
Artigo original

O efeito da crioterapia na fase inflamatória da lesão muscular em ratos (*Rattus norvegicus*)

The effect of cryotherapy in the acute phase of muscular injury in rats (*Rattus norvegicus*)

Maria Paula Mellito da Silveira, D.Sc. *, Renato Claudino**, Karla Denise de Alcantara Evaristo***

Oceanografia Biológica*, *Especialista em Fisioterapia Geriátrica*, ****Especialista em Exercício Físico Aplicado à Reabilitação Cardíaca e a Grupos Especiais*

Resumo

A aplicação do gelo para fins terapêuticos é utilizada há centenas de anos, o qual se insere amplamente nos protocolos de tratamento de diversas patologias. Porém há contradições sobre o tempo de aplicação da crioterapia na fase aguda da lesão muscular e seus possíveis efeitos na reparação deste tecido. O objetivo deste estudo foi comparar células inflamatórias (neutrófilos e macrófagos) de forma quantitativa e eventos vasculares de forma qualitativa em até 48 h de tratamento com crioterapia após lesão tecidual induzida. Foram utilizados 42 ratos distribuídos aleatoriamente em 2 grupos (controle e tratado), sendo subdivididos em 7 grupos de três animais para cada hora pré-determinada. Foi realizada uma lesão perfuro-cortante na pata traseira esquerda dos animais (controle e tratado). Após a lesão, foi aplicada criomassagem por um período de 7 minutos, nas horas acima citadas, nos grupos tratados. O grupo controle não recebeu a técnica de criomassagem. Os resultados encontrados nos achados histológicos evidenciaram que o grupo submetido à técnica de criomassagem apresentou significativa redução tanto dos neutrófilos quanto de macrófagos, durante as 48 horas de tratamento. Podemos concluir que a crioterapia aplicada na inflamação aguda do músculo esquelético minimiza a presença de neutrófilos e macrófagos na área lesionada.

Palavras-chave: inflamação, lesão muscular, músculo esquelético, crioterapia.

Abstract

Ice therapy has been used for hundreds years and is well accepted in many protocols of different pathologies. However there are contradictions about the time of appliance of cryotherapy in the acute stage of muscle lesion and its possible effects to repair tissue. The purpose of this study was to compare inflammatory cells (neutrophils and macrophages) in a quantitative and qualitative way and vascular events up to 48 hours of treatment with cryotherapy after tissue injury induced. We used 42 rats randomized into 2 groups (control and treated) which are divided into 7 groups of three animals for each predetermined hour. We performed a sharp-edged injury in the animals left hindfoot (control and treated). Thereafter, a cryomassage was applied for 7 minutes, during the mentioned hours, in the treated groups. The control group did not receive the cryomassage technique. The histological findings showed that the group using the cryomassage technique showed significant reduction on both neutrophils and macrophages, during 48 hours treatment. We can conclude that the cryotherapy applied in acute inflammation of skeletal muscle minimizes the presence of neutrophils and macrophages in the injured area.

Key-words: inflammation, muscle injury, skeletal muscle, cryotherapy.

Introdução

O músculo esquelético constitui o maior tecido do organismo, correspondendo a cerca de 40% do peso corporal. Sua função primária é prover mobilidade ao esqueleto ósseo, pela contração de suas fibras [1]. No entanto, esta função pode ser prejudicada por vários tipos de lesões.

As lesões do sistema musculoesquelético dependem da intensidade, da energia do agente agressor, da localização e da extensão de lesão [2]. Estas lesões ocasionam modificações dos padrões neuromusculares, irritação local, dor e incapacidade [2-5]. A primeira resposta do organismo a esta lesão é o desenvolvimento de um processo inflamatório, com o objetivo de livrar o organismo tanto da causa inicial da agressão celular, quanto do dano causado por esta agressão.

De acordo com Brasileiro Filho [2], a inflamação é a primeira resposta do organismo a reação dos tecidos vascularizados, com o objetivo de livrar o organismo tanto da causa inicial da agressão celular, quanto do dano causado por esta agressão a um agente agressor, caracterizada pela saída de líquidos e de células do sangue para o interstício. A histamina liberada após dano tecidual produz vasodilatação, acarretando um aumento drástico no fluxo sanguíneo [6]. O efeito global desse processo é o surgimento e a manutenção de grandes quantidades de líquido edematoso [6,7].

