

cryochirurgie in de mondholte

j. p. h. bekke



cryochirurgie in de mondholte

j. p. h. bekke



CRYOSURGERY IN THE ORAL CAVITY
(a clinical study)

VRIJE UNIVERSITEIT TE AMSTERDAM

CRYOCHIRURGIE IN DE MONDHOLTE
(een klinische studie)

ACADEMISCH PROEFSCHRIFT

ter verkrijging van de graad van doctor in de geneeskunde
aan de Vrije Universiteit te Amsterdam,
op gezag van de rector magnificus mr. J. de Ruiter,
hoogleraar in de faculteit der rechtsgeleerdheid
in het openbaar te verdedigen
op vrijdag 17 juni 1977 te 13.30 uur
in het hoofdgebouw der universiteit, De Boelelaan 1105

door

JULIAN PETRUS HERMAN BEKKE

geboren te Enschede

1977
MONDEEL-OFFSETDRUKKERIJ
AMSTERDAM

Promotores: Prof. dr. W. A. M. van der Kwast
Dr. G. B. Snow
Coreferent: Dr. J. A. van Dongen

De bewerking van dit proefschrift vond plaats in het Antoni van Leeuwenhoekziekenhuis en in de afdeling Mondziekten en Kaakchirurgie van het Academisch Ziekenhuis van de Vrije Universiteit (hoofd: Prof. dr. W. A. M. van der Kwast).

*Aan mijn ouders
Aan Ingrid*

VOORWOORD

Het verschijnen van dit proefschrift biedt mij de gelegenheid diegenen te bedanken, die mij gedurende de afgelopen jaren op enigerlei wijze bij dit werkstuk behulpzaam zijn geweest.

Professor dr. W. A. M. van der Kwast, U dank ik voor de gelegenheid die U mij heeft geboden dit onderzoek te verrichten. Uw belangstelling en waardevolle adviezen hebben in ruime mate bijgedragen bij de bewerking van deze dissertatie.

Dr. G. B. Snow, U, in eerste instantie hebt mij voor dit onderwerp geïnteresseerd. Uw steun en kritiek bij al het werk dat ik onder Uw leiding verrichtte voel ik als van blijvende waarde. Het met U te mogen samenwerken beschouw ik als een voorrecht.

Dr. J. A. van Dongen, Uw interesse en stimulerend enthousiasme zijn mij tot grote steun geweest.

Dr. C. L. Davidson, U dank ik voor de begeleiding en waardevolle bijdrage aan de fysische problematiek van dit onderwerp.

Dr. I. van der Waal, voor Uw belangstelling en kritische opmerkingen ben ik U zeer dankbaar.

Mijn collega-assistenten van de afdeling Mondziekten en Kaakchirurgie dank ik voor de bereidwilligheid waarmee zij gedurende enige tijd een gedeelte van mijn dagtaak hebben overgenomen.

Mevrouw A. Pot, mevrouw L. Veerman-Siebrasse en mevrouw M. Bijvoets-Rientsma van het poliklinisch behandelcentrum in het Antoni van Leeuwenhoekziekenhuis dank ik voor de assistentie bij en organisatie van de patiëntenbehandeling.

De heer E. Algra van de Medische Fotodienst van het Antoni van Leeuwenhoekziekenhuis, U dank ik voor de zeer plezierige en enthousiaste samenwerking en de fraaie foto's, waarvan slechts een klein deel in dit proefschrift kon worden opgenomen.

De heer B. Walman van de Medische Foto-, Film- en Illustratiedienst der Vrije Universiteit (hoofd: C. J. van Stuivenberg) dank ik voor de fraaie foto's waaraan hij met grote toewijding heeft gewerkt.

De heer G. J. Lijnzaad, U dank ik voor het ontwerpen van de omslag. De literatuur werd verzameld door mevrouw M. A. Postma en mevrouw H. van Buuren. Het manuscript werd getypt door A. C. Stokman-Griever. Mijn vrouw dank ik niet alleen voor haar morele doch ook daadwerkelijke steun. De talrijke fraaie illustraties werden door haar vervaardigd.

INHOUD

Inleiding	11
Hoofdstuk I — Biofysische aspecten van cryochirurgie	13
1. Inleiding	13
2. Thermische shock	14
3. Mechanische beschadiging door ijsvorming	15
— Extracellulaire ijsvorming	15
— Intracellulaire ijsvorming	17
4. Electrolytenconcentraties	18
5. Denaturatie van lipoproteïnen	19
— Snelheid van afkoelen	19
6. Vasculaire stasis	23
7. Cryo-immunologie	26
8. Nabeschouwing	26
Hoofdstuk II — De effecten van bevroering op weefsels in de mondholte	28
1. Inleiding	28
2. Cryonecrose en regeneratie van mondslijmvlies	28
3. Cryonecrose en regeneratie van bot	30
4. De effecten van bevroering op gebitselementen	31
5. De effecten van bevroering op perifere zenuwen	32
6. Effecten van bevroering op bloedvaten	33
7. Nabeschouwing	34
Hoofdstuk III — Toepassing van de bevroeringsmethodiek in de mondholte	36
1. Inleiding	36
2. Eigen apparatuur	37
3. Methode	40
4. Techniek	42
5. Registratie van de weefseltemperatuur	43
6. Nabehandeling en controle	44
Hoofdstuk IV — Cryochirurgie in de mondholte	45
1. Inleiding	45
2. Vasculaire "tumoren"	45

— Patiëntenmateriaal	46
— Resultaten	46
— Beschouwing	49
3. Inflammatoire papillaire hyperplasie	50
— Patiëntenmateriaal en methode	51
— Bevindingen en resultaten	51
4. Lichen planus	51
— Patiëntenmateriaal	52
— Resultaten	52
5. Leukoplakie	54
— Patiëntenmateriaal en methode	56
— Resultaten	56
— Nabeschouwing	59
6. Maligne tumoren	59
— Inleiding	59
— Palliatieve cryochirurgie	60
— Cryochirurgie als curatieve therapie	62
— Resultaten	64
— Nabeschouwing	68
Hoofdstuk V — Slotbeschouwing	70
Appendix	74
Samenvatting	77
Summary	79
Zusammenfassung	81
Literatuur	83

INLEIDING

Het therapeutisch effect van lage temperaturen is al eeuwenlang bekend. Reeds 2500 j.v.Chr. werden koude compressen gebruikt bij de behandeling van gecompliceerde schedelfracturen en geïnfecteerde borstwonden (Edwin Smith Surgical Papyrus 1930). Hippocrates, 460-377 v.Chr., bepleitte het gebruik van ijs voor het in bedwang houden van bloedingen en het beperken van oedeem. De analgetische eigenschappen van koude werden gedurende de Frans-Pruisische oorlogen aangewend voor het pijnlozer amputeren van ledematen (Tytus 1968).

Over de destructieve invloed van koude werd voor het eerst gepubliceerd in 1851 door James Arnott die oppervlakkige tumoren met een zout-ijsmengsel van -20°C behandelde. Hij paste deze methode vooral toe bij de palliatieve behandeling van uterus- en mammacarcinomen, en constateerde vaak een regressie van tumorgroei en vermindering van pijn, foetor en afscheiding. Nadien werden achtereenvolgens vloeibare lucht (White 1899, 1901), koolzuursneeuw (Pusey 1907) en vloeibare stikstof (Allington 1950) geïntroduceerd voor de behandeling van tal van benigne en premaligne huidaandoeningen.

De ontwikkeling van de moderne bevrozingstechniek is in belangrijke mate beïnvloed door het werk van Hass en Taylor (1948), Lovelock (1953, 1954, 1957), Meryman (1956, 1957), Taylor (1957) en Mazur (1965, 1966, 1968), die de biologische principes, die eraan ten grondslag liggen, onderzochten. De klinische toepassing, de zgn. cryotherapie of cryochirurgie werd een feit toen het dankzij de ontwikkeling van koel- en isolatietechnieken in het kader van het Amerikaanse ruimtevaartprogramma mogelijk bleek vloeibare stikstof, waarvan het kookpunt bij -196°C ligt, regelbaar te laten circuleren door een sonde, die behalve aan het uiteinde, overal is geïsoleerd. Hiermee kon thans gerichte weefselnecrose worden verkregen in iedere gewenste uitbreiding. De neurochirurg Cooper (1963) was de eerste die van deze nieuwe precisie-instrumenten gebruik maakte bij de behandeling van de ziekte van Parkinson. Sedertdien wordt de methode in vele specialismen bij zeer uiteenlopende aandoeningen aangewend.

De hedendaagse therapeutische toepassingen van het lokale gebruik van lage temperaturen berusten op de volgende 4 fenomenen.

1) Adhesie van weefsel aan de cryosonde

Van de eigenschap van koude om een verbinding tot stand te brengen tussen de punt van een koud instrument en een warm vochtig weefseloppervlak wordt vooral gebruik gemaakt in de oogheelkunde met het doel de lens te extraheren bij cataract (Bellows 1966; Bangerter 1970).

2) Ontstekingsreactie

Bevriezing veroorzaakt een aseptische ontsteking van weefsel. In de oogheelkunde wordt deze eigenschap gebruikt bij de behandeling van ablatio retinae. De stevige chorio-retinale adhesie ontstaat door fijne littekenvorming als resultaat van een door de koude-applicatie veroorzaakte chorioretinitis (Kelman en Cooper 1963; Lincoff c.s. 1970).

3) Bloedstelpende werking

Het hemostyptisch effect heeft hoofdzakelijk toepassing gevonden in de chirurgie van parenchymateuze organen (lever, nier). Dankzij de ontwikkeling van een cryoscalpel kunnen operaties van het nierparenchym zonder afklemming van de niersteel, met bloedingsvrije snijvlakken worden uitgevoerd (Cooper en Hirose 1966; Lutzeyer c.s. 1968, 1970; Lymberopoulos 1971). Ook wordt van bovengenoemde eigenschap gebruik gemaakt bij de behandeling van angiofibromen in neus, pharynx en sinus maxillaris. Deze afwijkingen zijn echter in het algemeen te groot en te sterk gevasculariseerd om vernietiging d.m.v. cryochirurgie te bewerkstelligen. Wel wordt deze methode gebruikt in combinatie met excisie. De tumor wordt hierbij in bevroren toestand geëxtirpeerd, waardoor bloedverlies tot een minimum beperkt blijft (Smith c.s. 1964; Smith en Lipson 1969; Maniglia c.s. 1969; McKelvie 1974).

4) Necrotiserend effect

Het ontstaan van lokale weefselnecrose en irreversibele veranderingen in weefsels en organen wordt door de chirurg gebruikt voor de vernietiging van benigne en maligne neoplasma's.

Doel van deze klinische studie is na te gaan welke de mogelijkheden zijn van de bevroeringsmethodiek bij de behandeling van goed- en kwaadaardige aandoeningen in de mondholte.

Voor een juist klinisch gebruik van de cryochirurgie is kennis van de biofysische aspecten noodzakelijk. De factoren welke verantwoordelijk zijn voor celbeschadiging, celdood en weefselnecrose worden besproken in hoofdstuk I.

Het effect van lage temperaturen op weefsels voorkomend in de mondholte wordt toegelicht in hoofdstuk II.

Hoofdstuk III geeft een algemeen overzicht over materiaal en gebruikte methoden.

Hoofdstuk IV is gewijd aan de resultaten van het eigen onderzoek, waarvan reeds een voorlopig verslag werd gepubliceerd (Bekke en Snow 1974).

HOOFDSTUK I

BIOFYSISCH ASPECTEN VAN CRYOCHIRURGIE

I.1 Inleiding

Voor een klinisch juist gebruik van de bevroeringsmethodiek is het van belang om de veranderingen te kennen welke optreden indien biologische systemen worden onderworpen aan lage temperaturen. Bovendien dient men te weten welke van deze veranderingen in verband kunnen worden gebracht met celdood.

De *cryobiologie*, de wetenschap die de effecten van lage temperaturen op levend weefsel omvat, kwam in 1940 in de belangstelling. In dat jaar toonden Luyet en Gehenio aan dat celdestructie en celdood door vorming van ijskristallen mogelijk was. Deze, voor de celdood noodzakelijk geachte, ijskristallisatie zou optreden binnen een temperatuur-bereik van -5°C tot -43°C . Tevens werd gesuggereerd dat preventie van intracellulaire ijsvorming ten gevolge van snelle afkoeling en snel ontdooien, beschadiging zou kunnen vermijden. De cryobiologie verkreeg een belangrijke impuls in 1949 door de ontdekking van Polge, Smith en Parkes: spermatozoën die werden gevoren in een Ringer-oplossing waaraan glycerol was toegevoegd bleken een temperatuur van -79°C te kunnen weerstaan. Dit beschermend effect van glycerol moet worden toegeschreven aan zijn waterbindende eigenschappen, waardoor intracellulaire ijsvorming kan worden voorkomen (Smith c.s. 1951). Sedertdien zijn cryobiologen actief bezig geweest met de bestudering van het *behoud* van cellen, weefsels en organen bij lage temperaturen (Meryman 1956; Smith 1961; Karow en Webb 1965). Het succes van hun pogingen moge blijken uit de cryoconservering van rode bloedcellen, spermatozoën en diverse andere weefsels (Meryman 1964; Rinfret c.s. 1964; Rapatz c.s. 1968; Leibo c.s. 1970).

De kennis, welke werd opgedaan bij het streven naar optimale cryoconservering van normale weefsels wordt thans klinisch echter steeds meer gebruikt bij de *cryochirurgie*, de *gerichte vernietiging van pathologisch weefsel door middel van extreme koude*.

Celbeschadiging en celdood ten gevolge van bevroering zijn te herleiden tot een reeks biofysische factoren zoals thermische shock, mechanische beschadiging door intra- en extracellulaire ijskristallisatie, dehydratie met de daaruit resulterende toxische electrolytenconcentraties en denaturatie van lipoproteïnen (Lovelock 1954; Meryman 1956). Naast deze zogenaamde primaire oorzaken voor celdestructie kent men aan de secundaire cel-

destructie door stasis in de microcirculatie grote waarde toe (Whittaker 1972; Holden en Saunders 1973), waarbij mogelijk ook immunologische reacties optreden (Gonder c.s. 1964; Shulman c.s. 1968).

In de publikaties betreffende de oorzaken van celdood na bevriezing staat echter het onttrekken van water door de vorming van ijskristallen steeds centraal (Meryman 1956, 1957; Karow en Webb 1965; Mazur 1966; Rinfret 1968; Farrant 1971, 1972).

Water is de belangrijkste component van biologische systemen en functioneert hierin als oplosmiddel en transportmedium. In min of meer gebonden staat komt het voor als structureel deel van proteïnen en andere hoogmoleculaire substanties. Bij de transformatie van water naar ijs, wordt het vrije water onttrokken aan het biologische systeem en hierin geïsoleerd in de vorm van ijskristallen, waardoor irreversibele veranderingen kunnen worden geïnduceerd (Rinfret 1968).

De gebeurtenissen die zich afspelen indien geïsoleerde cellen, celsuspensies en weefsels blootgesteld worden aan lage temperaturen, zullen nu nader worden besproken.

I.2 Thermische shock

Het is reeds vele jaren bekend dat snelle afkoeling zelfs wanneer deze niet verder gaat dan tot temperaturen boven de 0°C , voor enkele celsoorten letaal kan zijn (Polge c.s. 1952; Smith 1961). Dit fenomeen, waarbij reeds door verandering van temperatuur celbeschadiging optreedt, wordt thermische shock genoemd. Lovelock (1955) veronderstelt dat hier vooral het verschil in thermische expansie tussen de diverse structurele componenten van de cel van belang is. Velen betwifelen echter of de thermische shock een belangrijke bijdrage levert tot celbeschadiging of celdood (Mazur 1965; Farrant 1971). Zij zijn van mening dat indien verandering van temperatuur een voorname rol zou spelen bij de celdood ten gevolge van afkoeling, celdood zou moeten optreden ongeacht het al of niet aanwezig zijn van ijskristallen. Dit blijkt niet het geval te zijn in die studies waarin directe vergelijkingen zijn gemaakt tussen cellen in een onderkoelde en een bevroren oplossing bij snelle afkoeling tot dezelfde temperatuur.

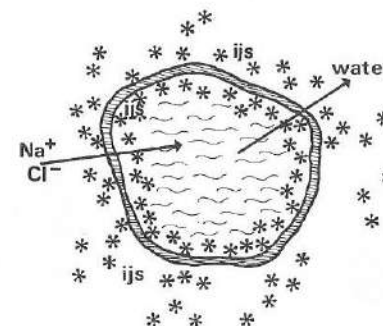
Ongeveer 100% gistcellen en *Escherichia coli* in de stationaire fase, blijken onderkoeling tot -15°C te overleven, terwijl een veel geringer percentage overleeft indien de oplossing is bevroren (Mazur 1965). Het lijkt dan ook waarschijnlijk dat thermische shock door afkoeling geen grote invloed heeft op celdood en celbeschadiging. Dit blijft echter voorlopig een veronderstelling, omdat bij zodanig lage temperaturen waarbij bevriezing optreedt, het niet mogelijk is gebleken te differentiëren tussen beschadiging door ijsvorming en beschadiging door slechts verandering van temperatuur (Meryman 1957).

I.3 Mechanische beschadiging door ijsvorming

Bevriezing van water tot ijs gaat gepaard met het in de natuur zeer unieke fenomeen dat de vaste fase een groter volume inneemt dan de vloeibare. Dit op zichzelf al kan aanleiding zijn tot mechanische beschadiging van de cel (men denke hierbij aan het bevriezen van waterleidingen). Hierop zal nader worden ingegaan. Het is van essentieel belang om nu een onderverdeling te maken in intra- en extracellulaire ijsvorming (zie hiervoor ook de Appendix van dit boek).

Extracellulaire ijsvorming

Bij een vriesprocedure ontstaat allereerst in het extracellulaire milieu ijsvorming (Meryman 1956, 1967; Trump c.s. 1964; Asahina 1967; Mazur 1966; Fraser en Gill 1967; Mazur en Schmidt 1968; Farrant 1971, 1972). Het vrije water binnen de cel blijft bij lage temperaturen tot -15°C ongevoren, ondanks de aanwezigheid van extracellulaire ijskristallen. Dit wordt o.a. toegeschreven aan het ontbreken van een kristallisatiekern, als gevolg van het kleine celvolume (Mazur 1968; Asahina 1967). Bovendien verhindert het celmembran bij temperaturen boven -10°C de doorgang voor extracellulaire ijskristallen, waardoor deze niet als kristallisatiekern voor intracellulaire ijsvorming kunnen optreden (Mazur 1965). Aangezien het vriespunt van protoplasma van de meeste cellen boven de -1°C ligt, bevindt een deel van iedere beneden -1°C ongevoren cel zich in het stadium van "onderkoeling". Dit stadium van onderkoeling is thermodynamisch instabiel, hetgeen theoretisch langs 3 wegen kan worden geëlimineerd (zie afb. 1): a) doordat electrolyten vanuit het extracellulaire milieu in de cel worden opgenomen, b) door het verlies van water uit de cel (de-



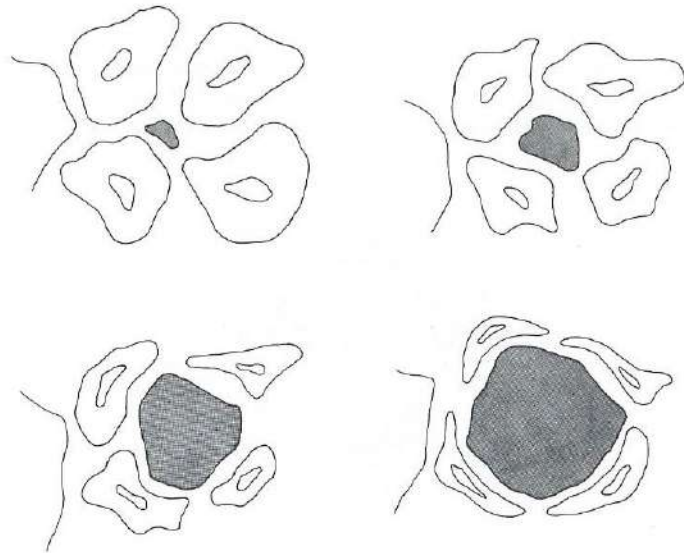
Afb. 1. Het stadium van onderkoeling is thermodynamisch instabiel en kan onder invloed van het verschil in waterdampspanning binnen en buiten de cel op drie manieren worden geëlimineerd: door opname van electrolyten in de cel, door dehydratie of door intracellulaire ijsvorming.

hydratie), of c) door het onttrekken van intracellulair water door intracellulaire ijsvorming (Mazur 1968; Farrant 1972). De wijze waarop water aan de cel wordt onttrokken, hetzij door dehydratie of intracellulaire ijsvorming, hangt af van de snelheid van afkoelen. Aangezien de dampspanning van water, dus ook van onderkoeld water, hoger is dan van ijs, zal bij verdere daling der temperatuur het verschil in dampspanning binnen en buiten de cel toenemen.

Water diffundeert bij alle levende cellen gemakkelijker door het celmembraan dan electrolyten; derhalve zal bij extracellulaire ijsvorming het dampspanningevenwicht worden hersteld door het verdwijnen van water uit de cel. Dit geldt echter zolang het celmembraan door de vriesprocedure niet is beschadigd en afkoeling langzaam plaatsvindt.

Indien water de cel verlaat en buiten de cel bevriest, is de resulterende dehydratie aanleiding tot verhoogde extra- en intracellulaire electrolytenconcentratie. Langzame afkoeling resulteert aan de ene kant in een toeneming van extracellulair gelegen ijskristallen en aan de andere kant in een voortschrijdende dehydratie en tenslotte ineenstorting van de cel (Rinfret 1968) (afb. 2).

Hoewel de celmembranen met het extracellulair gelegen ijs in contact komen, komen de endoplasmatische celstructuren hier niet mee in aanraking. De aanvankelijk door Lovelock (1953) geponeerde hypothese dat



Afb. 2. Extracellulaire ijsvorming veroorzaakt dehydratie van de cel wat leidt tot inkrimping en tenslotte ineenstorting van de cel. De cel bevat nu een hoog geconcentreerde electrolytenoplossing.

celbeschadiging het directe gevolg zou zijn van een *mechanische* beschadiging door de extracellulaire ijskristallen werd spoedig verlaten, omdat ondanks de vorming van grote extracellulaire ijskristallen, celoverleving kon worden aangetoond indien de cellen niet lang aan deze ijsvorming waren blootgesteld (Meryman 1956, 1966; Smith 1961, 1965).

Nei (1970) is echter na nieuwe studies met erythrocyten van mening, dat gedurende langzame afkoeling tot temperaturen rond het vriespunt, een deel van de beschadiging van deze cellen toch moet worden toegeschreven aan mechanische vervorming als gevolg van extracellulaire ijsvorming.

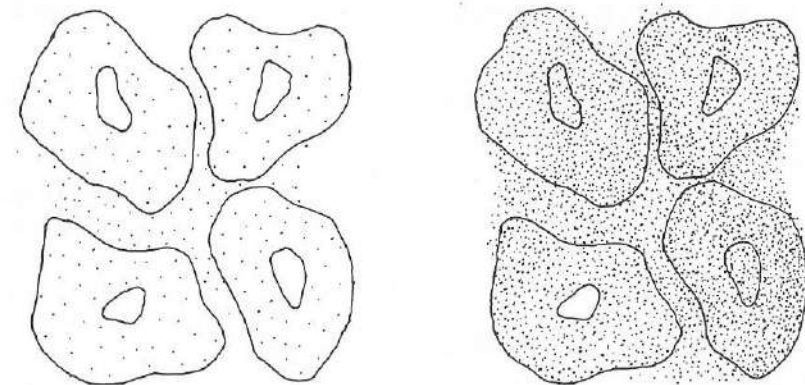
Intracellulaire ijsvorming

De effecten die optreden bij een *snelle* afkoeling, verschillen wezenlijk van die welke zich bij *langzame* afkoeling manifesteren.

Terwijl bij langzame afkoeling het intracellulaire water voldoende tijd heeft om de cel te verlaten, zal dit bij snelle afkoeling niet het geval zijn. De cel zal daardoor steeds verder afkoelen tot er tenslotte kernvorming en ijskristallisatie optreedt. We krijgen daardoor het beeld van de gelijkmatige intra- en extracellulaire ijsvorming (afb. 3) (Meryman 1956, 1957; Trump c.s. 1964; Mazur 1968; Farrant 1972).

Terwijl bij de extracellulaire ijsvorming de structuren binnen de cel voor een groot deel gespaard kunnen blijven, leidt de intracellulaire ijskristallisatie tot irreversibele beschadiging van alle wezenlijke substanties: celmembraan, mitochondriën en endoplasmatisch reticulum (Trump c.s. 1965).

De hierboven genoemde mechanismen kunnen nu als volgt worden samengevat:



Afb. 3. Snelle afkoeling (100°C/min.) leidt tot gelijkmatige intra- en extracellulaire ijskristallisatie.

Indien een cel voldoende langzaam wordt gekoeld, raakt deze nooit in een ver stadium van onderkoeling, doch zal bijna continu in evenwicht zijn met het ijs buiten de cel door voortdurende dehydratie.

Indien een cel echter snel wordt afgekoeld, kan het water de cel niet snel genoeg verlaten om het thermodynamisch evenwicht te handhaven, waardoor deze in ongewijzigde samenstelling steeds verder afkoelt. Na een periode van onderkoeling zal het water tenslotte binnen de cel bevriezen (Mazur 1968).

1.4 Electrolytenconcentraties

In nauw verband met de extracellulaire ijsvorming staat electrodialyse, de veranderingen in intra- en extracellulaire electrolytenconcentraties, die door Lovelock (1953) en Rapatz c.s. (1963) als voornaamste oorzaak voor celbeschadiging worden beschouwd. Lovelock (1953) toonde met behulp van studies op rode bloedlichaampjes en NaCl aan, dat bij hoge electrolytenconcentraties (gelijk aan die welke gedurende bevriezing aanwezig zijn) lekkage van het celmembraan optreedt, waardoor het doorgankelijk wordt voor kationen (en ook water), die in grote hoeveelheden de cel binnenkomen. Indien een celsuspensie snel wordt bevroren, wordt de electrolytenconcentratie in de cel hoger dan hij voorheen was, omdat het bevroerende water geen electrolyten kan bevatten. Bij langzaam opwarmen komt aan de buitenkant van de cel een overmaat aan water, dat door de te hoge osmotische waarde van de cel naar binnen wordt gezogen. Over de juiste oorzaak van de lekkage van celmembranen tijdens de vriesfase bestaat echter geen eensgezindheid. Lovelock (1953) beweert dat deze verhoogde permeabiliteit steeds optreedt bij eenzelfde extracellulaire electrolytenconcentratie en aanleiding is tot denaturatie van lipoproteïnen uit de celmembranen.

Meryman (1968) daarentegen beschouwt het vermogen tot inkrimpen van de cel, door ontstane hydrostatische drukverschillen als gevolg van water dat de cel verlaat, voldoende groot om perforatie van de celmembranen te kunnen veroorzaken.

Farrant (1972) is eenzelfde mening toegedaan. Hij toonde aan dat erythrocyten in een hypertoonisch milieu kationen doorlaten bij eenzelfde externe osmotische waarde, ondanks het al of niet aanwezig zijn van een hoge electrolytenconcentratie. Dit zou betekenen dat niet de hoogte van de electrolytenconcentratie buiten de cel de kritische factor is, doch de mate van inkrimping van de cel. Zowel in een NaCl- als sucrose-oplossing bleek de permeabiliteit toe te nemen, indien bijna al het water uit de cel was verdwenen. Deze lekkage bleef gedurende het ontdooien bestaan, d.w.z. in die situaties waarbij de hypertoonische oplossing rond de cel tot een isotonische teruggaat (Farrant 1972).

1.5 Denaturatie van lipoproteïnen

Een andere oorzaak voor celdood na afkoeling ziet Lovelock (1957) in de denaturatie van lipoproteïnen die deel uitmaken van celmembranen. Lipoproteïnen zijn zeer instabiel, zodat ze een zwakke schakel vormen in de celwand en reeds bij geringe veranderingen van hun milieu, uiteenvallen (Karow en Webb 1965).

