

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Odontología



**EVALUACION HISTOLOGICA Y CLINICA DEL CO₂
SOBRE LA ENCIA Y PIEL DE PERRO**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
CIRUJANO DENTISTA
P R E S E N T A :
LUIS MENDEZ GONZALEZ

México, D. F.

1984



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INTRODUCCION

El empleo de la crioterapia y de criocirugía, prácticamente se inició hace 20 años, cuando el Dr. Yrvin Cooper en 1963 ⁽¹⁾ inventó un aparato para utilizar el frío en el tratamiento del parkinsonismo y de otros padecimientos neuromusculares. A partir de ese año se han ido perfeccionando aparatos y técnicas.

En los últimos años se han empleado diversos aparatos y sustancias químicas refrigerantes, como el óxido nitroso que alcanza temperaturas de -89.5° ; el nitrógeno líquido -196°C ., el oxígeno líquido -182°C ; el dióxido de carbono sólido -78.5°C (estas temperaturas son aproximadas) ^(1,2)

Las indicaciones de las distintas sustancias congelantes dependen del tipo de padecimiento que se desea tratar ⁽³⁾ y de la capacidad de penetración del frío en los tejidos. El nitrógeno líquido es el más utilizado, debido a su capacidad de penetración que es de 3 cm. El óxido nitroso se utiliza principalmente para tratar enfermedades de naturaleza distinta a las neoplásicas, como la displasia epitelial cutánea, -- que no llega a más de tres milímetros de profundidad. ⁽¹⁾

Existen dos métodos para hacer la congelación: uno consiste en el empleo de aerosoles con los que se produce un área mayor de congelación, y el otro en la aplicación directa del congelante, con lo que se obtiene una penetración mayor del frío y una necrosis tisular más extensa. Hay quienes prefieren una u otra de estas técnicas, pero en realidad su utilización dependerá de la naturaleza del padecimiento. (1,2)

La criocirugía se ha empleado principalmente en el tratamiento de varios tipos de cáncer cutáneo, en los que se logra la curación entre el 97 y 98 por ciento de los casos en un lapso de 5 años y un 90 por ciento cuando la neoplasia es más severa⁽¹⁾. También ha sido empleada en el tratamiento de enfermedades ginecológicas, proctales, de ojos, de oídos, de nariz y de garganta, entre otros padecimientos, resistentes a la radioterapia. (5,13)

Algunas de las ventajas de la criocirugía, consisten en que el dolor es mínimo, no provoca hemorragia y puede ser empleada en personas que sufran de discrasias sanguíneas, epilepsia, enfermedades cardiovasculares y/o cuando hay contraindicaciones de una intervención quirúrgica, por el riesgo no sólo de la hemorragia, sino también de los peligros de la anestesia, o cuando la lesión es poco o nada accesible a otra clase de cirugía y además los resultados finales esperados son poco satisfactorios, (1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 11, 13).

Para poder conocer la temperatura límite a la cual las células pueden responder, el Dr. Gage (1), hizo una serie de investigaciones y del resultado de una de éstas se hacen las siguientes consideraciones:

"La hipótesis es que cuando la resistencia eléctrica de los tejidos congelados al paso de una corriente débil (10 ma), sube a niveles altos (MU) o el flujo de la corriente es insignificante, todo el líquido extracelular se cristaliza y el tejido muere enseguida. Evidencias clínicas y experimentales han demostrado que la necrosis tisular está asociada con el enfriamiento capaz de producir dichos cambios eléctricos; pero este grado de valores de resistencia en relación a la temperatura del tejido y a la necrosis posterior es muy importante para ser motivo de duda acerca de si es suficiente o excesiva la terapia de congelación".

Todo lo anteriormente expuesto fué considerado para crear en 1968-69 la "Society of Cryosurgery" y 5 años después cambiar el nombre de esta asociación por el "American College of Cryosurgery".