Os neutrófilos são as primeiras células a chegarem ao local da lesão, penetrando no tecido, e imediatamente iniciam a fagocitose através de seus pseudópodes, englobando a partícula estranha. Entretanto, possuem um tempo de vida curto e morrem no local da inflamação formando pus [8-10]. Assim, cada vez que ocorre uma lesão tecidual no organismo, a reparação tecidual é feita por um conjunto de fenômenos que leva à integridade funcional e estética do tecido, ou seja, a regeneração [9].

Os macrófagos são células de vida longa e são capazes de sintetizar um sistema fagócito oxidase, possuindo uma segunda via de radicais livres [10,11]. Entre outras funções podemos destacar a ativação da coagulação, estímulo à proliferação dos fibroblastos e degradação de material necrótico pela liberação de collagenase e proteoglicanos [9-11] e pela fagocitose de agentes físicos, químicos ou biológicos [12].

Sendo assim, a inflamação tem como objetivo defender a área lesionada contra substâncias estranhas, removendo o tecido morto ou necrosado de modo que a cicatriz possa acontecer e promover a regeneração normal [13,14]. A regeneração é um processo complexo, porém essencial, sem o qual o corpo seria incapaz de sobreviver [14,16]. Qualquer tecido danificado por uma agressão ou enfermidade é capaz de reparar sua estrutura e função, envolvendo a reposição do tecido destruído por um novo tecido, semelhante quanto à sua natureza ao tecido original [16].

O remodelamento da matriz do tecido imaturo começa quase ao mesmo tempo em que se forma um novo tecido. A matriz é gradualmente substituída e remodelada nos meses

e anos subsequentes à medida que o tecido cicatricial amadurece [9].

Progressivamente observa-se a diminuição de células inflamatórias, a rede vascular normaliza-se, a produção de colágeno estabiliza-se, reduzindo o tipo III, deixando lugar para fibras do tipo I de elastina, para proporcionar elasticidade e solidez à ferida, assim os miofibroblastos são eliminados por morte celular programada, desaparecendo por apoptose, os núcleos se tornam compactos diminuindo de tamanho, sendo fagocitados [9,11]. A cicatrização pode ser compreendida como resultado final do processo de restauração, no qual observamos necessariamente a ocorrência de fibrose, pela formação de um tecido de granulação envolvido por pequenos vasos sanguíneos [17].

Segundo Knight [18], crioterapia significa, literalmente, terapia com frio. Todo e qualquer uso do gelo ou aplicação de frio para fins terapêuticos é crioterapia. A ação do frio durante o tratamento imediato nas lesões agudas reduz o tempo de reabilitação e promove um retorno mais rápido as atividades. Estes efeitos são denominados pelas seguintes variáveis: redução da inflamação, redução da hipóxia secundária, redução do edema e do hematoma, e diminuição do metabolismo. Podendo dar início ao processo de reparação mais rapidamente e com menor tempo para reabilitação [19,20].

Quando utilizada de modo adequado, as técnicas de crioterapia são instrumentos poderosos para o tratamento de patologias musculoesqueléticas, seja na fase de atendimento inicial em trauma agudo, seja durante a reabilitação de patologias musculoesqueléticas variadas [15].

Segundo Rodrigues e Guimarães e Andrews *et al.* [6,20], o maior benefício da aplicação de crioterapia na fase aguda é a diminuição da dor e do espasmo muscular, permitindo a mobilização precoce, acelerando o processo de recuperação e retorno precoce às atividades. Entretanto, o tempo de aplicação da crioterapia é ainda muito controverso. Conforme Tepperman [21], a técnica recomenda aplicação do frio durante 20 a 30 min., com intervalo de 2 horas, nos tecidos moles lesados. A aplicação deve ser realizada durante as primeiras 24 a 48 horas após a lesão, para minimizar o edema, o espasmo muscular e a dor. De acordo com Guirro *et al.* [9], o efeito da crioterapia atua nas primeiras doze a vinte e quatro horas após a lesão. No entanto, a crioterapia exerce seus efeitos benéficos quando aplicada em até 48 horas após a lesão, segundo Tepperman e Kisner [19,21].

