estatístico utilizado foi o SAS versão 9.1 e o nível de significância de 5%.

#### *4.3.2.2 Análise da Velocidade de Variação de Temperatura*

Após análise gráfica e estatística calculou-se a velocidade de variação da temperatura nos períodos de tempo analisados anteriormente.

Obteve-se o cálculo das velocidades de variação de temperatura dividindo-se os valores de temperaturas atingidas pelo tempo.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 RESULTADOS DO MODELO EXPERIMENTAL

Antes do início de cada teste observou-se a temperatura inicial em cada local de medição na tela principal do aplicativo.

Em dias com temperatura ambiente mais baixa foi necessário aumentar a produção de calor pelo equipamento digital micro-processado a fim de obter-se temperatura de 36°C próximo da região apical e média radicular.

Os registros iniciais de temperaturas diferem de acordo com a posição dos termopares, o termopar localizado na região cervical, mais próximo da superfície externa do recipiente mostrou temperaturas iniciais mais baixas. Notou-se uma diferença de temperatura de 1°C a 2°C com relação à temperatura inicial da região apical para a cervical.

No primeiro segundo da aplicação do nitrogênio líquido no interior do canal radicular a nível apical, observa-se forte queda de temperatura neste local.

Os termopares localizados na região apical e média na superfície externa da raiz mostram queda de temperatura após 2 segundos de aplicação.

O termopar localizado na região cervical da raiz em sua superfície externa aponta queda da temperatura após 3 segundos de aplicação.

Observou-se uma maior variação de temperatura nos primeiros 10 segundos de aplicação do nitrogênio líquido.

As temperaturas alcançadas no interior do canal radicular foram mais baixas comparadas com as da superfície externa da raiz.

Na superfície externa radicular chegou-se a temperaturas mais baixas na região apical, mais próxima do local de aplicação. Na região cervical, mais distantes do ponto de aplicação do agente crioterápico não mostraram uma queda muito acentuada quando comparadas com as anteriores.

Após aplicação de 15 segundos do nitrogênio líquido observou-se um rápido aumento de temperatura no interior do canal radicular.

Na superfície externa da raiz, região apical e média, após aplicação do crioterápico a temperatura apresentou um declínio por um período de 3 a 4 segundos, mostrando uma inércia na queda de temperatura. Após este tempo há uma estabilização por 2 a 3 segundos até evidenciar-se início do aquecimento com maior velocidade nos primeiros 5 segundos.

Na superfície externa da raiz, região cervical, notou-se que após o término de aplicação do crioterápico estas continuaram a cair por mais tempo passando por um período de estabilização maior.

Dez segundos após aplicação notou-se uma diminuição progressiva na velocidade de aquecimento, mostrando áreas de estabilização das temperaturas maiores à medida que se aproximaram da temperatura inicial do teste. As temperaturas retornaram as iniciais a partir de 6 minutos após aplicação, podendo se estender até 12 minutos dependendo da região de medição.

## 5.2 RESULTADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA PARA PROPOR UM PROTOCOLO DE APLICAÇÃO DE NITROGÊNIO LÍQUIDO INTRACANAL

Realizaram-se testes iniciais com diferentes tempos de aplicação de nitrogênio líquido no interior do canal radicular observando-se as temperaturas atingidas nos locais escolhidos para medição.

Com 25 segundos de aplicação atingiram-se temperaturas médias de -95°C intracanal. Na superfície externa radicular região apical -33°C, região média -24°C e cervical -14°C.

Aplicando-se 20 segundos atingiram-se temperaturas médias de - 80°C intracanal. Na superfície externa radicular região apical - 25°C, região média - 14°C e cervical - 5°C.

Ao aplicar-se 15 segundos atingiram-se temperaturas médias de - 44°C intracanal. Na superfície externa radicular região apical - 20°C, região média - 17°C e cervical - 0,8°C.

Baseado na revisão bibliográfica optou-se pela realização de mais experimentos com o tempo de 15 segundos de aplicação por considerar que as temperaturas obtidas com este tempo evitam danos irreversíveis as estruturas de sustentação dentárias.

### 5.2.1 Análise da temperatura intracanal na região apical durante aplicação de 15 segundos de nitrogênio e 10 segundos após aplicação

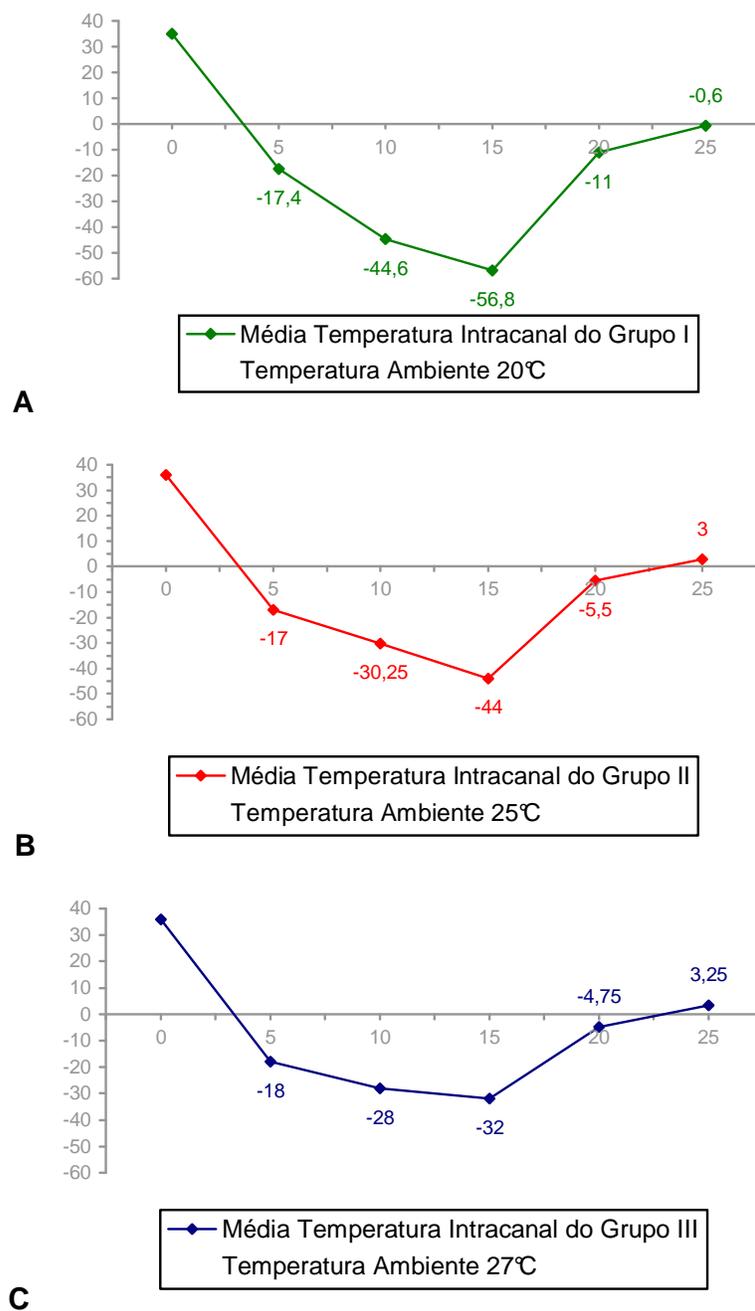


Gráfico 1 - Média temperatura intracanal: A – Grupo I; B – Grupo II; e C – Grupo III