De bevroeringsprocedure veroorzaakt dermate grote veranderingen, dat met een denaturatie van deze gevoelige lipoproteïnen rekening moet worden gehouden. Niet alleen de cel zelf, doch ook celstructuren binnen de cel zoals celkern, mitochondriën en microsomen bezitten een analoog gebouwd semi-permeabel membraan dat eveneens blootstaat aan beschadiging als gevolg van extreme koude. In dit verband zijn de bevindingen van Karow en Webb (1965) van belang, die primair het onttrekken van gebonden water uit de vitale celstructuren als oorzaak van celbeschadiging beschouwen. De resulterende dehydratie zou moeten leiden tot denaturatie van de proteïnecomplexen. Lovelock (1957) beschouwt de hoge intracellulaire electrolytenconcentraties als oorzaak voor deze denaturatie.

Snelheid van afkoeling

Studies over het effect van de afkoelsnelheid op de overleving van verschillende soorten cellen hebben aangetoond dat de maximaal mogelijke overleving van cel tot cel verschilt, dat de overleving afhangt van de snelheid van afkoeling en dat er een afkoelsnelheid bestaat waarbij optimale overleving optreedt (zie schema en afb. 4); bij snelheden die hoger of lager zijn neemt de celbeschadiging toe (Rapatz c.s. 1968; Mazur c.s. 1969; Leibo c.s. 1970). Deze laatste factor suggereert dat er tenminste twee verschillende fenomenen zijn die tot celdood ten gevolge van bevriezing leiden; één welke voornamelijk optreedt bij snelle afkoeling, het andere dat hoofdzakelijk optreedt bij langzame afkoeling. Zoals reeds in het voorgaande werd uiteengezet treedt bij langzame afkoeling alleen extracellulaire ijsvorming op met als resultaat veranderende intra- en extracellulaire electrolytenconcentraties. Indien de concentratie tot extreme waarden is gestegen kan dit tot ondergang van de cellen leiden (Mazur 1966; Mazur en Schmidt 1968). De overlevingspercentages van cellen die een langzame bevriezing ondergaan, zijn niet alleen afhankelijk van de tijd gedurende welke zij zijn blootgesteld aan de verhoogde electrolytenconcentraties doch ook van de weerstand tegen de inwerking van deze concentraties die van cel tot cel verschillen. Mazur en Schmidt (1968) toonden bij een gistcellensuspensie aan dat bij afkoelsnelheden tot 10°C/minuut 10-50% der cellen overleven. Volgens Schrott c.s. (1969) varieert het overlevingspercentage bij deze vriessnelheid voor verschillende cellen van 10 tot 75.

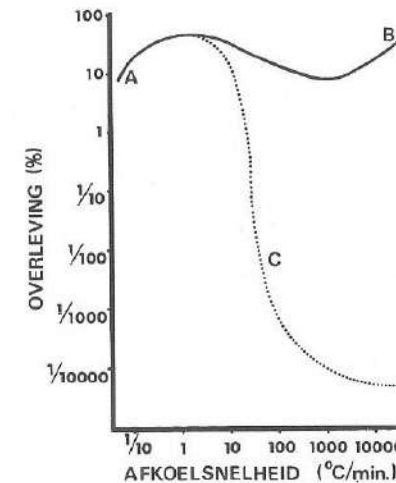
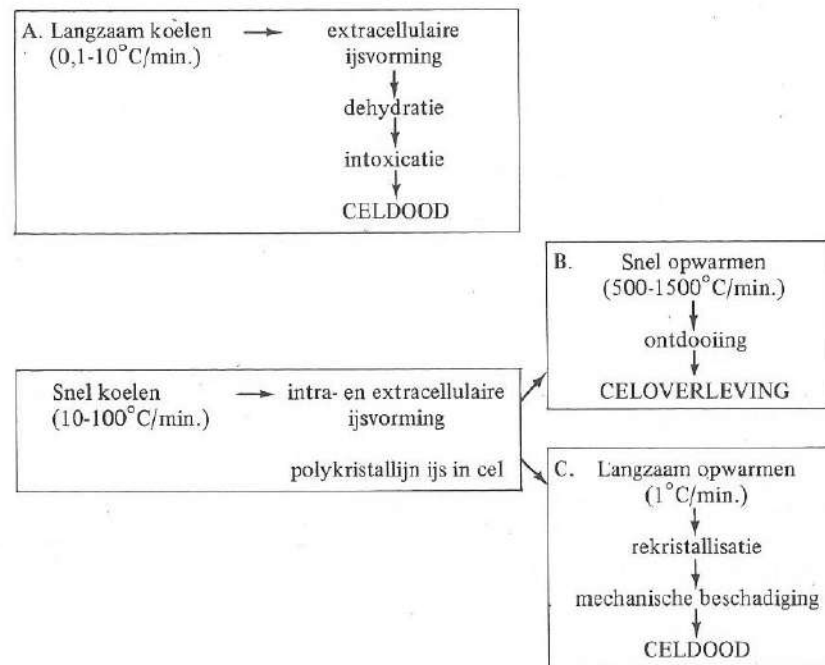
Een vaststaande celdood is door langzame afkoeling niet te verkrijgen en therapeutisch is de methode dus geenszins betrouwbaar.

Een definitieve celdood door irreversibele beschadiging van de intracellulaire celstructuren is alleen te bewerkstelligen door hoge vriessnelheden middels intracellulaire ijsvorming gevolgd door langzaam opwarmen. Aan deze intracellulaire ijsvorming gaat echter altijd een korte periode met extracellulaire ijsvorming vooraf, hetgeen steeds gepaard gaat met enig waterverlies van de cel. Deze periode duurt tot aan het bereiken van de laagst mogelijke temperatuur waarbij celprotoplasma nog vloeibaar (onderkoeld) kan blijven. De grens ligt bij ca. -20°C ; beneden deze temperatuur bevriest het nog aanwezige vrije water binnen de cel (Wood c.s. 1957; Mazur 1968).

Mazur (1965) vond bij afkoelsnelheden van $100^{\circ}\text{C}/\text{minuut}$, dat gistcellen bij een temperatuur van -15°C nog $\pm 70\%$, bij -20°C nog 55% en bij -28°C nog 30% van hun vrije intracellulaire water bevatten. Hieruit kan men concluderen dat bij deze afkoelsnelheid minstens $20\text{-}30\%$ van het vrije intracellulaire water bevriest.

Nei (1960) vond een analoge relatie tussen vriessnelheid en hoeveelheid vrij water, dat beschikbaar blijft voor intracellulaire ijsvorming. Zij zijn derhalve van mening dat voor het bereiken van intracellulaire ijsvorming

Schema van de invloed van snelheid van afkoeling tot bevriezing en de daaropvolgende snelheid van ontdooiing (zie ook afb. 4).



Afb. 4. Grafische voorstelling van de mate van overleving van een cel, na blootgesteld te zijn aan bevriezing, als functie van de afkoelsnelheid en de daaropvolgende opwarming. Curve — geeft de functie weer indien het ontdooien snel geschiedt ($> 500^{\circ}\text{C}/\text{min.}$), curve - - - geeft de functie weer indien het ontdooien langzaam geschiedt ($1^{\circ}\text{C}/\text{min.}$). Voor A, B en C zie schema.

en desgevolg een vaststaande celdood, de afkoelsnelheid minstens hoger dan $10^{\circ}\text{C}/\text{minuut}$, en liefst bij $100^{\circ}\text{C}/\text{minuut}$ moet liggen. Hoe sneller de afkoeling verloopt, hoe groter het percentage beschikbaar vrij water voor intracellulaire ijskristallisatie.

Naast de snelheid van afkoeling is de hoeveelheid water binnen de cel ook afhankelijk van de permeabiliteit van celmembranen voor watermoleculen. Deze is voor diverse celtypes zeer verschillend zodat de gewenste vriessnelheid met het oog op een zekere hoeveelheid intracellulair ijs, van cel tot cel varieert (Farrant 1972). Echter bij vriessnelheden rond $100^{\circ}\text{C}/\text{minuut}$ treedt bij alle celpopulaties het verschijnsel van intracellulaire ijsvorming op (Mazur 1968).

Ook vorm en grootte van de ijskristallen zijn afhankelijk van de vriessnelheid (Meryman 1956). Hoge koelsnelheden resulteren in kleine ijskristallen, terwijl bij langzame bevriezing grote sferische kristallen worden gevormd. De kleine kristallen zijn door hun grote oppervlakte-energie relatief instabiel en neigen bij opwarmen tot agglomeraties van grotere kristallen. Ze doorlopen het proces van rekristallisatie (Meryman 1956; Mazur 1966; Luyet c.s. 1966). Een dergelijke rekristallisatie is het grootst bij temperaturen boven de -50°C (Meryman 1957; Asahina 1967; Mazur c.s.

1970). De gevormde grote kristallen veroorzaken een breuk van de endoplasmatische celstructuren.

Bij snel opwarmen blijft deze schadelijke rekristallisatie achterwege, hetgeen verklaart waarom ondanks snelle afkoeling enkele cellen kunnen overleven. Volgens Mazur en Schmidt (1968) is de verhouding in overlevingspercentages 1:10.000 indien de snelheid van opwarmen van 1°C/minuut wordt verhoogd tot 1500°C/minuut.

Het optreden van intracellulair ijs alleen, is niet toereikend voor het veroorzaken van een definitieve celdood. Het percentage gedode cellen zal afhangen van de mate waarin intracellulaire ijskristallen, onder invloed van rekristallisatie, tot een voor de cel schadelijke afmeting zijn gegroeid. Dit fenomeen is een omgekeerde functie van de opwarmingsnelheid (afb. 4).

Eveneens is gebleken dat het temperatuurminimum in de cel een belangrijke factor is voor de kans tot overleving c.q. celdood. Studies van Stone c.s. (1969) hebben aangetoond dat temperaturen rond -40°C voor veel cellen het schadelijkst zijn. Zij zijn van mening dat het handhaven van deze "kritische" temperatuur gedurende langere tijd efficiënter voor celdood werkt dan te trachten nog lagere temperaturen te bereiken, welke kortere periodes werkzaam zijn. In dit verband moeten ook de studies van Stone c.s. (1969) en Goldenberg c.s. (1969) worden vermeld. *In experimenten met kankercellen hebben zij een verhoogde gevoeligheid voor bevrozing aangetoond bij herhaling van een vries-dooi cyclus. Deze toenemende gevoeligheid werd niet waargenomen bij normale cellen.*

Ondanks een optimale vries-dooi procedure blijken er echter cellen te kunnen overleven. De reden waarom bepaalde cellen in een celpopulatie in leven blijven, terwijl andere cellen sterven, is vooralsnog onbekend. Mogelijk speelt de individuele groeiactiviteit van de cel (Meynell 1958) of de positie die de betrokken cel in zijn levenscyclus inneemt een belangrijke rol (Stone c.s. 1969). Een andere verklaring is mogelijk gelegen in de veronderstelling dat niet alle cellen in een bevrozende suspensie aan precies dezelfde fysische condities zijn blootgesteld (Farrant 1972).

Indien deze hypothese bij *in vitro* experimenten van toepassing kan zijn, dan zal hieraan des te meer waarde moeten worden toegekend in die situaties waarbij een ijsbol in weefsel wordt gevormd door de applicatie van een cryosonde. Indien de cryosonde snel tot de gewenste temperatuur wordt afgekoeld, zal de afkoelingsnelheid van de cellen in een gebied van ca. 2 mm rond de sonde hoger zijn dan van de cellen welke in de periferie van de ijsbol zijn gelegen (Cooper c.s. 1971).

Niet alleen de snelheid van afkoeling speelt een rol bij de celdood, doch ook de eindtemperatuur in de cel, welke ligt tussen de temperatuur van de sonde en de temperatuur van het weefsel aan de rand van de ijsmassa (Mazur 1968; Farrant 1972).

Mazur (1968) is bovendien van mening dat in de randgebieden de ijsmassa

zich zo langzaam zal uitbreiden dat cellen hierdoor worden weggeduwd en derhalve aan bevrozing zullen ontsnappen. Deze situatie kan worden vermeden door het gelijktijdig gebruik van meer dan één cryosonde, een suggestie die door Farrant wordt gesteund.

De hierboven beschreven resultaten zijn alle afkomstig uit *in vitro* experimenten. Bij bevrozing *in vivo* dragen andere mechanismen bij tot verdere celbeschadiging en celdood, zoals stasis in de microcirculatie en een mogelijke immunologische reactie.

1.6 Vasculaire stasis

Zoals Rothenborg (1970) in studies naar de effecten van bevrozing op de perifere circulatie heeft aangetoond, treedt er tijdens de vriesfase eveneens een circulatoire stilstand op. Velen beschouwen deze vasculaire stasis als belangrijkste oorzaak voor de ischemische necrose *in vivo* (Sullivan en Towle 1957; Kreyberg 1963; Fraser en Gill 1967; Mandeville en McCabe 1967; Gill c.s. 1970; Whittaker 1972; Holden en Saunders 1973; Leopard 1975).

Het is een algemeen geaccepteerde opvatting dat indien weefsel beneden +15°C wordt afgekoeld, bloedvaten contraheren en dat de circulatie daardoor wordt onderbroken (Crismon en Fuhrman 1947; Greenfield c.s. 1951; Brodthagen 1961). Deze gevoeligheid voor lage temperaturen manifesteert zich vooral bij arteriolen, venulae en capillairen, die tezamen de microcirculatie vormen.

De effecten welke zich tijdens en na een vriesprocedure in de microcirculatie voordoen zijn in de literatuur veelvuldig beschreven (Sullivan en Towle 1957; Zacarian c.s. 1970; Lenz 1972; Whittaker 1972).

Om een indruk te krijgen van de optredende vasculaire veranderingen *in vivo*, gebruikten zij het vasculaire stelsel in de wangzak van de Syrische hamster. Deze wangzak kan zeer gemakkelijk naar buiten worden uitgestrekt, zonder daarbij de perifere circulatie te blokkeren en is tevens zeer goed toegankelijk voor directe observatie met een lichtmicroscop. Uit hun studies is gebleken dat venulae gevoeliger zijn voor lage temperaturen dan arteriolen en capillairen, mogelijk als gevolg van de minder sterke stroomsnelheid in de venulae. De eerste veranderingen zijn dan ook in deze vaatjes zichtbaar.

Tijdens de vriesfase treedt er een volledige stilstand op in de microcirculatie, die gedurende vrijwel de gehele dooifase aanhoudt. Deze stasis, door Lenz (1972) "*freezing stasis*" genoemd is echter van voorbijgaande aard. De bloedcirculatie komt aan het einde van de dooifase weer langzaam en zeker op gang, waardoor de bloedvaten die aanvankelijk door de ijsmassa aan het zicht waren onttrokken, weer te herkennen zijn.

Bij het beëindigen van de dooifase kunnen de volgende veranderingen vrij-

wel gelijktijdig worden waargenomen:

a) Vasoconstrictie van arteriolen en venulae en herstel van de bloedcirculatie. Volgens Quintanilla c.s. (1947) en Crismon en Fuhrman (1947) treedt deze vasoconstrictie alleen op in de grensgebieden van de vrieslaesie. In het centrum van het bevroren gebied zou deze vasoconstrictie achterwege blijven door verlies van de vasculaire spiertonus.

b) Scheiding in het bloed tussen bloedplasma en de corpusculaire elementen, vooral in de arteriolen. Erythrocyten bewegen zich hier in zuilen en vormen hoofdzakelijk de axiale stroom, omgeven door een heldere nauwe plasmastroom aan de periferie, waarin zich talrijke witte thrombi en embolieën blijken te bevinden. Naarmate het weefsel verder wordt opgewarmd, wordt de axiale stroom sneller en breder, totdat tenslotte de plasmastroom aan de randen geheel is verdwenen (Lenz 1972).

c) Na de stilstand van de circulatie zijn er vrijwel direct witte thrombi en embolieën zichtbaar, solitair, multipel of in de vorm van lange witte strengen. Deze embolieën worden het meest in de venulae waargenomen en blijken zich hier tijdelijk vast te zetten aan de vaatwand. Na enkele ogenblikken laten ze echter los om vervolgens weer op een andere plaats vast te plakken.

De aanvankelijke vasoconstrictie blijft slechts enkele seconden bestaan en wordt gevolgd door een progressieve dilatatie die zelfs enige uren kan aanhouden (Lenz 1972). Na het bereiken van hun maximale dilatatie, bleken de arteriolen en venulae hun oorspronkelijke diameter niet meer terug te krijgen (Zacarian 1973). Door de progressieve dilatatie en de resulterende vermindering van de stroomsnelheid van het bloed, kunnen de bloedplaatjes en witte thrombi gedurende langere tijd aan de beschadigde vaatwand vastgehecht blijven, waardoor de bloedstroom nog eens extra wordt belemmerd. Tenslotte treedt er een afsluiting op van het lumen, mede door agglutinatie van de rode bloedlichaampjes, resulterend in hernieuwde stilstand van de bloedstroom. Deze onderbreking is irreversibel en wordt door Lenz (1972) "*cryostasis*" genoemd. De stilstand van het bloed manifesteert zich het eerst in de venulae, $\pm$ 3 minuten na beëindiging van de dooifase, en breidt zich vervolgens verder uit naar de arteriolen. Volgens Zacarian (1970) en Lenz (1972) is er binnen 30 minuten na het einde van de dooifase een volledige stilstand in de microcirculatie aanwezig.

Een belangrijke verandering is de verhoogde permeabiliteit van de vaatwand, gevolgd door uittreden van bloedplasma, bloedlichaampjes en eiwitten, resulterend in de meest opmerkelijke macroscopische verandering na bevriezing, het cryo-oedeem. Deze transsudatie, die reeds enkele minuten na bevriezing optreedt en kan worden aangetoond door middel van intraveneuze injectie van een colloïdale oplossing met carboondeeltjes, treedt vooral op langs de venulae. Na 30 minuten is deze lekkage van de kleur-

stof hoofdzakelijk zichtbaar in de grensgebieden van de vrieslaesie, omdat de stilstand van de circulatie in het centrum geen kleurstof meer toelaat. In het vasculaire netwerk net aan de rand van de vrieslaesie is de temperatuur blijkbaar hoog genoeg om blijvende stilstand uit te stellen, doch laag genoeg om directe beschadiging van de vaatwand te veroorzaken.

De afsluiting van de microcirculatie en dus ook van de capillairen leidt tot een ischemische necrose in de gehele vrieslaesie met inbegrip van de randgebieden. Deze ischemische necrose is reeds 4 à 5 uur na de bevroeringsprocedure zichtbaar (Zacarian 1973). Bij de bevriezing van doorbloed weefsel gelden theoretisch dezelfde regels als voor geïsoleerde cellen afzonderlijk, echter hier wordt de situatie gecompliceerd door de bloedvoorziening. De cryonecrose is hier niet alleen afhankelijk van de directe beschadiging van de cellen afzonderlijk, doch ook van de omvang van de thrombose van de vaten in de microcirculatie. Indien cellen de primaire effecten van bevriezing overleven, kunnen zij toch secundair door de vasculaire stasis en daaropvolgende ischemie in de necrose worden betrokken. De thrombose van de capillairen treedt ook op in die zones waar het weefsel langzaam en slechts enkele graden wordt gekoeld (Gage c.s. 1965; Gill c.s. 1970).

Vele auteurs wijzen op het belang van herhaling van de vries-dooi procedure in eenzelfde zitting (Gage c.s. 1965; Cahan 1965; Cooper 1965; Claussen en Lenz 1970). Een dergelijke herhaling leidt namelijk tot een snellere en grotere uitbreiding van de vrieslaesie. Fraser en Gill (1967) en Gill c.s. (1970) hebben aangetoond dat het effect van de herhaalde bevriezing bij gelijkblijvende temperatuur en duur van het vriezen, intensiever is dan na één enkele cryo-applicatie. Deze grotere gevoeligheid van het weefsel wordt verklaard door toeneming van het thermisch geleidingsvermogen binnen de laesie ten gevolge van beschadiging van celstructuren en het uittreden van bloed uit de vaten (Gill 1968; Claussen 1969).

De uitgebreidheid van de vrieslaesie en de daarop volgende cryonecrose wordt eveneens wezenlijk beïnvloed door de mate van weefseldoorbloeding, omdat warmtetoevoer hoofdzakelijk door het circulerend bloed plaatsvindt. Een vermindering van de doorbloeding zal tot een snellere uitbreiding van de cryolaesie leiden, terwijl een toeneming van de doorbloeding zal resulteren in een verkleining van de vrieslaesie.

Gerlach c.s. (1967) hebben dierexperimenteel bij hersenweefsel de invloed van de doorbloeding op het effect van bevriezing *in vivo* onderzocht. Er blijkt een directe relatie te bestaan tussen enerzijds de omvang van het bevroren gebied, die overeenkomt met een evenwichtstoestand tussen aanvoer van koude door de cryosonde en aanvoer van warmte door het weefsel, en anderzijds de doorbloeding. Door enkelzijdige onderbinding van de

a. vertebralis verkreeg men significant grotere bevroingsgebieden dan bij ongestoorde bloedaanvoer. Bij deze vergelijkende studies werd de koude-aanvoer steeds constant gehouden.

1.7 Cryo-immunologie

Naast de reeds genoemde effecten van de bevroering op de microcirculatie, wordt in de literatuur gewezen op de mogelijkheid van een immunologische reactie na cryochirurgie (Gonder c.s. 1964; Shulman c.s. 1968; Drylie c.s. 1968; Ablin c.s. 1969). Het is reeds jaren bekend dat een weefseltrauma kan leiden tot stimulatie van het antilichamenvormend systeem, resulterend in de produktie van specifieke weefselreactieve immunoglobulinen. Zo zijn antilichamen aangetoond na een myocard infarct (Ehrenfeld 1961), en ook na beschadiging van de schildklieren als gevolg van bestraling (Irvine 1964).

Shulman c.s. (1968) en Yantorno c.s. (1967) toonden weefsel-specifieke auto-antilichamen aan na cryochirurgie van het mannelijk urogenitaalstelsel bij konijnen. Enkele onderzoekers hebben metastasen van prostaatcarcinomen in regressie zien gaan na cryochirurgie van de primaire tumor in de prostaat (Soanes c.s. 1970; Ablin c.s. 1971; Gursel c.s. 1972). Zij nemen aan, dat als reactie op vrijgekomen antigenen in de vrieslaesie, antistoffen worden gevormd. Voorlopig is het fenomeen van een zogenaamde cryo-immuniteit niet meer dan een veronderstelling (Faraci c.s. 1975; Renziehausen c.s. 1975).

1.8 Nabeschouwing

De celdodende werking van extreme koude berust op verschillende biofysische mechanismen. Dehydratie en de daaruit resulterende verhoging van electrolytenconcentraties alsmede intracellulaire ijsvorming staan hierin centraal. De bij geïsoleerde vitale cellen in het dierexperiment verkregen gegevens tonen aan dat naast de bereikte *minimumtemperatuur* vooral aan de *vries- en dooisnelheid* grote waarde moet worden toegekend met betrekking tot celdood en celoverleving. *Voor een zo efficiënt mogelijke celdodende werking is afkoeling tot tenminste -20°C , een afkoelsnelheid van ca. $100^{\circ}\text{C}/\text{minuut}$ en een langzame, spontane dooi noodzakelijk.* Naast de directe effecten van bevroering speelt bij de klinische toepassing van extreme koude de secundaire ischemische weefselnecrose door onderbreking van de weefseldoorbloeding eveneens een zeer belangrijke rol bij de celdood. De overlevingspercentages na een éénmalige vries-dooi cyclus en de verhoogde kans op cryonecrose door *herhaling van de vriesprocedure*, maken bij de behandeling van maligne neoplasmata meerdere cryo-

applicaties met tussentijds ontdooien tot een noodzaak. Over een mogelijke cryo-immunologische reactie kan voorlopig niets met zekerheid worden gezegd.

HOOFDSTUK II

DE EFFECTEN VAN BEVRIEZING OP WEEFSELS IN DE MONDHOLTE

II.1 Inleiding

Klinische en dierexperimentele studies tonen aan dat de door bevroering veroorzaakte weefselreacties, met inbegrip van het genezingsproces, in verschillende organen dezelfde wetmatigheden volgen, en dat deze reacties bij alle weefsels eenzelfde morfologisch verloop tonen. De door cryochirurgie veroorzaakte necrose kenmerkt zich vooral door een scherpe begrenzing tegenover de gezonde omgeving, een langzame genezing en geringe littekenvorming.

Vooruitlopend op de klinische toepassing van de bevroeringsmethodiek bij de behandeling van diverse benigne en maligne aandoeningen in de mondholte, lijkt het nuttig de effecten van bevroering op gezond weefsel nader te bespreken. In dit hoofdstuk zal het chronologisch beloop van destructie en regeneratie worden besproken bij bevroering van mondslijmvlies, bot, pulpaweefsel, perifere zenuwen en bloedvaten.

II.2 Cryonecrose en regeneratie van mondslijmvlies

Mondslijmvlies is reeds enkele minuten na bevroering hyperaemisch en 1 uur na bevroering oedemateus gezwollen. Dit oedeem blijft bij korte vriesduur hoofdzakelijk beperkt tot de eigenlijke vrieslaesie, terwijl bij een langere vriesduur van bijvoorbeeld 60 seconden, een collateraal oedeem zich in de omgevende weke delen uitbreidt. Vrijwel direct postoperatief kunnen vesiculae worden waargenomen.

Het histologische beeld wordt direct postoperatief gekenmerkt door de gevolgen van bloedingen, die afhankelijk van de vriesduur niet alleen in het submuceuze weefsel doch ook in de diepere spierlagen voorkomen. De extravasatie van erythrocyten beperkt zich hoofdzakelijk tot het bevroren gebied. Het epitheel behoudt aanvankelijk zijn continuïteit, heeft echter subepitheliaal al gedeeltelijk losgelaten en toont reeds duidelijke degeneratieve veranderingen.

Een dag na bevroering is het klinische beeld drastisch veranderd. Opvallend is een uitgebreid hemorrhagisch oedeem, dat zich niet alleen beperkt tot het bevroren gebied, doch zich afhankelijk van de duur van bevroering, meer of minder sterk in de omgeving manifesteert en gewoonlijk 48 uur na bevroering zijn maximum bereikt (Hausamen 1972). Het slijmvlies is nu

bruin verkleurd en door een fibrineus beslag bedekt. Dit macroscopische aspect weerspiegelt zich ook in het histologische beeld, dat nu gekenmerkt wordt door necrotisch slijmvliesepitheel. Terwijl 1 uur na bevroering uitsluitend extravasaten van erythrocyten aan te tonen zijn, vindt men nu eveneens talrijke leucocytaire elementen. Het oedeem neemt de 3e dag na bevroering geleidelijk af, terwijl over de cryolaesie een scherp begrensde witte necrose zichtbaar wordt.

Deze necrotische massa wordt afhankelijk van de uitgebreidheid van het necrotische weefsel tussen de 8e en 14e dag na bevroering afgestoten. De regeneratieverschijnselen zijn dan op dit tijdstip microscopisch reeds in volle gang. Bij een oppervlakkige weefselbeschadiging worden meerdere cellagen dikke epitheelbruggen onder het necrotische weefsel waargenomen. Deze epitheelbruggen groeien vanuit het gezonde randstandige epitheel van de ene naar de andere zijde van de bevroeringslaesie. Na 14 dagen is er geen enkele necrose meer zichtbaar. Al het necrotische weefsel is dan afgestoten. Een fibroblastenrijk granulatieweefsel, dat door een ononderbroken epitheliale band wordt bedekt overheerst nu het histologische beeld. Het epitheel is echter nog zeer onregelmatig, plaatselijk acanthotisch verbreed en slechts enkele cellagen dik. Ook de rete-richels zijn onregelmatig. Het granulatieweefsel kan rijk van capillairen en vreemd-lichaam reuscellen zijn voorzien (Hurt c.s. 1972). De epithelialisatie is na 4 weken voltooid. Terwijl bij oppervlakkige laesies het slijmvlies nadien nauwelijks veranderingen toont, zijn de uitgebreide laesies subepitheliaal genezen middels bindweefselig littekenweefsel dat door een volledig geregenereerd slijmvliesepitheel is bedekt.