O tempo de aplicação da crioterapia também pode variar de acordo com a técnica aplicada. Para bolsas de gelo é recomendada aplicações de 10 a 30 minutos; para pacotes de gel, recomenda-se aplicações inferiores a 10 minutos; para compressas frias químicas, o tempo deve ser de 30 minutos; para imersão, o tempo de aplicação varia entre 10 a 20 minutos. E finalmente, o tempo de aplicação para massagem com gelo varia de 7 a 10 minutos afirma Stamford [23].

Materiais e métodos

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Fisiologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade do Vale do Itajaí - UNIVALI, na cidade de Itajaí, Santa Catarina.

A amostra foi constituída de 42 ratos machos (*Rattus norvegicus albinus*), da linhagem Wistar, com peso corpóreo variando entre 180 a 200 gramas, procedentes do Biotério da Universidade do Vale do Itajaí – UNIVALI, SC.

Os animais foram confinados em gaiolas com assoalho recoberto de serragem, com dieta livre do tipo ração sólida e água à vontade, em sala com temperatura ambiente, ciclo dia-noite natural.

Para realização do experimento os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos: *Grupo Tratado* e o *Grupo Controle*. Cada grupo perfazendo um total de 21 animais, que foram subdivididos em sete subgrupos. Cada subgrupo com três animais.

Os subgrupos foram classificados respectivamente por tempo de lesão e aplicação da crioterapia, ou seja, o grupo I tratado foi lesionado, aplicado crioterapia e sacrificado na hora zero, já o grupo II tratado foi lesionado na hora zero e aplicado crioterapia, três horas depois foi aplicado crioterapia novamente e sacrificado, o grupo III tratado, foi lesionado na hora zero, aplicado crioterapia, após três horas foi aplicado crioterapia novamente e após mais três horas foi aplicado crioterapia e sacrificado, e assim foi realizado até o grupo VII tratado.

O grupo controle seguiu os mesmos critérios do grupo tratado, porém sem aplicação da crioterapia. Todos os animais foram anestesiados com éter etílico e submetidos à tricotomia da pata traseira esquerda, região correspondente ao músculo gastrocnêmico.

Seguiu-se então de anti-sepsia com álcool iodado 70%, e assim o uso de um objeto perfuro-cortante, o qual apresentava 2,7 mm de diâmetro na base e 0,9 mm de diâmetro no ápice. O comprimento delimitado da lesão foi de 4 mm. O tratamento foi realizado após a lesão muscular, nos intervalos de tempo determinado para cada subgrupo do grupo tratado, conforme Tabela I.

Tabela I - Horário de aplicação da crioterapia - Grupo Tratado.

Horário	0h	3h	6h	9h	12h	24h	48h
Subgrupo I	x						
Subgrupo II	x	x					
Subgrupo III	x	x	x				
Subgrupo IV	x	x	x	x			
Subgrupo V	x	x	x	x	x		
Subgrupo VI	x	x	x	x	x	x	
Subgrupo VII	x	x	x	x	x	x	x

De acordo com cada intervalo de tempo determinado na Tabela I, aplicou-se massagem com gelo na pata traseira esquerda do animal tratado, em movimentos circulares sobre a lesão (Figura 1). Cada aplicação da crioterapia teve a duração de 7 minutos, segundo Stamford [25]. O sacrifício foi realizado imediatamente após a última aplicação de crioterapia de cada subgrupo tratado. Embora os subgrupos controle não recebessem crioterapia, foram sacrificados no mesmo horário dos subgrupos tratados correspondentes.

Imediatamente após o sacrifício foi realizado a dissecação do músculo gastrocnêmico, para procedimento de análise histológica.

Todos os fragmentos do músculo gastrocnêmio em experimento foram fixados em formol 10%, e posteriormente transferidos para álcool 70%, sendo depois desidratados em álcool, diafanizados em xilol, impregnados e incluídos em parafina. Os cortes histológicos foram feitos com aproximadamente 7 micrômetros de espessura, em secções longitudinais, corados com hematoxilina-eosina.

As análises foram efetuadas em microscópio óptico, sendo realizada a contagem de neutrófilos, macrófagos e fibroblastos, em três campos aleatoriamente escolhidos em cada lâmina. Os resultados foram comparados entre o grupo de animais controle e o grupo de animais tratados, e analisados através do teste t para os números de células encontradas.