**Tabela 1 - Análise estatística temperatura intracanal, região Apical**

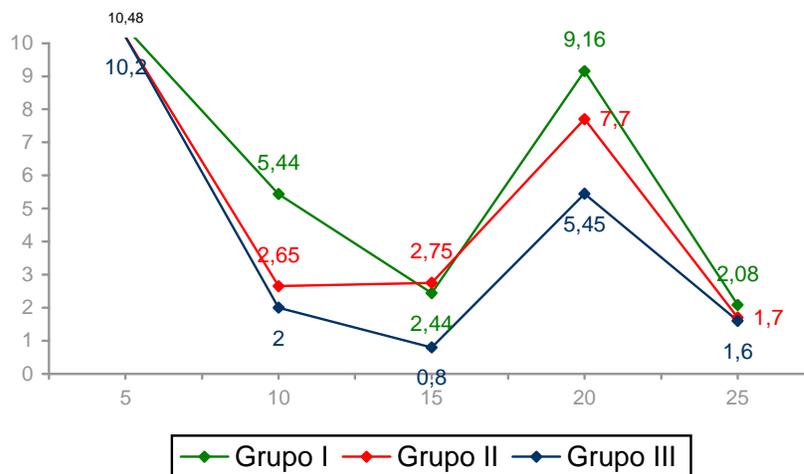
Tempo (segundos)	Temperatura ambiente						Total	
	Grupo I 20°		Grupo II 25°		Grupo III 27°			
	Média	Desvio-padrão	Média	Desvio-padrão	Média	Desvio-padrão	Média	Desvio-padrão
5	-17,40 <sup>Ba</sup>	5,55	-17,00 <sup>BCa</sup>	10,20	-18,00 <sup>BCa</sup>	14,90	-17,46	9,59
10	-44,60 <sup>Ca</sup>	7,67	-30,25 <sup>CDa</sup>	5,50	-28,00 <sup>Ca</sup>	11,83	-35,08	11,15
15	-56,80 <sup>Cb</sup>	7,40	-44,00 <sup>Dab</sup>	5,72	-32,00 <sup>Ca</sup>	10,61	-45,23	13,01
20	-11,00 <sup>ABa</sup>	6,52	-5,50 <sup>ABa</sup>	1,91	-4,75 <sup>ABa</sup>	0,96	-7,38	4,93
25	-0,60 <sup>Aa</sup>	3,36	3,00 <sup>Aa</sup>	0,82	3,25 <sup>Aa</sup>	0,96	1,69	2,78
Total	-26,08	22,35	-18,75	18,06	-15,90	16,28	-20,69	19,56

Médias seguidas de letras maiúsculas distintas na coluna e médias seguidas de letras minúsculas distintas na linha diferem significativamente através da Análise de Variância, utilizando o delineamento em medidas repetidas, complementada pelo Teste de Comparações Múltiplas de Tukey, ao nível de significância de 5%.

**Tabela 2 - Análise de Variância em medidas repetidas**

Causa de variação	Grau de liberdade	F	P
Temperatura	2	4,56	0,039
Tempo	4	137,36	<0,001
Temperatura*Tempo	8	3,75	0,002

Através da Análise de Variância, utilizando o delineamento em medidas repetidas, complementada pelo Teste de Comparações Múltiplas de Tukey, ao nível de significância de 5%, verifica-se haver interação significativa entre Temperatura ambiente e Tempo, ou seja, fixando a temperatura ambiente em 20° os tempos 10 e 15 segundos apresentam as menores temperaturas sendo significativamente menores do que nos demais tempos; fixando-se a temperatura ambiente em 25° verificou-se que o tempo 15 segundos apresenta a menor temperatura sendo significativamente menor do que nos demais tempos exceto para o tempo 10 segundos; na temperatura ambiente de 27° verificou-se que as menores temperaturas estão nos tempos 10 e 15 segundos, sendo significativamente menores do que nos tempos 20 e 25 segundos. Fixando-se os tempos e comparando as temperaturas ambientes, verificou-se que somente no tempo 15 segundos existe diferença entre as temperaturas, ou seja, na temperatura ambiente de 20° a temperatura atingida é significativamente menor do que na temperatura ambiente de 27°.



**Gráfico 2 - Velocidade da variação de temperatura intracanal, região apical, graus Celsius/segundos**

Analisando-se a velocidade de variação da temperatura intracanal na região apical nos primeiros 5 segundos de teste não se notou diferença relacionada às diferentes temperaturas ambiente, 10°C/s nesta região em todos os testes.

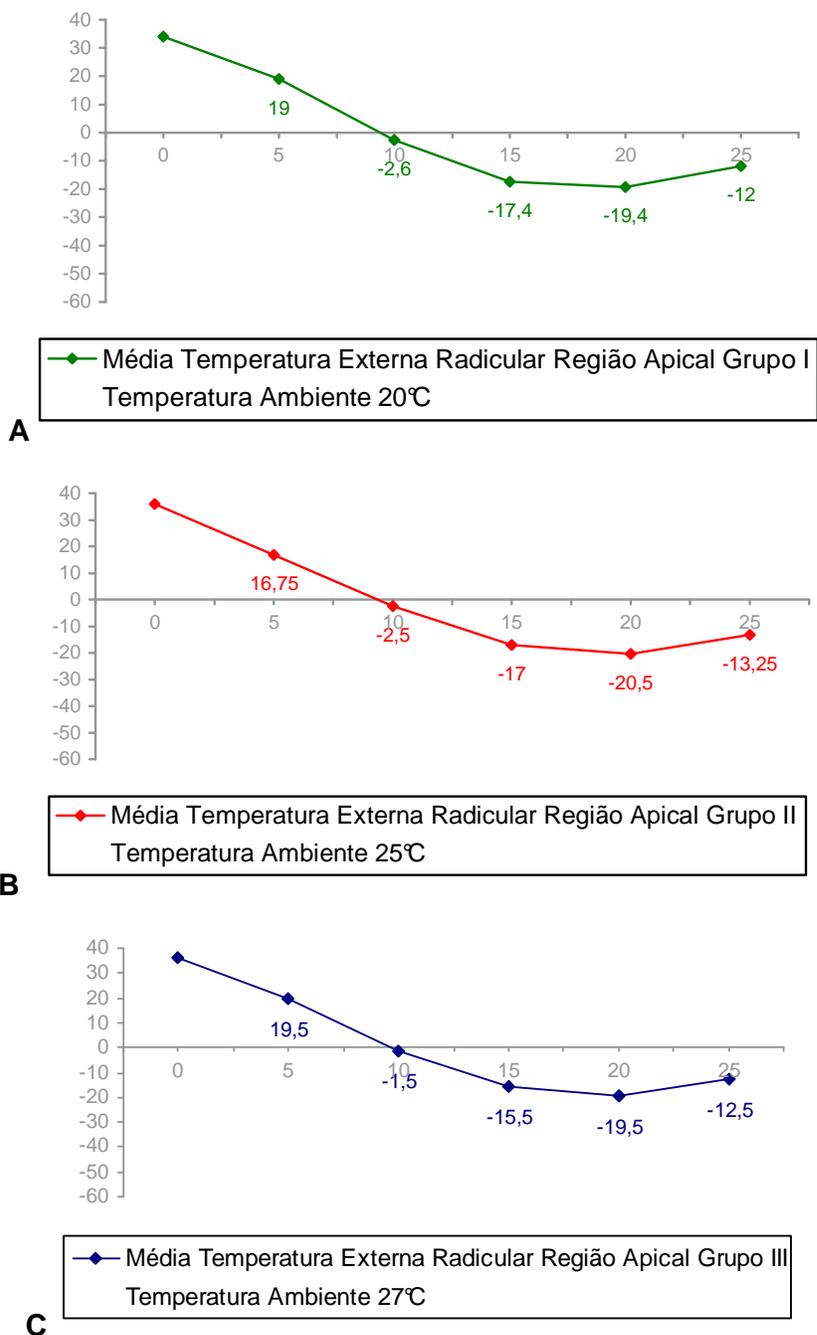
Aos 10 segundos de teste notou-se uma diminuição no rendimento do aparelho usado na aplicação de nitrogênio líquido. A velocidade de variação de temperatura no grupo I foi de 5,44°C/s, no grupo II foi igual a 2,65°C/s e no grupo III de 2°C/s.