Het is bij bevroering van mondslijmvlies van belang te weten bij welke temperatuur en duur van bevroering het epitheel volledig vernietigd wordt, met behoud van het submuceus gelegen weefsel. Marchetta c.s. (1968) en Hausamen en Reuther (1974) hebben in dierexperimentele studies aangetoond dat bij een vriesduur van 15 seconden en een sondetemperatuur van -80°C de cryonecrose weliswaar beperkt blijft tot het epitheel, maar dat bij een dergelijke korte vriesduur rekening moet worden gehouden met celoverleving in het stratum basale. Bij een vriesduur van 30 seconden bleek de gehele epitheel laag te zijn vernietigd, waarbij de necrose zich tot juist in het submuceus gelegen weefsel uitbreidde. Bij een vriesduur van 1 minuut of langer raakten ook de dieper gelegen weefselstructuren in de cryonecrose betrokken. Uit deze studies zou men kunnen concluderen dat voor de klinische toepassing van extreme koude, ter behandeling van intraepitheliaal gelegen veranderingen (leukoplakie, lichen planus) een vriesduur van 30 seconden voldoende is om het slijmvliesepitheel volledig te vernietigen, met zoveel mogelijk behoud van het submuceuze weefsel. Bij deze tijdsduur is rekening gehouden met een iets dikkere epitheel laag bij menselijk mondslijmvlies. De temperatuur van de cryosonde moet daarbij minstens -80°C bedragen. Volgens Mazur (1968) en Hausamen (1973)

heeft een lagere sondetemperatuur bij een dergelijke korte duur van behandeling geen belangrijke invloed op de uitgebreidheid van de weefselnecrose. Bij slijmvliesveranderingen die zich verder uitbreiden dan alleen in het epitheel, zijn vriestijden boven de 60 seconden met een sondetemperatuur tot -160°C aan te bevelen (Hausamen 1974).

Deze dierexperimentele studies en de daaruit resulterende conclusies, komen overeen met de bevindingen van Mayers c.s. (1971) en Hurt c.s. (1972). Ook zij constateerden een volledige destructie van slijmvliesepitheel na bevroering van tandvles bij mensen en zagen na een korte vriesperiode (de sondetemperatuur bedroeg respectievelijk -50°C en -65°C) een oppervlakkige necrose welke zich beperkte tot het epitheel. Het onderliggende bindweefsel toonde behoudens een vasodilatatie en leucocyten-infiltratie geen grote veranderingen. Hurt c.s. (1972) zagen 6 weken na cryotherapie klinisch en histologisch een volledig genezen epitheel.

II.3 Cryonecrose en regeneratie van bot

Diverse auteurs zien in de bevroeringsmethodiek een mogelijkheid bottumoren te behandelen, om zodoende een resecerende ingreep te vermijden (Gage c.s. 1966; Emmings c.s. 1966). In de orthopedische chirurgie zijn reeds primaire bottumoren o.a. het ossificerend fibroom en de reuscel-tumor, alsmede botmetastasen met succes door middel van cryochirurgie behandeld (Marcove 1968; Marcove en Miller 1969; Marcove c.s. 1972, 1973; Sippel en Emmings 1969; O'Rourke 1973).

Voorwaarden voor het succesvol klinisch gebruik van extreme koude bij de behandeling van bottumoren zijn een absolute devitalisatie van alle cellen binnen de cryolaesie en volledige regeneratie van het necrotische bot vanuit de gezonde omgeving. Dierexperimentele studies tijdens en na bevroering van de mandibula (Emmings c.s. 1966; Hausamen 1973), femur (Gage c.s. 1966) en palatum durum (Natiella c.s. 1974) tonen aan dat reeds 3 dagen na bevroering geen vitale cellen in de cryolaesie meer aanwezig zijn. De osteocytenlacunes zijn op dat tijdstip vergroot en leeg (Schargus c.s. 1975). Het bevroren bot toont 3 dagen na bevroering het beeld van een volledige necrose, zowel van spongiosa als ook van corticaal bot. Deze osteonecrose strekt zich uit tot de rand van het bevroren gebied, waarbij wederom de scherpe begrenzing met de gezonde omringende botstructuren opvalt.

Reeds 8 dagen na bevroering zijn de eerste regeneratieverschijnselen zichtbaar. Nonvitaal bot wordt langzaam geresorbeerd en gelijktijdig vervangen door vitaal bot in de vorm van botbalkjes die loodrecht op de corticalis zijn gelegen. Deze resorptie en regeneratie vinden alleen plaats vanuit het gezonde omringende bot en periost, van waaruit een rijkelijk van capillairen en osteoclasten voorzien granulatieweefsel in de mergruimten groeit.

De necrotische mergruimten zijn na 14 dagen reeds volledig opgevuld met granulatieweefsel. Drie weken na bevroering wordt in de gehele vrieslaesie osteoid gevonden dat irregulair in dunne lagen direct op de necrotische botbalkjes is gelegen. Vier tot zes maanden na bevroering heeft de periostaal gevormde nieuwe corticalis weer haar normale lamellaire structuur terug gekregen, terwijl na 6 maanden vrijwel de gehele osteonecrose is vervangen door vitaal bot. Deze botregeneratie is te vergelijken met die welke optreedt bij een vrij bottransplantaat (Axhausen 1962), en waarbij de bloedvoorziening vanuit de bedekkende weke delen een belangrijke rol speelt. Indien bij bevroering van bot eveneens de weke delen worden bevroren en dus in de necrose worden betrokken, kan de osteogene fase worden verstoord, waardoor gevaar voor osteomyelitis en pathologische fracturen bestaat zoals klinisch is gebleken bij bevroering van lange pijpbeenderen (Marcove c.s. 1973) en onderkaak (Emmings c.s. 1971). Op grond van de zojuist genoemde dierexperimentele studies en de klinische ervaring die men reeds heeft opgedaan bij vrije bottransplantaten, is te verwachten dat ook bij de mens vervanging van door bevroering volledig gedeitaliseerd bot door vitaal bot langzaam zal verlopen.

Recente studies van Marciani en Bowden (1975) en Marciani c.s. (1976) tonen aan, dat een geresecceerde mandibula na cryodevitalisatie en implantatie weer fungeert als matrix voor nieuwe botformatie. Dit geresecceerde en gedeitaliseerde botfragment behoudt blijkbaar dezelfde capaciteiten als een autogeen transplantaat, mits het opnieuw geïmplanteerde bot wordt bedekt door gezond en goed gevasculariseerd weefsel.

II.4 De effecten van bevroering op gebitselementen

Bij bevroering van neoplasmata welke op of in het tandendragend deel van onder- en bovenkaak zijn gelegen moet rekening worden gehouden met (aanzienlijke) temperatuurdalingen in de pulpakamer. Dierexperimentele studies van Hausamen (1973), Natiella c.s. (1974) en Pollan c.s. (1974) tonen aan dat bij langdurige bevroering en lage temperaturen rond de -160°C , naburige gebitselementen in de cryolaesie worden betrokken en in het pulpaweefsel sterke temperatuurdalingen optreden.

Hausamen (1973) constateerde in zijn dierproeven 3 dagen na bevroering een volledige pulpanecrose. De door hem geconstateerde regeneratieve processen, die 8 dagen na bevroering het histologische beeld beheersen, zijn bij menselijke gebitselementen echter niet te verwachten. De toegang tot de pulpa is bij mensen te nauw om een sterke ingroei van granulatieweefsel vanuit het periapicale gebied toe te laten. Ankylose en chronische ontstekingsreacties (granulomen) aan de wortelpunt zijn derhalve te verwachten (Emmings c.s. 1966; Natiella c.s. 1974). Bij de behandeling van oppervlakkige slijmvliesafwijkingen, waarbij therapeutisch met korte

vriestijden (45 seconden) kan worden volstaan, treden echter geen irreversibele pulpabeschadigingen op (Heitman c.s. 1969).

II.5 De effecten van bevriezing op perifere zenuwen

Bij bevriezing van neoplasma's in de mondholte kunnen perifere takken van de 5e en 7e hersenzenuw gemakkelijk in de vrieslaesie worden betrokken. Reeds in 1918 publiceerde Trendelenburg de resultaten van een serie dierproeven, waarin hij de n. phrenicus afkoelde met ethylchloride. Een onderbreking in de prikkelgeleiding werd na enige tijd gevolgd door regeneratie en functioneel herstel. Neuomen werden door hem niet waargenomen. Carter c.s. (1972) observeerden het effect van bevriezing op de n. medianus en n. ulnaris in dierproeven. Bij deze proeven gebruikten zij een sondetemperatuur van -100°C . De prikkelgeleiding bleek reeds onmiddellijk na de doofase te zijn gestoord en herstelde zich 14 dagen na de vries-dooi procedure. Beazley c.s. (1974) bestudeerden het effect van bevriezing op de n. facialis bij Rhesus apen, bij verschillende temperaturen en bij vriestijden variërend van 2 tot 6 minuten. Ook zij constateerden een tijdelijke uitval in prikkelgeleiding en daaropvolgend herstel, dat afhankelijk van de duur van bevriezing tot maximaal 108 dagen na bevriezing optrad.

De morfologische veranderingen welke optreden in perifere zenuwen na cryochirurgie zijn het meest uitvoerig beschreven door Lenz c.s. (1974). Bij een sondetemperatuur van -180°C werd de n. ischiadicus van konijnen gevoren gedurende 2 minuten. De vries-dooi cyclus werd maximaal 5 keer herhaald. De histologische veranderingen welke optreden in perifere zenuwen na bevriezing zijn die welke overeenkomen met een tweede graads beschadiging volgens de Sunderland classificatie, d.w.z. verlies van axonale continuïteit zonder verbreken van het endoneurium (Sunderland 1968). De eerste structurele veranderingen worden binnen 24 uur na bevriezing waargenomen in de axonen en myelineschedes, die tenslotte devitaliseren en uiteenvallen. Na enkele dagen zijn ook de bindweefsel-schedes (epineurium, perineurium, endoneurium en neurilemma) gede-vitaliseerd, doch behouden hun continuïteit. Opvallend is de grotere gevoeligheid voor lage temperaturen van zenuwvezels met dikke mergscheiden (ca. $5-12\ \mu$). Daarentegen behouden de dunnere zenuwvezels nog geruime tijd hun structuur, totdat ook deze tenslotte na 20 dagen necrotisch worden. Deze selectiviteit welke blijkbaar afhankelijk is van de dikte van de myelineschedes, werd reeds in 1955 door Douglas en Malcolm aangetoond. Opvallend is het ontbreken van morfologische veranderingen bij niet-gemyeliniseerde zenuwvezels. De ontstekingsreacties welke 5 dagen na bevriezing duidelijk manifest worden, dragen een mild karakter. Naast oedeemvorming in epi-, peri- en endoneurium, eosinofiele granulocyten en

leucocyten-infiltraat, wordt een geringe proliferatie van de cellen van Schwann waargenomen. Twintig dagen na bevriezing zijn alle zenuwvezels, met uitzondering van de niet-gemyeliniseerde vezels, in de necrose betrokken. De overblijvende fibreuze matrix die langzaam zijn vitaliteit terugkrijgt, vormt een nauwkeurige geleiding voor regeneratie van de axonen, een regeneratie die bij alle zenuwvezels 50 dagen na bevriezing aan te tonen is en gemiddeld $1,5\ \text{mm/dag}$ bedraagt (Gaster c.s. 1971). In de gere-geneerde perifere zenuwen komen echter de grote verschillen in diameter, zoals deze pre-operatief hebben bestaan, niet meer voor. Vooral dikke zenuwvezels met een diameter van ca. $10-12\ \mu$ ontbreken na bevriezing. Bevriezing leidt blijkbaar tot een passagiere uitschakeling van zenuwvezels, zonder irreversibele vernietiging en blijvend functieverlies. Volgens Carter c.s. (1972) zijn er geen bewijzen dat de reacties van sensibele zenuwvezels veel zullen verschillen van die welke bij motorische zenuwen werden waargenomen. Het feit dat een bevroren zenuw niet blijvend wordt beschadigd, is bij de klinische toepassing van de cryochirurgie ter vernietiging van weefsel van groot belang, vooral dan, wanneer er een accidentele en *ongewenste* bevriezing van zenuwvezels optreedt. Sommige auteurs zien in de cryotherapie zelfs een mogelijkheid tot *gewenste* tijdelijke uitschakeling van perifere zenuwen bij patiënten met neuralgiforme klachten (Lenz c.s. 1974; Lloyd c.s. 1976).

II.6 Effecten van bevriezing op bloedvaten

Bevriezing van neoplasma's leidt tot weefselnecrose en afstoting van het bevroren weefsel. Het is zeer goed denkbaar dat naburige bloedvaten in de vrieslaesie worden betrokken, hetgeen zou kunnen resulteren in ruptuur van de vaatwand en catastrofale bloedingen. Ten aanzien van het gedrag van arteriën en venen op bevriezing zijn diverse dierexperimentele studies gedaan (Gage c.s. 1967; Walder 1968; Cooper c.s. 1971; Lenz en Preussler 1973). Al deze studies tonen aan dat de vaatwand weliswaar devitaliseert, doch dat collagene en elastische vezels zeer cryoresistent zijn en derhalve zorg dragen voor behoud van de continuïteit van de vaatwand. Elastische arteriën zoals aorta en carotiden, waarbij de vaatwand hoofdzakelijk uit elastische vezels bestaat, zijn zeer cryoresistent, in tegenstelling tot de kleinere musculieuze arteriën waarbij de vaatwand veel gladde spiervezels bevat. Venen zijn door hun dunnere vaatwand en groter lumen gevoeliger voor bevriezing dan de corresponderende arteriën.

De meeste veranderingen bij bevriezing van arteriën blijken op te treden in de tunica intima en in de spiervezels van de tunica media en beperken zich hoofdzakelijk tot de cellulaire componenten. Direct na bevriezing treedt een geringe ontstekingsreactie op, in de vorm van hyperaemie en oedeem, welke zich het sterkst manifesteert in de adventitia. Necrose van de media

treedt reeds 1 dag na bevriezing op en gaat gepaard met loslaten van de intima en zwelling van het endotheel. Als gevolg van deze necrose, welke na 5 dagen de gehele media omvat, verliest de vaatwand zijn tonus. Twintig dagen na bevriezing wordt een proliferatie van collageenvezels in de adventitia waargenomen, terwijl in de media organisatie van de necrose optreedt. Deze regeneratie van de tunica media is na 50 dagen voltooid. Zes maanden na bevriezing is de intima weer geheel intact, terwijl geen vernauwing van het lumen wordt waargenomen.

De microscopische veranderingen in de venen verschillen fundamenteel niet van die welke optreden bij arteriën, doch zijn minder scherp begrensd doordat de venewand niet zo duidelijk uit drie lagen is opgebouwd.

De zojuist genoemde veranderingen in de vaatwand hebben betrekking op die situaties, waarbij de circulatie tijdens de vriesfase intact blijft. Indien de bloedstroom tijdens de bevriezing wordt onderbroken, treedt er naast een vermeerdering van collageen vezels in de adventitia ook een intima-proliferatie op, welke laatste kan leiden tot vernauwing van het lumen en zelfs tot afsluiting van het bloedvat.

Accidentele beschadiging van bloedvaten leidt blijkbaar niet tot ruptuur van de vaatwand. Indien echter bij cryotherapie, door kunstmatige druk (tumorgroei, of druk van de cryosonde) vernauwing of stilstand van de bloedstroom optreedt, kunnen blijvende veranderingen zoals aneurysmata, calcificaties en tromboserings het gevolg zijn.

II.7 Nabeschouwing

Bevriezing maakt een gerichte vernietiging van slijmvlies mogelijk met behoud van de omringende structuren. Opvallend zijn de scherpe begrenzing van de cryonecrose ten opzichte van het niet bevroren weefsel, de geringe ontstekingsreacties en de geringe littekenvorming in de weke delen.

Voor intra-epitheliaal gelegen afwijkingen lijkt een vriesduur van 30 seconden bij een sondetemperatuur van tenminste -80°C , voldoende om volledige necrose te bewerkstellingen.

Hoewel bot volledig devitaliseert, behoudt het zijn continuïteit en fungeert het daarbij als matrix voor de vorming van nieuw vitaal bot. Aan de bloedvoorziening vanuit de bedekkende weke delen moet een grote waarde worden toegekend. Indien ook de weke delen in de cryonecrose worden betrokken kan de osteogenese worden verstoord, waardoor complicaties (fracturen, osteomyelitis) kunnen voorkomen.

Bij bevriezing van slijmvlies in de buurt van het tandendragend deel van onder- of bovenkaak, kunnen aanzienlijke temperatuurdalingen optreden in de gebitselementen welke dan leiden tot ontstekingsverschijnselen aan de wortelpunten. Accidentele beschadiging van perifere zenuwen leidt blijkbaar niet tot blijvende functionele of sensibele stoornissen.

Het is ook niet mogelijk gebleken de bloedstroom in de grotere bloedvaten door middel van bevriezing te onderbreken. De optredende vaatwand-necrose lijkt geen aanleiding te geven tot ruptuur en bloedingen. Indien de bloedstroom gedurende bevriezing sterk wordt verminderd of zelfs tot stilstand komt, zijn late complicaties zoals aneurysmata, calcificaties of tromboserings te verwachten.

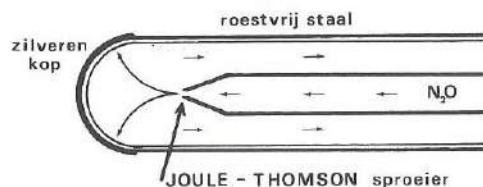
TOEPASSING VAN DE BEVRIEZINGSMETHODIEK
IN DE MONDHOLTE

Apparatuur – Methode – Techniek

III.1 Inleiding

Voor de cryochirurgische behandeling van tumoren kunnen diverse bevroeringsapparaten worden gebruikt. Veelal werken deze cryo-apparaten volgens het principe van de faseverandering van het koelmiddel. Zo kunnen vloeibare gassen worden verdampt, waardoor uiterst lage temperaturen kunnen worden verkregen. De koelsystemen welke volgens dit principe functioneren, zijn alle identiek geconstrueerd. Het vloeibare gas wordt uit een zgn. Dewar-vat via een vacuum geïsoleerde slang in een cryosonde geperst. In de kop van deze sonde vindt verdamping plaats van het koelmiddel, dat in gasvormige toestand weer door dezelfde slang wordt afgevoerd. Aan de kop van de sonde, die niet is geïsoleerd, vindt afkoeling plaats. Als koelmiddel kunnen diverse vloeibare gassen worden gebruikt zoals Freon 22 (kookpunt $-40,8^{\circ}\text{C}$), kooldioxyde (kookpunt $-78,9^{\circ}\text{C}$) of vloeibare lucht (kookpunt $-194,5^{\circ}\text{C}$). Het meest gebruikte koelmiddel is echter vloeibare stikstof waarvan het kookpunt bij $-195,8^{\circ}\text{C}$ ligt. Een deel van de cryo-apparaten werkt volgens het zgn. Joule-Thomson principe, waarbij de koelwerking door expansie van een gecomprimeerd gas, via een kleine sproeier, wordt verkregen (zie afb. 5). Het meest gebruikelijke koelmiddel hierbij is lachgas, waardoor sondetemperaturen tot -80°C kunnen worden verkregen.

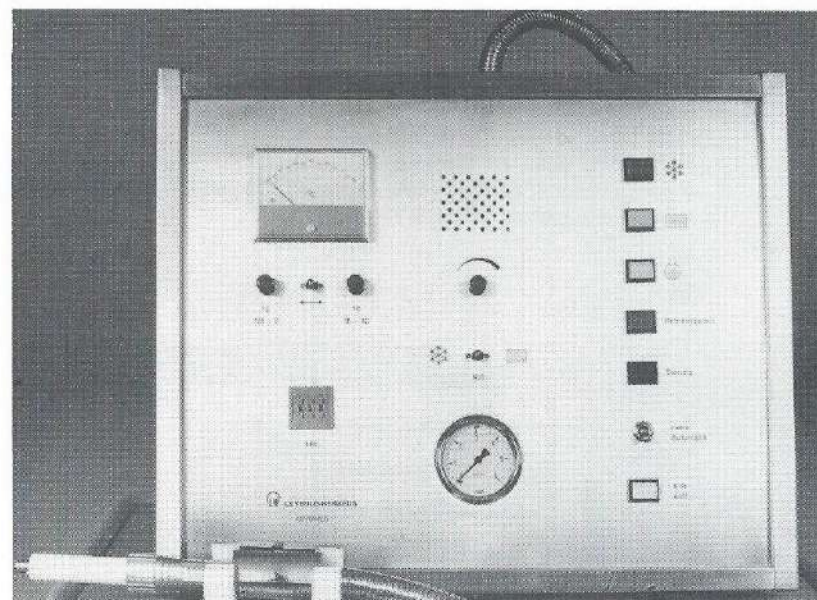
Tenslotte bestaan er cryo-apparaten die volgens het zgn. Peltier principe werken. Deze thermo-electrische koelapparaten hebben echter een zeer geringe vriescapaciteit (Kelman 1964).



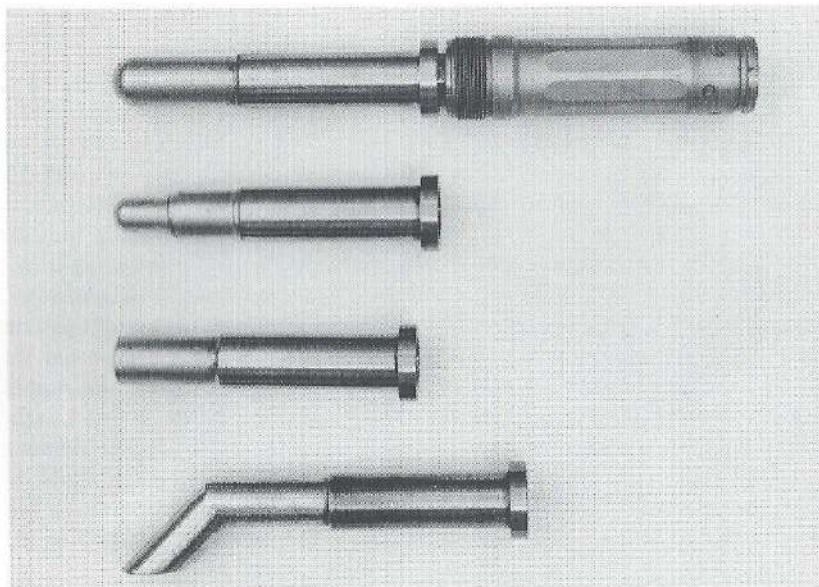
Afb. 5. Schematische doorsnede van de kop van een cryosonde, waarbij afkoeling wordt verkregen door expansie van een gecomprimeerd gas via een zogenaamde Joule-Thomson sproeier. Afkoeling vindt plaats aan de kop van de sonde.

III.2 Eigen apparatuur

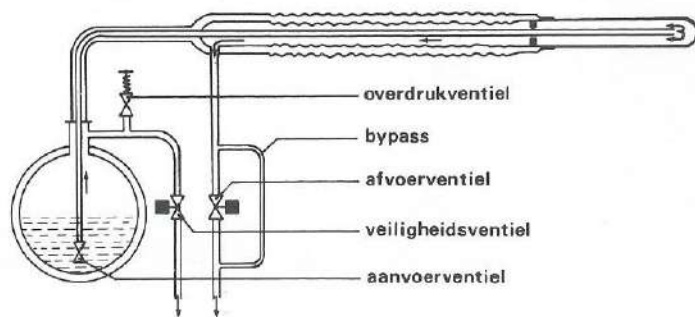
Voor de behandeling van grote tumoren wordt in het Antoni van Leeuwenhoekziekenhuis de "Kryomed" van de firma Leybold-Heraeus te Keulen gebruikt, waarin vloeibare stikstof als koelmiddel wordt toegepast. Dit bevroeringsapparaat bestaat uit een basistoestel en de vriessonde (zie afb. 6). In het basistoestel bevindt zich naast het Dewar-vat dat als stikstofreservoir dienst doet en via een flexibele, vacuum geïsoleerde slang met de cryosonde is verbonden, een elektronisch gedeelte. Dit elektronische gedeelte regelt automatisch alle behandelingsfasen. De vriessonde bestaat uit een basiselement en de verwisselbare vrieskop. Dit basiselement dat aan de aan- en afvoerslang van de stikstof wordt gekoppeld, bevat naast de thermo-elementen, die de temperatuur aan het uiteinde van de sonde registreren en zorgdragen voor het instandhouden van de tevoren ingestelde vriestemperatuur, een verwarmingselement (zie afb. 7). Dit element wordt na beëindiging van de vriesfase automatisch ingeschakeld, zodat de kop van de sonde snel toeneemt in temperatuur, en derhalve snel van het bevroren weefsel kan worden afgenomen. Teneinde de vloeibare stikstof



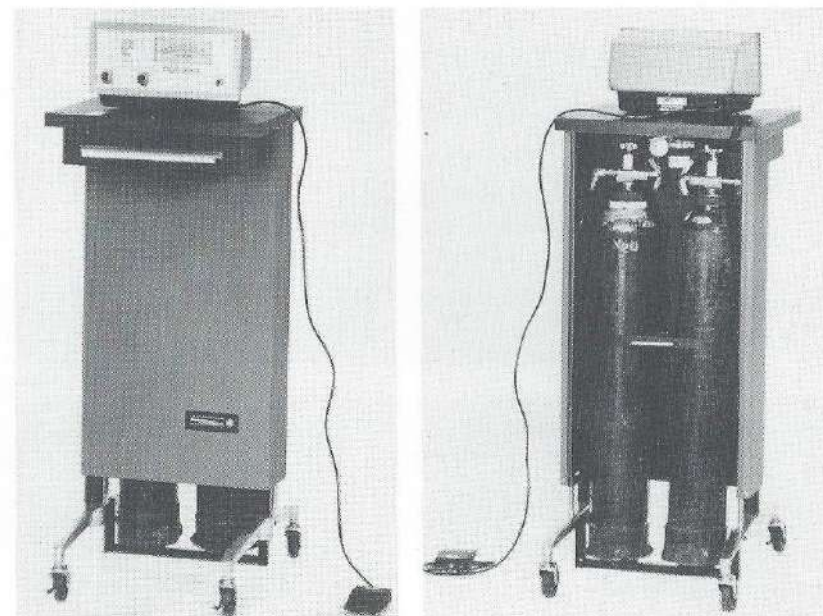
Afb. 6. De "Kryomed" waarin vloeibare stikstof als koelmiddel wordt gebruikt. In het basistoestel bevindt zich het stikstofreservoir alsmede het elektronische deel ter regeling van de vries-dooifase. Het stikstofreservoir is via een vacuum geïsoleerde flexibele slang met de cryosonde verbonden. Het kunststofomhulsel rond de sonde dient ter bescherming van omringende weefsels.



Afb. 7. Vriessonde van de "Kryomed", bestaande uit een basiselement en verwisselbare vrieskop. Het basiselement bevat thermo-elementen ter registratie van de sondetemperatuur alsmede een verwarmingselement om de sonde na be-vriezing van het weefsel af te kunnen nemen. Deze afbeelding toont van boven naar beneden de diverse door ons gebruikte sondes: 14 mm $\varnothing$ convex, 9 mm $\varnothing$ convex, 14 mm $\varnothing$ vlak en een door ons vervaardigde gebogen sonde $\varnothing$ 14 mm.