Resultados

Na análise histológica, foram considerados neutrófilos, células com núcleos constituídos de dois a quatro lóbulos interconectados.

Os macrófagos foram considerados células com núcleos ovóides, com citoplasma claro e superfície irregular. Quanto às células gigantes, visto que as mesmas envolvem a fusão de muitos macrófagos, foram consideradas aquelas com tamanho evidentemente maior e que possuíam diversos núcleos.

Quanto aos fibroblastos, foram consideradas as células mais alongadas, fusiformes, com prolongamento citoplasmático irregulares, núcleo claro, grande, de forma ovóide e evidente.

Considerando a contagem de neutrófilos e macrófagos, através do teste t, foi possível verificar diferenças significativas para $p < 0,05$, nos horários mostrados nas Tabelas II e III. Para fibroblastos, no entanto, o teste não mostrou diferença significativa em nenhum dos momentos de coleta

Conforme Tabela II, houve uma redução considerável de neutrófilos nos animais tratados em relação aos animais controle. Sendo que esta redução se manteve em todos os períodos de aplicação. Os dados podem, também, ser visualizados na Figura 1.

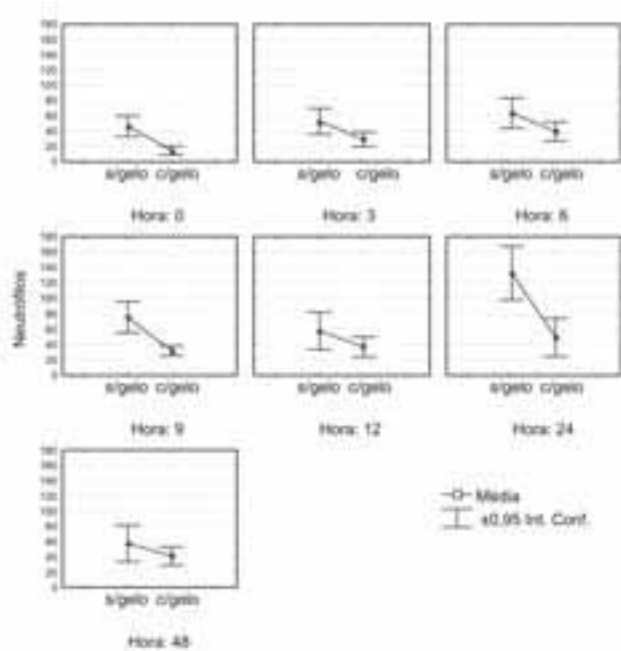
Tabela II - Média \pm desvio-padrão do número de neutrófilos nos vários momentos de coleta; valor obtido no teste t e sua respectiva significância e variações a menor no número de células após aplicação de crioterapia.

Hora	Com gelo	Sem gelo	t	p	Taxa de variância
0h	14,55 \pm 7,60*	46,66 \pm 17,54	5,03	0,000121	< 3,2
3h	29,33 \pm 12,61*	52,88 \pm 22,12	2,77	0,013528	< 1,8
6h	39,66 \pm 16,48*	63,88 \pm 25,71	2,37	0,030141	< 1,6
9h	31,88 \pm 8,23*	75,22 \pm 26,22	4,72	0,000227	< 2,35
12h	36,77 \pm 16,84	57,66 \pm 31,83	1,73	0,101216	< 1,5
24h	49,11 \pm 32,01*	132,55 \pm 45,35	4,50	0,000357	< 2,7
48h	41,11 \pm 15,53	57,66 \pm 31,24	1,42	0,173843	< 1,4

Tabela III - Média \pm desvio-padrão do número de macrófagos nos vários momentos de coleta; valor obtido no teste t e sua respectiva significância e variações a menor no número de células após aplicação de crioterapia.