En la odontología el tratamiento mediante sustancias refrigerantes ha sido estudiado por distintos investigadores en diversos padecimientos. Sheperd en 1976 (4) hizo un experimento en ratas y del cual se hacen las siguientes consideraciones: Con la sonda especialmente diseñada para uso gingival

puede ser posible que se facilite la técnica de la gingivectomía y haya menos infección durante la cicatrización de los tejidos gingivales, y posiblemente se evite la colocación del apósito quirúrgico. También se ha observado que la crioterapia puede ser utilizada para el tratamiento de la resorción interna de las raíces, por existir necrosis de los odontoblastos. El resultado es una pulpa vital fibrótica, además de disminuir la presión interna de la pulpa. (4,5)

Desde 1962 Amaral J. et al (2) han tratado a pacientes con hiperplasia papilar inflamatoria con la aplicación de nitrógeno líquido, obteniendo buenos resultados; las ventajas de este método como en otros tratamientos es su fácil aplicación, ausencia o dolor mínimo y si es necesario se puede repetir el tratamiento.

Amaral y col. (2) hicieron una evaluación de la electrocirugía, de la mucoabrasión, de productos químicos, de la resección completa y de acondicionadores de tejidos con resinas, encontraron que la electrocirugía es uno de los métodos más efectivos, pero existe la desventaja de la lenta reparación y las molestias posoperatorias. La criocirugía es uno de los métodos más efectivos para remover la hiperplasia papilar inflamatoria sin requerir anestesia local; no existe el problema del sangrado y las molestias posoperatorias son mínimas, comparadas con el curetaje y la electrocirugía; la mucosa bu-

cal permanece intacta durante e inmediatamente después de la operación, no existe contaminación en el sitio de la aplicación, como ocurre con instrumentos rotatorios, además no existe mal olor durante la operación, como en la electrocirugía, y la recuperación total ocurre entre 3 y 5 semanas. ⁽¹⁰⁾

Lee Getter y col. ⁽¹⁰⁾ utilizaron para el mismo padecimiento un aparato de enfriamiento con un rango de -75°C y un tiempo de 45 segundos a una temperatura entre los -50°C y los -60°C . Amaral J. ⁽²⁾, en 20 pacientes utilizó una presión baja con duración de 15 a 30 segundos, ambos autores obtuvieron los mismos resultados, Amaral y col. mencionan que sólo se necesita presión baja para obtener una sólida congelación que tenga aproximadamente la profundidad de 2.5 mm.

Las observaciones clínicas de la aplicación del nitrógeno líquido sobre la mucosa oral, han sido mencionadas por varios autores y algunas de estas observaciones son parecidas entre sí.

Sheperd y col. ⁽⁴⁾, en un experimento hecho en la encía de ratas, mencionan que inmediatamente después de aplicado el nitrógeno líquido a -50°C . durante un minuto y medio se forma una bola de hielo aproximadamente de 0.5 cm. de diámetro que cubría la encía al final del tiempo de aplicación.

Mayers y col. ⁽¹¹⁾, en un estudio realizado en 1971, aplica

ron nitrógeno líquido a -50°C . durante 2 minutos en la encía normal de seis estudiantes de odontología que se prestaron para el estudio. Clínicamente se observó en el tejido, inmediatamente después de la aplicación, una superficie congelada dura con la apariencia de una bola de hielo; el deshielo ocurrió de 15 a 20 segundos después de la aplicación del estímulo y --partió de la periferia al centro; a los 30 minutos el tejido congelado era igual al tejido adyacente, pero a las 6 hrs., se formó una papula; a las 12 hrs. se convirtió en vesícula llena de líquido de color blanquecino, a las 24 hrs. hubo incremento del tamaño, el techo de la vesícula consistía en una membrana blanca delimitada por un halo rojo; a las 48 hrs. la vesícula se rompió quedando expuesto el tejido subyacente; al rededor de la ruptura de la vesícula la membrana de ésta era fácilmente distinguible.