A velocidade de variação de temperatura aos 15 segundos de teste, término de aplicação do agente crioterápico, mostrou-se semelhantes nos grupos I e II.

Após o término da aplicação foi observado no tempo 20 segundos, uma velocidade de variação rápida em todos os testes, sendo maior o desempenho obtido no grupo I igual a 9,16°C/s do que nos grupos II 7,70°C/s e grupo III uma velocidade de variação de 5,45°C/s.

No tempo 25 segundos notou-se uma diminuição na velocidade de variação de temperatura em todos os grupos. No grupo I a velocidade foi de 2,08°C/s. No grupo II de 1,7°C/s. Os testes realizados em temperatura ambiente de 27°C, grupo III a velocidade foi de 1,6°C/s.

### 5.2.2 Análise da temperatura na superfície externa radicular correspondente a região apical durante aplicação de 15 segundos de nitrogênio e 10 segundos após aplicação



**Gráfico 3 - Média temperatura externa radicular região apical: A – Grupo I; B – Grupo II e C – Grupo III**

**Tabela 3 - Análise estatística temperatura superfície externa da raiz, região apical**

Tempo (segundos)	Temperatura ambiente						Total	
	Grupo I 20°		Grupo II 25°		Grupo III 27°			
	Média	Desvio-padrão	Média	Desvio-padrão	Média	Desvio-padrão	Média	Desvio-padrão
5	19,00	2,00	16,75	3,69	19,50	3,00	18,46 <sup>A</sup>	2,90
10	-2,60	0,89	-2,50	2,89	-1,50	2,38	-2,23 <sup>B</sup>	2,01
15	-17,40	0,55	-17,00	1,41	-15,50	3,00	-16,69 <sup>D</sup>	1,89
20	-19,40	3,29	-20,50	1,73	-19,50	2,52	-19,77 <sup>E</sup>	2,49
25	-12,00	4,64	-13,25	2,06	-12,50	1,73	-12,54 <sup>C</sup>	3,04
Total	-6,48	14,51	-7,30	13,98	-5,90	14,58	-6,55	14,16

Médias seguidas de letras distintas diferem significativamente através da Análise de Variância, utilizando o delineamento em medidas repetidas, complementada pelo Teste de Comparações Múltiplas de Tukey, ao nível de significância de 5%

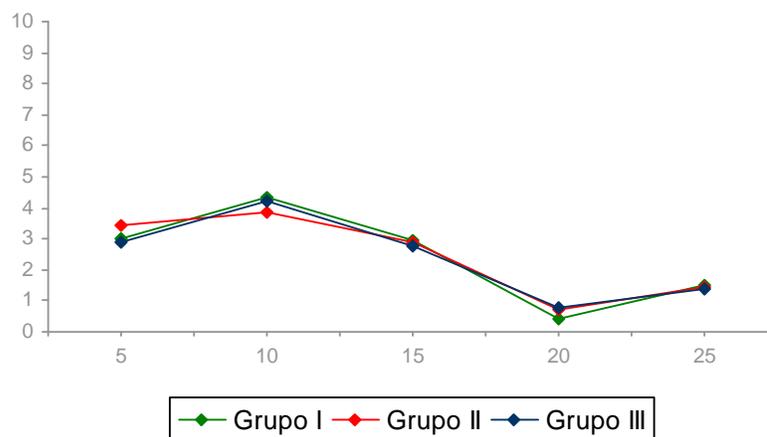
**Tabela 4 - Análise de Variância em medidas repetidas.**

Causa de variação	Grau de liberdade	F	p
Temperatura	2	0,54	0,599
Tempo	4	776,57	<0,001
Temperatura*Tempo	8	0,50	0,847

Através da Análise de Variância, utilizando o delineamento em medidas repetidas, complementada pelo Teste de Comparações Múltiplas de Tukey, ao nível de significância de 5%, verificou-se não haver interação significativa entre Tempo e Temperatura ambiente, quanto aos efeitos principais somente Tempo foi significativo, ou seja, independente da Temperatura ambiente os tempos apresentam temperaturas significativamente diferentes entre si.

Observou-se que não há um aquecimento rápido após aplicação do agente crioterápico e que nos primeiros 5 segundos ainda há uma queda na temperatura. No grupo I partindo de uma temperatura de -17,40°C para uma temperatura de -19,40°C. No grupo II a temperatura atingida após aplicação de 17,00°C, 5 segundos após caiu para -20,50°C. No grupo III a temperatura atingida no final da aplicação foi de -15,50°C passando 5 segundos após a -19,50°C.

Aos 10 segundos após aplicação notou-se aquecimento em todos os testes independente das temperaturas ambientes.



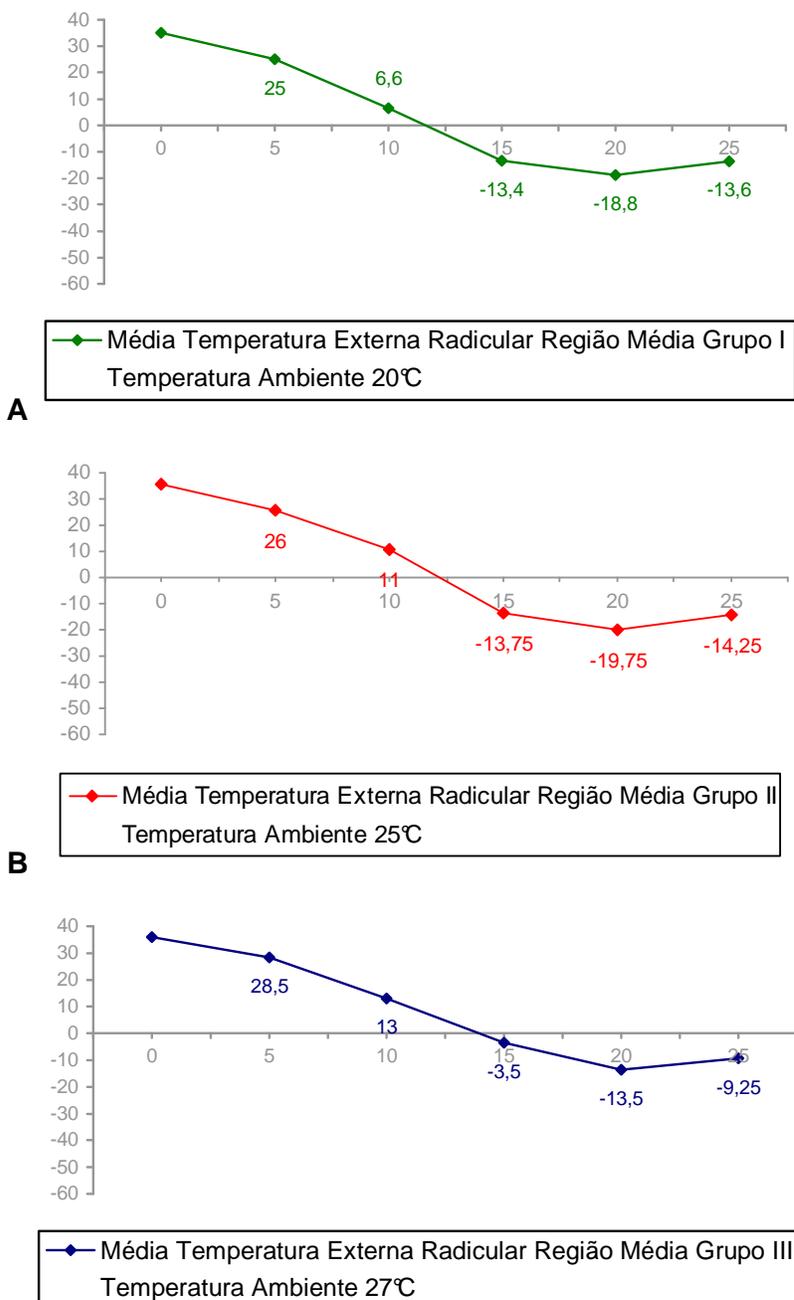
**Gráfico 4 - Velocidade de variação da temperatura na superfície externa da raiz, região apical, graus Celsius/segundos**

A velocidade de congelamento nos tempos 5,10 e 15 segundos em todos os testes realizados variou entre 2,8°C/s a 4,32°C/s. Com uma velocidade média de 3,12°C/s aos 5 segundos, 4,12°C/s aos 10 segundos e 2,95°C/s aos 15 segundos.