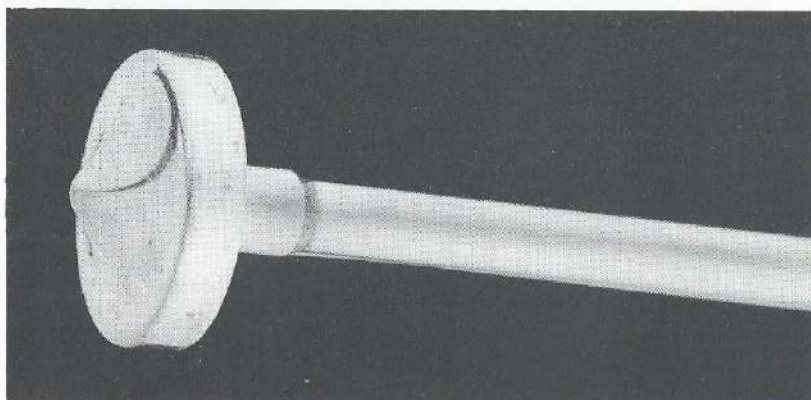
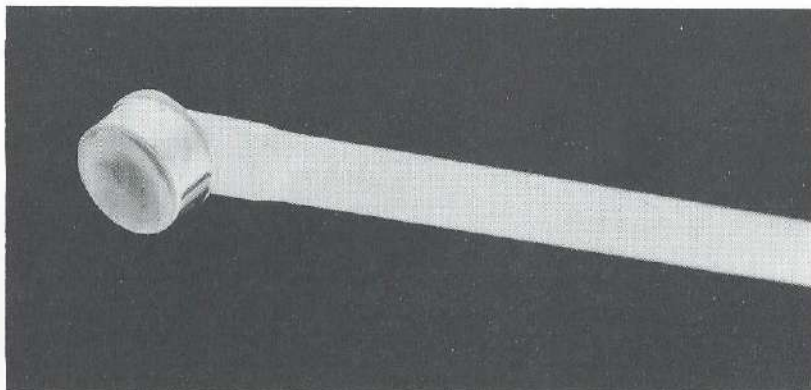
Afb. 8 Schematische doorsnede van de met vloeibare stikstof werkende be-vriezings-apparaten. Door het in werking stellen van electromagnetische kleppen, zal de vloeibare stikstof naar de kop van de sonde stromen.



Afb. 9. "N₂O cryosurgical system" van Frigitronics, waarbij lachgas als koelmiddel wordt toegepast.

door de toevoerbuis naar de kop van de sonde te doen stromen, wordt de koelvloeistof in het Dewar-vat verwarmd, waardoor verdamping optreedt. Hierdoor stijgt de druk in het reservoir tot 2 à 3 atmosfeer. Door het in werking stellen van electromagnetische kleppen zal de vloeibare stikstof naar de kop van de sonde stromen (afb. 8), waardoor temperaturen tot ongeveer -180°C kunnen worden bereikt.

Voor de behandeling van kleine, goedaardige neoplasmata en intra-epitheliaal gelegen slijmvliesveranderingen wordt sinds 1976 op de afdeling Mondheelkunde van het AZVU het "N₂O cryosurgical system" van Frigitronics gebruikt, waarbij lachgas als koelmiddel wordt toegepast (zie afb. 9). Dit cryo-apparaat, dat van twee verwisselbare sondes is voorzien (Probe nr 0151 $\varnothing$ 19,1 mm en Probe 0170 $\varnothing$ 9,5 mm), is voor direct gebruik gereed en is door zijn zeer flexibele aanvoerslang zeer gemakkelijk te hanteren. Een verwarmingselement ontbreekt bij deze sondes (zie afb. 10).

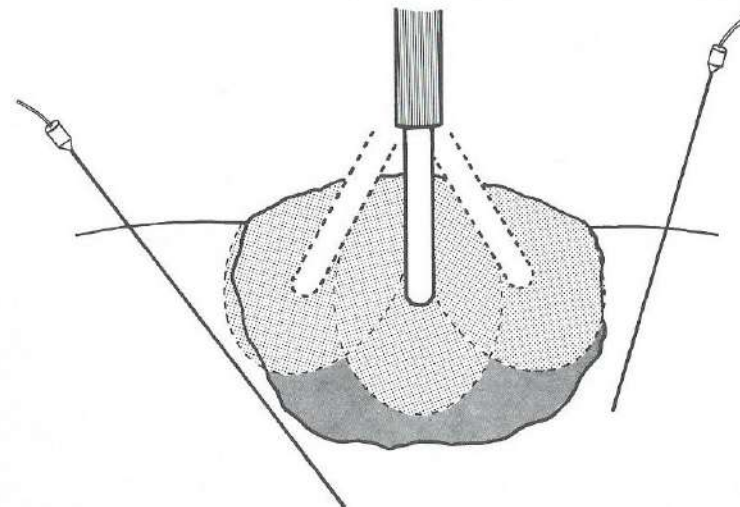


Afb. 10. De door ons gebruikte cryosondes behorende bij de lachgas-unit. Probe nr. 0170 met een diameter aan de kop van 9,5 mm, en Probe nr. 0151 met een diameter van 19,1 mm. Deze sonde kan 8 mm diep in weefsel worden gebracht.

III.3 Methode

Bij de klinische toepassing van de cryochirurgie met behulp van de hierboven genoemde "gesloten systemen", kunnen de vriessondes op twee verschillende manieren worden geapliceerd. Bij de *penetratiemethode* wordt de cryosonde bij kamertemperatuur *in* het centrum van de te behandelen tumor geplaatst (afb. 11). Met deze methode, die in de neurochirurgie wordt toegepast, kunnen in tegenstelling tot de *contactmethode*, sferische dieper gelegen vrieslaesies worden verkregen, waardoor een meer uitgebreide cryonecrose ontstaat. Bij deze penetratiemethode, die alleen onder

PENETRATIE TECHNIEK

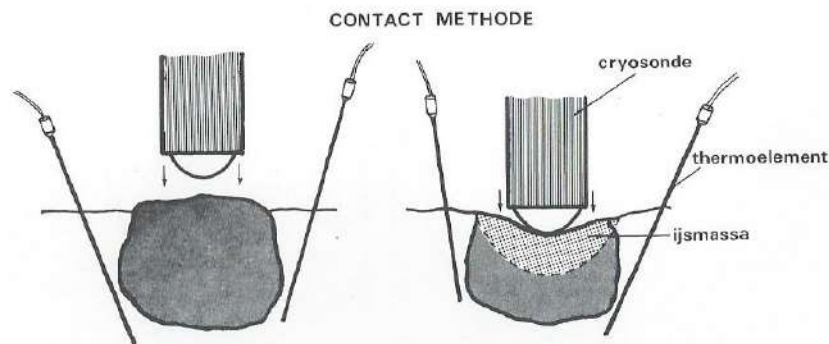


Afb. 11. Bij de penetratiemethode wordt de cryosonde *in* het weefsel geplaatst. Thermo-elementen dienen ter registratie van de weefseltemperatuur. De vrieslaesies dienen elkaar te overlappen opdat geen "vergeten hoekjes" ontstaan.

lokale of algehele anesthesie kan worden uitgevoerd, kan beschadiging van bloed- en lymfevaten worden veroorzaakt. Het gevaar voor bloedingen en versleping van tumorcellen wordt hierdoor sterk verhoogd. Deze methode zou kunnen worden gebruikt bij palliatieve behandeling van tumoren, waarbij reeds metastasen zijn aangetoond.

Wij hebben bij onze behandelingsprocedure de voorkeur gegeven aan de *contactmethode*, waarbij de sonde *tegen* het pathologische weefsel wordt geplaatst (zie afb. 12). Deze methode is gemakkelijk en onder goed zicht uitvoerbaar. Door de directe hemostase is het gevaar voor versleping van tumorcellen sterk gereduceerd. Bij zeer uitgebreide exofytisch groeiende tumoren wordt door Cahan (1971) een combinatie van excisie van de oppervlakkige tumormassa en daaropvolgende bevroering van het dieper gelegen tumorweefsel aanbevolen.

Naast de gesloten systemen, waarbij de sonde op of in het te behandelen weefsel wordt geplaatst, bestaat de *open spray methode*. Hierbij wordt de vloeibare stikstof direct op het pathologische weefsel gespoten. Deze methode wordt o.a. toegepast bij de operatieve behandeling van maligne melanomen. Teneinde het gevaar voor metastasering zoveel mogelijk te beperken, wordt het pathologische weefsel in bevroren toestand geresecteerd (Grüneberg c.s. 1965). Hoewel bij de open spray methode lagere



Afb. 12. Bij de contactmethode wordt de cryosonde tegen het pathologische weefsel geplaatst. Bij deze methode dient men te streven naar een optimaal contact tussen sonde en weefsel.

temperaturen kunnen worden verkregen dan bij de gesloten systemen, is deze methode in de mondholte niet te gebruiken. Slecht zicht, door de verdampende stikstof en de onvoldoende isolatiemogelijkheden van de omringende weefsels zijn hier debet aan.

III.4 Techniek

Het te bevriezen weefsel wordt tevoren, d.m.v. een biopt, microscopisch onderzocht. Bij gebruik van de "Kryomed" wordt bij alle patiënten een sondetemperatuur gebruikt van -160°C . Bij gebruik van de Frigitrionics "N₂O-unit" wordt een maximale sondetemperatuur van -80°C gebruikt. De keuze van de sonde hangt af van de lokalisatie van de tumor en de uitbreiding. Bij grote tumoren wordt echter steeds de sonde met de grootste diameter gebruikt om zo effectief mogelijk te kunnen vriezen (Neel c.s. 1971). De vlakke sonde verdient de voorkeur bij oppervlakkige tumoren, terwijl de convexe sondes worden aanbevolen voor dieper liggende neoplasma's (Gage 1973). Uiterst belangrijk voor een effectieve vriesprocedure is het contact tussen sonde en weefsel. Indien de sonde onvoldoende contact maakt met het te bevriezen weefsel, zal de gewenste weefseldiepte niet worden bereikt.

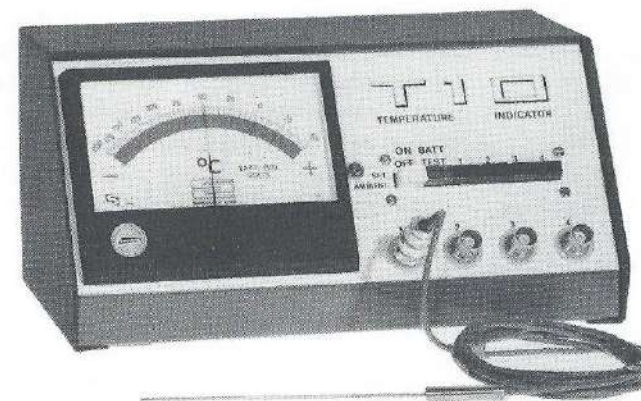
De sonde wordt derhalve met enige druk op het weefsel geplaatst. Bij maligne neoplasma's wordt deze druk echter zoveel mogelijk vermeden om versleping van tumorcellen niet in de hand te werken. Om het contact tussen sonde en weefsel te vergroten wordt bij verruceuze slijmvliesveranderingen in navolging van Leopard en Poswillo (1974) een gel gebruikt. Deze gel wordt tevoren over het onregelmatige weefseloppervlak aangebracht en draagt zorg voor een gelijkmatige geleiding van de temperatuur.

Om ongewenste bevroering van omringende weefsels te voorkomen wordt de sonde van de "Kryomed" omgeven door een kunststofhuls. Om dezelfde reden worden gaas en houten spatels gebruikt. De behandeling wordt in vrijwel alle gevallen poliklinisch uitgevoerd en indien mogelijk onder lokale anesthesie. Oudere patiënten worden veelal enkele dagen gehospitaliseerd. Om excessieve en hinderlijke speekselvloed gedurende bevroering te vermijden blijkt premedicatie met atropine vaak noodzakelijk. De tijdsduur van het vriezen varieert van 30 seconden tot 5 minuten, afhankelijk van de aard van de afwijking en de uitbreiding van de tumor in de diepte. Langer vriezen dan 5 minuten is niet zinvol, daar de ijsmassa zich toch niet verder zal uitbreiden (Hausamen 1974).

Vrijwel direct wordt een zichtbare en voelbare ijsbal rond de sonde waargenomen, die zich uieschilvormig uitbreidt. Bij de contactmethode waarbij de gevormde ijsbal meer een hemisfeer is, is de breedte van de ijsmassa rond de sonde een maat voor de dieptewerking (Gage 1973). Het gehele tumorgebied wordt aldus systematisch afgewerkt, waarbij ervoor wordt gezorgd dat de bevroren gebieden elkaar steeds overlappen opdat geen "vergeten hoekjes" ontstaan. Ter intensivering van het effect wordt na spontane dooi, de gehele tumor opnieuw bevroren.

Tijdens de bevroering wordt beweging van de sonde vermeden. Beweging van de sonde leidt tot breuk van de ijsmassa op de sonde, waardoor de sonde af te nemen is en de koudegeleiding minder wordt.

III.5 Registratie van de weefseltemperatuur



Afb. 13. Spemby T10 eenheid ter registratie van de weefseltemperatuur. Aansluitmogelijkheden voor vier thermokoppels. Deze thermo-elementen kunnen in een autoclaaf worden gesteriliseerd.

Om zeker te zijn dat voldoende lage temperaturen worden verkregen op de gewenste plaatsen, worden twee of meer thermo-elementen rond de periferie en in de diepte op enige afstand van het pathologische weefsel geplaatst. Deze thermo-elementen registreren de bereikte weefseltemperatuur, welke direct kan worden afgelezen. Alleen op deze manier is het mogelijk met enige zekerheid vast te stellen dat een letale temperatuur is bereikt. Gezien het gevaar voor entmetastasering door het gebruik van thermokoppels, dienen bij maligniteiten goede oncologische regels in acht te worden genomen, opdat dit risico tot een minimum wordt beperkt. Deze thermokoppels worden eveneens gebruikt om ongewenste necrose van omringend weefsel te voorkomen (zie afb. 13).

III.6 Nabehandeling en controle

Reeds direct na de vries-dooi procedure ontstaat een sterk oedeem, dat zijn maximum bereikt binnen 48 uur. In verband hiermede worden pijnstillende middelen voorgeschreven. De patiënten wordt geadviseerd gedurende de necrotische fase de mond te irrigeren met een fysiologische zoutoplossing, waaraan enkele druppels menthololie worden toegevoegd wegens de te verwachten foetor ex ore. Deze mechanische reiniging bevordert bovendien het loslaten van het necrotische weefsel tijdens de afstotingsfase. Gedurende de postoperatieve fase wordt een zacht dieet aanbevolen. Bij patiënten met een maligne tumor wordt ca. 4 weken na de eerste cryo-applicatie, uit suspecte gebieden opnieuw een weefselbiopt genomen. In geval van een "positieve uitslag" wordt wederom gevrozen. Alle patiënten worden de eerste maand na cryochirurgie wekelijks gecontroleerd. Bij patiënten met een goedaardige afwijking vindt daarna in het kader van deze studie gedurende het eerste jaar een driemaandelijks en in de daaropvolgende jaren een zesmaandelijks controle plaats. In geval van een kwaadaardige afwijking vindt gedurende het eerste halfjaar controle om de 3 weken, en gedurende het tweede halfjaar maandelijks plaats. In de daaropvolgende jaren wordt de periode tussen de controles verlengd van 2 tot 6 maanden.

HOOFDSTUK IV

CRYOCHIRURGIE IN DE MONDHOLTE

Een klinische studie

IV.1 Inleiding

In de periode van 1973 tot 1977 werden in het Antoni van Leeuwenhoek-ziekenhuis, het Nederlands Kanker Instituut, en op de afdeling Mondziekten en Kaakchirurgie der Vrije Universiteit, 77 patiënten met een goed- of kwaadaardige afwijking in de mondholte door middel van cryochirurgie behandeld. Het doel van deze studie is na te gaan in hoeverre deze methode kan worden gebruikt als vervangende of aanvullende therapie bij de behandeling van vasculaire aandoeningen, papillaire hyperplasie, lichen planus, leukoplakie en maligne neoplasmata.

IV.2 Vasculaire "tumoren"

Chirurgische behandeling van benigne aandoeningen in de mondholte levert over het algemeen geen problemen op. Een uitzondering hierop vormen de vasculaire tumoren. Vele behandelingsmethoden zoals chirurgische excisie, radiotherapie, injectie met scleroserende middelen, chemotherapie, steroïden en onlangs ook intravasculaire embolisatie, zijn hierbij met wisselend succes toegepast (Stockdale 1959; Nordberg en Sundberg 1963; Donegan en Ridenhour 1967; Zarem en Edgerton 1967; DeLeon 1971; Longacre c.s. 1972; Bennett en Zook 1972; Morgan en Schow 1974). Vooral massieve angiomen met diffuse uitbreiding in de weke delen leveren therapeutisch grote problemen op. Chirurgisch ingrijpen betekent in een dergelijk geval een ernstige mutilatie, waarbij de postoperatieve littekenvorming hinderlijke functionele storingen kan veroorzaken. De aanwezigheid van vitale structuren in het operatiegebied dwingt dikwijls tot een onvolledige excisie, hetgeen vooral bij lymfangiomen resulteert in recidieven. Bovendien kunnen tijdens en na een chirurgische ingreep moeilijk te stelpen bloedingen optreden. De goede resultaten van de cryochirurgische behandeling van vasculaire aandoeningen in diverse medische disciplines (Serra en Brunschwig 1955; Cooper 1963 en 1972; Smith c.s. 1964; Waltz en Cooper 1967; Goldwyn en Rosoff 1969; Maniglia c.s. 1969; Henderson 1971; Kayhan c.s. 1973) waren voor ons aanleiding, de methode ook voor angiomen in de mondholte toe te passen en de resultaten nader te bestuderen.

Patiëntenmateriaal (zie tabel I)

In totaal werden 13 patiënten met een hemangioom en 3 patiënten met een lymfangioom door middel van de bevroingsmethodiek behandeld. Bij 6 patiënten was er sprake van een primaire therapie. Bij de overige 10 patiënten betrof het een recidief na chirurgische excisie en/of radiotherapie. Vijfmaal werd de behandeling uitgevoerd onder algehele anesthesie, terwijl de overige patiënten onder lokale anesthesie werden behandeld.

Resultaten (zie tabel I)

Scherp begrensde, oppervlakkig gelegen angiomen met een diameter tot maximaal 3 cm, zijn zeer goed door middel van de bevroingsmethodiek te behandelen. De "ingreep" is eenvoudig, kan onder lokale anesthesie worden uitgevoerd en levert voor de patiënten geen al te grote postoperatieve ongemakken op. Deze angiomen kunnen na een of twee zittingen volledig in regressie gaan. Ondanks de vernietiging van een groot slijmvliesgebied komt het nooit tot sterke littekenvorming (afb. 14). Bij geen der patiënten werd een bloeding tijdens of na de behandeling waargenomen. Drie tot vier weken na de laatste behandeling zijn de slijmvliesdefecten volledig geëpithelialiseerd. Angiomen welke eveneens oppervlakkig zijn gelegen, doch niet scherp zijn begrensd, reageren ook goed op de bevroingsmethodiek. Om een goed resultaat te verkrijgen zijn echter meerdere cryo-applicaties met een tussentijd van enkele weken noodzakelijk. Wegens de uitgebreide necrose klagen de patiënten over foetor ex ore, welke echter slechts enkele dagen blijft bestaan. Indien de angiomen in de wang zijn gelegen, moet met een voorbijgaande trismus rekening worden gehouden.

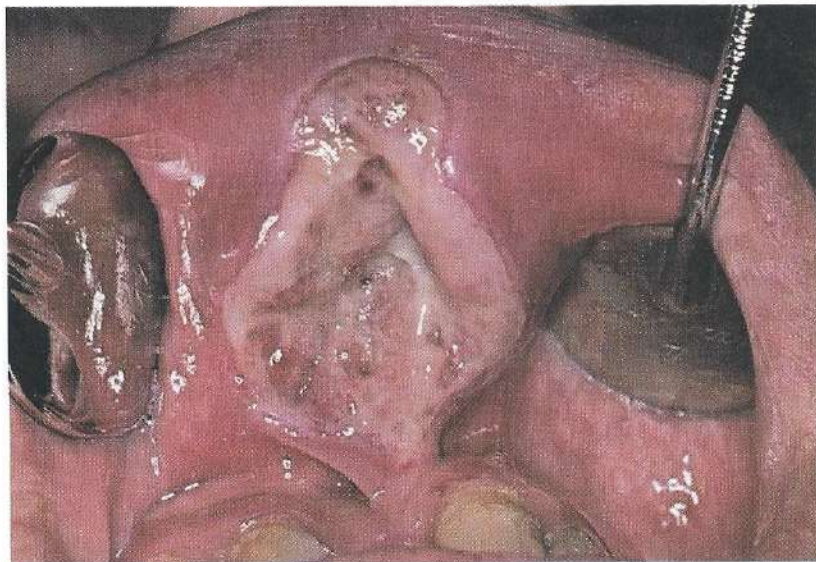
De behandelingsresultaten bij grote hemangiomen met diepe en diffuse uitbreiding in de weke delen zijn niet altijd bevredigend. De aanwezigheid van talloze met bloed gevulde holten of kanaaltjes veroorzaakt een sterke warmteretentie, waardoor grote weerstand wordt geboden aan afkoeling. Bij deze tumoren is behandeling onder algehele anesthesie gewenst, vooral indien mondbodem en tong in de afwijking zijn betrokken. De uitvoergangen van de gl. parotis en gl. submandibularis werden veelvuldig in de cryonecrose betrokken, desondanks werd later nooit een speekselstuwung in de betreffende klieren waargenomen. Hoewel de algehele conditie van de patiënt noch in het stadium van het massieve oedeem, noch in het stadium van de necrose sterk wordt beïnvloed, moet met adem- en slikklachten rekening worden gehouden indien tong en mondbodem worden gevoren. Ook bij deze uitgebreide tumoren werden geen bloedingen waargenomen. Hoewel in deze gevallen het exophytische tumorgedeelte in meerdere cryozittingen gereduceerd kan worden en het cosmetische en functionele resultaat over het algemeen aanvaardbaar is, treedt geen volledige destructie op, omdat in de diepte angiomateus weefsel behouden blijft. Er dient derhalve met een recidief rekening te worden gehouden.

TABEL I

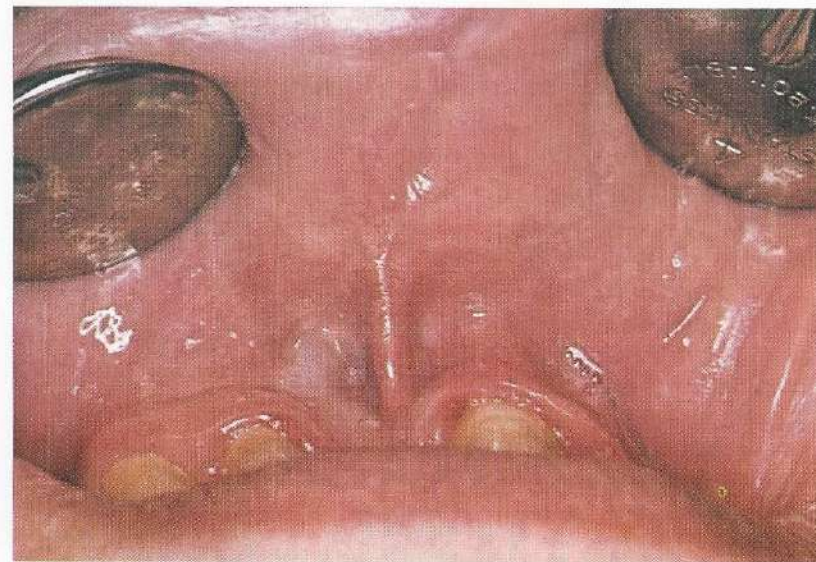
Patiënt Nr. Leeft. M/V	Type angioom	Lokalisatie	Bijzonderheden cryotherapie	Resultaat	Duur follow-up
1 2 M	caverneus hemangioom	onderzijde tong, zijdant tong rechts	-160°C, sonde convex Ø 14 mm vriesduur 2'	sterke regressie, nadien geen spontane bloedin- gen, ongestoorde tong- mobiliteit	40 mnd
2 6 V	caverneus hemangioom	bovenlip	-80°C, sonde vlak Ø 9,5 mm vriesduur 30''	volledige regressie, geen tekenen van recidief	6 mnd
3 11 M	caverneus hemangioom	bovenlip	-160°C, sonde convex Ø 14 mm vriesduur 3'	sterke regressie, kosmetische verbetering	23 mnd
4 11 V	caverneus lymfangioom	rechterwang	-160°C, sonde convex Ø 14 mm vriesduur 3'	tijdelijke regressie, geen verbetering asymmetrie gelaat, recidief	48 mnd
5 34 M	caverneus hemangioom	bovenlip	-160°C, sonde convex Ø 14 mm vriesduur 90''	volledige regressie, geen recidief	24 mnd
6 46 V	capillair hemangioom	rechterwang, bovenlip	-160°C, sonde convex Ø 14 mm vriesduur 60''	sterke regressie, geen recidief	36 mnd
7 68 V	caverneus hemangioom	linkerwang	-90°C, sonde convex Ø 14 mm vriesduur 45''	volledige regressie, geen tekenen van recidief	27 mnd
8 18 V	caverneus lymfangioom	linkerwang	-160°C, sonde convex Ø 14 mm vriesduur 90''	sterke regressie, geen recidief	24 mnd
9 33 M	caverneus hemangioom	tongrug	-160°C, sonde vlak Ø 14 mm vriesduur 90''	volledige regressie, geen recidief	30 mnd
10 53 V	caverneus hemangioom	tongrug, zijkant tong links	-160°C, sonde convex Ø 14 mm vriesduur 90''	geringe regressie, geen toeneming van de af- wijking	33 mnd
11 64 M	capillair hemangioom	bovenlip	-90°C, sonde convex Ø 14 mm vriesduur 45''	volledige regressie	13 mnd
12 18 M	caverneus hemangioom	bovenlip	-80°C, sonde vlak Ø 9,5 mm vriesduur 30''	volledige regressie	4 mnd
13 52 V	capillair hemangioom	rechterwang	-160°C, sonde convex Ø 14 mm vriesduur 2'	sterke regressie, geen toeneming van de af- wijking	40 mnd
14 32 V	caverneus lymfangioom	linkerwang	-160°C, sonde convex Ø 14 mm vriesduur 3'	sterke regressie, ver- betering asymmetrie gelaat, geen recidief	36 mnd
15 36 M	capillair hemangioom	mondbodem, tong	-160°C, sonde convex Ø 14 mm vriesduur 3'	zeer geringe verbete- ring, recidief	36 mnd
16 65 M	caverneus hemangioom	onderlip	-80°C, sonde vlak Ø 9,5 mm vriesduur 30''	volledige regressie, geen recidief	24 mnd



Afb. 14a) Caverneus hemangioom in de bovenlip. Recidief na chirurgische excisie.



Afb. 14b) Situatie 10 dagen na bevroering. Het necrotische weefsel is afgestoten waarna een granulerende wond achterblijft.



Afb. 14c) Het defect is 4 weken na bevroering genezen middels een soepel litteken. Thans, 24 mnd. na cryotherapie, geen tekenen van recidief. ♂ 34 j. (AZVU 203035).

Onze "ervaringen" met lymfangiomen beperken zich tot tumoren welke na chirurgische excisie recideerden. De resultaten zijn in vergelijking tot de hemangiomen van dezelfde afmeting gunstiger, waarschijnlijk als gevolg van de minder grote warmte-aanvoer bij de lymfangiomen.