Hurts y col. ⁽⁶⁾ trataron a un paciente blanco de 33 años de edad, que sufría de gingivitis. Clínicamente después de --aplicar el nitrógeno líquido a -65°C durante un minuto en la encía, observaron al cabo de cuatro días una franca ulceración del tejido congelado, y a los diez días el aspecto de la encía era normal; el edema desapareció lentamente.

Amaral y col. ⁽²⁾ en el tratamiento de la hiperplasia papilar inflamatoria en humanos, observaron que en la zona tratada existía inmediatamente después de aplicado el estímulo una es-

carcha blanca y que la superficie era sólida, estos signos de saparecieron en menos de dos minutos.

Lee Getter⁽¹⁰⁾ menciona que 2 de los 20 pacientes trata--
dos con nitrógeno líquido utilizado para curar la hiperplasia
papilar inflamatoria, tenían la sensación durante el trata- -
miento de haber comido nieve durante un largo rato, el resto-
de los pacientes no tuvieron ninguna queja.

Los resultados histológicos mediante el tratamiento de la
criocirugía con nitrógeno líquido son parecidos en algunos as
pectos a los observados en humanos y en animales de experimen
tación cuando se hace el tratamiento de distintas enfermeda--
des bucales. A continuación se resumen algunos de estos re--
sultados.

Iida Takeshi⁽¹²⁾ utilizó hamsters en el tratamiento del-
carcinoma de carrillo inducido con la aplicación superficial
3 veces a la semana de 12 dimetilbenzen en aceite mineral al-
0.5%. El tejido conectivo submucoso estaba edematoso y había
vasodilatación con trombosis, en el tejido adyacente no conge
lado se observó una ligera respuesta inflamatoria.

Hurts y col.⁽⁶⁾, observaron en un enfermo de gingivitis -
tratada a una temperatura de -65°C durante un minuto, que in-
mediatamente de aplicado el estímulo los vasos sanguíneos se-
engurgitaban y había bastante edema y formación de vesículas.

La capacidad tintorial de las células más externas del epitelio había disminuído y se había incrementado en las células profundas; a los tres días se observó infiltrado considerable de células plasmáticas, linfocitos y neutrófilo. Se observó un cambio pleomórfico en el epitelio, con aspecto neoplásico, pero sin muestras de ser invasivo, más bien degenerativo que neoplásico. A los 7 días se observó una alteración mínima de la estructura gingival profunda y a las 6 semanas no existían huellas de la acción del tratamiento.

Mayers y col. (6-11), mencionan los cambios histológicos en encías sanas del hombre y resumen la respuesta tisular de la siguiente manera: Fase I o de destrucción celular (0-18 hrs). A los treinta minutos se observó pérdida de la capacidad tintorial del citoplasma del estrato espinoso y de la parte superior de la capa basal, no se distinguieron las membranas citoplasmáticas y no fueron observados los puentes o espacios intercelulares lo que daba al tejido un aspecto de encontrarse pálido y homogéneo en contraste con la pérdida de la capacidad tintorial de los citoplasmas, los núcleos se tiñeron intensamente y estaban arrugados o fragmentados, además se observó una vacuolización intranuclear, la lámina propia era normal lo mismo que la superficie paraqueratinizada. A las 12 hrs. los núcleos se tiñeron ligeramente y hubo un cambio no usual en las células basales; algunas de estas células apa

recieron como células epiteliales multinucleadas. Dichas células tenían una membrana celular y contenían de 2 a 10 núcleos: Fase II o de reparación (18-24 hrs). A las 18 hrs. -- aparecieron cambios progresivos en el tejido epitelial viable, fueron observadas numerosas células multinucleadas no sólo en la membrana basal sino también en la capa espinosa; algunas de ellas contenían hasta 14 núcleos. A las 24 hrs. se observó el inicio de la formación del nuevo epitelio, con proyección de los clavos epiteliales. La proliferación epitelial -- ocurrió debajo de la necrosis, las vesículas separaban el epitelio necrótico del resto del tejido conectivo, las vesículas parecía que envolvían al grosor total del tejido necrótico -- viejo y lo elevaban hacia la superficie, alejándolo del tejido recién formado; las vesículas contenían exudado fibrinoso y leucocitos polimorfonucleares. En la membrana basal se observaron células con aumento de su capacidad mitótica.

