

# A influência da crioterapia na dor e edema induzidos por sinovite experimental

## *The cryotherapy influence on pain and edema induced by experimental synovitis*

Natália Boneti Moreira<sup>1</sup>; Elisângela Lourdes Artifon<sup>1</sup>; Anamaria Meireles<sup>1</sup>; Lúgia Inez Silva<sup>1</sup>; Camila Thieime Rosa<sup>1</sup>; Gladson Ricardo Flor Bertolini<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Discente do Curso de Fisioterapia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste). Laboratório de Estudo das Lesões e Recursos Fisioterapêuticos da Unioeste.

<sup>2</sup> Docente do Curso de Fisioterapia da Unioeste. Laboratório de Estudo das Lesões e Recursos Fisioterapêuticos da Unioeste. Colegiado de Fisioterapia – Campus de Cascavel, Rua Universitária 2069, Jardim Universitário, Cascavel – PR. Caixa Postal: 711. CEP: 85819-110.

Laboratório de Estudo das Lesões e Recursos Fisioterapêuticos da Unioeste, Campus Cascavel – PR.

O trabalho foi parcialmente financiado pela Unioeste e pelo Hospital Universitário do Oeste do Paraná (HUOP).

O presente trabalho será encaminhado para o Congresso Brasileiro de Fisioterapia Esportiva 2011, podendo constar nos anais do mesmo na forma de resumo.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal e Aulas Práticas da Unioeste, sob protocolo nº 1010.

### ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Gladson Ricardo Flor Bertolini.

Rua Universitária 2069, Jardim Universitário, Cascavel – PR. CEP: 85819-110.

gladson\_ricardo@yahoo.com.br/  
(45) 3220-3157.

APRESENTAÇÃO:

jul. 2010

ACEITO PARA PUBLICAÇÃO:

nov. 2010

**RESUMO:** O objetivo deste estudo foi analisar a influência da crioterapia na dor e edema advindos de sinovite induzida em ratos. Foram utilizados 12 ratos, distribuídos em dois grupos: Controle (GC) – submetido à indução de sinovite no joelho direito, e não tratado; e Tratamento (GT) – submetido à sinovite no joelho direito, e tratado com crioterapia. Para induzir a lesão, foi injetado no espaço tibio-femoral formalina 5%. Para avaliação da dor foi utilizado o teste de incapacidade funcional, que avaliou a dor durante a marcha do animal (tempo de elevação da pata – TEP); e para quantificar o edema foi utilizado um paquímetro metálico, na região da interlinha do joelho. As avaliações ocorreram antes da injeção de formalina (AV1), 1 (AV2) e 2 horas (AV3) após. Após 10 minutos da lesão, o membro posterior direito foi submerso em água com gelo, à 5°C por 20 minutos. A avaliação do TEP mostrou aumento de 194,03% (AV2) e 169,26% (AV3) para GC; e 134,25% (AV2) e 103,13% (AV3) para GT, com relação à AV1. Na comparação entre os grupos, em AV3, houve diminuição significativa para GT. A avaliação do edema mostrou aumento do diâmetro, para GC de 39,15% (AV2) e 42,39% (AV3); e 27,91% (AV2) e 14,50% (AV3) para GT, tendo como referência AV1; sendo que apenas GT apresentou diminuição significativa entre AV2 e AV3. Conclui-se que os efeitos em curto prazo, da crioterapia, foram significativos para reduzir a dor e edema, em ratos submetidos à indução de sinovite.