Após aplicação do crioterápico no período de 15 a 20 segundos houve uma diminuição na velocidade de congelamento que variou de 0,4°C/s até 0,8°C/s, com uma velocidade média de 0,63°C/s.

Aos 10 segundos após aplicação notou-se aquecimento em todos os testes independente das temperaturas ambientes com uma velocidade média de 1,44°C/s.

### 5.2.3 Análise da temperatura na superfície externa radicular correspondente a região média durante aplicação de 15 segundos de nitrogênio e 10 segundos após aplicação



**C**  
Gráfico 5 - Média temperatura externa radicular região média: A – Grupo I;  
B – Grupo II e C – Grupo III

**Tabela 5 - Análise estatística temperatura superfície externa da raiz, região média**

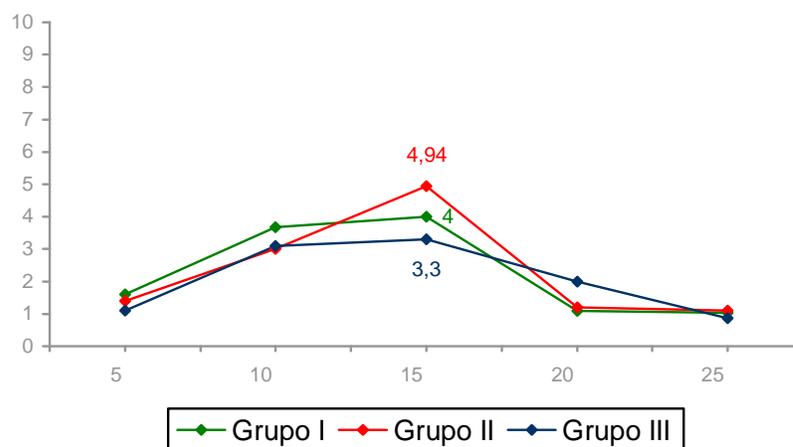
Tempo (segundos)	Temperatura ambiente						Total	
	Grupo I 20°		Grupo II 25°		Grupo III 27°			
	Média	Desvio-padrão	Média	Desvio-padrão	Média	Desvio-padrão	Média	Desvio-padrão
5	25,00 <sup>Aa</sup>	0,71	26,00 <sup>Aa</sup>	2,71	28,50 <sup>Aa</sup>	3,00	26,38	2,57
10	6,60 <sup>Ba</sup>	2,51	11,00 <sup>Ba</sup>	3,37	13,00 <sup>Ba</sup>	5,72	9,92	4,61
15	-13,40 <sup>Ca</sup>	1,14	-13,75 <sup>Ca</sup>	3,40	-3,50 <sup>Ca</sup>	6,81	-10,46	6,19
20	-18,80 <sup>Da</sup>	4,71	-19,75 <sup>Da</sup>	3,59	-13,50 <sup>Da</sup>	6,24	-17,46	5,30
25	-13,60 <sup>Ca</sup>	5,32	-14,25 <sup>Ca</sup>	3,40	-9,25 <sup>Da</sup>	4,43	-12,46	4,72
Total	-2,84	17,04	-2,15	18,34	3,05	16,70	-0,82	17,27

Médias seguidas de letras maiúsculas distintas na coluna e médias seguidas de letras minúsculas distintas na linha diferem significativamente através da Análise de Variância, utilizando o delineamento em medidas repetidas, complementada pelo Teste de Comparações Múltiplas de Tukey, ao nível de significância de 5%

**Tabela 6 - Análise de Variância em medidas repetidas.**

Causa de variação	Grau de liberdade	F	p
Temperatura	2	3,38	0,076
Tempo	4	912,70	<0,001
Temperatura*Tempo	8	3,19	0,007

Através da Análise de Variância, utilizando o delineamento em medidas repetidas, complementada pelo Teste de Comparações Múltiplas de Tukey, ao nível de significância de 5%, verificou-se não haver interação significativa entre Tempo e Temperatura ambiente, quanto aos efeitos principais somente Tempo foi significativo, ou seja, independente da Temperatura ambiente os tempos apresentam temperaturas significativamente diferentes entre si. Fixando-se a temperatura ambiente em 20°C, o tempo de 20 segundos apresenta a menor temperatura sendo significativamente menor que nos demais tempos; fixando-se a temperatura ambiente em 25°C verificou-se que o tempo 20 segundos apresenta a menor temperatura sendo significativamente menor do que nos demais tempos; na temperatura ambiente de 27°C notou-se que as menores temperaturas estão nos tempos 20 e 25 segundos, sendo significativamente menores do que nos outros tempos.



**Gráfico 6 - Velocidade de variação da temperatura na superfície externa da raiz, região média, graus Celsius/segundos**

A variação média de velocidade dos grupos I, II e III no tempo 5 segundos foi de 1,37°C/s.

Aos 10 segundos de teste houve um aumento na variação de velocidade média dos grupos I, II e III para 3,3°C/s.

Após 15 segundos de teste fim do período de aplicação de nitrogênio líquido obteve-se um pequeno aumento da variação de velocidade no grupo III igual a 3,3°C/s e no grupo I 4,00°C/s. No grupo II atingiu-se uma velocidade de congelamento de 4,94°C/s.

Após aplicação do crioterápico no período de 15 a 20 segundos houve uma diminuição na velocidade que variou de 1,08°C/s até 2,0°C/s, com uma velocidade média de 1,42°C/s.

Aos 10 segundos após aplicação notou-se aquecimento em todos os testes independente das temperaturas ambientes com uma velocidade média de 1°C/s.

### 5.2.4 Análise da temperatura na superfície externa radicular correspondente a região cervical durante aplicação de 15 segundos de nitrogênio e 10 segundos após aplicação