Fase III o de maduración del tejido (24-48 hrs.) La única evidencia a las 48 hrs. fue la buena formación de los clavos epiteliales en el sitio donde antes existía la destrucción total del epitelio; los clavos epiteliales eran cortos e irregulares, se observaron unas cuantas células multinucleadas más pequeñas que las anteriormente vistas y la actividad mitótica era evidente en las células cercanas a la herida.

Sheperd y col. ⁽⁴⁾ describen los cambios histológicos en la encía de la siguiente manera: cuando el tejido gingival --

es expuesto a bajas temperaturas, ocurre la destrucción de la capa epitelial y esto es seguido de la reepitelización; a este cambio lo acompaña una reacción inflamatoria aguda sin que se complique con hemorragia o infección postoperatoria.

La crioterapia también ha sido utilizada en el tratamiento de tumoraciones, ya sean de tipo maligno o benigno⁽³⁾. En 1965 el Dr. Gage⁽¹³⁾, trató a 5 pacientes con cáncer del labio y de la boca; tres pacientes con carcinoma de células escamosas, uno con carcinoma adenoquístico y otro que tenía un hemangioma en la línea media del labio inferior, el cual se curó por completo en tres semanas; los 5 pacientes eran de más de 60 años de edad, uno de ellos murió después de 4 meses del tratamiento, su muerte se debió a una cardiopatía, en la autopsia no se encontró recidiva del cáncer. El mismo autor en 1977 trató a 60 pacientes de más de 40 años de edad, la mayoría tenía más de 60 años.

Los carcinomas tratados fueron los siguientes; dos de la mucosa bucal, 29 del piso de boca, 6 de los dos tercios anteriores de la lengua, dos del paladar blando, cuatro del paladar duro, once del reborde alveolar inferior, tres del reborde alveolar superior; los tumores fueron congelados in situ a -196°C durante 30 minutos. Debido a la extensión de la lesión fue necesario hacer varias aplicaciones para poder abordar todas las áreas. Treinta y dos de los 60 pacientes sobre

vivieron 5 años. Los mejores resultados fueron obtenidos en pacientes con tumoraciones de tamaño pequeño o mediano sin linfadenopatía cervical; la causa de la muerte de dieciséis pacientes, fueron diversos tipos de cardiopatías; antes de morir ya no tenían cáncer, diez murieron a causa de metastasis del carcinoma o por alguna enfermedad asociada con la metástasis. Gage⁽⁸⁾ dice que la criocirugía puede ser utilizada en pacientes con alto riesgo quirúrgico.

En 1978 Gage⁽⁹⁾ experimentó en 54 perros, congelándoles el paladar duro, colocó un termómetro entre la superficie por congelar y el aparato, otro lo colocó en los tejidos profundos del paladar entre el hueso y la zona por congelar, y otro dentro de la mucosa nasal.

Utilizaron distintas temperaturas y tiempo de exposición al nitrógeno líquido. La temperatura de la criosonda fue de -160°C , -180°C , -80°C y -40°C . El tiempo y frecuencia de aplicación de cada una de estas temperaturas fue el siguiente: una sola aplicación de tres minutos, otra de dos aplicaciones durante tres minutos cada una, y otra una sola aplicación durante seis minutos. De este experimento se tomó la siguiente tabla de aplicación a -80°C .