**PALAVRAS-CHAVE:** sinovite, crioterapia, medição da dor, edema.

The aim of this study was to examine the influence of cryotherapy on pain and swelling in an induced synovitis in rats. A total of 12 rats were allocated into two groups: the control (CG) – underwent the synovitis induction in his right knee, and not treated, and treatment (TG) – synovitis in his right knee, and treated with cryotherapy. To induce injury, was injected into the tibio-femoral joint space 5% formalin. For the pain assessment was used the functional incapacitation test, which assessed pain during gait of the animal (paw elevation time – PET) and to quantify the swelling was used a metal caliper in the region of the interline knee. Assessments occurred prior to injection of formalin (EV1), 1 (EV2) and 2 hours (EV3) after. After 10 minutes of the injury, the right hind limb was immersed in ice water, 5°C for 20 minutes. The evaluation of PET revealed increased 194.03% (EV2) and 169.26% (EV3) for CG, and 134.25% (EV2) and 103.13% (EV3) to TG, with respect to EV1. Comparing the groups, EV3, a significant decrease in GT. The edema assessment showed increased diameter of 39.15% for CG (EV2) and 43.39% (EV3) and 27.91% (EV2) and 14.5% (EV3) to TG, with reference EV1; and only TG significantly decreased between EV2 and EV3. We conclude that the effects in the short term, cryotherapy, were significant to reduce pain and edema in rats with induced synovitis.

**KEYWORDS:** SYNOVITIS, cryotherapy, pain measurement, edema.

## INTRODUÇÃO

A osteoartrite é uma das doenças mais comuns do sistema esquelético, apresenta caráter progressivo e pode ser classificada como uma condição degenerativa das articulações sinoviais<sup>(1,2)</sup>. Mais especificamente, a osteoartrite do joelho é uma doença que apresenta características inflamatórias e degenerativas, provocando a destruição da cartilagem articular e em casos mais avançados a deformação articular. O primeiro fator incapacitante da doença é a dor que leva, após um período, a alterações articulares, periarticulares e disfunção progressiva<sup>(2)</sup>.

O processo inflamatório induz um aumento da sensibilização dos nociceptores a estímulos mecânicos, térmicos ou químicos. Tratamentos com ou sem medicamentos são usados para aliviar a dor e/ou edema. Os antiinflamatório-analgésicos, com atividade periférica, podem atuar produzindo analgesia por meio dos inibidores da ciclooxigenase, ou pelo bloqueio direto da hiperalgesia, por meio dos opióides. Porém, o uso contínuo destes medicamentos pode levar a efeitos colaterais indesejáveis, como problemas cardiovasculares, desequilíbrio nos níveis de tromboxano e prostaciclina, bloqueio das ações prostanoídes na função renal e problemas no trato gastrointestinal. Estas condições limitam o uso destes medicamentos e levam a busca de tratamentos alternativos<sup>(3-5)</sup>.

Agentes físicos, como a crioterapia, quando corretamente indicados e utilizados, podem combater o processo algico. A crioterapia, o uso do frio como uma modalidade benéfica, é talvez a mais simples e mais antiga modalidade terapêutica no tratamento de lesões agudas de tecidos moles e possui indicação no tratamento de lesões musculoesqueléticas. Propõe-se que, diminuindo a temperatura do tecido, o gelo pode diminuir a dor, a condução nervosa, o metabolismo e o espasmo muscular, minimizar o processo inflamatório, a lesão por hipóxia e a liberação de mediadores inflamatórios e, conseqüentemente, ajuda na recuperação do tecido após trauma além de reduzir o consumo de medicamentos<sup>(2,6,7)</sup>.

Estudos mostram que o crioterapia por até 20 minutos diminui a temperatura superficial, do tecido, e reduz a sensa-

ção de dor<sup>(6,8)</sup>. A analgesia, produzida pela crioterapia, ocorre de forma rápida, porém seu efeito também se dissipa rapidamente<sup>(8,9)</sup>. Assim, vislumbrando as limitações causadas por doenças inflamatório-degenerativas, apresenta-se a importância de estudos capazes de reduzir o quadro algico, e visto que entre elas está a crioterapia, a qual apresenta lacuna com relação a possíveis efeitos analgésicos em curto prazo, além daqueles imediatos, justifica-se o presente estudo. O objetivo deste estudo consistiu em analisar a influência da crioterapia na dor e edema em uma sinovite induzida em ratos, avaliados após 1 e 2 horas de aplicação.