Beschouwing

Kenmerkend voor angiomen is dat zij spontaan volledig in regressie kunnen gaan, waarbij hooguit een soepel litteken achterblijft. Klinische criteria die het mogelijk maken vast te stellen welke angiomen spontaan genezen en welke blijven bestaan, zijn niet bekend. In de literatuur wordt derhalve aanbevolen de ontwikkelingstendens af te wachten. Deze handelwijze houdt het risico in, dat wanneer zich plotseling versterkte groei voordoet, de therapie aanzienlijk moeilijker wordt. Bovendien leidt late spontane regressie tot sterkere littekenvorming en functionele stoornissen dan vroege spontane regressie. Nu thans beschikt kan worden over een veilige, niet mutilerende behandelingsmethode, is het ons inziens dan ook zeer de vraag, of wel steeds een afwachtende houding moet worden aangenomen. Ook bij het zeer jonge kind kunnen zich situaties voordoen, zoals het herhaaldelijk optreden van spontane bloedingen, waarbij ons inziens cryotherapie is aangewezen. Wel dient men bij jonge kinderen met de intensiteit van het vriezen terughoudend te zijn, omdat op grond van de

anatomische verhoudingen eenzelfde mate van cryo-oedeem duidelijk belastender is dan bij volwassenen. Bij oudere kinderen en volwassenen is deze vorm van therapie te verkiezen boven andere behandelingsmethoden. Een belangrijk voordeel ten opzichte van andere vormen van therapie is dat bloedingen gedurende en na behandeling niet of zelden voorkomen. Littekenvorming is minimaal, waardoor functionele stoornissen vermeden worden. Recidieven lijken na cryochirurgie minder frequent op te treden. De juiste verklaring hiervoor is niet bekend. Mogelijk verhinderen of vertragen structurele veranderingen en proliferatie van bindweefsel in het bevroeringsgebied, de nieuwvorming van angiomateus weefsel (Huang c.s. 1972). Ondanks deze voordelen moet het effect van cryochirurgie niet worden overschat. Kleine tot middelgrote, oppervlakkig gelegen, angiomen kunnen op deze wijze met succes worden behandeld. Bij grote en infiltratief groeiende neoplasmata is voor de bevroeringsmethodiek alleen een palliatieve rol weggelegd. Dat caverneuze hemangiomen beter reageren op bevroering dan capillaire hemangiomen (Goldwyn en Rosoff 1969), kan op grond van deze studie niet worden bevestigd.

IV.3 Inflammatoire papillaire hyperplasie

Papillaire hyperplasie is een goedaardige, doch persisterende afwijking van de palatinale mucosa. Hoewel de juiste oorzaak onbekend is, wordt deze afwijking beschouwd als een vorm van ontstekingshyperplasie. Zij wordt veelal gezien bij patiënten met een slecht passende gebitsprothese welke aanleiding geeft tot chronische irritatie, en bij patiënten met een slechte mondhygiëne (Fischer en Rashid 1952; Thoma 1952; Bhaskar c.s. 1969; Shafer c.s. 1974). De afwijking manifesteert zich klinisch in de vorm van talrijke, dicht op elkaar gelegen, rode oedemateuze papillaire verdikkingen, waarin duidelijk tekenen van ontsteking zijn waar te nemen. Tot op heden bestaat er voor deze afwijking geen algemeen geaccepteerde vorm van behandeling. Het uitlaten van de slecht passende gebitsprothese resulteert weliswaar in regressie van het oedeem en de ontstekingsreacties, doch de papillaire hyperplasie blijft veelal bestaan, ook na vervaardiging van een nieuwe gebitsprothese. Wel wordt deze conservatieve handelwijze gecombineerd met een chirurgische therapie, waarbij excisie van het papillaire weefsel met inbegrip van het periost wordt aanbevolen (Waite 1961). De regeneratieperiode is echter na deze therapie erg lang (± 10 weken). Deze lange genezingsduur bezorgt de patiënt doorgaans veel last bij het eten, en vereist veelal bedekking van de wond door een kunstharsplaat, die regelmatig dient te worden gecorrigeerd. Electrochirurgie, waarbij het periost intact blijft, resulteert weliswaar in een kortere genezingsduur, is echter pijnlijker, brengt een sterke foetor ex ore met zich mee, en kan aanleiding geven tot secundaire bloedingen (Yrastorza 1963). In navolging van

Amaral c.s. (1968) en Getter en Perez (1972) werd de bevroeringsmethodiek eveneens toegepast bij de behandeling van de inflammatoire papillaire hyperplasie van het palatum.

Patiëntenmateriaal en methode

In totaal werden 6 patiënten met een dergelijke afwijking behandeld. De klinische diagnose werd in alle gevallen tevoren door histopathologisch onderzoek bevestigd. Vijf patiënten droegen een slecht passende gebitsprothese. Bij één patiënt werd tevens candida albicans gekweekt. Alle patiënten werd geadviseerd enkele dagen voorafgaande aan de cryotherapie, de gebitsprothese zo min mogelijk te dragen. Bij de patiënt met candidiasis werd vooraf een fungicide therapie toegepast. Na cryochirurgie van de slijmvliesafwijking werd de oude gebitsprothese, indien nodig, gecorrigeerd met behulp van een "tissue conditioner". Bij 3 patiënten werd na de behandeling een nieuwe gebitsprothese vervaardigd. Bij de overige 3 patiënten werd de oude gebitsprothese "gerebased" en van een nieuwe onderlaag voorzien.

Bevindingen en resultaten

Hoewel de behandeling zonder enige vorm van anesthesie zeer goed wordt verdragen, klagen sommige patiënten over een sensatie zoals wordt waargenomen bij het eten van ijs, vooral wanneer de cryosonde bij het foramen nasopalatinum wordt aangebracht. Bij een sondetemperatuur van -80°C bleek een vriesduur van 30 tot 60 seconden voldoende om een zichtbare weefselnecrose te verkrijgen. Bij 4 patiënten bleken twee zittingen, met een interval van enkele weken, noodzakelijk om volledige regressie te bewerkstelligen. Bij de overige 2 patiënten kon de papillaire hyperplasie in één zitting volledig worden geëlimineerd. De follow-up varieert thans van 7 tot 15 maanden. Bij geen der patiënten werd gedurende deze periode een recidief waargenomen. Hoewel wij ons bewust zijn dat met chirurgische excisie of electrochirurgie eenzelfde resultaat kan worden bewerkstelligd, verdient ons inziens de cryochirurgie de voorkeur. De eenvoud van toepassing, de relatief pijnloze procedure, de minimale postoperatieve bezwaren en de afwezigheid van bloedingen zowel gedurende als na de bevroering, zijn naar onze mening duidelijke voordelen boven andere vormen van therapie.

IV.4 Lichen planus

Lichen planus is een papuleuze huidaandoening met onbekende etiologie waarbij frequent mondslijmvliesafwijkingen voorkomen. De eruptie zou vooral worden gezien bij nerveuze, gespannen patiënten. De afwijking in de mondholte die niet zelden voorafgaat aan de huidafwijking en klinisch

hiervan verschilt, is vooral gekarakteriseerd door witte of grijze fluweelachtige, draadvormige verhevenheden in een lineaire, annulaire of reticulair rangschikking. De typische op kant lijkende plekken worden vooral gezien op de buccale mucosa, en in mindere mate op lippen, tong of verhemelte. Kenmerkend zijn de wisselende duur variërend van weken tot maanden en soms enkele jaren, waarin periodes van teruggang worden afgewisseld door periodes van opvlamming. Naast de reticulair en de bulleuze vorm, onderscheidt men nog een atrofische of erosieve vorm van lichen planus, welke laatste voor de patiënt bijzonder hinderlijk kan zijn, vanwege de branderige sensaties (Vriezen 1967; Shafer c.s. 1974).

Aangezien de etiologie onbekend is, is een doeltreffende causale therapie tot op heden niet mogelijk. Vroeger werden vooral arseen en bismut gebruikt, terwijl ook vitamine- en corticosteroidtherapie met wisselend succes zijn toegepast (Tyldesley 1974). De behandeling is er meestal op gericht de erosies en ulceraties te elimineren om zodoende het ongemak voor de patiënt te verminderen. Sedert 1 jaar wordt bij onze patiënten met een pijnlijke erosieve lichen planus de bevroeringsmethodiek toegepast.

Patiëntenmateriaal

In totaal werden 6 patiënten met een dergelijke afwijking behandeld. Tweemaal betrof het een bilaterale laesie van het wangslimvlies en tweemaal van het tongslimvlies. Een andere patiënt toonde een uitgebreide erosieve lichen planus op het wangslimvlies, zich uitbreidend naar het tuber maxillae en palatum molle, terwijl tevens een pijnlijke erosieve laesie in de mondbodem bestond. Tenslotte werd een patiënte behandeld waarbij zowel op het wangslimvlies, het tongslimvlies als op het slijmvlies van de edentate onderkaak laesies voorkwamen. Bij 5 van hen was sprake van een langdurig bestaande, recidiverende afwijking die reeds tevoren medicamenteus was behandeld. Bij 4 patiënten bij wie zowel links als rechts in de mondholt afwijkingen bestonden, vond behandeling in etappes plaats, om de patiënt niet al te zeer te belasten.

Resultaten

Bij alle patiënten bleek een éénmalige behandeling met een vriesduur van 15 tot 30 seconden bij een sondetemperatuur van -80°C voldoende om een volledige regressie van de erosies te bewerkstelligen. Opmerkelijk was het feit dat alle patiënten na bevroering niet meer klaagden over een branderige sensatie. De follow-up bedraagt thans 7 tot 12 maanden. Bij 2 patiënten was sprake van een recidief in de nabijheid van de vroegere cryolaesie, waarvan zij echter geen hinder ondervonden. Aangezien de follow-up kort is, kan over het uiteindelijke resultaat op langere termijn niets met zekerheid worden gezegd. Opvallend is echter de analgetische werking van de bevroeringsmethodiek door eliminatie van de erosies, hetgeen bij alle patiënten gedurende de totale nacontroleperiode bleef gehandhaafd. Naar



Afb. 15a) Pijnlijke erosieve lichen planus op het wangslimvlies, uitbreidend naar het palatum molle. ♀ 65 j. (AZVU 234162).



Afb. 15b) Situatie na bevroering gedurende 30 sec. bij een sondetemperatuur van -80°C . Thans 8 mnd. klachtenvrij.

onze mening dient cryochirurgie dan ook op zijn minst als symptomatische therapie bij pijnlijke lichen planus sterk te worden overwogen. Andere betrouwbare gegevens betreffende de cryochirurgische behandeling van erosieve lichen planus zijn ons niet bekend.

IV.5 Leukoplakie

De term leukoplakie wordt in de mondholte uitsluitend gebruikt als een klinisch begrip. Onder leukoplakie wordt verstaan een witte verandering van het slijmvlies, welke niet afschraapbaar is en welke niet past bij het beeld van een ander te classificeren afwijking zoals bijvoorbeeld lingua geographica of lichen planus. Hoewel over de oorzaak van het ontstaan van leukoplakie niets met zekerheid kan worden gezegd, worden roken, alcohol en lokale irritatie beschouwd als mogelijke etiologische factoren. Mogelijk speelt ook candida albicans een rol bij het ontstaan of onderhouden van een leukoplakie (Jepsen en Winther 1965).

Hoewel leukoplakie algemeen wordt beschouwd als een premaligne laesie, is het percentage maligne ontaardingen nog steeds onzeker. Volgens Ross (1957) ligt het percentage maligne ontaardingen bij 30, terwijl in andere studies het percentage maligne ontaardingen binnen een periode van 10-20 jaar, in de buurt van 4 zou liggen (Einhorn en Wersäll 1967; Pindborg c.s. 1968; Waldron en Shafer 1975). Bij de erosieve gespikkelde ("speckled") leukoplakie zoals deze is beschreven door Pindborg c.s. (1963) en welke tegenwoordig ook wel als nodulaire leukoplakie wordt aangeduid, ontstaat in 14% der gevallen een maligne ontaarding. Eliminatie van een slijmvliesafwijking die doorgaans onschuldig blijkt te zijn maar in een enkel geval maligne kan ontwaarden, zoals de homogene of vlakke leukoplakie (Pindborg c.s. 1968) is over het algemeen niet noodzakelijk. Wel lijkt zulk een ingreep te zijn aangewezen bij de verrukeuze vorm van leukoplakie, maar vooral ook bij de erosieve vorm ervan, aangezien deze een grotere tendens tot maligne ontaarding tonen dan de vlakke vorm.

Naast chirurgische excisie, electrocauterisatie, vindt ook behandeling met vitamine-A klinische toepassing (Esser en Tetsch 1973; Koch en Schettler 1973).

Een excisiebiopsie is alleen mogelijk bij kleine afwijkingen. Bij een grote afwijking is men aangewezen op een incisiebiopsie. Hierbij kan men zich afvragen waar, wanneer en hoe vaak een dergelijke proefexcisie dient te worden genomen. Een herhaalde incisiebiopsie met enige tussenpozen schrikt de patiënt af, waardoor het gevaar bestaat dat hij zich aan de behandeling zal onttrekken. Er wordt derhalve bij de leukoplakie van de mondholte de voorkeur gegeven aan een directe, ruime excisie. Deze methode heeft echter enige nadelen. Zij vergt soms algehele anesthesie en hospitalisatie. Wanneer het om een grote afwijking gaat, ontstaan niet zel-

den, ondanks bedekken van het defect met een gespleten huidlap, hinderlijke contracturen en dus functionele stoornissen. Bovendien kunnen hierbij postoperatieve bloedingen optreden. Electrocoagulatie gaat dikwijls gepaard met infectie, contracturen, secundaire bloedingen en sterke foetor ex ore (Poswillo 1975). Hoewel orale vitamine-A-zuur therapie goede

TABEL II

Patiënt Nr. Leeft. M/V	Lokalisatie leukoplakie	Histopathologische diagnose	Resultaat	Duur follow-up
1 67 V	wanglijmvlies	epitheelhyperplasie	klein recidief 8 mnd na cryotherapie	43 mnd
2 60 M	wanglijmvlies, palatum durum, processus alveolaris, mondbodem	basale atypie	vrijwel volledige eliminatie, geringe contractie wanglijmvlies	43 mnd
3 61 M	wanglijmvlies	geringe tot matige epitheelatypie	eliminatie	34 mnd
4 64 V	zijkant tong	basale atypie	eliminatie	34 mnd
5 80 V	tongrug	geringe tot matige epitheelatypie	eliminatie	31 mnd
6 65 M	wanglijmvlies	epitheelhyperplasie	eliminatie, geringe contractie wanglijmvlies	30 mnd
7 63 M	wanglijmvlies	ernstige epitheelatypie, geen duidelijke invasieve groei	eliminatie	30 mnd
8 63 M	mondbodem	geringe epitheelatypie	eliminatie	28 mnd
9 78 V	processus alveolaris, mondbodem, wanglijmvlies	geringe tot matige epitheelatypie	vrijwel volledige eliminatie	27 mnd
10 81 V	wanglijmvlies, mondbodem, processus alveolaris, palatum durum	epitheelhyperplasie	gedeelteelike eliminatie, recidief	25 mnd
11 71 M	wanglijmvlies	ernstige epitheelatypie, geen duidelijke invasieve groei	eliminatie	18 mnd
12 74 V	tuber maxillae, palatum durum	epitheelhyperplasie	eliminatie	17 mnd
13 55 M	wanglijmvlies	geringe tot matige epitheelatypie, candida albicans aangetoond	eliminatie na fungiciden cryotherapie	16 mnd
14 82 V	tongrug	epitheelhyperplasie	eliminatie	15 mnd
15 80 M	zijkant tong	ernstige epitheelatypie	eliminatie	10 mnd
16 63 M	tuber maxillae, palatum durum deels doorlopend in het palatum molle	ernstige epitheelatypie, geen duidelijke invasieve groei	eliminatie	8 mnd
17 81 V	zijkant tong	basale atypie	eliminatie	7 mnd
18 66 M	zijkant tong	ernstige epitheelatypie	eliminatie	6 mnd
19 34 M	mondbodem, onderkant tong	geringe tot matige epitheelatypie	eliminatie, geringe contractie mondbodem	6 mnd

resultaten oplevert, kunnen er hinderlijke bijwerkingen optreden (Schettler en Koch 1976), zoals hoofdpijn, duizeligheid, vermoeidheid, misselijkheid en haaruitval.

In navolging van Miller (1969), Sako c.s. (1969), Goode en Spooner (1971) en Chapin en Burkes (1973), werd cryochirurgie toegepast bij de behandeling van leukoplakie van het mondslijmvlies.

Patiëntenmateriaal en methode (zie tabel II)

Negentien patiënten met leukoplakie van het mondslijmvlies werden d.m.v. de bevroeringsmethodiek behandeld. De afwijking was solitair 6 maal op de tong, 2 maal op de mondbodem, 6 maal op het wangslimvlies en 2 maal op het harde verhemelte en tuber maxillae gelegen. Bij 3 patiënten was er sprake van multiële leukoplakieën waarbij zowel mondbodem, palatum durum, processus alveolaris als wangslimvlies waren betrokken. Bij allen werd tevoren microscopisch onderzoek verricht. Die patiënten waarbij de leukoplakie histologisch bleek te berusten op een maligne aandoening worden niet in deze groep gerangschikt, doch genoemd in de groep patiënten met een maligne tumor. Bij de nu te bespreken 19 patiënten was er 6 maal sprake van een geringe tot matige epitheelatypie, 3 maal van een basale atypie, 5 maal van een epitheelhyperplasie, terwijl er bij 5 patiënten sprake was van een ernstige epitheelatypie.

Er werd een sondetemperatuur gebruikt van -160°C of -80°C , afhankelijk van de dikte van het veranderde slijmvlies, lokalisatie en vascularisatie. De vriesduur varieerde van minimaal 30 seconden tot maximaal 2 minuten. Waar dit technisch gemakkelijk uitvoerbaar was werden thermokoppels aangebracht. In alle andere gevallen werd de uitbreiding van de ijsmassa door palpatie beoordeeld. Bij patiënten met een afwijking op diverse plaatsen in de mondholte, werd de behandeling in etappes uitgevoerd met een tussenliggende periode van ca. 3 weken.

Resultaten (zie tabel II)

De postoperatieve bezwaren bleken gering, en beperkten zich tot pijn bij het eten en een foetor in het stadium van de necrose. Een bloeding werd bij geen der patiënten, ook niet na afstoting van het necrotische weefsel waargenomen. Bevroering van mondhoek- of wangslimvlies leidde nooit tot hinderlijke contracturen of beperking van de mondopening, terwijl bevroering van de mondbodem evenmin leidde tot contracturen of beperkte tongmobiliteit.

Om de leukoplakische afwijking te doen verdwijnen waren bij 8 patiënten één behandeling, bij 7 patiënten twee behandelingen, bij 3 patiënten drie behandelingen en bij 1 patiënt vier behandelingen noodzakelijk. Tijdens de vervolgperiode welke varieerde van minimaal 6 tot maximaal 43 maanden, werd bij twee patiënten een recidief aan de rand van het bevroren slijmvlies waargenomen.



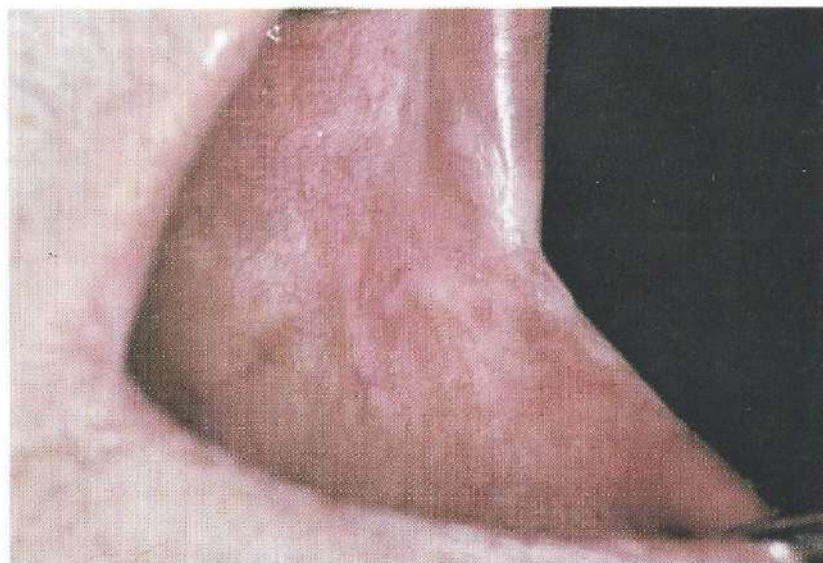
Afb. 16a) Leukoplakie tuber maxillae, palatum durum deels doorlopend in het palatum molle. Histopathologische diagnose: Ernstige epitheelatypie; geen duidelijke infiltratieve groei. ♂ 63 j. (AZVU 212049).



Afb. 16b) Toestand na cryotherapie. Sondetemperatuur -80°C , vriesduur 45 sec. Duur follow-up 8 maanden.



Afb. 17a) Verrukeuze leukoplakie binnenzijde linker wangslimvlies en mondhoek. Histopathologische diagnose: Geringe tot matige epitheelatypie; geen tekenen van maligniteit. Tevens candida albicans infectie. ♂ 55 j. (AZVU 194313).



Afb. 17b) Eliminatie na cryotherapie. In linker commissuur geringe littekencontractie. Fungicide therapie had geen succes. Follow-up 16 maanden.

Nabeschouwing

Vooraf bij grote of multifocale afwijkingen biedt cryochirurgie een goed alternatief voor de chirurgische excisie. Zij maakt een gerichte vernietiging van het pathologisch veranderde epitheel mogelijk. Volledige regeneratie van het epitheel vanuit de gezonde omgeving op het vrijwel intacte submucose weefsel vernijdt sterke littekenvorming en daarmee samenhangend functieverlies.

De langste follow-up in de literatuur bij de behandeling van leukoplakie d.m.v. bevroering bedraagt 4,5 jaar (Sako c.s. 1972). In die studie, waarin een vriestijd van 30 seconden wordt vermeld, bedroeg het percentage maligne ontaarding 6,6. Men moet daarom ons inziens ervoor waken, niet ten koste van alles het onderliggende submucose weefsel te willen sparen. Op grond van de bovengenoemde publikatie van Sako neigen wij meer naar "overbehandeling", resulterend in een iets diepere necrose, welke zich enkele millimeters uitstrekt tot in het submucose weefsel. Hoewel therapeutisch chirurgie en/of cryochirurgie als de meest effectieve behandeling worden beschouwd, mag eliminatie van mogelijke etiologische factoren (roken, alcohol, lokale irritatie) en een eventuele fungicide therapie niet achterwege blijven. Aangezien onze follow-up periode zich beperkt tot maximaal 3,5 jaar kan over de uiteindelijke waarde van de cryochirurgie bij de behandeling van leukoplakie niets met zekerheid worden gezegd. Wij zijn ons ervan bewust dat deze methode net als alle andere vormen van therapie, niet de oorzaak wegneemt, zodat recidief zeker kan optreden zoals tijdens onze nacontrole is gebleken.

IV.6 Maligne tumoren

Inleiding

Maligne neoplasmata in de mondholte worden gewoonlijk behandeld door chirurgische excisie en/of radiotherapie, al of niet in combinatie met chemotherapie. Een nieuwe behandelingsmethode is alleen dan gerechtvaardigd, indien de gebruikelijke vormen van therapie hebben gefaald. Er is in deze situatie immers niets te verliezen. Een nieuwe behandelingsmethode ondervindt echter terecht veel weerstand, indien aan de conventionele vormen van therapie wordt voorbijgegaan. Om deze reden wordt de cryochirurgie veelal alleen gebruikt als palliatieve therapie, ter verlichting van pijn, het verminderen van bloedingen en foetor, het reduceren van een tumormassa, en bij neoplasmata welke ondanks chirurgische excisie en/of radiotherapie recidiveren (Beggs 1968; Cahan 1968; Miller 1969; Shibata en Tabah 1970; Chandler 1972, 1973). Grote ulcererende recidieven zouden op deze manier enigszins kunnen worden ingeperkt, terwijl in de literatuur bovendien wordt gewezen op een gunstig psychologisch effect van een dergelijke palliatieve therapie. Patiënten die reeds

"uit"-behandeld zijn, krijgen nieuwe hoop indien de cryobehandeling een verkleining van het proces teweegbrengt (Cahan 1965; Beggs 1968). Ook wij hebben de cryochirurgie aanvankelijk alleen toegepast bij tumoren welke na chirurgie en/of radiotherapie recidiveerden. Gesteund door de publikaties van Gage (1972) waarin voor het eerst melding werd gemaakt van een langdurige follow-up na primaire behandeling van maligne neoplasmata d.m.v. cryochirurgie, werd de bevroeringsmethodiek ook als curatieve therapie toegepast bij geselecteerde patiënten. In de periode van 1973 tot 1977 werden in totaal 30 patiënten met een maligne tumor in de mondholte behandeld, welke in 3 groepen werden verdeeld. Tien patiënten hadden een uitgebreide tumor en werden alleen palliatief behandeld. Zes patiënten werden behandeld voor een gelokaliseerde, doch persisterende tumor na radiotherapie of chirurgische excisie; cryochirurgie was hier bedoeld als secundaire, in opzet curatieve therapie. De derde groep betrof 14 patiënten waarbij cryochirurgie als primaire, in opzet curatieve therapie werd toegepast. Op de verkregen ervaringen zal thans nader worden ingegaan.

Palliatieve cryochirurgie

In totaal werden 10 patiënten met een uitgebreid recidief door middel van de bevroeringsmethodiek behandeld. Het doel van de behandeling was niet het bevriezen van de gehele tumor, maar alleen het zichtbare gedeelte om aldus een aanzienlijke verkleining van de tumormassa te verkrijgen, en zodoende pijn en afscheiding te verminderen en het eten en slikken van de patiënt te vergemakkelijken. De behandeling werd uitgevoerd zonder anesthesie doch na premedicatie met sedativa en atropine. De patiënt werd in de meeste gevallen enkele dagen gehospitaliseerd. De resultaten waren zelfs na herhaalde toepassing van cryotherapie teleurstellend. Hoewel in enkele gevallen verlichting werd verkregen, was het bereikte effect kortdurend. Veelal trad binnen 3 maanden na behandeling weer duidelijke tumorgroei op, zodat uiteindelijk werd besloten tot aanvullende radio- of chemotherapie. De slechte resultaten bij onze patiëntengroep moeten ons inziens worden toegeschreven aan het feit dat de behandeling niet werd of kon worden uitgevoerd onder algehele anesthesie. Hierdoor was een agressieve bevroeringsprocedure bij deze veelal oudere en in slechte algehele conditie verkerende patiënten niet mogelijk, wegens de te hoge belasting. Dit verklaart ons inziens tevens de betere resultaten welke door Chandler (1973), Cahan (1972, 1975) en Holden en McKelvie (1972) werden verkregen. De in deze publikaties vermelde resultaten werden bereikt na agressieve bevroering onder narcose, soms in combinatie met electrocauterisatie. Bij twee van onze patiënten trad in de postoperatieve fase een ernstige bloeding op. Beide patiënten hadden vooraf radiotherapie ondergaan. Op het risico van cryochirurgie in een tevoren zwaar bestraald gebied is o.a. door DeSanto (1972) gewezen.

TABEL III

Twintig in opzet curatief behandelde patiënten in de periode van 1973-1977.