000	00	01	02	03	Extensión de la Lesión
Congelación sencilla de tres min.					
31	-63	-51	-21	3.7	Úlcera superficial, 3.3 x 3.4 cm.
48	-76	-60	-24	3.6	Úlcera superficial 1.3.3 x 3.2 cm.
116	-64	-52	-21	3.3	pérdida epitelial sólo en las arrugas palatinas
245	-60	-51	-28	3.5	Úlcera superficial, 3.1 x 3.0 cm.
Congelación doble de tres min.					
33	-60	-46	- 6	3.8	Úlcera profunda 3.3 x 3.3 cm.
	-62	-46	- 8	3.7	
55	-74	-68	-10	3.8	exposición de hueso 2.9 x 2.6 cm.
	-78	-70	- 6	3.8	fisura tardía 3.2 x 2.5 cm.
123	-58	-53	-18	3.8	Úlcera 3.5 x 3.2 cm. con exposición
	-65	-58	-21	3.9	de hueso 2.8 x 2.7 cm. fisura más tarde 2.0 x 1.6 cm.
236	-68	-55	-24	3.5	Úlcera 3.2 x 3.0 cm, con exposición
	-73	-58	-28	3.8	de hueso 2.4 x 2.0 cm; más tarde se formó una fistula de 0.9 x 0.7 cm.
Congelación sencilla de seis min.					
41	-79	-54	-28	3.8	Úlcera superficial 3.2 x 3.3 cm.
49	-78	-58	-24	4.1	Úlcera superficial 3.8 x 3.5 cm
35	-63	-56	-32	3.6	Úlcera profunda 3.6 x 3.5 cm
227	-62	-53	-27	3.6	Úlcera superficial 1.6 x 2.0 cm.

CLAVE:

- 000 significa el número de perro
- 00 significa la temperatura de la superficie en °C
- 01 significa la temperatura nasal en °C
- 02 significa la temperatura palatina en °C
- 03 significa la superficie congelada en cm.

Este experimento se realizó con el fin de saber el tipo de extensión de la lesión causada por el frío, aplicado, tanto a distintas temperaturas como intervalos, para así poder enfocarlo a tratamientos del cáncer.

MATERIAL Y METODOS

Se usó un perro de raza criolla de aproximadamente 4 años de edad y 50 kg. de peso. Se le mantuvo en condiciones adecuadas de laboratorio. La enfermedad periodontal se le indujo por medio de ligaduras de algodón, colocado subgingivalmente durante tres semanas. Las ligaduras fueron hechas con algodón manualmente trenzado y aplicado con un excavador y pinzas de curación. La encía tratada fué la de los dientes del maxilar superior derecho; el canino y en la zona entre el tercer premolar, cuarto premolar y segundo molar. Todas estas zonas fueron tratadas por su parte vestibular.

Al término de las tres semanas fueron retiradas las ligaduras de algodón. En la encía marginal se observaron signos de inflamación.

El pelo del lomo del animal se rasuró con una rasuradora eléctrica y se depiló con un preparado comercial, para dejar expuesta un área de piel de 13 x 7 cm. y así poder hacer el tratamiento sobre 8 partes de aproximadamente 1.5 cm. de diámetro cada una de ellas.

Tanto en la encía como en la piel cada área fue tratada con CO_2 sólido en forma de gises, durante 45 segundos siguiendo

con el área contigua mientras se descongelaba la primera zona;- pasados 45 segundos de aplicación en la segunda área se repitió la aplicación en la primera, con el fin de que cada área fuera congelada dos veces durante 45 segundos a intervalos iguales.

La temperatura fue de -80°C y su toma se hizo en el Instituto de Física de la U.N.A.M. con un Termo Par Marca Fluke Data logger 2200B.