## MÉTODOS

### Delineamento do estudo e grupos experimentais

Foram utilizados 12 ratos, machos, da linhagem Wistar, com 18 semanas de idade e  $470 \pm 36$  g de peso corporal médio, obtidos no biotério central da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE. Os animais foram alojados em caixas de polipropileno, agrupados em número de três, com temperatura ambiente de 25°C e fotoperíodo de 12 horas claro/escuro controlados, receberam água e ração *ad libitum* durante todo período experimental. O projeto foi conduzido segundo as Normas Internacionais de Ética em Experimentação Animal<sup>(10)</sup>, sendo aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal e Aulas Práticas da Unioeste, sob protocolo nº 1010.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos, sendo:

- Grupo controle (GC, n=6): animais submetidos à indução de sinovite no joelho direito, e não tratados.
- Grupo tratamento (GT, n=6): animais submetidos à indução de sinovite no joelho direito, e tratados com crioterapia a 5°C, por 20 minutos.

### Produção da lesão experimental

Os animais foram previamente anestesiados com thiopental (75 mg/kg), intra-

peritonealmente, o qual é um barbitúrico de ultracurta duração<sup>(11)</sup>. Posteriormente, foi realizada a tricotomia no joelho direito do animal e injetado, no espaço articular tíbio-femoral, 100 µL de formalina 5%, para indução da sinovite<sup>(12)</sup>.

### Avaliação funcional da dor

Para avaliação da dor foi utilizado o teste de incapacidade funcional, descrito em detalhes por Tonussi e Ferreira<sup>(13)</sup>. Este teste tem como objetivo avaliar a dor durante a marcha do animal; se caracteriza por um cilindro e um programa de computador com conexão a uma bota metálica, adaptada à pata do animal.

O experimento foi iniciado com três dias de treino dos animais, da forma de avaliação, após esse período eles deambularam sobre um cilindro, com 30 cm de diâmetro, recoberto por tela de aço inoxidável, que por meio de um motor elétrico realiza três rotações por minuto. Foram acopladas, nos membros posteriores dos animais, botas metálicas, que conduziam a informação, por meio de um fio, conectando a bota direita ao computador, o qual possuía um programa que apresentava os valores de tempo de falta de contato, da pata do animal, sobre o cilindro em um minuto. A pata posterior esquerda também foi conectada a uma bota, porém sem entrada de informações para o computador, assim ambas as patas experimentaram a sensação de estar com a bota. No dia posterior ao último treino, foram coletados os valores de tempo da marcha normal (no momento pré-lesão), 1 hora e 2 horas após a lesão.

De acordo com Bressan *et al.*<sup>(14)</sup>, animais que não sofreram nenhuma intervenção invasiva e não apresentam alterações de marcha, demonstram tempo de elevação da pata (TEP) ao redor de 10 segundos; esse valor só aumenta quando o animal, com o membro lesionado, apresenta dor.

### Avaliação do edema

Para quantificar o edema, na região da lesão experimental, foi utilizado o paquímetro metálico posicionado na região da interlinha articular do joelho do membro posterior direito, médio-lateralmente. Esta forma de avaliação foi realizada em momentos semelhantes ao

teste de incapacidade funcional, sempre após tal avaliação <sup>(15)</sup>.

### Tratamento da lesão experimental

Após 10 minutos da lesão experimental, com os animais ainda sedados, o tratamento foi iniciado, por meio da utilização de gelo com água em um copo descartável, à 5°C por 20 minutos. O membro posterior direito do animal era submerso até que a região medial da interlinha articular do joelho fosse submergida. A temperatura da água foi analisada, antes e durante o tratamento, com uso do termômetro da marca Incoterm®.

Depois de concluídas as intervenções e avaliações, todos os animais sofreram eutanásia por decapitação em guilhotina.

### Análise estatística

Os dados foram analisados pelo teste de ANOVA medidas repetidas com pós-teste de Tukey, para análise intragrupos, e Teste *t* não pareado, para análise intergrupos; em todos os casos foi aceito o nível de significância de 5%.