Patiënt Nr.	Leeft. M/V	Lokalisatie tumor	TNM class.	Histopathologische diagnose	Resultaat	Duur follow-up	
1	86	M	mondbodem	T ₃ N ₀	verrukeus carcinoom	vrij van tumor	37 mnd
2	64	M	wangslimvlies	T ₁ N ₀	hoog gedifferentieerd plaveiselcelcarcinoom	vrij van tumor	34 mnd
3	76	V	harde verhemelte	T ₂ N ₀	weinig gediff. plavei- selcelcarcinoom	vrij van tumor	34 mnd
4	63	M	wangslimvlies	T ₁ N ₀	verrukeus carcinoom	vrij van tumor	32 mnd
5	56	M	grens harde/zachte verhemelte	T ₂ N ₀	maligne mengtumor	overleden t.g.v. hart- infarct, vrij van tumor	30 mnd
6	81	V	wangslimvlies	T ₃ N _{1a}	verrukeus carcinoom	vrij van tumor	28 mnd
7	74	V	wangslimvlies	T ₂ N ₀	weinig gediff. plavei- selcelcarcinoom	niet vrij van tumor, sterke progressie, aan- vull.excisie niet radicaal, thans chemotherapie	28 mnd
8	66	M	processus alveolaris	T ₁ N ₀	hoog gedifferentieerd plaveiselcelcarcinoom	15 mnd na bevrozing recidief, thans vrij van tumor	27 mnd
9	57	M	wangslimvlies	T ₁ N ₀	hoog gedifferentieerd plaveiselcelcarcinoom	vrij van tumor	27 mnd
10	72	M	mondbodem	T ₁ N _{1a}	weinig gediff. plavei- selcelcarcinoom	niet vrij van tumor, aan- vullende radiotherapie	26 mnd
11	84	V	processus alveolaris	T ₂ N ₀	hoog gedifferentieerd plaveiselcelcarcinoom	niet vrij van tumor, bot- ingroei; na aanvull. com- mandoresectie vrij van tumor	26 mnd
12	68	V	mondbodem	T ₃ N _{1b}	hoog gedifferentieerd plaveiselcelcarcinoom	niet vrij van tumor, aan- vull.commandoresectie, thans vrij van tumor	21 mnd
13	71	M	wangslimvlies mondhoek	T ₃ N ₀	hoog gedifferentieerd plaveiselcelcarcinoom	overleden, tumorresten	19 mnd
14	95	M	wangslimvlies mondhoek	T ₂ N ₀	hoog gedifferentieerd plaveiselcelcarcinoom	vrij van tumor	18 mnd
15	81	V	voorst 2/3 deel van de tong	T ₁ N ₀	polipeus papillair plaveiselcelcarcinoom	vrij van tumor	17 mnd
16	73	V	processus alveolaris	TIS	carcinoma in situ	klinisch gezond mond- slimvlies	15 mnd
17	80	M	processus alveolaris, uitbreidend in mondbodem en zij- kant tong	T ₃ N _{1a}	hoog gedifferentieerd plaveiselcelcarcinoom	vrij van tumor	11 mnd
18	84	M	wangslimvlies	T ₃ N ₀	hoog gedifferentieerd plaveiselcelcarcinoom	overleden, tumorresten	9 mnd
19	76	M	processus alveolaris	T ₁ N ₀	weinig gediff. plavei- selcelcarcinoom	vrij van tumor	8 mnd
20	81	V	processus alveolaris	T ₁ N ₀	hoog gedifferentieerd plaveiselcelcarcinoom	vrij van tumor	6 mnd

Ondanks onze teleurstellende ervaringen bij deze categorie patiënten, zijn wij in overeenstemming met Gage (1971, 1972) van mening, dat wanneer het er primair om gaat de pijn te verlichten, cryochirurgie bij uitgebreide recidieven toch van nut kan zijn.

Cryochirurgie als curatieve therapie (zie tabel III)

Naast de zojuist besproken palliatieve cryochirurgie, werd bij 6 patiënten de bevroeringsmethodiek toegepast als secundaire — in opzet curatieve — behandelingsmethode bij tumoren welke na radiotherapie of chirurgische excisie persisteerden. Bij al deze patiënten ging het om een gelokaliseerde, kleine afwijking waarbij verdere chirurgische excisie niet mogelijk bleek of door de patiënt werd geweigerd en verdere radiotherapie niet raadzaam werd geacht vanwege de weefseltolerantie. Daarnaast werd bij 14 patiënten cryochirurgie als primaire — in opzet curatieve — therapie toegepast. Bij deze patiënten was de selectie gebaseerd op een van de volgende criteria:

- 1) De tumor was op of in de buurt van bot gelegen zodat chirurgische excisie van de tumor, verwijdering van een deel van mandibula of maxilla zou eisen en derhalve een ernstige mutilatie zou betekenen.
- 2) De tumor was aanwezig bij patiënten waarbij op grond van leeftijd of algehele conditie, het operatierisico te hoog werd geacht (en van radiotherapie geen verbetering mocht worden verwacht).

Sommige patiënten beantwoordden aan beide eisen, doch een van de twee gestelde eisen was voor ons voldoende om te besluiten tot cryochirurgie. Bij één patiënte met een oppervlakkige tumor op het palatum durum werd, gezien de mentale status van de patiënte, gekozen voor de cryotherapie, hoewel het operatierisico niet was verhoogd. De 20 patiënten (12 mannen, 8 vrouwen) varieerden in leeftijd van 56 tot 95 jaar (zie tabel IV).

De tumor was bij 8 patiënten in de wangmucosa, bij 3 in de mondbodem, bij 1 op het voorste 2/3 deel van de tong, bij 2 op het harde verhemelte (waarvan 1 keer op de grens van palatum durum en palatum molle), en bij 6 op de processus alveolaris inferior gelegen. Bij één patiënte werden twee

TABEL IV

Leeftijd	Aantal patiënten
50-59 jaar	2
60-69 jaar	4
70-79 jaar	6
80-89 jaar	7
90-99 jaar	1

TABEL V

Indeling TNM classificatie.

	N ₀	N _{1a}	N _{1b}	N ₂	N ₃
T _{IS}	1				
T ₁	7	1			
T ₂	5				
T ₃	3	2	1		

primaire maligne slijmvliesaandoeningen behandeld welke beide op de onderkaak waren gelegen. Bij één patiënt met een tumor op de rechter onderkaak waren eveneens de mondbodem, de zijkant van de tong alsook de buccale omslagplooï in het proces betrokken. Bij 3 patiënten was bij het begin van de behandeling een als niet suspect beoordeelde, maar wel vergrote halslymfeklier aanwezig, terwijl bij één patiënt met een uitgebreide tumor een suspecte cervicale lymfeklier werd gevoeld. Voor de TNM indeling (tabel V) werden de richtlijnen aangehouden volgens de "Union Internationale Contre le Cancer" 1974. De letter T verwijst naar de primaire tumor. T_{IS} betekent carcinoma in situ. T₁ betekent een tumor kleiner dan 2 cm, T₂ betekent een tumor van 2 tot 4 cm en T₃ duidt op een tumor groter dan 4 cm. De letter N verwijst naar cervicale lymfemetastasen. N₀ betekent dat er geen klieren palpabel zijn. N₁ houdt in dat er aan de homolaterale zijde een mobiele lymfeklier wordt gevoeld waarbij tevens een onderscheid wordt gemaakt tussen niet suspect (N_{1a}) en suspect (N_{1b}). N₂ betekent dat er aan de contralaterale zijde of bilateraal een mobiele niet suspecte (N_{2a}) of suspecte (N_{2b}) lymfeklier wordt gepalpeerd. N₃ betekent een gefixeerde klier welke homo- of bilateraal aanwezig is. De letter M welke duidt op het al of niet aanwezig zijn van een metastase op afstand, zal worden weggelaten daar er bij geen van onze patiënten bij het eerste bezoek een metastase op afstand werd vastgesteld.

De behandeling werd, indien mogelijk onder geleidingsanesthesie uitgevoerd, veelal na premedicatie met sedativa en atropine. Alle tumoren werden gevoren met de grootst mogelijke sonde (Ø 14 mm gebogen, convex of vlak) met een sondetemperatuur van -160°C. Er werd steeds gestreefd naar een maximaal contact tussen sonde en weefsel. Uitbreiding van de ijsbal werd door inspectie en palpatie beoordeeld. Van het gebruik van thermokoppels werd bij deze neoplasmata afgezien, wegens het risico van entmetastasering. De vriesduur varieerde van minimaal 3 tot maximaal 6 minuten. Gemiddeld bleek een behandelingsduur van 45 minuten voldoende om de tumor meermalen te vriezen en het bevroren weefsel spontaan weer te laten ontdooien. Na afstoting van het necrotische weefsel werd uit suspecte gebieden wederom een proefexcisie genomen en zonodig opnieuw gevoren.

Resultaten

De resultaten welke zijn weergegeven in tabel III en VI, hebben betrekking op een gemiddelde controleperiode van 22,7 maanden, variërend van minimaal 6 tot maximaal 37 maanden. Van de 20 patiënten zijn er thans nog 17 in leven. Drie patiënten overleden, waarvan één als gevolg van een hartinfarct, dertig maanden na primaire cryochirurgie. In het behandelde gebied was ten tijde van overlijden geen tumorrest aanwezig. De twee andere patiënten overleden op natuurlijke wijze respectievelijk 9 en 19 maanden na primaire cryochirurgie. Bij deze patiënten waren er ten tijde van overlijden nog wel tumorresten aanwezig. Bij beide patiënten was er sprake van een uitgebreide tumor (T_3N_0) in het wangslimvlies, met uitbreiding naar de mondhoek. Van de 17 nog in leven zijnde patiënten hadden 4 een persisterende tumor na de bevrozingstherapie. Bij één van hen was er sprake van een mislukking na primair cryochirurgische behandeling van een tumor in de mondbodem (T_1N_{1a}) welke aanvullend door radiotherapie werd behandeld. Aanvullende cytostatische therapie kon niet worden toegepast, vanwege de gestoorde nierfunctie. Hoewel de tumor voorsnog in bedwang kon worden gehouden, bestaat er lokaal nog verdenking op tumorresten. Bij een andere patiënt was er sprake van een primair cryochirurgische behandeling van een T_2N_0 tumor op de processus alveolaris inferior, welke enkele maanden na bevrozing een sterke groei en infiltratie in de mandibula toonde. Deze patiënte werd aanvullend behandeld middels een partiële mandibulectomie en uitruiming en bloc van de suprahyoïdale driehoek. De patiënte is thans (26 maanden na de behandeling) vrij van tumor, terwijl aanwijzingen voor metastasen ontbreken. Bij de derde patiënte ging het om een secundaire cryochirurgische behandeling van een persisterende tumor in de mondbodem (T_3N_{1b}). Zij was in het verleden behandeld voor een tongcarcinoom middels een partiële tong-

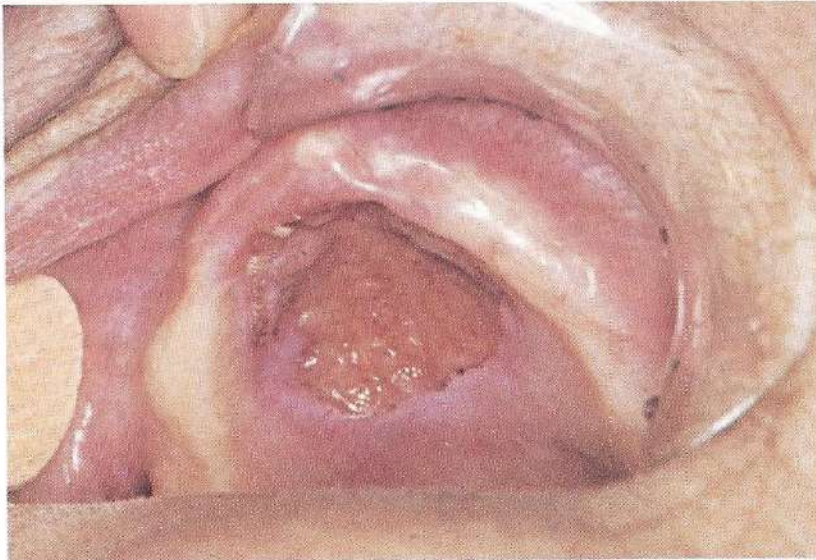
resectie. Er werd tot cryochirurgie besloten, daar de patiënte aanvankelijk een nieuwe operatie weigerde. Aangezien na cryochirurgie de tumor bleef bestaan werd uiteindelijk een commandoresectie uitgevoerd (partiële tongresectie + mondbodem + deel onderkaak) met uitruiming van de submandibulaire en submentale klierstations. De patiënte is thans (21 maanden na de laatste behandeling) vrij van tumor, terwijl er geen aanwijzingen zijn voor metastaseringen. Bij de vierde patiënt was sprake van een persisterende, snel groeiende tumor (T_2N_0) in het wangslimvlies, 2 maanden na secundaire cryochirurgische behandeling. Vooraf was deze tumor d.m.v. radiotherapie behandeld. Bij deze patiënt werd uiteindelijk besloten tot excisie van de tumor. Wegens irradicaliteit van deze ingreep, bleek aanvullende chemotherapie noodzakelijk.

De overige 13 patiënten, die alleen met behulp van cryochirurgie werden behandeld (zonder aanvullende therapie), zijn thans vrij van tumor. Bij één patiënt uit deze groep ontwikkelde zich 21 maanden na secundaire cryochirurgie een nieuwe tumor in de mondholt. Aangezien onzerzijds sterk de indruk bestaat dat het hier om zogenaamde "field cancerization" ging, was het niet verwonderlijk dat zich in dit gepredisponerde wangslimvlies opnieuw tumorweefsel voordeed, dat niet zozeer als recidief doch als nieuwe tumor werd geduid. Bij een tweede patiënt ontwikkelde zich 15 maanden na primaire cryochirurgie een recidief, dat eveneens met bevrozing werd behandeld. De meeste van de in totaal zes mislukkingen betreffen (uitgebreide) tumoren, welke in het wangslimvlies of de mondbodem waren gelegen. Eenmaal betrof het een T_2 tumor op de processus alveolaris inferior en eenmaal een T_2 tumor in het wangslimvlies. *De beste resultaten werden verkregen bij kleine oppervlakkige tumoren welke op bot waren gelegen.* Bij een aantal patiënten kwam het bot, na afstoting van de necrotische weefselmassa bloot te liggen, waarvan de patiënten echter weinig hinder ondervonden. Indien bot bloot kwam te liggen bleek de genezingsduur aanzienlijk vertraagd en nam veelal enkele maanden in beslag. Bij één patiënt werd sequestratie waargenomen. Uit angst voor osteomyelitis werd prophylactisch een antibioticakuur voorgeschreven. Een patiënt klaagde over verlies van sensibiliteit in de onderlip en kinstreek na bevrozing in de buurt van de nervus mentalis, doch na enkele maanden trad herstel op. Een andere patiënt, met een tumor op een sterk atrofische onderkaak, klaagde gedurende enkele dagen na bevrozing over een hevige, stekende pijn, vermoedelijk als gevolg van irritatie van de dicht aan de oppervlakte gelegen nervus alveolaris inferior. Meestal konden de nabezwaren met eenvoudige analgetica worden bestreden. Hoewel enkele patiënten hinder ondervonden van het necrotische weefsel en de daardoor veroorzaakte foetor ex ore, deden zich verder geen postoperatieve complicaties voor. Ernstige trismus werd bij geen der patiënten geconstateerd, hoewel hiermee bij bevrozing in de buurt van het trigonum retromolare wel rekening moet worden gehouden (Gage 1976).

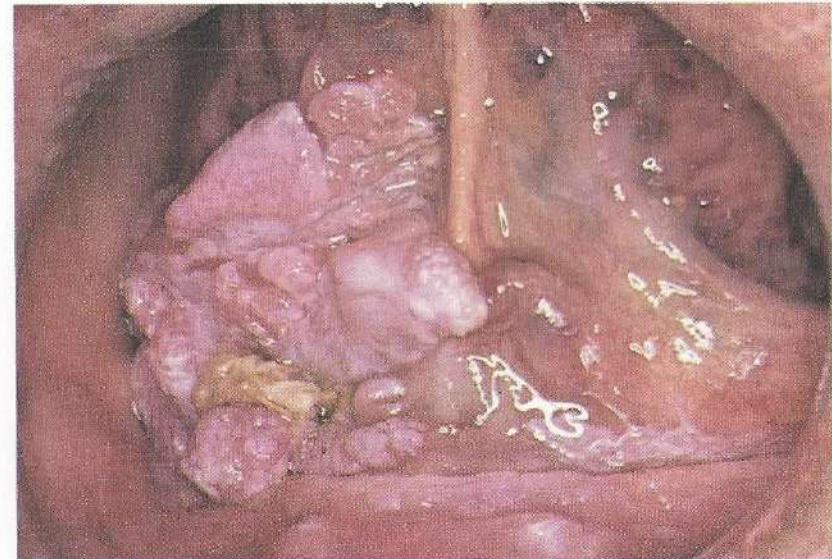
TABEL VI

Resultaten bij 20 curatief behandelde patiënten tot maart 1977.

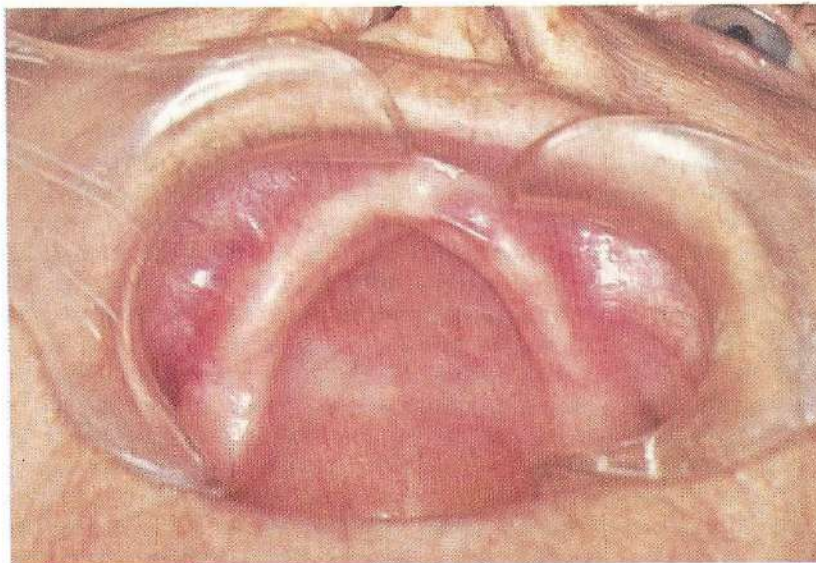
	aantal	percentages
<i>In leven (17)</i>		
vrij van tumor na cryochirurgie	13	65
vrij van tumor na aanvullende therapie (excisie, radiotherapie, chemotherapie)	2	—
aanvullende therapie niet radicaal	2	—
<i>Overleden (3)</i>		
vrij van tumor na cryochirurgie	1	5
tumorresten na cryochirurgie	2	—
<i>totaal:</i>	20 waarvan	70%
	vrij van tumor na cryochirurgie	



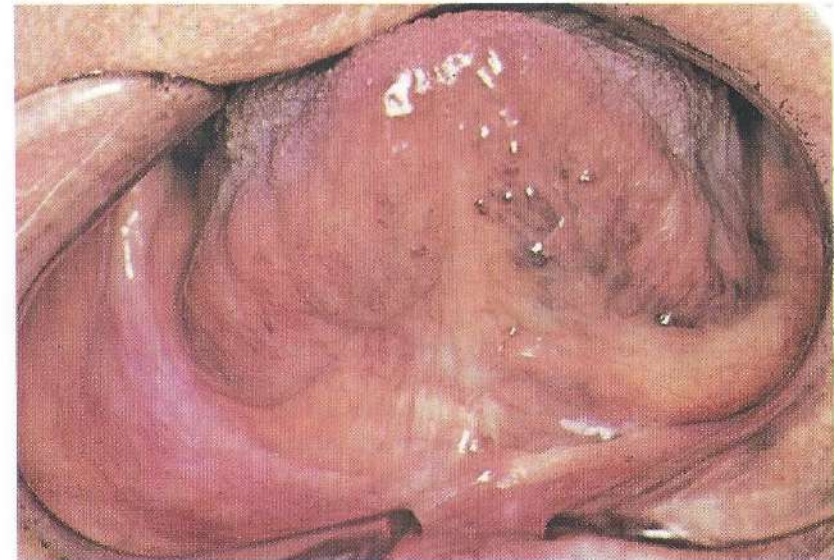
Afb. 18a) Weinig gedifferentieerd plaveiselcelcarcinoom op het harde verhemelte (T_2N_0). ♀ 76 j. (A.v.L. 74/1932).



Afb. 19a) Verrukeus carcinoom mondbodem (T_3N_0). ♂ 86 j. (A.v.L. 67/136).



Afb. 18b) Volledige eliminatie na cryochirurgie. Sondetemperatuur -160°C , vriesduur 3 min. 3 x herhaling vries-dooi cyclus. Geen recidief. Duur follow-up 34 mnd.



Afb. 19b) Volledige eliminatie na cryochirurgie. Sondetemperatuur -160°C , vriesduur 5 minuten, 3 x herhaling vries-dooi cyclus. Geen recidief. Duur follow-up 37 maanden.

Nabeschuwing

Cryochirurgie als curatieve therapie voor maligne tumoren is tot op heden geen algemeen geaccepteerde en toegepaste behandelingsmethode, hoewel het gebruik ervan zich steeds verder uitbreidt. Haar voordeel ligt in de eenvoud van toepassing, het ontbreken van bloedingen gedurende de behandeling en de weinige postoperatieve complicaties, terwijl bovendien de methode geen algehele anesthesie vereist. Hoewel het aantal door ons behandelde patiënten gering, en de nacontrole voor maligne tumoren betrekkelijk kort is, kunnen toch ten aanzien van de waarde van cryochirurgie als curatieve therapie wel enkele conclusies worden getrokken.

De dieptewerking van de bevroezingsmethodiek is beperkt. Volgens Hausamen (1974) zal de ijsbal na een vriesduur van 5 minuten een doorsnede van ca. 4 cm en een dieptewerking van ca. 1 cm bereiken. Deze afmetingen komen overeen met een klinisch te verkrijgen cryonecrose, na een éénmalige vries-dooi cyclus met gebruik van een sonde van 14 mm Ø. Gezien de onnauwkeurigheid van de methode en de beperkte weefsel-destructieve vermogens van de tot onze beschikking staande apparaten, dient derhalve bij de in opzet curatief bedoelde cryotherapie zorgvuldig te worden geselecteerd. Patiënten met een persisterende tumor na excisie of radiotherapie kunnen met succes door middel van bevriezing worden behandeld, indien het om een kleine gelokaliseerde tumor gaat. Na cryochirurgie van een vooraf bestraalde tumor, bestaat een verhoogde kans op het ontstaan van osteoradionecrose indien na afstoting bot "bloot" komt te liggen (Weaver en Smith 1974).

Cryochirurgie als primaire, in opzet curatieve, therapie lijkt vooral geschikt voor kleine, oppervlakkige, bij voorkeur op bot gelegen tumoren, omdat infiltratie van maligne cellen door het onderliggende bot wordt beperkt. Een mutilerende resectie kan op deze wijze worden vermeden.

De overlevingspercentages na 5 jaar zijn in deze geselecteerde groep te vergelijken met die welke met de conventionele vormen van therapie worden bereikt (Weaver en Smith 1974; Smith en Weaver 1976; Gage 1976). Tumoren welke in de mondbodem of wang zijn gelegen lijken minder geschikt voor bevriezing, omdat de infiltratie in de diepte vaak verrassend uitgebreid kan zijn. Het risico van het mislukken van de cryotherapie is op deze plaatsen hoger dan indien de tumor op bot is gelegen. Voor beoordeling van de uitbreiding van de tumor is dan ook een ruime oncologische ervaring vereist.

Bij de selectie van patiënten lijkt het verstandig van cryochirurgie af te zien indien er op de röntgenfoto reeds sprake is van botdestructie in de buurt van de canalis mandibularis. Weaver en Smith (1974) hebben bij een groep van 25 patiënten met een tumor welke op bot was gelegen, 4 mislukkingen gezien na cryochirurgie, hetgeen wordt toegeschreven aan verspreiding van tumorcellen langs de canalis mandibularis.

Bevriezing is een vorm van lokale therapie, zodat een lymfadenopathie op een andere wijze dient te worden behandeld. Vandaar dat de cryotherapie ons inziens bij voorkeur gereserveerd dient te worden voor patiënten bij wie geen suspecte lymfenoduli worden gevoeld.

Cryochirurgie moet niet worden beschouwd als vervanging van reeds bestaande conventionele behandelingsmethoden. Bij zeer geselecteerde patiënten dient de methode echter als primaire therapie te worden overwogen. Een veelal mutilerende resectie kan dan worden vermeden. Chirurgie of radiotherapie zijn echter niet gecontra-indiceerd indien bevriezing mocht falen, zodat een aanvullende therapie mogelijk is.

HOOFDSTUK V

SLOTBESCHOUWING

Het klinisch gebruik van extreme koude is gebaseerd op enkele algemene, niet specifieke reacties welke door bevriezing in doorbloed weefsel worden veroorzaakt. Naast de weefseladhesieve werking, de ontstekingsbevorderende en hemostyptische effecten, kan vooral de destructieve werking van nut zijn bij de klinische toepassing van de cryotherapie. De moderne bevroingsmethodiek dankt zijn doorslaggevende impulsen aan Cooper en Lee, die er in 1961 voor het eerst in slaagden bij menselijk hersenweefsel, door gerichte gelokaliseerde cryo-applicaties, pathologische hersenfuncties uit te schakelen. Zij maakten daarbij gebruik van een, dankzij het Amerikaanse ruimtevaartprogramma ontwikkelde, voor klinische doeleinden bruikbaar bevroingsapparaat, waardoor het mogelijk werd vrieslaesies in iedere gewenste uitbreiding te veroorzaken. Sedert het historische werk van Cooper en Lee wordt de cryochirurgie in vele specialismen, bij zeer uiteenlopende aandoeningen toegepast.

De celdodende werking van extreme koude berust op verschillende biofysische mechanismen. Het onttrekken van water uit biologische systemen door de overgang van water uit de vloeibare in de vaste aggregatietoestand staat hierin centraal. De hieruit resulterende veranderingen in het milieu van de cel en de directe beschadiging door intracellulaire ijsvorming en denaturatie van lipoproteïnecomplexen uit celmembranen worden verantwoordelijk geacht voor de irreversibele celbeschadiging.

Het voornaamste probleem bij de cryochirurgie ter vernietiging van goeden kwaadaardige aandoeningen is gelegen in het veroorzaken van een onvoorwaardelijke, de gehele tumor omvattende cryonecrose van alle cellen. De principes die aan het gebruik van de bevroingsstechniek ten grondslag liggen, werden vooral door Lovelock (1953, 1954), Meryman (1967), Mazur (1968) en Farrant (1971) onderzocht. De in experimenten bij geïsoleerde vitale cellen verkregen gegevens, met het doel weefsels door afkoeling te conserveren, tonen aan dat met betrekking tot het percentage celoverleving naast het bereikte temperatuurminimum vooral grote waarde moet worden toegekend aan de vries- en dooisnelheid. Voor een optimale celdodende werking zijn afkoeling tot tenminste -20°C en volgens Neel en DeSanto (1972) zelfs tot tenminste -30°C , een vriessnelheid van $100^{\circ}\text{C}/\text{minuut}$ en een langzame, spontane dooi vereist.

Bij bevriezing *in vivo* speelt naast het directe effect van afkoeling, de secundaire ischemische necrose door onderbreking van de bloedstroom in de microcirculatie een uiterst belangrijke rol in het klinisch gebruik van

extreme koude. Velen beschouwen deze secundair optredende ischemie als belangrijkste oorzaak voor de uiteindelijke necrose, die zich onafhankelijk van de verschillen in koudegevoeligheid tussen de diverse cellen onderling, uitbreidt tot en met de randgebieden van de vrieslaesie (Kreyberg 1963; Gage c.s. 1965; Gill c.s. 1970; Whittaker 1972; Holden en Saunders 1973). Deze necrose strekt zich verder uit dan de zone van enkele millimeters welke direct rondom de cryosonde is gelegen en waarin celdood optreedt door de directe effecten van bevriezing zoals bepaald in het laboratoriummodel.

Gage c.s. (1965), Cooper (1965), Fraser en Gill (1967) en Gill c.s. (1970) wijzen op grond van hun klinische ervaring op het belang van herhaling van de vries-dooi procedure. Het effect van herhaalde cryo-applicaties is intensiever dan na één enkele vries-dooi cyclus. Hetzelfde fenomeen konden Goldenberg c.s. (1969) en Stone c.s. (1969) aantonen in dier-experimentele studies met hetero-getransplanteerde menselijke carcino-men. Ondanks een hoge afkoelsnelheid door direct besproeien van de tumor met vloeibare stikstof verkregen Goldenberg c.s. na een eenmalige bevriezing, na enten van cellen uit de vrieslaesie, binnen vier uur positieve transplantaten. Pas na 2 of 3 keer herhalen van de vries-dooi procedure sloegen de transplantaten niet meer aan. Herhaling van de vries-dooi procedure is derhalve bij de behandeling van maligne neoplasmata vereist.

In dit verband dienen eveneens de bevindingen van Soanes c.s. (1970), Ablin c.s. (1971) en Gursel c.s. (1972) te worden genoemd. Zij berichten over een klinisch en röntgenologisch aanwijsbare regressie van metastasen bij prostaatacarinomen na cryochirurgie van de primaire tumor. Deze waarneming wordt toegeschreven aan een immunologische reactie, door het vrijkomen van antigenen in de vrieslaesie (Shulman c.s. 1968; Yantorno c.s. 1967; Drylie c.s. 1968). Voorlopig is deze cryo-immunologische reactie niet meer dan een vermoeden.