Para sedar al perro se aplicaron por vía intramuscular - - 0.03 gr. de Propiopromazin (Combelen Bayer de México, S.A.), cada vez que se tomaron las biopsias; en ocasiones fue necesario bloquear a distancia el área con una inyección de xilocaína con epinefrina, tanto en la encía como en la piel, antes de tomar las biopsias; éstas fueron obtenidas con bisturís de Kirkland y de Fish y además se utilizó un mango de bisturí número 3 con -- una hoja de bisturí número II y tijeras para encía. Las muestras se tomaron de la siguiente manera: En la encía fueron tomadas nueve biopsias en el siguiente orden: una basal que fué - entre el cuarto premolar y primer molar inferior derecho, inmediato post-operatorio, entre el segundo premolar y tercer premolar superior derecho, después las biopsias se tomaron a los dos días, de la encía entre el tercero y cuarto premolar superior - derecho, a los cuatro días sobre el canino superior derecho, a los cinco días sobre el cuarto premolar superior, a los seis -- días sobre el primer molar inferior derecho, a los siete días -

sobre el tercer premolar inferior y a los diez días sobre el - primer premolar superior derecho.

Las biopsias de la piel fueron tomadas en el siguiente orden: Biopsia basal, inmediato post-operatorio, uno, dos, tres, cuatro, cinco y ocho días después de la aplicación del CO₂.

RESULTADOS

MUESTRA BASAL.- Se observó infiltrado crónico compuesto - básicamente por linfocitos, pocos neutrófilos y edema. En el epitelio existían áreas de espongiosis y éstas se encontraban en proliferación, había gran cantidad de vasos dilatados. Clínicamente el margen gingival estaba inflamado, bien delimitado. En la muestra de la piel no se encontraron cambios patológicos.

POST-OPERATORIO. PRIMER DIA.- Histológicamente la piel - revelaba hemorragia en el tejido conectivo, tenía un leve infiltrado inflamatorio crónico subepitelial, sin signos de reparación. A la palpación de la piel se sentía endurecimiento -- por debajo de ella.

POST-OPERATORIO. SEGUNDO DIA.- Dentro del tejido conectivo había escasa necrosis localizada. El contenido de colágena era mayor que en el espécimen anterior; en el infiltrado predominaban los neutrófilos, había amplias áreas de edema, los vasos estaban dilatados y congestionados. Clínicamente, la región congelada de la encía tenía un color verde oscuro, el olor era fétido y penetrante. La piel a la palpación era tumefacta y tenía un absceso intraepitelial en la parte córnea.

POST-OPERATORIO. TERCER DIA.- Existían pocas áreas de necrosis circunscritas en el infiltrado inflamatorio, predominaban los neutrófilos con pocos linfocitos, había desorganización de las fibras de colágena y existían áreas con edema y - la vasodilatación era notable. Clínicamente el color de la - encía era menos verde que en la observación anterior y sobre el canino superior se observó una zona blanca con un halo verde, este signo no se encontró distribuido uniformemente en todas las áreas tratadas. En el espécimen de piel existía un discreto infiltrado inflamatorio en algunos folículos pilosos y en las glándulas sebáceas había poco infiltrado subepitelial. Clínicamente la piel se apreciaba a la palpación igual que en el espécimen anterior.

POST-OPERATORIO. CUARTO DIA.- En la preparación histológica de encía se observó atrofia y desorganización celular -- con picnosis, edema intraepitelial, pérdida del estrato queratinizado y en una parte dentro del epitelio predominaban los linfocitos sobre los neutrófilos, posiblemente por la destrucción de la lámina basal. El estrato espinoso había perdido - sus propiedades tintoriales y sus núcleos estaban alargados; - el estrato profundo revelaba hiperchromatismo y había eritrocitos dentro del epitelio. Lejos del sitio de aplicación se observaron pequeñas áreas de infiltrado inflamatorio. La colágena se encontraba mejor organizada y solo tenía pequeñas zonas de necrosis. Clínicamente se observó una parte blanca --

bien delimitada sobre el canino superior, que al tratar de incidirla se desprendió. En la biopsia de piel ya no se observaron alteraciones histológicas. Clínicamente la tumefacción -- era aun perceptible.