## RESULTADOS

### Avaliação funcional da dor

A avaliação da presença da dor no GC nos períodos pré-lesão (9,89±1,81s), após 1 (29,08±8,33s) e 2 (26,63±1,51s) horas da lesão, observada pelo teste de incapacidade funcional, mostrou aumento do tempo de elevação da pata (TEP) de 194,03% em AV2 e 169,26% em AV3, havendo diferenças significativas ( $p < 0,05$ ). Apenas ao comparar AV2 com AV3 a diferença não foi significativa ( $p > 0,05$ ).

Para GT, o aumento observado, ao comparar com AV1 (10,54±1,99s), em AV2 (24,69±5,95s) foi de 134,25%, e em AV3 (21,41±2,67s) 103,13%, em ambos os casos significativo ( $p < 0,05$ ). Novamente, na comparação de AV2 com AV3 a diferença não foi significativa ( $p > 0,05$ ).

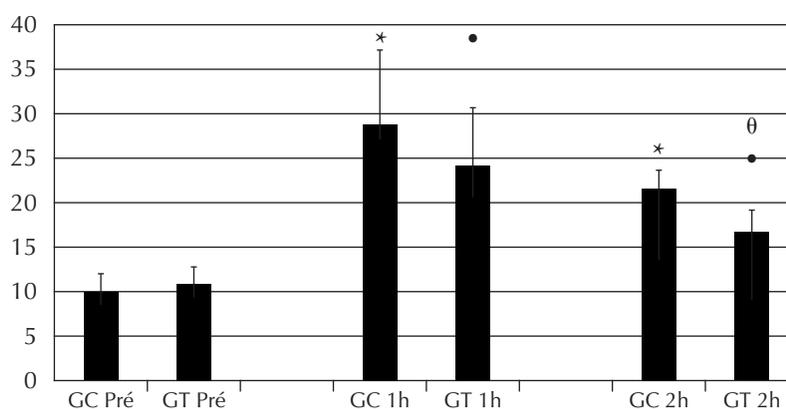
Ao comparar entre os grupos, AV1 e AV2 não apresentaram diferenças

significativas ( $p = 0,5671$  e  $p = 0,3186$ , respectivamente), porém em AV3 houve diminuição significativa para o grupo crioterapia ( $p = 0,0019$ ) (fig. 1).

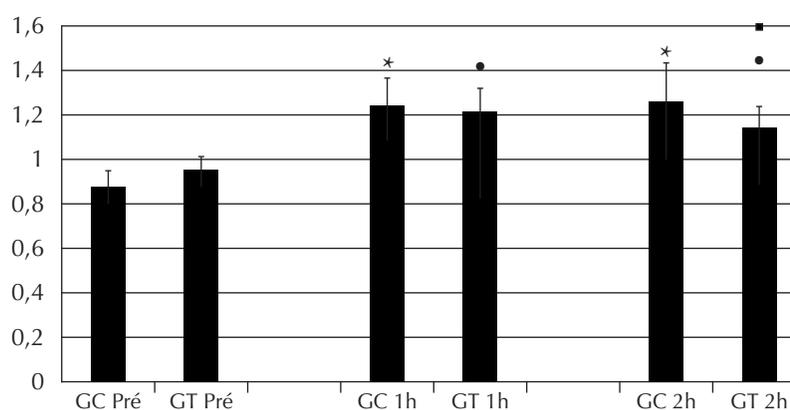
### Avaliação do edema

A avaliação do edema mostrou para GC, ao comparar com AV1 (0,89±0,06cm), aumento de 39,15% em AV2 (1,24±0,10cm), e 42,39% em AV3 (1,27±0,15cm), havendo diferenças

significativas ( $p < 0,05$ ). Ao comparar AV2 com AV3 a diferença não foi significativa ( $p > 0,05$ ). Para GT, o aumento observado, ao comparar com AV1 (0,95±0,06cm), em AV2 (1,21±0,09cm) foi de 27,91%, e em AV3 (1,15±0,08cm) 14,50%, em ambos os casos significativo ( $p < 0,05$ ). Ao comparar AV2 com AV3 a diminuição observada de 10,49% foi significativa ( $p < 0,05$ ). Na comparação entre os dois grupos não houve uma diferença significativa ( $p > 0,05$ ) (fig 2).