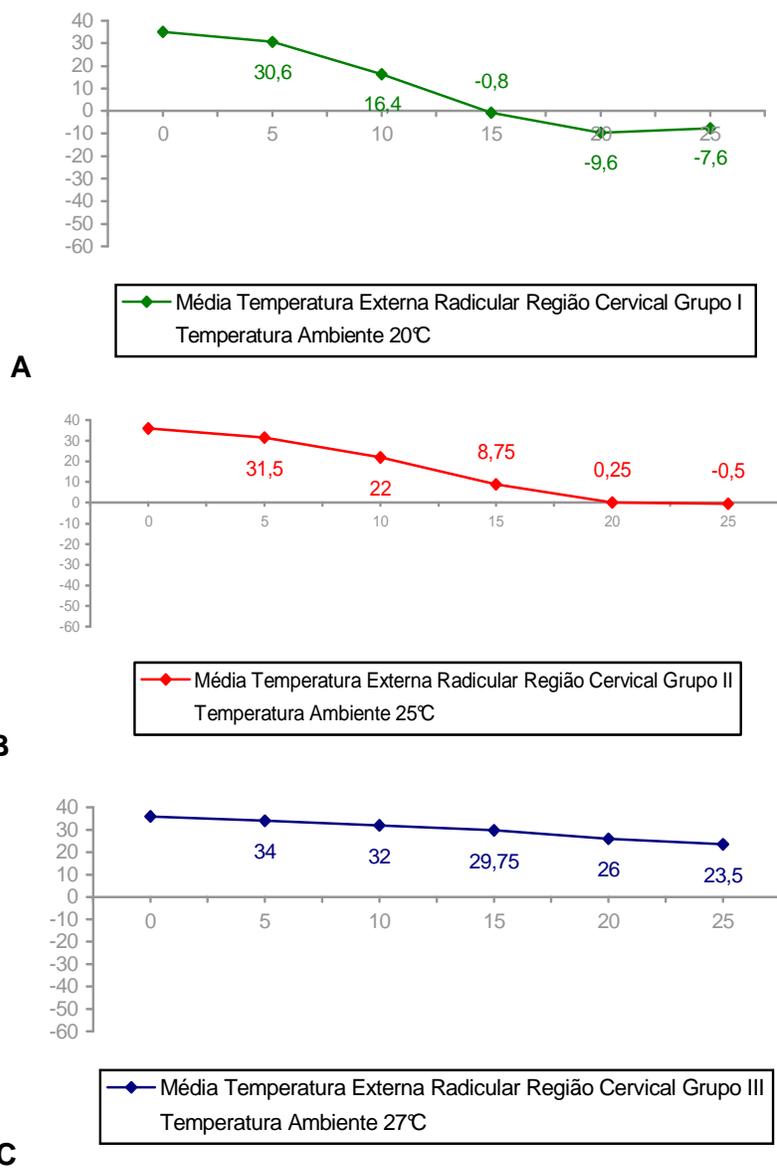


Gráfico 7 - Média temperatura externa radicular região cervical: A – grupo I; B – Grupo II e C – Grupo III

**Tabela 7 - Análise estatística temperatura superfície externa da raiz, região cervical**

Tempo (segundos)	Temperatura ambiente						Total	
	Grupo I 20°		Grupo II 25°		Grupo III 27°			
	Média	Desvio-padrão	Média	Desvio-padrão	Média	Desvio-padrão	Média	Desvio-padrão
5	30,60 <sup>Aa</sup>	0,55	31,50 <sup>Aa</sup>	1,29	34,00 <sup>Aa</sup>	0,82	31,92	1,71
10	16,40 <sup>Bb</sup>	2,97	22,00 <sup>Bb</sup>	2,16	32,00 <sup>Aa</sup>	1,41	22,92	7,08
15	-0,80 <sup>Cc</sup>	3,11	8,75 <sup>Cb</sup>	4,19	29,75 <sup>ABa</sup>	1,71	11,54	13,60
20	-9,60 <sup>Dc</sup>	3,65	0,25 <sup>Db</sup>	4,92	26,00 <sup>BCa</sup>	2,16	4,38	15,96
25	-7,60 <sup>Db</sup>	4,83	-0,50 <sup>Db</sup>	4,36	23,50 <sup>Ca</sup>	2,08	4,15	14,25
Total	5,80	16,02	12,40	13,26	29,05	4,22	14,98	15,83

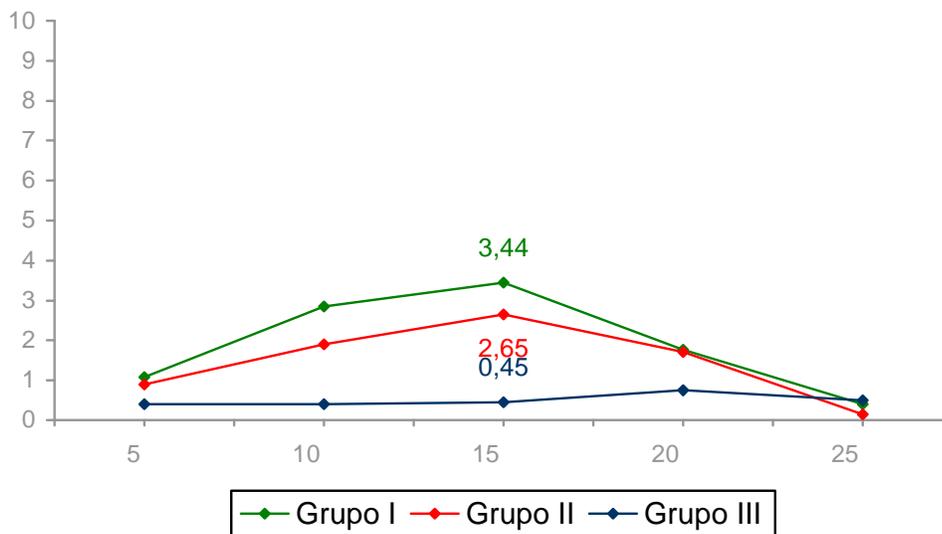
Médias seguidas de letras maiúsculas distintas na coluna e médias seguidas de letras minúsculas distintas na linha diferem significativamente através da Análise de Variância, utilizando o delineamento em medidas repetidas, complementada pelo Teste de Comparações Múltiplas de Tukey, ao nível de significância de 5%

**Tabela 8 - Análise de Variância em medidas repetidas**

Causa de variação	Grau de liberdade	F	p
Temperatura	2	110,80	<0,001
Tempo	4	379,04	<0,001
Temperatura*Tempo	8	44,94	<0,001

Através da Análise de Variância, utilizando o delineamento em medidas repetidas, complementada pelo Teste de Comparações Múltiplas de Tukey, ao nível de significância de 5%, verificou-se haver interação significativa entre Temperatura ambiente e Tempo, ou seja, fixando-se a temperatura ambiente em 20°C os tempos 20 e 25 segundos apresentam as menores temperaturas sendo significativamente menores do que nos demais tempos; fixando-se a temperatura ambiente em 25° verifica-se que os tempos 20 e 25 segundos apresentam a menor temperatura sendo significativamente menores do que nos demais tempos ; na temperatura ambiente de 27°C verificou-se que a menor temperatura está no tempo 25 segundos, sendo significativamente menor do que nos tempos 5, 10 e 15 segundos. Fixando-se os tempos e comparando as temperaturas ambientes, verificou-se que no tempo 10 segundos existe diferença entre as temperaturas dos grupos I e II com as do grupo III, ou seja, na temperatura ambiente de 20°C e 25°C a temperatura atingida é significativamente menor do que na temperatura ambiente de 27°. No tempo 15

segundos a temperatura no grupo I é significativamente menor do que nos grupos II e III. Aos 25 segundos há diferença estatística entre os grupos I e II para o grupo III.



**Gráfico 8 - Velocidade de variação da temperatura na superfície externa da raiz, região cervical, graus Celsius/segundos**

Nos primeiros 5 segundos de teste a velocidade de variação de temperatura para os grupos I e II chegaram aos valores 1,08 °C/s e 0,9°C/s. No grupo III a velocidade de variação é de 0,4°C/s.

Notou-se um aumento nesta velocidade nos grupos I e II nos próximos 10 segundos atingindo 3,44°C/s e 2,65°C/s respectivamente e um leve aumento no grupo III atingindo 0,45°C/s.

No período de 15 a 25 segundos notou-se uma diminuição nos grupos I e II chegando a 0,4°C/s e 0,15°C/s. O grupo III atingiu sua maior velocidade de variação no intervalo de 15 a 20 segundos, 0,75°C/s, diminuindo após para 0,5°C/s no tempo 25 segundos.