POST-OPERATORIO. QUINTO DIA.- Se observaron vasos en neoformación y zonas de hemorragia, células plasmáticas y edema;- los fibroblastos eran hipercromáticos y sus núcleos picnóticos. El margen gingival estaba poco ulcerado, bien delimitado e hiperémico. La tumefacción de la piel era casi imperceptible y al examen microscópico se encontró normal.

POST-OPERATORIO. SEXTO DIA.- Se observó infiltrado sub--epitelial; el epitelio se encontraba atrofiado, las células -- profundas eran hipercromáticas y alargadas, al contrario del -- estrato espinoso que era pálido. Clínicamente el tejido de reparación tenía aspecto normal y el olor fétido apenas se percibía.

POST-OPERATORIO. SEPTIMO DIA.- Se observó poco infiltrado linfocitario subepitelial, el epitelio se encontraba en fase avanzada de reparación, el tejido conectivo inmediato subyacente tenía aspecto hialino y en su profundidad había una banda ancha de infiltrado crónico con abundantes capilares, muchos macrófagos y poca colágena. Los cambios clínicos en la -- encía eran parecidos a los del día anterior.

POST-OPERATORIO. OCTAVO DIA.- Clínica e histológicamente la piel no presentaba alteraciones patológicas.

POST-OPERATORIO. DECIMO DIA.- Dentro del tejido gingival conectivo se encontró gran cantidad de macrófagos, linfocitos jóvenes, neutrófilos y neoformación de vasos. Clínicamente la encía estaba ligeramente hiperémica.

TECNICA DE INCLUSION EN PARAFINA

Para preservar la morfología y composición de los tejidos, los especímenes se introdujeron en frascos (previamente etiquetados) con 75 ml. de solución neutra fijadora de formalina al 4 por ciento durante un mínimo de 24 horas, después de este tiempo se procedió a la deshidratación por medio de alcohol metílico a concentraciones crecientes a partir de 40 por ciento hasta terminar en alcohol absoluto.

El aclaramiento o diafanización se hizo en la siguiente forma: el metanol presente en los tejidos fue substituído por un líquido miscible (tanto en metanol como en parafina); para esto los especímenes se impregnaron con xilol, volviéndose -- translúcidos.

Para la inclusión o impregnación se colocaron los especímenes en parafina fundida, generalmente a 60°C. Por efecto del calor el xilol se evaporó y los espacios que ocupaba antes fueron llenados por la parafina; las etapas de deshidratación, diafanización e impregnación se hicieron automáticamente en un histokinette (marca American Optical), durando apro-

ximadamente 24 horas. Al salir del histokinette se colocaron 2 escuadras de cobre sobre una base de acero inoxidable. Se untó un poco de parafina sobre la cara interna de una de las escuadras para pegar la clave del espécimen; se formó un cuadro con las dos escuadras sobre la base y se colocó el espécimen de parafina en el interior del cuadro, inmediatamente después se colocó en el refrigerador durante 24 horas, pasado este tiempo, el cubo se colocó en un microtomo (marca Jung ag - Heugelberg) y se procedió a hacer 6 cortes de un espesor de 5 a 7 micras; los cortes fueron extendidos en agua caliente - - (40 °C - 45 °C) con gelatina y después adheridos a láminas -- portaobjetos.

Las preparaciones ya obtenidas fueron teñidas con la técnica de Hematoxilina-eosina y tricromica de Masson (6), posteriormente se colocó el cubreobjetos, pegándolo con resina de copal.

Ya seca la resina se procedió a estudiar los especímenes con el microscopio óptico (marca Carl Zeiss), para observar -- los cambios de los tejidos producidos por el frío.