**Figura 1** Avaliação da dor com o teste de incapacidade funcional através do tempo de elevação da pata (TEP), nos momentos pré-lesão (GT Pré e GC Pré), após 1 hora da lesão (GT 1h e GC 1h) e após 2 horas da lesão (GT 2h e GC 2h). \* Diferença estatisticamente significativa ao comparar com o valor pré-lesão de GC; Diferença estatisticamente significativa ao comparar com o valor pré-lesão de GT; Diferença estatisticamente significativa ao comparar com GC 2h.



**Figura 2** Avaliação do edema pela variação do diâmetro médio-lateral, na interlinha articular do joelho no membro posterior direito do animal, com o uso do paquímetro metálico, nos momentos pré-lesão (GT Pré e GC Pré), após 1 hora da lesão (GT 1h e GC 1h) e após 2 horas da lesão (GT 2h e GC 2h). \*Diferença estatisticamente significativa ao comparar com o valor pré-lesão de GC; Diferença estatisticamente significativa ao comparar com o valor pré-lesão de GT; Diferença significativa ao comparar com o momento GT 1h.

## DISCUSSÃO

A crioterapia tem sido utilizada para reduzir o edema, inflamação, formação de hematomas e dor, bem como para o tratamento de osteoartrite. Na osteoartrite, enzimas destrutivas são produzidas e se tornam mais ativas com o aumento da temperatura, resultando na destruição da cartilagem e dos outros tecidos. Tal destruição aumenta rapidamente com temperatura entre 35-36°C, quando a região está em processo de sinovite ativa, mas em torno de 30°C a atividade dessas enzimas se torna praticamente desprezível. Com isso, uma das maneiras de reduzir a sinovite pode ser a diminuição da temperatura intra-articular com uso da crioterapia <sup>(16)</sup>.

Embora freqüentemente utilizada em programas de fisioterapia, os efeitos da crioterapia no tratamento da sinovite não estão totalmente elucidados. No presente estudo foi avaliada a presença de dor e de edema em ratos submetidos à lesão experimental, com formalina a 5%, no espaço articular tíbio-femoral no joelho direito do animal.

O método utilizado para anestesia dos animais proporciona um período hábil para a maioria dos procedimentos clínicos ou cirúrgicos. Porém seu efeito se faz presente em um a dois minutos com duração de 10 a 15 minutos <sup>(11)</sup>. Com isso, pelo intervalo (10 minutos após a lesão), tempo de tratamento (20 minutos de tratamento) e reavaliação (1 hora após a indução da lesão) adotados, pode-se inferir que não houve influência deste anestésico nos resultados relacionados à dor.

Na análise da dor, do membro posterior do animal, pelo uso do teste de incapacidade funcional, foi observada presença significativa da mesma nos dois grupos logo após a lesão experimental, indicando a produção de irritação química em ambos os grupos. O quadro algico apresentado pelos animais permaneceu durante uma hora, e embora na avaliação intragrupo a dor não tenha diminuído significativamente, na comparação intergrupo, após duas horas, a dor foi menor no grupo tratado com crioterapia.

O que também é salientado no trabalho de revisão de Ernst e Fialka <sup>(17)</sup>.

Tais resultados são diferentes daqueles encontrados por Werner *et al.* <sup>(18)</sup>, que testaram os efeitos locais do resfriamento (8°C, 30 minutos) sobre o desenvolvimento da resposta inflamatória e hiperalgesia logo após uma queimadura de 1º grau em homens, não encontrando diferenças entre o grupo tratado e o controle.

Por outro lado, há estudos que mostram os efeitos positivos da crioterapia, como Sluka *et al.* <sup>(19)</sup>, que utilizaram o tratamento por meio da imersão no gelo, durante 20 minutos, após a indução de uma artrite aguda experimental em ratos, revelando o efeito analgésico imediato da crioterapia.