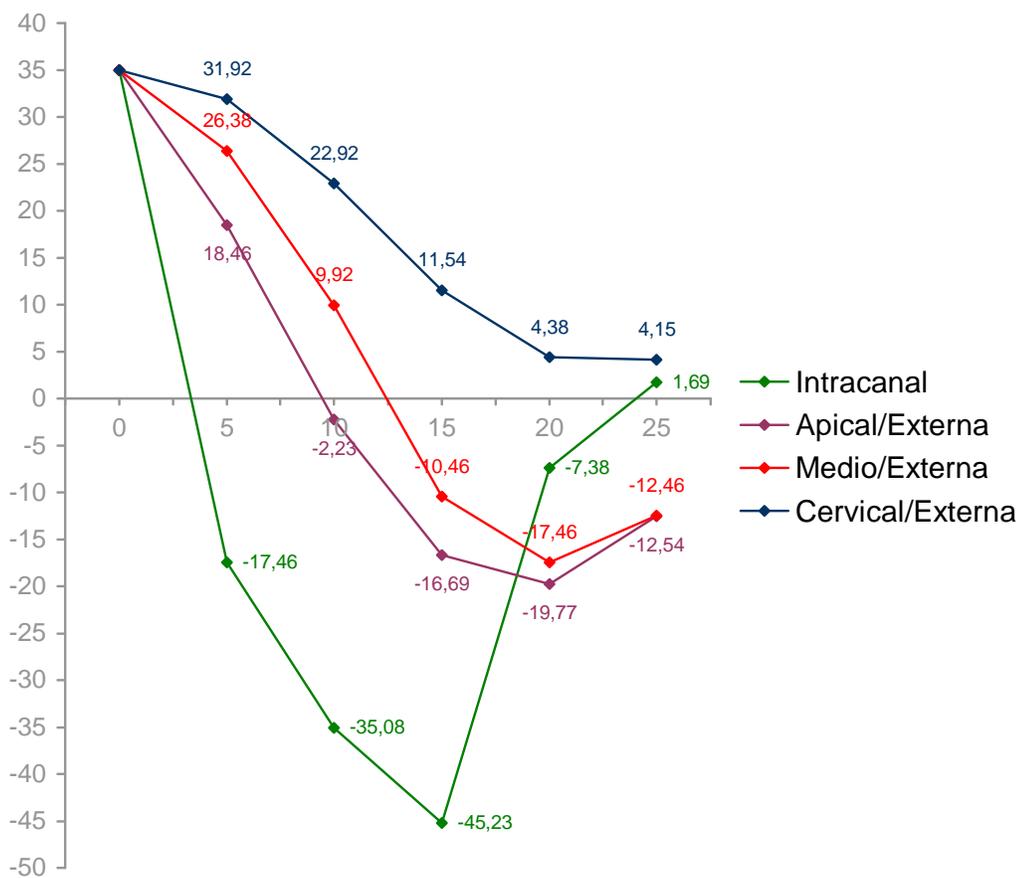
### 5.2.5 Protocolo de aplicação de nitrogênio líquido intracanal

As temperaturas médias atingidas com aplicação de 15 segundos de nitrogênio líquido intracanal, com o modelo proposto e em temperatura ambiente entre 20°C e 27°C, foram:

- Intracanal, região apical : -45,23°C
- Superfície externa radicular, região apical : -19,77°C
- Superfície externa radicular, região média : -17,46°C
- Superfície externa radicular, região cervical : 4,15°C

As velocidades de congelamento com aplicação de 15 segundos de nitrogênio líquido intracanal, com o modelo proposto e em temperatura ambiente entre 20°C e 27°C, foram:

- Intracanal, região apical : 5,34°C/s
- Superfície externa radicular, região apical : 3,44°C/s
- Superfície externa radicular, região média : 3,30°C/s
- Superfície externa radicular, região cervical : 1,56°C



**Gráfico 9 - Médias de Temperaturas – Regiões de Medidas - °C/Segundos**

As temperaturas voltaram aos valores iniciais, em média, 8 minutos após aplicação.

## 6 DISCUSSÃO

Os trabalhos citados na revisão bibliográfica descrevem protocolos da utilização de crioterapia com fins terapêuticos. Estes autores apresentam seus resultados com aplicação de um agente criogênico em tecidos moles e tecido ósseo.

Até o presente momento, não há registros na literatura sobre a utilização de crioterapia em canais radiculares e o comportamento dos tecidos dentários na condução de temperatura.

A partir desta ausência de trabalhos, elaborou-se um modelo experimental que reproduz as condições térmicas de um dente em seu alvéolo, assim como a medida das variações de temperaturas durante e após aplicação de nitrogênio líquido no interior de seu canal radicular.

Visando aplicação do crioterápico a nível apical, por acesso intracanal, optou-se pela utilização de um sistema aberto para aplicação do agente crioterápico através de agulhas com diâmetro compatível ao do canal radicular.

Tal (1982) refere que os tecidos mais próximos da aplicação atingem temperaturas mais baixas que os mais distantes. Portanto as temperaturas médias obtidas na superfície externa radicular estão relacionadas à aplicação do crioterápico na região apical. Valores diferentes seriam encontrados com a aplicação na região cervical ou média da raiz.

As temperaturas medidas na superfície externa radicular também estão relacionadas ao dente testado. É importante ressaltar esse dado, visto que a espessura de tecido dentário pode alterar os resultados, sugerindo maior elucidação em outros trabalhos comparando vários tipos de dentes.

Quando aplicado nitrogênio líquido por um determinado tempo no interior do canal radicular o modelo experimental proposto forneceu valores de temperaturas tanto intracanal quanto da superfície externa do dente.

As observações durante os experimentos e a análise das temperaturas encontradas permitem avaliar o comportamento do modelo proposto.

O equipamento digital micro-processado possibilitou um regime estacionário de 36°C em torno da raiz do dente em diferentes temperaturas ambientes. Nos experimentos com temperatura ambiente de 20°C foi necessário ajustar o equipamento para 41,9°C com o intuito de compensar a perda de calor para o meio externo. Em temperatura ambiente de 27°C foi necessário uma produção de calor de 39°C.

Mesmo com a manutenção da temperatura em 36°C próximo da raiz dentária, as medidas iniciais de temperatura têm diferenças, de acordo com a localização. Por exemplo: a temperatura medida na região cervical, que é a mais próxima do meio ambiente, mostrou-se sempre 1°C a 2°C menor do que a medida na região apical.

A análise dos gráficos obtidos nos diversos testes mostra curvas com comportamentos semelhantes. Porém, se for utilizado o recurso do aplicativo de aproximação (zoom) para análise dos mesmos tempos nos diferentes testes, nota-se que os valores numéricos diferem entre si.

Próximo aos 10 segundos de aplicação do nitrogênio líquido foi observado uma diminuição no rendimento do aparelho. Isso foi comprovado através do cálculo das velocidades de congelamento (Gráfico 2).

Em testes iniciais com aplicação de 25 segundos de nitrogênio líquido notou-se o mesmo comportamento, isto é, um período de diminuição do rendimento do aparelho usado próximo aos 10 segundos de aplicação. Após um período de 5 a 7 segundos de baixa velocidade de congelamento observou-se um aumento nesta por mais 5 segundos onde apresentou nova desaceleração.

Duas hipóteses foram levantadas para explicar este comportamento: a formação de cristais de gelo no interior da agulha e o fenômeno físico denominado Joule-Thomson.

Em relação à formação de cristais de gelo, isto é explicado pelo fato de haver condensação de água da atmosfera ao aplicar-se o nitrogênio líquido. A água passa do estado gasoso para o líquido e a seguir para o sólido, tanto na superfície externa como no interior da agulha. A formação de cristais de gelo no interior da agulha diminui o seu diâmetro obstruindo a vaporização do nitrogênio líquido. Portanto, o diâmetro da agulha para aplicação do crioterápico interfere no desempenho do aparelho.

O segundo fator que pode ter influenciado no rendimento de congelamento do equipamento é explicado pelo fenômeno físico de expansão adiabática do gás ou Joule-Thomson. A saída do gás mantido sob alta pressão através do pequeno orifício da agulha para produção de congelamento depende de uma fonte de aquecimento para que ao se expandir o gás possa roubar calor do meio ambiente provocando o congelamento.

Nos experimentos observou-se a formação de gelo próximo aos 10 segundos de aplicação de nitrogênio líquido isto provocou uma saturação do sistema pela diminuição do calor necessário para a expansão do gás próximo a saída da agulha.