DISCUSION

De los resultados obtenidos en este experimento se observó que los cambios histológicos y clínicos de la aplicación del CO_2 en la encía en condiciones patológicas son similares a los obtenidos por diferentes autores con la aplicación del nitrógeno líquido en la cavidad bucal, especialmente en la encía. Con la diferencia de temperaturas se observó que no existe un cambio notable, otros autores encontraron alteraciones histológicas y clínicas relacionadas con el tiempo de aplicación del frío (9).

Dentro de las semejanzas encontradas destaca el hipercrematismo de las células basales (6, II). También la formación de la "bola de hielo" como lo mencionan algunos autores (4, 11, 2), el ingurgitamiento de los vasos y la trombosis (6,12).

El tiempo de recuperación de las lesiones observadas en este trabajo es parecido al señalado por otros autores (6).

En la piel no se observaron cambios significativos.

CONCLUSIONES

Se observaron cambios histológicos importantes, como las alteraciones en el tejido epitelial, el infiltrato inflamatorio, el edema, la vasodilatación y la reparación ya descritas en el capítulo respectivo.

Algunos cambios concuerdan con los encontrados por Hurts y col. (6)

Por lo tanto es importante estudiar más ampliamente los efectos del CO_2 para utilizarlo en el tratamiento de algunas de las distintas enfermedades parodontales, con la posibilidad de obtener una reparación más rápida que con la técnica quirúrgica convencional y quizá igual que con la técnica del nitrógeno líquido, pero con la ventaja de proporcionar además otra alternativa dentro del tratamiento.

B I B L I O G R A F I A

1. Gage, A.A. Current issues in cryosurgery. *Cryobiology* 19, 219-222 (1982).
2. Amaral W, Frost. J, Howard W. Cryosurgery in treatment of-inflammatory papillary hyperplasia. *Fed. Dent. Serv.* April 1968; Vol. 25, No. 4;648-654.
3. Holden, H. Cryotherapy in the treatment of cancer with - - special referente to its indications and Limitations. *Acta Oto-Rhino-Laryngologic Belgica.* Tome 29, fasc 5;835- - 838; 1975.
4. Shepherd, J.P. Effects of lowered temperatures on Rat Pulp and gingivae. *Oral Surgery.* September 1976, Vol. 42, No. 3; 386-394.
5. Frank U, Freundlich J, Tangsy M, Chaffee R, Weiss R, Kendall F. Vascular and cellular responses of teeth after -- localized controll ed cooling. *Cryobiology*, 9, 526-533 -- (1972).
6. Hurts W, Nabers C, Rose G. Some clinical and histologic ob-servations of gingiva treated by cryotherapy. *J. Periodon-tology.* March 1972; Vol 43, No. 3; 151-156.
7. Manual of histologyc staining methods of the armed forces-institute of pathology. Third Edition (1960) Lu g. Luna -

- HT (ASCP). The Pakistan division Mc Graw-Hill Book Company. New York, Toronto, London, Sydney. 34, 94.
8. Gage, A.A. Five year survival after cryosurgery for carcinoma of the mouth. Surgery, Gynecology and Obstetrics. -- August 1977, Vol. 145-189-192.
 9. Gage, A.A. Experimental cryogenic injury of the palate: observations pertinent to cryosurgical destruction of tumors. Cryobiology 15, 415-425 (1978).
 10. Getter L, Pérez B. Controlled cryotherapy in the treatment of inflammatory papillary hyperplasia. Oral Surgery. - - August 1972, Vol. 34, No. 2; 178-186.
 11. Mayers P. Tussing G, Wentz F. The histological reaction of clinically normal gingiva to freezing. J. Periodontologic. June 1971. Vol. 42, No. 66; 346-352.
 12. Iida T, Iranpour B. The effect of deep freezing on hamster cheek pouch carcinoma (A preliminary report). Oral Surgery. November 1972, Vol. 34, No. 5; 844-849.
 13. Gage A, Koepf S, Wehrle D, Emmings F. Cryotherapy for cancer of the lip and oral cavity. Cancer. December 1965. Vol. 18, No. 12; 1646-1651.