No presente estudo, pela análise do edema do membro posterior direito do animal, foi observada presença significativa de edema em ambos os grupos logo após a produção da lesão experimental. Para o grupo tratado, houve redução significativa do edema, o que não aconteceu com o grupo controle, porém comparando os dois grupos não houve diferença significativa.

Sluka *et al.* <sup>(19)</sup>, como já citado, evidenciaram o efeito analgésico imediato da crioterapia, porém não encontraram resultados significativos quanto a redução do edema. Já no estudo de Deal *et al.* <sup>(20)</sup>, constatou-se que a permeabilidade de leitos microvasculares foi reduzida significativamente após a crioterapia, em ratos submetidos à trauma mecânico, sugerindo então, que a redução na interação endotélio-leucócitos é capaz de explicar uma redução em edema após trauma.

Enwemeka *et al.* <sup>(21)</sup> reforçam que ocorre redução da dor por meio da ativação dos receptores sensoriais, diminuindo a taxa de disparos de dor, já em relação ao edema, relatam que a diminuição do metabolismo e a vasoconstricção local, dos vasos superficiais, limitam o extravasamento de fluídos e formação do edema.

A recomendação sobre o uso clínico do gelo apresenta muitas variáveis. A

seleção de parâmetros, em um ambiente clínico, continua a ser feita de forma pragmática e recomendações em artigos de revisão bibliográfica variam na duração e na quantidade de execuções diárias. Alguns sugerem duração entre 10 e 20 minutos, outros de 20 a 30 minutos, em relação à quantidade há indicações de 2 a 4 vezes por dia ou de 30 a 40 minutos de aplicação do gelo a cada duas horas. Há muitas variações sobre o modo ideal, duração e freqüência da aplicação de gelo, mas tais fatores determinam o nível do resfriamento tecidual e o potencial da eficácia do tratamento. Além disso, o gelo é normalmente combinado com compressão e elevação, tornando-se difícil analisar o valor da crioterapia separadamente <sup>(6)</sup>.

Embora a crioterapia seja usada no atendimento imediato ou de reabilitação de lesões de tecidos moles, segundo Bleakley, Mcdonough e Macauley <sup>(6)</sup>, a base para a sua aplicação em cada etapa é completamente diferente. Imediatamente após a lesão, o gelo é usado principalmente para reduzir o metabolismo, minimizando assim a lesão hipóxica secundária e o grau do dano tecidual. Em contraste, quando aplicado em fases subseqüentes, ele é usado primeiramente para reduzir a dor, o que facilita o exercício precoce e com maior intensidade. Conforme os resultados observados aqui, verificou-se que há também uma resposta analgésica em curto prazo, além da que seria esperada no efeito imediato, como liberação de endorfinas ou teoria das comportas.

Mas, citam-se como limitações do presente estudo a ausência de avaliações histológicas e bioquímicas, sendo estas indicadas como temas para futuros estudos.

## CONCLUSÃO

Os efeitos em curto prazo, da crioterapia a 5°C por 20 minutos, foram significativos em reduzir a dor e edema, em ratos submetidos a uma indução da sinovite no espaço articular tíbio-femoral com formalina a 5%.