A análise estatística das temperaturas médias obtidas na região intracanal e cervical, após 10 segundos de aplicação, mostraram-se significativamente diferentes quando comparadas em temperatura ambiente de 20°C e 27°C (Tabelas 2 e 8). Esta diferença estatística comprova que a diminuição do rendimento do aparelho usado na aplicação do nitrogênio líquido foi maior nos testes realizados em temperatura ambiente de 27°C.

Na superfície externa radicular, região apical e média (Tabela 4 e 6), por sua vez, não ficou constatada influência da temperatura ambiente.

Foi discutido, até o momento, o modelo experimental, o aparelho utilizado para aplicação e suas vicissitudes.

A partir de agora será abordada a segunda proposta do trabalho, que envolve o protocolo para aplicação de nitrogênio líquido intracanal. Valores de referência citados na literatura como responsáveis por morte celular e as médias de temperaturas encontradas nos testes serão discutidos observando seus prováveis efeitos nos tecidos de sustentação dentária.

Leopard (1975), Shepherd (1976), Tal (1982), Tal e Rifkin (1986) e Tal (1992) relacionam os mecanismos de destruição celular quando submetidos a baixas temperaturas e afirmam que temperaturas inferiores a  $-20^{\circ}\text{C}$  causam morte celular.

Uma análise dos valores médios de temperaturas atingidas nos locais de medidas na superfície externa radicular com aplicação de nitrogênio líquido por 25 e 20 segundos mostrou que são alcançadas temperaturas baixas o suficiente para sugerir a morte celular em periodonto e osso alveolar ao redor de um dente.

Com aplicação de 15 segundos, as temperaturas alcançadas na superfície externa radicular sugerem necrose periodontal e óssea na região apical com uma extensão de até 2 mm, porém Pogrel et al. (2002) e Tal et al (1991), em seus trabalhos, descrevem reparo destes tecidos em 30 dias.

As diferenças de temperaturas alcançadas dentro do canal e na superfície externa radicular demonstram a baixa condutibilidade de temperatura apresentada pela dentina e cimento.

Quando se compara as temperaturas obtidas na região cervical e apical, na superfície externa radicular, pode-se afirmar que a ação do congelamento sobre os tecidos de sustentação dentários é maior quanto mais próximo estiverem da zona de aplicação do crioterápico. Achados semelhantes ao trabalho de Tal (1982) que afirmou: As células próximas à interface tecido-sonda congelam rapidamente. As células mais distantes congelam lentamente por estarem próximas de fontes de calor

como os vasos sangüíneos. Estas não atingem a mesma temperatura que aquelas próximas à superfície da sonda.

Outro fator importante causador de morte celular é a velocidade de congelamento responsável pela formação de cristais de gelo intra ou extra-celulares ressaltado por Leopard (1975). A formação de cristais de gelo intra ou extra-celulares depende da velocidade de congelamento onde um rápido congelamento, maior do que 5°C/s, produz maior taxa de mortalidad e.

As velocidades de congelamento com aplicação de 15 segundos de nitrogênio líquido intracanal, com o modelo proposto, podem proporcionar a formação de cristais de gelo intracelular nos tecidos próximos ao ápice radicular onde se atingiu 5,34°C/s.

O modelo experimental mostrou que as temperaturas retornaram as iniciais em média 8 minutos após aplicação do crioterápico. Este aquecimento lento é desejável para destruição celular segundo trabalhos de Emmings; Koepf e Gage,(1967); Fiore-donno et al., (1984). Os mesmos autores afirmam que após o congelamento e reaquecimento de um tecido, um novo congelamento da mesma área ocorre mais rapidamente e, em maior extensão, pois a propagação da temperatura é facilitada.

Um novo ciclo de congelamento, com tempo inferior a 8 minutos do primeiro, poderia facilitar à propagação da temperatura atingindo-se temperaturas inferiores a -20°C na superfície externa radicular aumentando o poder de destruição celular.

Baseado nos trabalhos de Ingram e Peters (1983), Peters et al (1986) e Barletta (1994), que submeteram o esmalte dentário a temperaturas médias de -74,6°C e não encontraram trincas em sua estrutura. Pode-se afirmar que as temperaturas obtidas com 15 segundos de aplicação não provocam trincas aos tecidos dentários. Reforça esta afirmação que no protocolo proposto as temperaturas mais baixas foram alcançadas em dentina que é um tecido com maior elasticidade comparado com o esmalte.

Partindo dos resultados deste trabalho pode-se afirmar que a aplicação de 15 segundos de nitrogênio líquido intracanal pode ser indicada como referência para outros estudos em modelo animal a fim de observar áreas de necrose e regeneração dos tecidos próximos ao ápice radicular. Neste sentido, outros estudos devem ser conduzidos para estabelecer a influência de variáveis não testadas, como por exemplo, diversidade da anatomia radicular dentária.

Pode-se sugerir a utilização do modelo experimental proposto para estudos que visem elucidar as temperaturas geradas com o uso de técnicas de tratamento em Odontologia.

## 7 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos pode-se concluir que:

- O modelo experimental permitiu conhecer a condutibilidade das estruturas dentárias quando da aplicação de um agente crioterápico no interior do canal radicular.

## REFERÊNCIAS

- ATRIZADEH, F.; KENNEDY, J.; ZANDER, H. Ankylosis of teeth following thermal injury. **J Periodont Res**, v. 6, p. 159-67, 1971.
- BATISTA, P.S. **Análise do efeito do spray de nitrogênio líquido em culturas de bactérias *Enterococcus faecalis* – Estudo in vitro**. Porto Alegre: PUCRS, 2006, 87p. Tese (Doutorado em Odontologia – Área de concentração em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial). Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2006.
- BARLETTA, B.F. Avaliação *in vitro* dos possíveis efeitos danosos na superfície do esmalte dentário humano frente ao emprego do bastão de neve carbônico. São Paulo: USP, 1994, 80p. Tese (Doutorado em Odontologia – Área de concentração Endodontia). Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, 1994.
- BELTRÃO, R.G. **Análise clínica dos efeitos do nitrogênio líquido aplicado com hastes de algodão em lábio e palato de coelhos**. Porto Alegre: PUCRS, 2003, 130p. Dissertação (Mestrado em Odontologia – Área de concentração em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial). Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2003.
- BORCHARDT, I.G.; GOMES, A.F. **Termopares**. 2. ed. Porto Alegre: Sagra, 1979.
- BRADLEY, P.F. Modern trends in cryosurgery of bone in the maxilo-facial region, **Int J Oral Surg**, Copenhagen, v.7, n.4, p.405-15, Aug 1978.
- CHAPIN, M.E. Cryosurgery with nitrous oxide: report of cases. **J Oral Surg**, Chicago, IL, v.34, n.8, p.717-21, 1976.
- CURI, M.M.; DIB, L.L.; PINTO, D.S. Management of solid ameloblastoma of the jaws with liquid nitrogen spray cryosurgery. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol and Endod**, Saint Louis, v.84, p.339-44, 1997.
- ERIKSSON, A.; ALBREKTSSON, T. Temperature threshold levels for heat-induced bone tissue injury: a vital microscopic study in the rabbit. **J Prosthet Dent**, v.50, n.1, p.101-7, 1983.
- EMMINGS e cols. Freezing the mandible without exicion. **J Oral Surg**, Chicago, IL, v.24, n.2, p.145-55, Mar 1966.

EMMINGS, F.G.; KOEPF, S.W.; GAGE, A.A. Cryotherapy for benign lesions of the oral cavity. **J Oral Surg**, Chicago, IL, v.25, n.4, p.320-6, 1967.

FERRER-BERNAT, J., Criocirurgia, avanços recientes, **Dermatologia Revista Mexicana**, v.37, n.2, p.96-8, 1993.

FIORE-DONNO, G. et al. Lésions blanches: diagnostic et cryothérapie. **Schweiz Monatsschr Zahnmed**, Genebra, v.94, p.904-12, 1984.