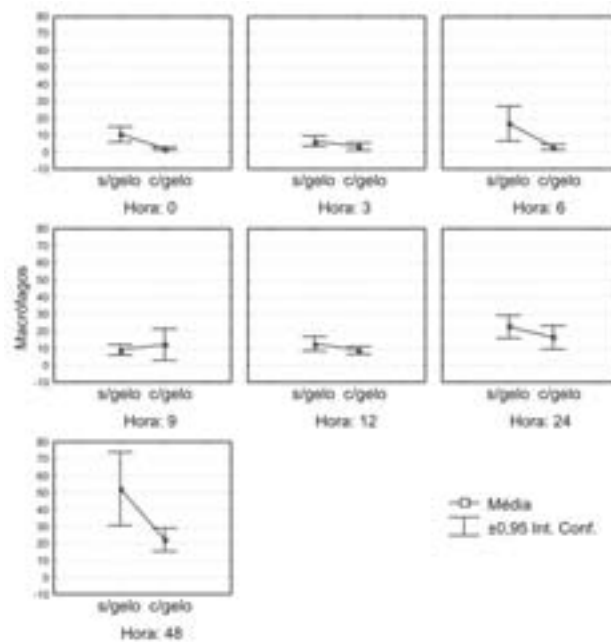
Hora	Com gelo	Sem gelo	t	p	Taxa de Variância
0h	2,11 \pm 1,05*	10,55 \pm 5,91	4,21	0,000659	< 5
3h	3,33 \pm 2,87*	6,66 \pm 4,03	2,02	0,060419	< 2
6h	3,00 \pm 1,69*	16,89 \pm 13,29	3,09	0,006936	< 5,6
9h	9,11 \pm 3,95	12,11 \pm 12,06	0,70	0,488642	< 1,3
12h	8,77 \pm 2,86	12,66 \pm 5,50	1,88	0,078211	< 1,4
24h	16,33 \pm 9,04	22,55 \pm 8,70	1,48	0,156386	< 1,4
48h	22,22 \pm 8,87*	52,33 \pm 28,19	3,05	0,007542	< 2,35

Figura 1 - Médias e intervalos de confiança para número de neutrófilos em todos os momentos de coleta, com e sem tratamento.



O número de macrófagos analisados, microscopicamente, também apresentou redução significativa do grupo tratado em relação ao grupo controle. Seu pico de redução máximo foi nas primeiras 6 horas, conforme Figura 2.

Figura 2 - Médias e intervalos de confiança para número de macrófagos em todos os momentos de coleta, com e sem tratamento.



Em relação aos fibroblastos, não houve diferença estatisticamente significativa. A vascularização, analisada qualitativamente através de microscópio óptico, apresentou-se aumentada no grupo controle. Já no grupo tratado houve significativa redução.

Discussão

Segundo Knight [18], o tempo de aplicação da crioterapia, para promover efeito significativo na inflamação aguda, deve ser de aproximadamente 30 minutos. Para as áreas de grandes massas musculares deve-se aplicar por 40 minutos, a cada duas horas. Recomenda também que a aplicação seja realizada num período de 12 a 72 horas, ou até que a tendência ao edema tenha desaparecido.

O tempo de aplicação utilizado para realização deste trabalho foi de 7 minutos, conforme Stamford [23], por um período de 48 horas, com intervalo de 3 horas a cada aplicação.

Em relação à periodicidade, este é um dado não muito claro na literatura. Porém, os resultados microscópicos obtidos mostraram que o intervalo de três horas para cada aplicação foi suficiente para reduzir a intensidade da resposta inflamatória aguda.

A massagem com gelo foi a técnica utilizada para realização da pesquisa. Segundo Knight [18], a técnica pode sofrer influência quando comparada com as outras técnicas de crioterapia. Conforme a área é massageada, o gelo fica em contato com uma região específica do tecido apenas brevemente, a seguir o tecido é exposto a temperatura ambiente. Isto é uma desvantagem quando o objetivo é de reduzir a temperatura do tecido. Embora apresente algumas desvantagens, a opção por esta técnica é justificada por se tratar de uma área de lesão muito pequena, haja vista a reduzida dimensão do músculo gastrocnêmio do rato. Assim, a área tratada, não perdia o contato com o gelo, mantendo sempre a temperatura de resfriamento. Obviamente, quando realizada em grandes áreas, talvez não seja a técnica mais adequada. Porém, com os resultados obtidos, a técnica mostrou-se eficaz na redução da resposta inflamatória aguda.