De cryolaesie die zich in alle weefsels zowel micro- als macroscopisch kenmerkt door een sterke uniformiteit, is vooral gekarakteriseerd door een scherpe begrenzing met behoud van het omringende weefsel, de veelal complicatieloze vrijwel pijnloze postoperatieve fase zonder nabloeding, alsmede genezing met een soepel litteken. De klinische toepassing van extreme koude met gesloten sondes, vindt plaats middels de algemeen gebruikelijke contactmethode. Een andere mogelijkheid is de door Cahan (1971) gepubliceerde penetratiemethode, waarbij de cryosonde *in* het te bevroeren weefsel wordt gebracht. Deze methode is bij maligne neoplasmata wegens het gevaar voor versleping van tumorcellen alleen te gebruiken bij inoperabele tumoren. Tenslotte staat ons de door Torre (1967) geïntroduceerde spraymethode ter beschikking, waarbij de vloeibare stikstof direct op het weefsel wordt gespoten. Hoewel hiermee diepere laesies kunnen worden bereikt dan met de contactmethode, is deze techniek in de mondholte door het slechte zicht en onvoldoende isolatie van de omrin-

gende weefsels niet te gebruiken. Wel zou de spraytechniek kunnen worden gebruikt bij de behandeling van botaandoeningen. Het probleem van de afsluiting van de zgn. open sonde dient echter nog nader te worden onderzocht.

Op grond van onze klinische studie naar de waarde van de cryochirurgie als aanvullende of vervangende therapie bij de behandeling van goed- en kwaadaardige aandoeningen in de mondholte kunnen enkele conclusies worden getrokken. De cryochirurgische "ingrepen" zijn gekenmerkt door de eenvoud van toepassing en de geringe belasting voor de patiënt. De behandeling kan onder lokale anesthesie en in de regel ambulant worden uitgevoerd. De postoperatieve zorg blijft veelal beperkt tot pijnbestrijding in verband met een aanzienlijk cryo-oedeem dat na twee dagen zijn maximale omvang heeft bereikt en nadien gestadig afneemt. Alle cryolaesies, uitgezonderd die waarbij bot "bloot" komt te liggen, genezen afhankelijk van de uitbreiding in de diepte binnen 4-6 weken middels een soepel litteken.

Bij de behandeling van kleine tot middelgrote oppervlakkig gelegen angioomen, de papillaire hyperplasie van het palatum en de leukoplakieën van het mondslijmvlies, kunnen met de bevroeringsmethodiek zeer goede resultaten worden bereikt. Als symptomatische therapie bij de behandeling van pijnlijke lichen planus is de bevroeringsmethodiek sterk te overwegen. Men dient zich echter vooral bij de behandeling van leukoplakieën en lichen planus te realiseren dat bevroering niet de oorzaak voor het ontstaan van deze aandoeningen wegneemt zodat met een recidief rekening moet worden gehouden.

Bij de behandeling van maligne tumoren dient men een onderscheid te maken tussen palliatieve en in opzet curatieve cryochirurgie. Palliatieve cryochirurgie heeft bij onze patiënten teleurstellende resultaten opgeleverd. Hoewel de tumormassa in een enkel geval kon worden verkleind, de diffuse bloedingen tot stilstand konden worden gebracht en de pijn door vernietiging van sensibele zenuwuiteinden kon worden verlicht, waren de effecten van korte duur. Mogelijk worden betere resultaten bereikt indien cryochirurgie als palliatieve therapie wordt gecombineerd met electrochirurgie, waarbij eerst de zichtbare massa wordt geocoaguleerd of geëxcideerd en vervolgens de tumor aan de basis wordt gevrozen. Deze behandeling vereist echter algehele anesthesie, hetgeen bij de veelal in slechte conditie verkerende patiënten met een dikwijls hoge leeftijd niet altijd mogelijk is.

Indien cryochirurgie als curatieve therapie wordt toegepast, dient men bij de indicatie zeer selectief te zijn, op grond van de onnauwkeurigheid van de methode en de beperkte vriesvermogens van de tot onze beschikking staande bevroeringsapparaten. Hausamen (1973) heeft in dierexperimentele studies, gebruik makend van vloeibare stikstof als koelmiddel en gesloten sondes, aangetoond dat de gewenste afkoelsnelheid van 100°C/

minuut bij een sonde van 14 mm $\varnothing$ slechts 2 mm diep en de -20°C grens na 5 minuten vriezen op een afstand van 8 tot 10 mm van de sonde, wordt bereikt. Bij eigen registratie werd gewoonlijk binnen 3 minuten een temperatuur van -40°C waargenomen op een afstand van 1,5 cm van de sonde. Deze waarde werd verkregen bij een sonde van 14 mm $\varnothing$ en een sondetemperatuur van -160°C. Na een vriesduur van 5 minuten mag afhankelijk van de grootte van de sonde op een maximale vrieslaesie van 4 cm in omvang en 1 cm diep worden gerekend.

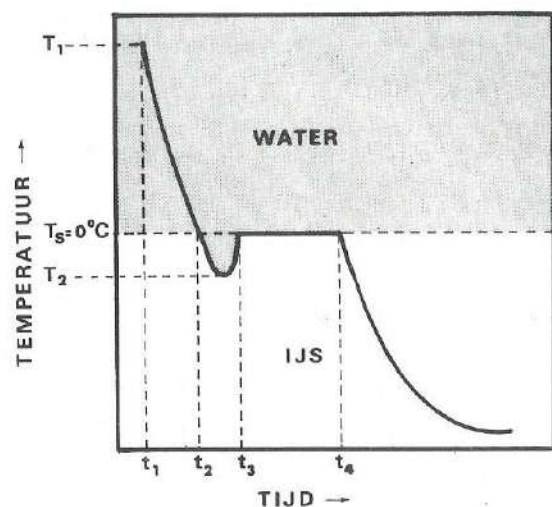
Deze afmetingen komen overeen met de klinisch te verkrijgen cryonecrose, na een éénmalige vries-dooi cyclus. Grotere gebieden kunnen alleen door meerdere, elkaar overlappende cryolaesies worden gede vitaliseerd. In de diepte zal de necrose ook na meerdere cryo-applicaties zich echter niet veel verder uitbreiden. Het vriesvermogen is dus aan grenzen gebonden. Vooral bij de curatieve cryochirurgie van maligne neoplasmata mag de methode zich alleen binnen deze grenzen bewegen. Vandaar dat de bevroeringsmethodiek gereserveerd dient te worden voor oppervlakkige, gelokaliseerde tumoren, waarvan de uitbreiding is te "overzien". Voor een juiste beoordeling van de omvang van deze tumoren is derhalve ruime oncologische ervaring vereist.

Bij het gebruik van de cryotherapie in de mondholte kan tenslotte worden opgemerkt dat een definitief oordeel over de waarde van deze methodiek, vooral wat betreft de leukoplakieën en maligne neoplasmata, op grond van de beperkte duur van onze follow-up niet kan worden gegeven. De hier vermelde resultaten zijn echter voor ons aanleiding deze studie voort te zetten en te zoeken naar uitbreiding van het indicatiegebied. Een combinatie van chirurgie en bevroering bij de behandeling van botaandoeningen behoort misschien tot de verdere therapeutische mogelijkheden en dient nader te worden onderzocht.

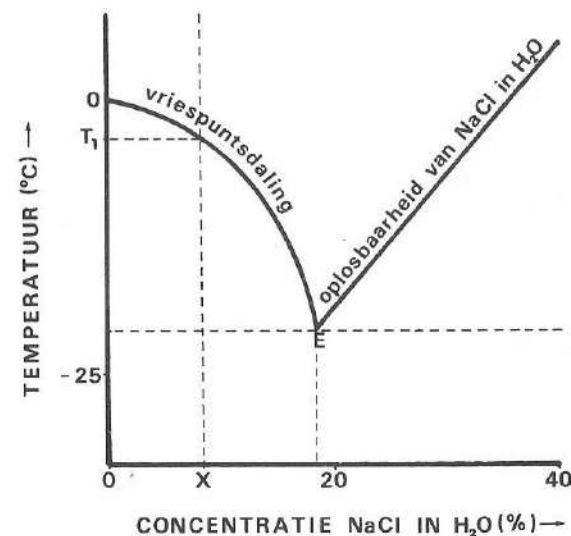
APPENDIX

Er zijn twee fenomenen welke in staat zijn water beneden het normale vriespunt van 0°C nog vloeibaar te houden. Het eerste noemt men onderkoeling (Eng. supercooling). Het mechanisme hiervan kan als volgt worden beschreven.

Indien men een systeem bestaande uit één component vanuit de vloeibare fase laat afkoelen, zal de temperatuur een functie van de tijd blijken te zijn. Grafisch is dit verloop in afbeelding 20 weergegeven voor het systeem water. Vanaf tijdstip t_1 daalt de temperatuur van het water gelijkmatig. Op tijdstip t_2 is de stoltemperatuur (vriespunt) $T_s = 0^{\circ}\text{C}$ bereikt. Theoretisch zouden nu de eerste ijskristallen moeten precipiteren, hetgeen een belangrijke verstoring van het thermodynamische evenwicht met zich meebrengt. In de praktijk moet men koelen tot een temperatuur, welke iets lager ligt dan 0°C om dit evenwicht te verstoren. Pas dan ontstaan sporen (kernen) van ijskristallen. Om deze kernen groeit de verdere kristallisatie. Deze daling van de vloeistoftemperatuur onder het vriespunt $T_2 - T_0$ noemt men onderkoeling. De warmte welke tijdens de stolling vrijkomt doet de temperatuur van het systeem weer stijgen. De vrijkomende warmte en het



Afb. 20. Tijd-temperatuur curve voor het systeem water-ijs tijdens fase-overgang.



Afb. 21. Fasendiagram van het binaire systeem $\text{H}_2\text{O}-\text{NaCl}$.

warmteverlies door afkoeling houden elkaar in evenwicht zolang er water en ijs naast elkaar bestaan. Op de afkoelcurve wordt dit weergegeven door een horizontaal traject t_3-t_4 . Op tijdstip t_4 is al het water bevroren en is de continue afkoeling van het ijs mogelijk tot temperaturen onder 0°C .

Een tweede mechanisme van vriespuntsverlaging, dat ten onrechte vaak wordt aangeduid met onderkoeling, treedt op bij verontreiniging in het water. Alvorens in te gaan op bevrozing (ijsvorming) van biologische structuren is het van belang enige aandacht te schenken aan een meer algemeen binair systeem waarbij de componenten in de vloeibare fase tot op zekere hoogte goed mengbaar zijn, terwijl dit niet het geval is voor de vaste fase. Zulk een systeem is bijvoorbeeld keukenzout (NaCl) in water (H_2O).

Aan de hand van afbeelding 21 waarin het fasendiagram voor deze componenten is weergegeven, zal hieronder worden uiteengezet, hoe het systeem zich gedraagt bij bevrozing ten gevolge van afkoeling. Indien we pek (NaCl als ionen opgelost in H_2O), van een concentratie x , afkoelen blijkt het systeem ook tot een temperatuur T_1 (welke onder 0°C ligt!) geheel vloeibaar te blijven. Dit komt doordat opgeloste vreemde deeltjes vriespuntsverlagend werken op het oplosmiddel. De vriespuntsverlaging is evenredig met de concentratie van de opgeloste deeltjes (wet van Van 't Hoff). Bij temperatuur T_1 aangekomen zetten de eerste ijskristallen zich af. Omdat ijs in tegenstelling tot water geen vreemde ionen verdraagt, wordt de zoutconcentratie van de overige vloeistof dus hoger en treedt voortgezette vriespuntsdaling op. Zo zal — bij voortgezette afkoeling — na

iedere nieuwe ijsafzetting, de resterende vloeistof rijker aan Na en Cl ionen worden en tot lagere temperaturen vloeibaar blijven. Bij $-21,2^{\circ}\text{C}$ is het dieptepunt bereikt: het water bevat dan ca. 22% NaCl, hetgeen de (maximale) oplosbaarheid van NaCl in H_2O van die temperatuur is. Verdere vriespuntsdaling is niet meer mogelijk door concentratieverhoging. Het resterende water bevriest tot ijs terwijl daarnaast het NaCl als zoutwaterhoudende kristallen ($\text{NaCl}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$) precipiteert. Het gehele systeem is nu in de vaste fase.

SAMENVATTING

In de inleiding worden in het kort de therapeutische toepassingsmogelijkheden van het lokale gebruik van lage temperaturen besproken. Het doel van deze klinische studie wordt uiteengezet.

Voor een beter inzicht in de cryotherapie wordt in hoofdstuk I ingegaan op de invloed van lage temperaturen op geïsoleerde cellen en celsuspensies. Het belang van de vries- en opwarm snelheid alsmede het effect van herhaling van de vries-dooi cyclus worden besproken. Daarna volgt een beschrijving van de invloed van extreme koude op weefsel *in vivo*, een proces waarbij de doorbloeding van doorslaggevende betekenis blijkt te zijn. De criteria voor een optimale celdodende werking van de bevroeringsmethodiek worden vermeld.

In hoofdstuk II wordt enige aandacht geschonken aan de veranderingen welke optreden bij bevroering van de diverse in de mondholte voorkomende structuren. Het chronologisch verloop van destructie en regeneratie na bevroering van mondslijmvlies, bot, tandpulpa, zenuwvezels en bloedvaten wordt uiteengezet.

Hoofdstuk III geeft een overzicht van de door ons gebruikte vriesapparaten, alsmede een uiteenzetting van de door ons gevolgde methode.

In hoofdstuk IV volgt een verslag van eigen ervaring en resultaten bij 77 door middel van cryotherapie behandelde patiënten. Goede resultaten werden verkregen bij de behandeling van kleine tot middelgrote oppervlakkig gelegen angiomen. De cryotherapie heeft eveneens voldaan bij de behandeling van papillaire hyperplasie van het verhemelte. Als symptomatische therapie werd de bevroeringsmethodiek toegepast bij pijnlijke erosieve lichen planus. Een causale behandeling is vanwege de nog onbekende etiologie tot op heden niet mogelijk. Als symptomatische therapie, vooral met het oog op de analgetische werking, kan cryochirurgie van nut zijn. Goede resultaten werden verkregen bij de behandeling van leukoplakie van het mondslijmvlies. De slijmvliesveranderingen konden steeds volledig worden geëlimineerd, zonder sterke littekenvorming of functieverlies.

Als palliatieve therapie werd cryochirurgie toegepast bij 10 ongeneeslijke tumoren. Het resultaat was teleurstellend. Een beter resultaat zou mogelijk kunnen worden bereikt bij een meer agressieve behandeling onder algehele anesthesie. Twintig gelokaliseerde maligne neoplasmata werden curatief cryochirurgisch behandeld. Bij 14 patiënten werd de afwijking volledig vernietigd. Een definitief oordeel over de waarde van de bevroer-

zingsmethodiek kan bij deze groep wegens de beperkte navolgingsperiode (van 6 tot 37 maanden) nog niet worden gegeven. Bij oppervlakkige tumoren, die bij voorkeur op bot zijn gelegen, dient de methode als primaire therapie te worden overwogen. Een strenge selectie van de patiënten, vooral rekening houdend met de onnauwkeurigheid van de methode en de beperkte vermogens van de vriesapparaten, is echter een vereiste. In hoofdstuk V volgt de slotbeschouwing.

SUMMARY

In the introduction, the therapeutic possibilities in the local application of profoundly low temperatures are discussed in short. The aim of this clinical study is stated.

In order to gain a better insight into cryotherapy, the effects of low temperatures to isolated cells and cell suspensions are described in Chapter I. The importance of the rate of cooling and warming as well as the effect of repeated freeze-thaw cycles are discussed. A description of the influence of extreme cold to living tissue has been dealt with next, an event in which the blood circulation plays a decisive role. The criteria for an optimum lethal effect by freezing are mentioned.

In Chapter II some attention is paid to the events which take place by freezing the various oral tissues. The chronological course of destruction and regeneration following freezing of mucous membrane, bone, pulpal tissue, nerve-fibres and blood-vessels is stated.

Chapter III reviews the freezing apparatus and gives an explanation about the method used in this study.

In Chapter IV a report is presented of own experience with cryosurgery gathered in 77 patients. Good results have been obtained in the treatment of small to moderate, superficially situated angiomas. Cryotherapy has also been found to be satisfactory in the treatment of papillary hyperplasia of the palate. As symptomatic treatment we employed the freezing procedure to painful erosive lichen planus. Up until now, a causal treatment has not been possible because of an unknown etiology. Used as symptomatic therapy, cryosurgery may be of some use in these cases, especially to relieve pain. Good results have been obtained in the treatment of oral leukoplakia. The pathologically changed mucous membranes could be completely eliminated without severe scarformation or impairment to functions.

Cryosurgery for palliation was employed in 10 incurable tumors. Results have been disappointing. It is possible that better results can be obtained when using a more aggressive treatment under general anesthesia. Twenty localized malignant neoplasms were treated by cryosurgery to cure. The tumor was completely destroyed in 14 patients. A definite judgement about the value of the freezing procedure in this group cannot be passed because of a too short observation period (from 6 to 37 months). This modality should be considered as primary treatment of superficially located tumors, especially those overlying bone. A stringent selection of

patients, especially when taking into account the inaccuracy of this method and the limited capabilities of the freezing apparatus, however, is essential.

In Chapter V a final debate follows.

ZUSAMMENFASSUNG

In der Einleitung werden die verschiedenen therapeutischen Möglichkeiten in der lokalen Anwendung tiefer Temperaturen kurz besprochen. Die Zielstellung dieser klinische Studie wird dargelegt.

Im ersten Kapitel werden, zum Verständnis der Kryotherapie anhand einer zusammenfassenden Darstellung, die Wirkung von tiefen Temperaturen auf isolierte Zellen- und Zellsuspensionen, ihre Abhängigkeit von der Gefrier- und Auftaugeschwindigkeit sowie der Effekt wiederholter Gefrier- und Auftauzyklen geschildert. Es folgt die Gegenüberstellung der Reaktion lebender Gewebe und Organe auf extreme Kälte die eine entscheidende Abhängigkeit von der Durchblutung zeigt. Die Kriterien für eine weitgehend sichere Zelltötende Wirkung der Kryotherapie werden genannt. Im zweiten Kapitel wird der Einfluß von extreme Kälte auf die Mundschleimhaut, den (Kiefer)knochen, die Zahnpulpa, die Nerven und Gefäße geschildert und der zeitliche Ablauf ihrer Regeneration erörtert.

Kapitel 3 gibt ein Überblick über die zur Erzeugung tiefer Temperaturen angewandte Kältegeräte und Methoden.

Im vierten Kapitel wird ein Erfahrungsbericht über bisher 77 Patienten dargelegt. Gute Ergebnisse konnten wir bei der Kältechirurgischen Behandlung von kleinen bis mittelgroßen oberflächlich gelegenen Angiomen beobachten. Die Kryotherapie hat sich ebenfalls sehr bewährt bei der Behandlung der papillären Hyperplasie des Gaumens. Als symptomatische Maßnahme haben wir die Kryotherapie bei schmerzhaften erosiven Lichen planus angewandt. Eine kausale Behandlung der Krankheit ist wegen der noch unbekannten Ursachen bisher nicht möglich. Jedoch als symptomatische Therapie, besonders im Hinblick auf dem schmerzlindernden Effekt, hat sich dieses Verfahren sehr gut bewährt. Günstige Resultate konnten wir bei der Kältechirurgische Behandlung von Leukoplakien der Mundschleimhaut beobachten. Immer wurde eine vollständige Beseitigung der Veränderungen erreicht unter Ausheilung in einer zarten Narbe ohne Funktionsbehinderung.

Als palliative Maßnahme haben wir 10 inkurable Tumoren kryochirurgisch behandelt. Die Resultate waren jedoch enttäuschend. Vielleicht wäre der Gesamtablauf wesentlich zu beeinflussen, wenn wir die Behandlung unter Vollnarkose hätten durchführen können. Die Kryochirurgie wurde ebenfalls bei 20 regional begrenzten malignen Tumoren, mit dem Ziel der kurativen Therapie, eingesetzt. Es gelang bei 14 Patienten die Geschwülste vollständig zu zerstören. Eine endgültige Aussage über den Wert der

Methode ist wegen der Kürze der Nachbeobachtungszeit (zwischen 6 und 37 Monate) noch nicht möglich. Jedoch unter strengsten Indikation und unter Berücksichtigung der Leistungsgrenze der Kältegeräte, ist unserer Meinung nach die Methode als primäre Therapie bei oberflächlich gelegenen malignen Tumoren, die vorzugsweise der knöchernen Unterlage aufsitzen, zu erwägen.

Im fünften Kapitel folgt die Schlußbetrachtung.

LITERATUUR

- Ablin, R. J., Soanes, W. A., Gonder, M. J.: Immunologic studies of the prostate. *Int. Surg.* 52:8, 1969.
- Ablin, R. J., Soanes, W. A., Gonder, M. J.: Prospects for cryo-immunotherapy in cases of metastasizing carcinoma of the prostate. *Cryobiology* 8:271, 1971.
- Allington, M. D.: Liquid nitrogen in the treatment of skin diseases. *Calif. Med.* 72:153, 1950.
- Amaral, W. J., Frost, J. R., Howard, W. R., Cheatham, J. L.: Cryosurgery in treatment of inflammatory papillary hyperplasia. *Oral Surg.* 25:648, 1968.
- Arnott, J.: On the treatment of cancer by the regulated application of an anaesthetic temperature. Churchill, London, 1851.
- Asahina, E.: Cellular injury and resistance in freezing organisms. The Institute of Low Temperature Science. Hokkaido University, 1967.
- Axhausen, W.: Die Bedeutung der Individual- und Artspezifität der Gewebe für die freie Knochenüberpflanzung. Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg, 1962.
- Bangerter, A.: Zur Kataraktoperation nach fistulierender Operation. *Ophthalmologica* 161:304, 1970.
- Beazley, R. M., Bagley, D. H., Ketcham, A. S.: The effect of cryosurgery on peripheral nerves. *J. Surg. Res.* 16:231, 1974.
- Beggs, J. H.: Cryotherapy as a palliative maneuver. *J. Amer. med. Ass.* 206:1570, 1968.
- Bekke, J. P. H., Snow, G. B.: Ervaringen met cryochirurgie bij neoplasmata in de mondholte. *Ned. T. Geneesk.* 118:1359, 1974.
- Bellows, J.: Cryotherapy of ocular diseases. Lippincott en Co., Philadelphia, 1966.
- Bennett, J. E., Zook, E. G.: Treatment of arteriovenous fistulas in cavernous hemangiomas of face by muscle embolization. *Plast. Reconstr. Surg.* 50:84, 1972.
- Bhaskar, S. N., Beasley, J. D., Cutright, D. E.: Inflammatory papillary hyperplasia of the oral mucosa: report of 341 cases. *J. Am. Dent. Assoc.* 81:949, 1969.
- Breasted, J. H.: The University of Chicago oriental institute publications, volume III. The Edwin Smith surgical papyrus, volume I, 217-224, 374-391, 1930.
- Brodthagen, H.: In: Local freezing of the skin by carbon dioxide snow. Munksgaard, Copenhagen, p. 33, 1961.
- Cahan, W. G.: Cryosurgery of malignant and benign tumors. *Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 24:suppl. 15, 241, 1965.
- Cahan, W. G.: Five years of cryosurgical experience: benign and malignant tumors with hemorrhagic conditions. In: Cryosurgery. Uitg. Rand, Rinfret, von Leden. Thomas, Springfield, 1968.
- Cahan, W. G.: Cryosurgery: The management of massive recurrent cancer. In: Cryogenics in surgery. Hfst. 7, von Leden, Cahan, Huber, Bern, Stuttgart, Vienna, 1971.
- Cahan, W. G.: The cryosurgical management of massive recurrent cancer. In: Latest developments in cryosurgery. Haschek, Wiener Med. Akad., p. 295, 1972.
- Cahan, W. G.: Cryosurgery of massive recurrent cancer. *Pan. Med.* 17:11, 1975.
- Carter, D. C., Lee, P. W. R., Gill, W., Johnston, R. J.: The effect of cryosurgery on peripheral nerve function. *J. Roy. Coll. Surg. Edinburgh* 17:25, 1972.

Chandler, J. R.: Cryosurgery of malignant neoplasms of the head and neck. *J. Amer. med. Ass.* 221:387, 1972.

Chandler, J. R.: Cryosurgery for recurrent carcinoma of the oral cavity. *Arch. Otol.* 97:319, 1973.

Chapin, M. E., Burkes, E. J.: Cryosurgery of the oral white lesions. *J. Oral Surg.* 31: 584, 1973.

Claussen, C. F.: Untersuchungen zur Kryochirurgie II. *Z. Laryng. Rhinol. Otol.* 48: 722, 1969.

Claussen, C. F., Lenz, H.: Untersuchungen zur Kryochirurgie III. *Z. Laryng. Rhinol. Otol.* 49:400, 1970.

Cooper, I. S., Lee, A. St. J.: Cryostatic congelation. A system for producing a limited controlled region of cooling or freezing of biologic tissues. *J. New. ment. Dis.* 133: 259, 1961.

Cooper, I. S.: Cryogenic surgery, a new method of destruction or extirpation of benign or malignant tissues. *New England J. Med.* 268:743, 1963.

Cooper, I. S.: Cryogenic surgery for cancer. *Fed. Proc.* 24:237, 1965.

Cooper, I. S., Hirose, T.: Application of cryogenic surgery to resection of parenchymal organs. *New England J. Med.* 274:15, 1966.

Cooper, I. S., Samra, K., Wisniewska, K.: Effects of freezing on major arteries. *Stroke* 2:471, 1971.

Cooper, I. S.: The present status of cryogenic surgery. In: *Latest developments in cryosurgery*. Haschek, Wiener Med. Akad., p. 1, 1972.

Crismon, J. M., Fuhrman, F. A.: Studies on gangrene following cold injury. *J. Clin. invest.* 26:468, 1947.

DeLeon, E. L.: Treatment of hemangioma with sclerosing solution. *Dent. Surv.* 47:29, 1971.

DeSanto, L. W.: The curative, palliative and adjunctive uses of cryosurgery in the head and neck. *Laryngoscope* 82:1282, 1972.

Donegan, W. L., Ridenhour, C. E.: Treatment of cavernous hemangioma of the tongue by continuous intra-arterial infusion of 5-fluorouracil. *Am. J. Surg.* 114:948, 1967.

Douglas, W. W., Malcolm, J. L.: Effect of localized cooling on conduction in cat nerves. *J. Physiol. London* 130:63, 1955.

Drylie, D. M., Jordan, W. P., Robbins, J. B.: Immunologic consequences of cryosurgery. *Invest. Urol.* 5:619, 1968.

Ehrenfeld, E. N.: Specific antibodies in heart disease. *Lancet* 1:1138, 1961.

Einhorn, J., Wersäll, J.: Incidence of oral carcinoma in patients with leukoplakia of the oral mucosa. *Cancer* 20:2189, 1967.

Emmings, F. G., Neiders, M. E., Greene, G. W., Koepf, S. W., Gage, A. A.: Freezing the mandible without excision. *J. Oral Surg.* 24:145, 1966.

Emmings, F. G., Gage, A. A., Koepf, S. W.: Combined curettage and cryotherapy for recurrent ameloblastoma of the mandible. *J. Oral Surg.* 29:41, 1971.

Esser, E., Tetsch, P.: Klinik und Therapie der intraoralen Leukoplakie. *Zahn-, Mund- u. Kieferheilk.* 60:378, 1973.

Faraci, R. P., Bagley, D. H., Marrone, J., Beazley, R. M.: In vitro demonstration of cryosurgical augmentation of tumor immunity. *Surgery* 77:433, 1975.

Faraci, R. P., Bagley, D. H., Marrone, J., Beazley, R. M.: The effect of curative cryosurgery on the tumor-specific immune response of C57 mice. *Cryobiology* 12:175, 1975.