GAGE, A. History of cryosurgery. **Seminars in Surgical Oncology**, v.14, n.2, p.99-109, Mar 1998.

GONGLOFF, R.K.; GAGE, A.A. Cryosurgical treatment of oral lesions: report the cases. **J Am Dental Assoc**, v.106, n.1, p.47-51, 1983.

HAUSAMEN, J.E. The basis, technique and indication for cryosurgery in tumours of the oral cavity and face. **J Maxillofacial Surg**, Stuttgart, De, v.3, n.1, p.41-9, Mar 1975.

INGRAM, T.A.; PETERS, D.D., Evaluation of the effects of carbon dioxide used as a pulp test.2. *In vivo* effect on canine enamel and pulpal tissues. **J Endod**, v.9, n.7, p.296-303, July 1983.

ISHIDA, C.E.; RAMOS-e-SILVA, M., Cryosurgery in lesions, **Int J Dermatol**, Philadelphia, PA, v.37, n.4, p.283-5, Apr 1998.

LEOPARD, P.J.; POSWILLO, D.E. Practical cryosurgery for oral lesions. **Br Dent J**, London, UK, v. 136, n. 5, p.185-96, 1974.

LEOPARD, P.J. Cryosurgery, and its application to oral surgery. **Br J Oral Surg**, Edinburg, UK, v.13, n.2, p.128-52, 1975.

MICHELLOTTO, A.L. et al. Avaliação da temperatura na superfície externa radicular quando na utilização de três sistemas obturadores com guta-percha termoplastificada. **J Bras Endod**, v.5, n.17, p.99-107, 2004.

PETERS, D.D. et al., Evaluation of the effects of carbon dioxide used as a pulp test. *In vitro* effect on human enamel. **J Endod**, v.9, n.6, p.219-27, June 1983.

PETERS, D.D.; MADER, C.L.; DONNELLY, J.C. Evaluation of the effects of carbon dioxide used as a pulp test.3. *In vivo* effect on human enamel. **J Endod**, v.12, n.1, p.13-20, Jan 1986.

POGREL, M.A. The use of liquid nitrogen cryotherapy in the management of locally aggressive bone lesions. **J Oral Maxillofacial Surg**, v.51, n.3, p.269-73, 1993.

POGREL, M.A.; YEN, C.K.; TAYLOR, R. A study of infrared thermographic assessment of liquid nitrogen cryotherapy. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, San Francisco, CA, v.81, n.4, p.396-401, 1996.

POGREL, M.A. et al. Effects of liquid nitrogen cryotherapy and bone grafting on artificial bone defects in minipigs: a preliminary study, **Int J Oral Maxillofacial Surg**, Copenhagen, v.31, p.296-302, 2002.

POSWILLO, D.E. Applications of cryosurgery in dentistry. **Dental Update**, Guildford, UK, v.5, n.1, p.27-30, 1978.

PUCRS. **Modelo Para Apresentação de Trabalhos Acadêmicos, Teses e Dissertações**. Segundo a NBR 14724: Trabalhos acadêmicos. Porto Alegre: Biblioteca Central Irmão José Otão, 2005.

READE, P.C. Cryosurgery in clinical dental practice. **Int Dent J**, Bristol, UK, v.29, n.1, p.1-11, 1979.

SANTOS, A. B., **Análise morfológica do efeito de diferentes protocolos de nitrogênio líquido sobre a mucosa bucal: estudo em ratos**. Porto Alegre: PUCRS, 2002, 140p. Tese (Doutorado em Odontologia – Área de concentração em Cirurgia e Traumatologia Bucocomaxilofacial) Faculdade de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2002.

SCORTEGAGNA, A. **Análise microscópica de enxerto ósseo autógeno em mandíbula de coelhos submetida à crioterapia com nitrogênio líquido**. Porto Alegre: PUCRS, 2004. 109p. Tese (Doutorado em Odontologia, área de concentração em Cirurgia e Traumatologia Bucocomaxilofacial) – Faculdade de Odontologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2004.

SHEPHERD, J.P. Effects of lowered temperatures on rat pulp and gingivae. **Oral Surg**, v.42, n.3, p.386-94, Sept 1976.

SILVA, F.M; Estudo das características histológicas do processo de reparo após aplicação de nitrogênio líquido em tecido ósseo em mandíbulas de coelhos. Porto Alegre: PUCRS, 2003. 70p. Tese (Doutorado em Odontologia, área de concentração em Cirurgia e Traumatologia Bucocomaxilofacial) – Faculdade de Odontologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2003.

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

TAL, H. Cryosurgical treatment of hemangiomas of the lip. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, Saint Louis, Mo, v.73, n.6, p.650-54, June 1992.

TAL, H.; RIFKIN, B. Cryosurgical treatment of a gingival lichen planus: report of a case. **J Am Dent Assoc**, v.113, n.4, p.629-31, 1986.

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

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

TURJANSKY, E.; STOLAR, E. **Lesiones de Piel y Mucosas, Técnica terapéuticas**. Buenos Aires: Asociación Médica Argentina, 1995. p.191.

WHITTAKER, D.K., Mechanisms of tissue destruction following cryosurgery. **Annals of the Royal College of Surgeons of England**, London, UK, v.66, n.5, p.313-8, 1984.

YEH, C.J. Simple cryosurgical treatment for oral lesions, **Int J Oral Maxillofacial Surg**, Copenhagen, v.29, n.3, p.212-6, 2000.

## **Apêndice**

---

Temperatura Ambiente

Teste

Data-hora

		Intracanal	Apical	Medio	Cervical		Intracanal	Apical	Medio	Cervical
Temp. Inc.						38seg				
	1seg					39seg				
	2seg					40seg				
	3seg					41seg				
	4seg					42seg				
	5seg					43seg				
	6seg					44seg				
	7seg					45seg				
	8seg					46seg				
	9seg					47seg				
	10seg					48seg				
	11seg					49seg				
	12seg					50seg				
	13seg					51seg				
	14seg					52seg				
	15seg					53seg				
Fim Apl.						54seg				
	1seg					55seg				
	2seg					56seg				
	3seg					57seg				
	4seg					58seg				
	5seg					59seg				
	6seg					60seg				
	7seg					70seg				
	8seg					80seg				
	9seg					90seg				
	10seg					100seg				
	11seg					110seg				
	12seg					120seg				
	13seg					130seg				
	14seg					140seg				
	15seg					150seg				
	16seg					160seg				
	17seg					170seg				
	18seg					180seg				
	19seg					190seg				
	20seg					200seg				
	21seg					210seg				
	22seg					220seg				
	23seg					230seg				
	24seg					240seg				
	25seg					250seg				
	26seg					260seg				
	27seg					270seg				
	28seg					280seg				
	29seg					290seg				
	30seg					300seg				
	31seg					360seg				
	32seg					420seg				
	33seg					480seg				
	34seg					540seg				
	35seg					600seg				
	36seg					660seg				
	37seg					720seg				

## **Anexo**

---

*Comissão Científica e de Ética*  
*Faculdade da Odontologia da PUCRS*

---

Porto Alegre 22 de abril de 2005

**O Projeto de: Tese**

**Protocolado sob nº:** 0018/05

**Intitulado:** *Uso da crioterapia no tratamento das reações inflamatórias apicais*

**do(a) aluno(a):** *Ricardo Smidt*

**Programa de:** *Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial*

**do curso de:** *Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial*

**Nível:** *Doutorado*

**Orientado pelo(a):** *Prof. Dr. Manoel Sant'Ana Filho*

Foi **aprovado** pela Comissão Científica e de Ética da Faculdade de Odontologia da PUCRS em 22 de abril de 2005.

  
**Profa. Dra. Marília Gerhardt de Oliveira**  
Presidente da Comissão Científica e de Ética da  
Faculdade de Odontologia da PUCRS