## REFERÊNCIAS

- 1 Lin Y, Huang M, Chai C, Yang R. Effects of helium-neon laser on levels of stress protein and arthritic histopathology in experimental osteoarthritis. *Am J Phys Med Rehabil.* 2004;83(10):758-65.
- 2 Silva ALP, Imoto DM, Croci AT. Estudo comparativo entre a aplicação de crioterapia, cinesioterapia e ondas curtas no tratamento da osteoartrite de joelho. *Acta Ortop Bras.* 2007;15(4):204-9.
- 3 Scott A, Khan KM, Roberts CR, Cook JL, Duronio V. What do we mean by the term "inflammation"? A contemporary basic science update for sports medicine. *Br J Sports Med.* 2004;38:372-80.
- 4 Muri EMF, Sposito MMM, Metsavaht L. Antiinflamatórios não-esteroidais e sua farmacologia local. *Acta Fisiatr.* 2009;16(4):186-90.
- 5 Jones R, Rubin G, Berenbaum F, Scheiman J. Gastrointestinal and cardiovascular risks of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Am J Med.* 2008;121:464-74.
- 6 Bleakley C, McDonough S, Macauley D. The use of ice in the treatment of acute soft-tissue injury: A systematic review of randomized controlled trials. *Am J Sports Med.* 2004;32(1):251-61.
- 7 Warren TA, Mccarty EC, Richardson AL, Michener T, Spindler KP. Intra-articular knee temperature changes: ice versus cryotherapy device. *Am J Sports Med.* 2004;32(2):441-5.
- 8 Cochrane DJ. Alternating hot and cold water immersion for athlete recovery: a review. *Phys Ther Sport.* 2004;5(1):26-32.
- 9 Ohkoshi Y, Ohkoshi M, Nagasaki S, Ono A, Hashimoto T, Yamane S. The effect of cryotherapy on intraarticular temperature and postoperative care after anterior cruciate ligament reconstruction. *Am J Sports Med.* 1999;27(3):357-62.
- 10 Andersen ML, D'Almeida V, Ko GM, Kawakami R, Martins PJF, Magalhaes LE, et al. Princípios éticos e práticos do uso de animais de experimentação. São Paulo: UNIFESP – Universidade Federal de São Paulo, 2004.
- 11 Carregaro AB, Castro MB, Martins FS. Estudo da ação inflamatória aguda do tiopental intraperitoneal em ratos. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2005;57(2):191-5.
- 12 Martins MA, Bastos LC, Tonussi CR. Formalin injection into knee joints of rats: pharmacologic characterization of a deep somatic nociceptive model. *J Pain.* 2006;7(2):100-7.
- 13 Tonussi CR, Ferreira SH. Rat knee-joint carrageenin incapacitation test: an objective screen for central and peripheral analgesics. *Pain.* 1992;48:421-7.
- 14 Bressan E, Cunha FQ, Tonussi CR. Contribution of TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and CINC-1 for articular incapacitation, edema and cell migration in a model of LPS-induced reactive arthritis. *Cytokine.* 2006;36:83-9.
- 15 Gould D, Yousaf N, Fatah R, Subang MC, Chernajovsky Y. Gene therapy with an improved doxycycline-regulated plasmid encoding a tumour necrosis factor-alpha inhibitor in experimental arthritis. *Arthritis Res Ther* 2007;9(1). Disponível em: <http://arthritis-research.com/content/9/1/R7>. Acesso em: 01 de junho de 2010.
- 16 Kim Y, Baek S, Shoi K, Lee S, Park S. The effect of cold air application on intra-articular and skin temperatures in the knee. *Yonsei Med J.* 2002;43(5):621-6.
- 17 Ernst E, Fialka V. Ice freezes pain? A review of the clinical effectiveness of analgesic cold therapy. *J Pain Symptom Manage.* 1994;9(1):56-9.
- 18 Werner MU, Lassen B, Pedersen JL, Kehlet H. Local cooling does not prevent hyperalgesia following burn injury in humans. *Pain.* 2002;98:297-303.
- 19 Sluka KA, Christy MR, Peterson WL, Rudd SL, Troy SM. Reduction of pain-related behaviors with either cold or heat treatment in an animal model of acute arthritis. *Arch Phys Med Rehabil.* 1997;80:313-7.
- 20 Deal DN, Tipton J, Rosencrance E, Curl WW, Smith TL. Ice reduces edema: a study of microvascular permeability in rats. *J Bone Joint Surg.* 2002;84:1573-8.
- 21 Enwemeka CS, Allen C, Avila P, Bina J, Konrade J, Munns S. Soft tissue thermodynamics before, during, and after cold pack therapy. *Med Sci Sports Exerc.* 2002;34(1):45-50.