

Efeito da laserterapia de baixa potência na inflamação pulmonar em *rattus norvegicus*

Effect of low level laser therapy on lung inflammation in rattus norvegicus

Geraldo Cardoso de Oliveira Júnior¹; Luanna Anielle Evangelista do Santo¹; Hochtávio Pereira de Sá¹; Hyezio de Moura Nunes¹; Wellington dos Santos Alves²; Kelsyanne de Castro Carvalho³

¹ Graduado em Fisioterapia – FSA, Teresina, PI – Brasil.

² Mestre em Bioengenharia – UNIVAP, São José dos Campos, SP, Professor – FSA, Teresina, PI e Professor – UESPI, Teresina, PI – Brasil.

³ Mestre em Engenharia Biomédica – UNIVAP, São José dos Campos, SP, Professora – FSA, Teresina, PI e Professora – CEUT, Teresina, PI – Brasil.

Endereço para correspondência

Geraldo Cardoso de Oliveira Júnior
Rua 08, Quadra 08, Casa 12, Conjunto Boa Vista
65636-760 – Timon – MA [Brasil]
geraldo_jr6@hotmail.com / luanaanielly@hotmail.com.

Resumo

Introdução. A doença pulmonar obstrutiva crônica é uma enfermidade respiratória caracterizada pela presença de obstrução crônica do fluxo aéreo e manifestação inflamatória. **Objetivo.** Verificar o efeito da laserterapia de baixa potência no tratamento da inflamação pulmonar. **Metodologia.** Utilizou-se 30 ratos, divididos em três grupos de dez animais: grupo controle (recebeu apenas ar ambiente); grupo DPOC e grupo DPOC+laser (expostos à fumaça de cigarro durante 45 dias, sendo o grupo DPOC+laser tratado durante 12 dias com laser 904nm). Para análise dos resultados foi realizada histopatologia. **Resultados.** O grupo controle apresentou espaços aéreos normais com distorção arquitetural periférica do pulmão, o grupo DPOC demonstrou um enfisema acentuado, áreas de atelectasias e destruição das paredes alveolares. O grupo tratado houve uma regressão de enfisema acentuado para discreto. **Conclusão.** Na análise realizada, a inflamação pulmonar induzida pelo cigarro pode ser comprovada e a laserterapia de baixa potência mostrou-se eficaz na atenuação da inflamação.

Descritores: Inflamação pulmonar; Histologia; Terapia a laser de baixa potência.

Abstract

Introduction. The chronic obstructive pulmonary disease is a respiratory disease characterized by chronic airflow obstruction and inflammatory manifestation. **Objective.** To investigate the effect of low level laser therapy in the treatment of pulmonary inflammation. **Methodology.** We used 30 rats divided into three groups of ten animals: control group (received only room air), group COPD and COPD + laser (exposed to cigarette smoke for 45 days with group COPD + laser treated for 12 days with 904nm laser). For data analysis was performed histopathology. **Results.** The control group had normal air spaces with architectural distortion of the peripheral lung, COPD group showed a marked emphysema, areas of atelectasis and destruction of alveolar walls in the treated group there was a regression from mild to severe emphysema. **Conclusion.** Through the analysis performed pulmonary inflammation induced by cigarette can be proved, and the low level laser therapy was effective in reducing inflammation.

Key words: Histology; Pulmonary inflammation; Therapy low power laser.

Introdução

O Consenso da Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia (SBPT), publicado em 2004, definiu a Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC) como uma enfermidade respiratória prevenível e tratável com manifestações sistêmicas e que se caracteriza pela presença de obstrução crônica do fluxo aéreo, que não é totalmente reversível, e associada a uma resposta inflamatória anormal à inalação de fumaça de cigarro e outras partículas e gases tóxicos. A DPOC é uma das principais causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo. Muitas pessoas sofrem dessa doença há vários anos e morrem prematuramente a partir dela ou de suas complicações¹.

Não se conhece a real prevalência da DPOC em nosso meio. Os dados de prevalência no Brasil, obtidos até o momento, são de questionários de sintomas, que permitem estimar a DPOC em adultos maiores de 40 anos em 12% da população, ou seja, 5.500.000 indivíduos².