De acordo com os dados obtidos, pode-se comprovar estatisticamente que houve redução significativa no número de células inflamatórias (neutrófilos e macrófagos) mediante a aplicação de crioterapia. Embora qualitativamente, também se pode observar a redução circulatória na área lesada mediante aplicação de crioterapia.

Em situações normais, onde haja uma inflamação aguda, os neutrófilos e os macrófagos são as primeiras células a chegarem ao local da lesão, penetrando no tecido, e imediatamente começam a fagocitose [9]. A migração dessas células da luz do vaso ao foco inflamatório, não se faz de modo aleatório. De fato, os polimorfonucleares neutrófilos (PMNs) são as células dominantes nas primeiras 24 horas a 48 horas após a agressão. Segundo Brasileiro Filho [2], os fatores que retardam o processo cicatricial são aqueles que mantêm a reação inflamatória em atividade. Para Andrade [13], enquanto houver inflamação ativa, o processo de cicatrização não se completa.

Em situações onde haja aplicação de crioterapia, há poucas evidências literárias sobre os eventos celulares ocorridos durante a inflamação aguda. Segundo Rodrigues e Guimarães

[20], a aplicação da crioterapia atua diretamente na permeabilidade capilar e a resposta celular varia diretamente com a temperatura. Knight [18] afirma que a aplicação do frio diminui a temperatura do tecido, os vasos sanguíneos são resfriados e constroem-se, reduzindo a permeabilidade e, portanto, limitando a hemorragia para o tecido, diminuindo a passagem de células inflamatórias para o tecido lesado. Esta redução no número de células inflamatórias contribui para redução da resposta inflamatória exacerbada. Para Jass [24], os principais locais de armazenamento da histamina são os mastócitos, basófilos e as plaquetas. O principal efeito da histamina no processo inflamatório agudo inclui aumento da permeabilidade vascular e a quimiotaxia dos neutrófilos. Neste contexto, o frio atua na reação inflamatória, reduzindo a liberação de histamina. Logo, o desenvolvimento da inflamação – liberação de histamina, aumento da permeabilidade capilar, liberação de detritos e mais reações secundárias – estará controlado. Este controle é muito importante na lesão aguda, pois o resfriamento imediato do local lesado impede a instalação do processo inflamatório [25].

Os fibroblastos, característicos do processo inflamatório crônico, originam-se dos fibrócitos em repouso situados nas margens da lesão, migrando para dentro dela em resposta à atração de agentes químicos e físicos. Os fibroblastos têm seu pico máximo de 4 a 6 dias após a lesão [26]. Em relação à contagem celular de fibroblastos, os dados mostraram-se insignificantes estatisticamente. Segundo o trabalho realizado por Feix e Tribess [29], uma alteração na presença de fibroblastos ocorre de forma lenta e gradual, atingindo seu valor máximo por volta de 8 a 10 dias. O número reduzido de células observadas no experimento, explica o fato de não haver significância estatística para este tipo de célula entre o grupo controle e o grupo tratado.

Os resultados deixam indícios que, a técnica de crioterapia apresentou grande habilidade de redução na migração de neutrófilos e macrófagos no processo inflamatório agudo. Uma vez que a redução acentuada no número de neutrófilos e macrófagos analisados sugere isto.

Conclusão

De acordo com os dados obtidos, podem-se evidenciar os efeitos da crioterapia no controle de um dos eventos da resposta inflamatória aguda. Embora haja pouquíssimas evidências na literatura a respeito da atuação da crioterapia nos eventos celulares do processo inflamatório agudo, os dados comprovam a redução do número de células inflamatórias. Assim, com a redução do processo inflamatório, a cicatrização inicia mais rapidamente, e conseqüentemente uma diminuição do tempo total de cicatrização.

Estes dados são de fundamental importância para os fisioterapeutas, pois dessa forma, ficou comprovado que a crioterapia atua diretamente na redução da resposta inflamatória, diminuindo o influxo de neutrófilos e macrófagos

na área lesionada, podendo então ser optada como recurso de tratamento para auxiliar no processo de recuperação de lesões musculares.

No entanto, vale ressaltar a necessidade de novas pesquisas, a fim de comprovar se a diminuição da resposta inflamatória exerce influência sobre a remodelação total do tecido lesado.