Farrant, J.: Cryobiology: The basis for cryosurgery. In: *Cryogenics in surgery*. Uitg. von Leden, Cahan. Huber, Bern, Stuttgart, Vienna, 1971.

Farrant, J.: Some mechanisms of freezing injury. *Latest developments in cryosurgery*. Haschek, Wiener Med. Akad., p. 23, 1972.

Farrant, J.: Cryosurgery I: Cryobiological principles. *Cryogenics* 12:3, 1972.

Fischer, A. K., Rashid, Ph. J.: Inflammatory papillary hyperplasia of the palatal mucosa. *Oral Surg.* 5:191, 1952.

Fraser, J., Gill, W.: Cryosurgery. *J. Roy. Coll. Surg. Edinburgh* 12:207, 1967.

Fraser, J., Gill, W.: Observations on ultra-frozen tissue. *Brit. J. Surg.* 54:770, 1967.

Gage, A., Koepf, S., Wehrle, D., Emmings, F.: Cryotherapy for cancer of the lip and oral cavity. *Cancer* 18:1646, 1965.

Gage, A. A., Greene, G. W., Neiders, M. E., Emmings, F. G.: Freezing bone without excision. *J. Amer. med. Ass.* 196:770, 1966.

Gage, A. A., Fazekas, G., Riley, E. E.: Freezing injury to large blood vessels in dogs. *Surgery* 61:748, 1967.

Gage, A. A.: Cryosurgery for oral and pharyngeal carcinoma. *Pan. Med.* 13:488, 1971.

Gage, A. A.: Cryosurgery as primary treatment for oral cancer, long-term results. In: *Latest developments in cryosurgery*. Haschek, Wiener Med. Acad., p. 283, 1972.

Gage, A. A.: Cryosurgery for tumors of the oral cavity. In: *Cryosurgery of tumors of the skin and oral cavity*. Uitg. Zacarian, p. 261. Thomas, Springfield, 1973.

Gage, A. A.: Five-year survival following cryosurgery for oral cancer. *Arch. Surg.* 111: 990, 1976.

Gaster, R. N., Davidson, T. M., Rand, R. W., Fonkalsrud, E. W.: Comparison of nerve regeneration rates following controlled freezing or crushing. *Arch. Surg.* 103:378, 1971.

Gerlach, J., Hansen, K., Segmiller, D., Spuler, H.: Grundlagen der operativen Anwendung tiefer Temperaturen in der klinischen Medizin. *Z. Gesamte Exp. Med.* 144:46, 1967.

Getter, L., Perez, B.: Controlled cryotherapy in the treatment of inflammatory papillary hyperplasia. *Oral Surg.* 34:178, 1972.

Gill, W.: Repeated freeze-thaw cycles in cryosurgery. *Nature* 219:410, 1968.

Gill, W., Fraser, J., da Costa, J., Beazley, R.: The cryosurgical lesion. *Amer. Surgeon* 36:437, 1970.

Gill, W., da Costa, J., Fraser, J.: The control and predictability of a cryolesion. *Cryobiology* 6:347, 1970.

Goldenberg, D. M., Sigel, A., Schrott, K. M., Ward, V.: Cryotherapy of heterotransplanted human cancer: preliminary experimental findings in the Syrian hamster. *Urol. Int.* 24:166, 1969.

Goldwyn, R. M., Rosoff, C. B.: Cryosurgery for large hemangiomas in adults. *Plast. Reconstr. Surg.* 43:605, 1969.

Gonder, M. J., Soanes, W. A., Smith, V.: Experimental cryosurgery. *Invest. Urol.* 1:610, 1964.

Goode, R. L., Spooner, T. R.: Office cryotherapy for oral leukoplakia. *Trans. Amer. Acad. Ophthalm. Otol.* 75:968, 1971.

Greenfield, A. D. M., Shepherd, J. T., Whelan, R. F.: Cold vasoconstriction and vasodilatation. *Irish J. Med. Sci.* 309:415, 1951.

Grüneberg, Th., May, W., Wohlrab, W.: Zur präoperativen Vereisung des malignen Melanoms. *Dermatologische Wochenschrift* 151:225, 1965.

Gursel, E., Roberts, M., Veenema, R. J.: Regression of prostatic cancer following sequential cryotherapy to the prostate. *J. Urol.* 108:928, 1972.

Hass, G. M., Taylor, C. B.: A quantitative hypothermal method for the production of local injury of tissue. *Arch. Pathol.* 45:563, 1948.

Hausamen, J. E.: Klinische und experimentelle Untersuchungen zur Kryochirurgie im Kiefer- und Gesichtsbereich. *Habil. Schrift*, Mainz 1972.

Hausamen, J. E.: Tierexperimentelle Untersuchungen zur Knochendestruktion und Regeneration am Kaninchenkiefer nach kryochirurgischer Behandlung. *Dtsch. zahn-*

- ärztl. Z. 28:836, 1973.
- Hausamen, J. E.: Gefrierversuche in vitro und in vivo als Grundlage für die klinische Anwendung der Kryochirurgie. Zahn-, Mund- u. Kieferheilk. 62:497, 1974.
- Hausamen, J. E., Reuther, J.: Ergebnisse vergleichender tierexperimenteller Untersuchungen über die kontrollierte kryochirurgische Behandlung der oralen Schleimhaut. ZWR 83:262, 1974.
- Heitman, K., Dorman, H. L., Collings, C. K.: Temperature recordings in the dental pulp during cryosurgery. J. Periodont. 40:655, 1969.
- Henderson, R. L.: Cryosurgical treatment of hemangiomas. Arch. Otolaryng. 93:511, 1971.
- Holden, H. B., McKelvie, P.: Cryosurgery in the treatment of head and neck neoplasia. Brit. J. Surg. 59:709, 1972.
- Holden, H. B., Saunders, S.: Cryosurgery: its scientific basis and clinical application. Practitioner 210:543, 1973.
- Huang, T., Kid, K. A., Lynch, J. B., Doyle, J. E., Lewis, S. R.: The use of cryotherapy in the management of intra-oral hemangiomas. South. Med. J. 65:1123, 1972.
- Hurt, W. C., Nabers, C. L., Rose, G. G.: Some clinical and histologic observations of gingiva treated by cryotherapy. J. Periodont. 43:151, 1972.
- Irvine, W. J.: Thyroid auto-immunity as a disorder of immunological tolerance. Quart. Exp. Physiol. 49:324, 1964.
- Jepsen, A., Winther, J. E.: Mycotic infection in oral leukoplakia. Acta odont. Scand. 23:239, 1965.
- Karow, A. M., Webb, W. R.: Tissue freezing, a theory for injury and survival. Cryobiology 2:99, 1965.
- Kayhan, V., Etaner, R., Kosemen, H.: Cryosurgery in the treatment of intra-oral hemangiomas. Rev. Laryngol. Otol. Rhinol. 95:245, 1973.
- Kelman, C. D., Cooper, I. S.: Cryosurgery of retinal detachment and other ocular conditions. Eye, Ear, Nose and Throat Monthly 42:42, 1963.
- Kelman, C. D.: Cryosurgery for cataract extraction and the treatment of other eye diseases. Highlights of ophthalmol. 7:181, 1964.
- Koch, H., Schettler, D.: Klinische Erfahrungen mit Vitamin-A-Säure-Derivaten bei der Behandlung von leukoplakien der Mundschleimhaut. Dtsch. zahnärztl. Z. 28:623, 1973.
- Kreyberg, L.: Stasis and necrosis. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 15:1 suppl. 71, 1963.
- Leibo, S. P., Farrant, J., Mazur, P., Hanna, M. G., Smith, L. H.: Effects of freezing on marrow stem cell suspensions: interactions of cooling and warming-rates in the presence of PVP, sucrose or glycerol. Cryobiology 6:315, 1970.
- Lenz, H.: Cryosurgery of the cheek pouch of the golden Syrian hamster. Int. Surg. 57:223, 1972.
- Lenz, H., Preussler, H.: Regenerations- und Reparationszustände der Karotis nach Kryochirurgie. Z. Laryng. Rhinol. 52:381, 1973.
- Lenz, H., Noack, W., Preussler, H.: Morphologische Veränderungen des peripheren Nerven nach Kryochirurgie. HNO 22:44, 1974.
- Leopard, P. J., Poswillo, D. E.: Practical cryosurgery for oral lesions. Brit. Dent. J. 136:185, 1974.
- Leopard, P. J.: Cryosurgery and its application to oral surgery. Brit. J. Oral Surg. 13:128, 1975.
- Lincoff, H., O'Connor, P., Kreissig, I.: Die Retina-Adhäsion nach Kryopexie. Klin. Mbl. Augenheilk. 156:771, 1970.
- Lloyd, J. W., Glynn, C. J., Barnard, J. D. W.: Cryoanalgesia, a new approach to pain relief. Lancet 30:932, 1976.
- Longacre, J. J., Benton, C., Unterthiner, R. A.: Treatment of facial hemangioma by intra-vascular embolization with silicone spheres. Plast. Reconst. Surg. 50:618, 1972.
- Lovelock, J. E.: The haemolysis of human red blood-cells by freezing and thawing. Biochimica et Biophysica Acta 10:414, 1953.
- Lovelock, J. E.: Biophysical aspects of the freezing and thawing of living cells. Proc. Roy. Soc. London B47:60, 1954.
- Lovelock, J. E.: The physical instability of human red blood cells. Biochem. J. 60:692, 1955.
- Lovelock, J. E.: The denaturation of lipid-protein complexes as a cause of damage by freezing. Proc. Roy. Soc. London 147:427, 1957.
- Lutzeyer, W., Lymberopoulos, S., Breining, H., Langer, St.: Experimentelle Kryochirurgie der Niere. Langenbecks Arch. Klin. Chir. 322:843, 1968.
- Lutzeyer, W., Lymberopoulos, S., Rautenbach, R., Werner, U.: Skalpelli für die Kältechirurgie. Acta Medico-technica 18:28, 1970.
- Luyet, B. J., Gehenio, P. M.: Life and death at low temperatures. In: Biodynamica Normandy, Missouri, 1940.
- Luyet, B. J., Amrheim, E., Kroener, C.: Problems in the study of nucleation in cryobiology. Cryobiology 2:308, 1966.
- Lymberopoulos, S.: Das Kryoskalpell-kältechirurgische Eingriffe an parenchymatösen Organen. Biomed. Technik 16:148, 1971.
- Mandeville, A. F., McCabe, B. F.: Some observations on the cryobiology of blood vessels. Laryngoscope 77:1328, 1967.
- Maniglia, A. J., Mazzarella, L. A., Minkowitz, S., Moskowitz, H.: Maxillary sinus angiofibroma treated with cryosurgery. Arch. Otolaryng. 89:527, 1969.
- Marchetta, F. C., Sako, K., Poole, A. G., Hayes, R. L.: Cryosurgery in the controlled destruction of oral mucous membranes. J. Cryosurg. 1:273, 1968.
- Marciani, R. D., Bowden, C. M.: Reimplantation of freeze-treated mandibular bone. J. Oral Surg. 33:261, 1975.
- Marciani, R. D., Giansanti, J. S., Massey, G. B.: Reimplantation of freeze-treated and saline-treated mandibular bone. J. Oral Surg. 34:314, 1976.
- Marcove, R. C.: The treatment of primary and metastatic bone tumors by repetitive freezing. Bull. N.Y. Acad. Med. 44:532, 1968.
- Marcove, R. C., Miller, T. R.: The treatment of primary and metastatic localized bone tumors by cryosurgery. Surg. Clin. N. Amer. 49:421, 1969.
- Marcove, R. C., Miller, T. R.: Treatment of primary and metastatic bone tumors by cryosurgery. J. Amer. med. Ass. 207:1890, 1969.
- Marcove, R. C., Leyden, J. P., Huvos, A. G.: Giant cell tumors of bone treated by cryosurgery: an analysis of 25 cases. Latest developments in cryosurgery. Int. Congress of Cryosurgery Vienna, 1972.
- Marcove, R. C., Lyden, M. D., Huvos, A. G., Bullough, P. B.: Giant cell tumors treated by cryosurgery: an analysis of 25 cases. 7e Nat. Cancer Conference, Los Angeles 1972. Uitg. Lippincott Co., Philadelphia, 1973.
- Marcove, R. C., Leyden, J. P., Huvos, A. G., Bullough, P. B.: Giant-cell tumors treated by cryosurgery. J. Bone and Joint Surg. 55:1633, 1973.
- Mayers, Ph. D., Tussing, G., Wentz, F. M.: The histological reaction of clinically normal gingiva to freezing. J. Periodont. 42:346, 1971.
- Mazur, P.: The role of cell membranes in the freezing of yeast and other single cells. Ann. N.Y. Acad. Sci. 125:658, 1965.
- Mazur, P.: Causes of injury in frozen and thawed cells. Fed. Proc. 24:S175, 1965.
- Mazur, P.: Theoretical and experimental effects of cooling and warming velocity on the survival of frozen and thawed cells. Cryobiology 2:181, 1966.

- Mazur, P.: Physical-chemical factors underlying cells injury in cryosurgical freezing. *Cryosurgery* 5:32, 1968.
- Mazur, P., Schmidt, J. J.: Interactions of cooling velocity, temperature and warming velocity on the survival of frozen and thawed yeast. *Cryobiology* 5:1, 1968.
- Mazur, P., Farrant, J., Leibo, S. P., Chu, E. H. Y.: Survival of hamster tissue culture cells after freezing and thawing. *Cryobiology* 6:1, 1969.
- Mazur, P., Leibo, S. P., Farrant, J., Chu, E. H. Y., Hanna, M. G., Smith, L. H.: Interactions of cooling rate, warming rate and protective additive on the survival of frozen mammalian cells. In: *The frozen cell*. Ciba Foundation Symposium, Churchill, London, p. 69, 1970.
- McKelvie, P.: An assessment of cryotherapy in otorhinolaryngology. *Proc. Roy. Soc. Med.* 67:10, 1974.
- Meryman, H. T.: Mechanics of freezing in living cells and tissues. *Science* 124:515, 1956.
- Meryman, H. T.: Physical limitations of the rapid freezing method. *Proc. Roy. Soc. London* 147:452, 1957.
- Meryman, H. T.: The interpretation of freezing rates in biological materials. *Cryobiology* 2:4, 1966.
- Meryman, H. T.: The relationship between dehydration and freezing injury in the human erythrocyte. *The Institute of Low Temperature Science, Hokkaido University*, p. 231, 1967.
- Meryman, H. T.: Modified model for the mechanism of freezing injury in erythrocytes. *Nature London* 218:333, 1968.
- Meynell, G. G.: The effect of sudden chilling on *Escherichia coli*. *J. Gen. Microbiol.* 19:380, 1958.
- Miller, D., Metzner, D.: Cryosurgery for tumors of the head and neck. *Trans. Amer. Acad. Ophthal. Otolaryng.* 73:300, 1969.
- Miller, D.: Three years experience with cryosurgery in head and neck tumors. *Ann. Otol.* 78:786, 1969.
- Morgan, J. F., Schow, C. E.: Use of sodium morrhuate in the management of hemangiomas. *J. Oral Surg.* 32:363, 1974.
- Natiella, J. R., Gage, A. A., Armitage, J. E., Green, G. W.: Tissue response to cryosurgery of oral cavity in rhesus monkeys. *Cryosurgery* 98:183, 1974.
- Neel, H. B., Ketcham, A. S., Hammond, W. G.: Requisites for successful cryogenic surgery of cancer. *Arch. Surg.* 102:45, 1971.
- Neel, H. B., DeSanto, L. W.: Cryosurgery for tumors of the head and neck. *Minn. Med.* 55:886, 1972.
- Nei, T.: In: *Recent research in freezing and drying*. Uitg. Parkes, Smith. Blackwell, Oxford, 1960.
- Nei, T.: Mechanism of haemolysis of erythrocytes by freezing at near-zero temperatures. In: *The frozen cell*. Ciba Foundation Symposium, Churchill, London, p. 131, 1970.
- Nordberg, U. B., Sundberg, J.: Indications and methods for radiotherapy of cavernous haemangiomas. *Acta Radiol.* 1:257, 1963.
- O'Rourke, F. S.: Palliative use of cryosurgery in bone tumors. *J. Med. Soc. N.J.* 70:208, 1973.
- Pindborg, J. J., Renstrup, G., Poulsen, H. E., Silverman, S.: Studies in oral leukoplakias. V. Clinical and histological signs of malignancy. *Acta odont. Scand.* 21:407, 1963.
- Pindborg, J. J., Jølst, C., Renstrup, G., Roed-Petersen, B.: Studies in oral leukoplakia: A preliminary report on the period prevalence of malignant transformation in leukoplakia based on a follow-up study of 248 patients. *J. Amer. dent. Ass.* 76:767, 1968.
- Polge, C., Smith, A. W., Parkes, A. S.: Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures. *Nature* 164:666, 1949.
- Polge, C., Lovelock, J. E.: Preservation of bull semen at -79°C . *Vet. Rec.* 64:396, 1952.
- Pollan, L. D., Kruger, G. O., Reynolds, D. C., Mopsik, E. R.: Osseous cryosurgery and its effect on adjacent pulpal tissues. *Oral Surg.* 38:668, 1974.
- Poswillo, D.: Evaluation, surveillance and treatment of panoral leukoplakia. *J. Max.-fac. Surg.* 3:205, 1975.
- Pusey, W. A.: Use of carbon dioxide snow in the treatment of nevi and other skin lesions. *J. Amer. med. Ass.* 49:1354, 1907.
- Quintanilla, R., Krusen, F. H., Essex, H. E.: Studies on frost-bite with special reference to treatment and the effect on minute blood vessels. *Amer. J. Physiol.* 149:149, 1947.
- Rapatz, G., Nath, J., Luyet, B.: Electron microscope study of erythrocytes in rapidly frozen mammalian blood. *Biodynamica* 9:83, 1963.
- Rapatz, G., Sullivan, J. J., Luyet, B.: Preservation of erythrocytes in blood containing various cryoprotective agents, frozen at various rates and brought to a given final temperature. *Cryobiology* 5:18, 1968.
- Renzichaussen, K., Schröder, M., Krafft, W., Kleinschmidt, R.: Immunologische Aspekte im Zusammenhang mit der Kryotherapie. *Dt. Gesundh.-Wesen* 30:629, 1975.
- Rinfret, A. P., Cowley, C. W., Doebbler, G. F., Schreiner, H. R.: The preservation of blood by rapid freezing. *Proc. 9th Congr. int. Soc. Blood Transf., Mexico* 1962. Uitg. Karger, Basel, New York, 1964.
- Rinfret, A. P.: Cryobiology — some fundamentals in surgical context. In: *Cryosurgery*. Uitg. Rand, Rinfret, von Leden. Thomas, Springfield, 1968.
- Ross, H. C.: Oral leukoplakia: a review of the literature. *J. Oral Surg.* 15:40, 1957.
- Rothenborg, H. W.: Cutaneous circulation in rabbits and humans before, during and after cryosurgical procedures measured by xenon-133 clearance. *Cryobiology* 6:507, 1970.
- Rothenborg, H. W.: The influence of blood flow on freezing and thawing rates of living tissues. *Cryobiology* 6:512, 1970.
- Sako, K., Marchetta, F. C., Hayes, R. L.: Evaluation of cryosurgery in the treatment of intraoral leukoplakia. *J. Cryosurg.* 2:239, 1969.
- Sako, K., Marchetta, F. C., Hayes, R. L.: Cryotherapy of intraoral leukoplakia. *Amer. J. Surg.* 124:482, 1972.
- Schargus, G., Winckler, J., Schröder, F., Schäfer, B.: Cryosurgical devitalization of bone and its regeneration. *J. Max.-fac. Surg.* 3:128, 1975.
- Schettler, D., Koch, H.: Langzeit Beobachtungen nach Vitamin-A-Säure-Therapie bei Leukoplakien der Mundschleimhaut. In: *Fortschritte der Kiefer- und Gesichtschirurgie Band XXI*. Thieme Verlag, Stuttgart, 1976.
- Schrott, K. M., Sigel, A., Schmidt, Th.: Das Verhältnis zwischen Sondengrößen, Gefriergeschwindigkeit und Zelltod in der Kryotherapie. *Urologe* 8:164, 1969.
- Serra, P., Brunschwig, A.: Freezing of liver parenchyma with liquid nitrogen for hemostasis in excisional liver surgery: experimental study. *Cancer* 8:1234, 1955.
- Shafer, W. G., Hine, M. K., Levy, B. M.: A textbook of oral pathology. Saunders, Philadelphia, London, Toronto, 1974.
- Shibata, H. R., Tabah, E. J.: The use of cryosurgery in the control of locally recurrent tumours. *Canad. med. Ass. J.* 103:134, 1970.
- Shulman, S., Bronson, P., Riera, C., Brandt, E. J., Yantorno, C.: Studies in cryoimmunology III. *Immunology* 14:541, 1968.

Sippel, H. W., Emmings, F. G.: Cryotherapy in the treatment of recurrent ossifying fibroma. *J. Oral Surg.* 27:32, 1969.

Smith, A. U., Polge, C., Smiles, J.: Microscopic observation of living cells during freezing and thawing. *J. Roy. micr. Soc.* 71:186, 1951.

Smith, A. U.: Biological effects of freezing and supercooling. Arnold, London, 1961.

Smith, A. U.: Problems in freezing organs and their component cells and tissues. *Fed. Proc.* 24:196, 1965.

Smith, D. B., Weaver, A. W.: Cryosurgery for oral cancer — a six-year retrospective study. *J. Oral Surg.* 34:245, 1976.

Smith, M. F. W., Boles, R., Work, W. P.: Cryosurgical techniques in removal of angiofibromas. *Laryngoscope* 74:1071, 1964.

Smith, M. F. W., Lipson, L. W.: Angiofibroma. Role of cryosurgery. *Int. Cryosurg.* 2: 12, 1969.

Soanes, W. A., Ablin, R. J., Gonder, M. J.: Remission of metastatic lesions following cryosurgery in prostate cancer: immunologic considerations. *J. Urol.* 104: 154, 1970.

Stockdale, C. R.: Peripheral angiomas and their treatment with sclerosing solution. *Oral Surg.* 12:1157, 1959.

Stone, D., Zacarian, S. A., Dipert, C.: Comparative studies of mammalian normal and cancer cells subjected to cryogenic temperatures in vitro. *J. Cryosurg.* 2:43, 1969.

Sullivan, B. J., Towle, L. B.: Vascular responses to local cold injury. *Amer. J. Physiol.* 189:498, 1957.

Sunderland, S.: Nerves and nerve injuries. Livingstone, Edinburgh, London, 1968.

Taylor, A. C.: The effect of rate cooling on survival of frozen tissues. *Proc. Roy. Soc. London* 147:466, 1957.

Thoma, K. H.: Papillomatosis of the palate. *Oral Surg.* 5:214, 1952.

Torre, D.: New York, cradle of cryosurgery. *N.Y. state J. Med.* 67:465, 1967.

Trendelenburg, W.: Ueber langdauernde Nervenausschaltung mit sicherer Regenerationsfähigkeit. *Z. ges. exp. Med.* 7:251, 1918.

Trump, B. F., Goldblatt, P. J., Griffin, C. C., Waravdekar, V. S., Stowell, R. E.: Effect of freezing and thawing on the ultrastructure of mouse hepatic parenchymal cells. *Lab. Invest.* 13:967, 1964.

Trump, B. F., Young, D. E., Arnold, E. A., Stowell, R. E.: Effects of freezing and thawing on the structure, chemical constitution, and function of cytoplasmic structures. *Fed. Proc.* 24:S144, 1965.

Tyldesley, W. R.: Oral lichen planus. *Brit. J. Oral Surg.* 11:187, 1974.

Tytus, J. S.: History of cryosurgery. In: *Cryosurgery*. Uitg. Rand, Rinfret, von Leden. Thomas, Springfield, 1968.

Vriezen, Th. C.: Lichen planus mucosae oris. *Ned. T. Geneesk.* 111:1469, 1967.

Waite, D. E.: Inflammatory papillary hyperplasia. *J. Oral Surg. Anesth. Hosp. D. Serv.* 19:210, 1961.

Walder, H. A. D.: Applications of cryosurgery, an experimental and clinical study of its effects on the blood vessels. *J. Cryosurg.* 1:306, 1968.

Waldron, C. A., Shafer, W. G.: Leukoplakia revisited. A clinico-pathologic study 3256 oral leukoplakias. *Cancer* 36:1386, 1975.

Waltz, J. M., Cooper, I. S.: Cryosurgery of brain lesions. *J. St. Barnabas Med. Center* 4: 274, 1967.

Weaver, A. W., Smith, D. B.: Cryosurgery for head and neck cancer. *Amer. J. Surg.* 128:466, 1974.

White, A. C.: Liquid air in medicine and surgery. *Med. Rec.* 56:109, 1899.

White, A. C.: Possibilities of liquid air to the physician. *J. Amer. med. Ass.* 36:426, 1901.

Whittaker, D. K.: Cryosurgery of the oral mucosa: A study of the mechanism of tissue damage. *Dent. Pract.* 22:445, 1972.

Wood, T. H., Rosenberg, A. M.: Freezing in yeast cells. *Bioch. Biophys. Acta* 25:78, 1957.

Yantorno, C. J., Soanes, W. A., Gonder, M. J., Shulman, S.: Studies in cryoimmunology I. The production of antibodies to urogenital tissue in consequence of freezing treatment. *Immunology* 12:395, 1967.

Yrastorza, J. A.: Inflammatory papillary hyperplasia of the palate. *J. Oral Surg. Anesth. Hosp. D. Serv.* 21:330, 1963.

Zacarian, S. A., Stone, D., Clater, M.: Effects of cryogenic temperatures on microcirculation in the golden hamster cheek pouch. *Cryobiology* 7:27, 1970.

Zacarian, S. A.: Cryosurgery of tumors of the skin and oral cavity. Thomas, Springfield, 1973.

Zarem, H. A., Edgerton, M. T.: Induced resolution of cavernous hemangiomas following prednisolone therapy. *Plast. Reconst. Surg.* 39:76, 1967.

STELLINGEN

behorende bij het proefschrift "Cryochirurgie in de mondholte"
van J. P. H. Bekke

1. Bij patiënten met lichen planus van het mondslijmvlies dient, wanneer deze afwijking als premaligne moet worden beschouwd, cryochirurgie als therapie te worden overwogen.
2. Een hooggepolijste en van goud vervaardigde cryosonde geeft een betere afkoeling dan met een conventionele zilveren sonde mogelijk is.
3. Bij de chirurgische behandeling van een progenie verdient de schuin-verticaal lopende zaagsnede volgens Robinson de voorkeur boven de sagittale splijting volgens Obwegeser-Dalpont.
4. Het inknippen van een kort tongriempje bij pasgeborenen is veelal een overbodige handeling.
5. Een absolute of relatieve verhoging van de onderkaakwal mag alleen worden uitgevoerd, wanneer de prothetische nazorg is gewaarborgd.
6. Bij de operatieve behandeling van het juveniele angiofibroom van de nasopharynx is angiografisch onderzoek vooraf gewenst.
7. Teneinde het ontstaan van neuralgiforme klachten na een Caldwell-Luc operatie te beperken, dient afdekking van het venster in de laterale kaakholtewand door gelyofiliseerde dura te worden overwogen.

8. Het zou de polijstbaarheid van tandheelkundige composietvulmaterialen ten goede komen indien de grootte van de anorganische poederdeeltjes rond de 0,5 micrometer zou liggen.

Heath, J. R. en H. J. Wilson, Brit. dent. J. 140 (1976), p. 131-137.

9. Het is een misvatting te concluderen dat de poriën in glazuur tengevolge van een routine etsprocedure gemiddeld 50 micrometer diep zijn.

Silverstone, L. H. c.s., Caries Res. 9 (1975), p. 373-383.

10. De termen perifeer odontogeen fibroom en odontogeen epitheeliaal hamartoom van de gingiva dienen voorlopig als synoniemen te worden beschouwd.

11. Veel vergaderen benadeelt de communicatie.

Amsterdam, 17 juni 1977