Para tanto, seria indicado um experimento que comprovasse o efeito da crioterapia no tempo total de reparação tecidual após uma lesão, necessitando para isto, um procedimento experimental de maior duração.

Referências

1. Gali JC. Lesões musculares. *Acta Ortop Bras* 1999;7(3):128-34.
2. Brasileiro Filho G. *Patologia geral*. 2a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1998. p.111.
3. Salter BR. *Distúrbios e lesões do sistema musculoesquelético*. 3a ed. São Paulo: Medsi; 2001.
4. Schwartsmann C, Osvaldo L, Telöken M. *Fraturas: princípios e prática*. São Paulo: Artmed; 2003.
5. Trowbridge OH, Emling CR. *Inflamação: uma revisão do processo*. 4a ed. São Paulo: Quintessence; 1998.
6. Andrews JR, Harrelson GL, Wilk KE. *Reabilitação física das lesões desportivas*. 2a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000.
7. Vaz C, Calich V. *Imunologia*. Rio de Janeiro: Revinter; 2003. p. 11-23.
8. Guyton CA, Hall EJ. *Tratado de fisiologia médica*. 10a ed. São Paulo: Guanabara Koogan; 2002. p. 371-375.
9. Kitchen S, Bazin S. *Eletroterapia prática baseada em evidências*. 11a ed. São Paulo: Manole; 2003.
10. Parham P. *O sistema imune*. Porto Alegre: Artmed; 2001. p. 14-17.
11. Abbas KA, Lichtman HA, Pober SJ. *Imunologia celular e molecular*. Rio de Janeiro: Revinter; 2003. p. 283-301.
12. Brasileiro Filho G, Pittela JEH, Bambilra EA, Barbosa AJA. *Bogliolo patologia*. 6a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004. p. 928-947.
13. Andrade AZ. Tecido conjuntivo, reparo, regeneração e cicatrização. In: Montenegro RM, Franco M. *Patologia processos gerais*. 4a ed. Rio de Janeiro: Atheneu; 1999. p.164-149.
14. Rosa G, Nunes C, Oliveira J. Efeitos fisiológicos da crioterapia na inflamação aguda causada por traumatismo fechado: uma revisão. *Reabilitar* 2002;4(14):16-22.
15. Lianza S. *Medicina de reabilitação*. 2a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1995.
16. Fargas A, Roma J, Roing M. Regeneración muscular: influencia de la lámina basal, del tamaño de la lesión y de la respuesta inflamatoria en el ratón C57BL10/ScSn. *Rev Neurol* 2002;4(34):328-38.
17. Esperança PCJ, Neto GMGN. *Patologia. Lesão e restauração*. In: Freire E. *Trauma. A doença do século*. São Paulo: Atheneu; 2001. p. 103-105.
18. Knight LK. *Crioterapia no tratamento de lesões esportivas*. São Paulo: Manole; 2000.
19. Kisner C, Colby LA. *Exercícios terapêuticos – fundamentos e técnicas*. 4a ed. Rio de Janeiro: Manole; 2004.
20. Rodrigues EM, Guimarães CS. *Manual de recursos fisioterapêuticos* Rio de Janeiro: Revinter; 1998.
21. Tepperman PS, Devlin M. Therapeutic heat and cold. *A practitioner's guide*. *Postgraduate Medicine* 1983;73(1):69-76.
22. Guirro R, Abib C, Maximo C. Os efeitos fisiológicos da crioterapia: Uma revisão. *Rev Fisioter Univ São Paulo* 1999;6(2):164-170.
23. Stamford B. Giving injuries the cold Treatment. *The Physician and Sport Medicine* 1996;24(3):32-35.
24. Jass JR. *Understanding pathology*. Australia: Harwo; 1999. p. 378-384.
25. Rodrigues A. *Crioterapia*. São Paulo: Cefespar; 1995.
26. Robbins LS, Cotran BA. *Patologia funcional e estrutural*. 6a ed. São Paulo: Guanabara Koogan; 2001. p. 61-62.
27. Farber JL, Rubin E. *Patologia*. 3a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002.
28. Feix SG, Tribess CK. *A regeneração do músculo gastrocnêmio. Estudo experimental em ratos [monografia]*. Itajaí: Universidade do Vale do Itajaí, Faculdade de Fisioterapia; 2000.