Segundo a *American Thoracic Society*, os dados de morbidade incluem consultas médicas, visitas a setores de emergência e hospitalizações. Em função da DPOC, a morbidade aumenta com a idade, sendo maior nos homens do que nas mulheres. As taxas de admissão são altas para pacientes com nível socioeconômico baixo. A morbidade tende a aumentar no futuro, não somente pelas mudanças de hábito, mas também por conta do envelhecimento populacional³.

A DPOC também está associada aos efeitos sistêmicos, tais como a inflamação sistêmica e a disfunção muscular esquelética. A evidência de inflamação sistêmica inclui presença de estresse oxidativo sistêmico, concentrações anormais de citocinas circulantes e ativação das células inflamatórias. A evidência da disfunção muscular esquelética inclui a perda progressiva de massa muscular esquelética e a presença de várias anomalias bioenergéticas. Tais efeitos sistêmicos possuem consequências clínicas importantes, pois contribuem para a limitação da capacidade

física do paciente e, dessa forma, para o declínio da condição de saúde na DPOC⁴.

Todas as mudanças promovidas pela inflamação (aumento da produção de muco, contração da musculatura lisa das vias aéreas e destruição alveolar) levam à obstrução de vias aéreas, inadequação da relação ventilação-perfusão, hiperinsuflação pulmonar estática e dinâmica e são responsáveis pelo aparecimento de sintomas relacionados à manifestação clínica da enfermidade. As principais células inflamatórias envolvidas na fisiopatologia da DPOC são os neutrófilos, macrófagos e linfócitos CD8. Os mediadores inflamatórios mais envolvidos nesse processo são fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), leucotrieno B4 (LTB4) e interleucina 8 (IL-8). Esse aspecto fisiopatológico é muito importante na diferenciação do diagnóstico entre DPOC e asma, pois são representados por células e mediadores inflamatórios distintos⁵.

A ação anti-inflamatória do laser está associada à função de aceleração da microcirculação local, ocasionando alterações de pressão hidrostática capilar, promovendo a redução do edema e eliminação do acúmulo de catabólitos intermediários, aumenta ainda a mitose dos tecidos elevando a celularidade da região irradiada, caracterizando o efeito cicatricial sobre as lesões.

Os tratamentos propostos para a DPOC até hoje são baseados na redução da mortalidade, atenuação dos sintomas e ainda com objetivo de obter melhora funcional e na qualidade de vida. Alguns autores^{6,7,8,9} propõem o uso de antibióticos, broncodilatadores, corticoides, oxigenioterapia e reabilitação pulmonar. Necessita-se, portanto de uma terapia efetiva em favor da saúde de tantos pacientes com DPOC.

Tendo em vista o caráter inflamatório crônico que a DPOC apresenta e as propriedades anti-inflamatórias da laserterapia de baixa potência (LBP), vê-se a possibilidade, nesse trabalho, de promover a DPOC pela inalação de fumaça de cigarro e, posteriormente, fazer as análises histopatológicas e celulares no que diz respeito

a elementos que demonstrem a existência da DPOC, e a atuação da LBP, nesse mecanismo inflamatório, como uma alternativa terapêutica.

Metodologia

Aspectos éticos

Os animais foram manipulados segundo padrões estabelecidos pelos Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Vale do Paraíba – UNIVAP (Protocolo nº A013CEP/2009) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade Santo Agostinho (Protocolo nº 190/09).

Tipos de pesquisa

Estudo de caráter experimental, descritivo, e qualitativo.

Delimitação do universo

Grupos de ratos (*rattus norvegicus*, linhagem Wistar) machos (12 – 15 semanas, no início do experimento e 20 semanas no final; 250 – 300 g) adquiridos do Biotério Central da Faculdade Santo Agostinho – FSA (Teresina – PI). Os animais foram selecionados de forma aleatória; após quarentena (sete dias) foram mantidos em gaiolas e em um ciclo de 12 h claro/escuro com livre acesso a água e ração padrão.

Aparelhos

Utilizou-se laser semiconductor de baixa intensidade da marca BIOSET® modelo PHYSIOLUX DUAL, diodo arseneto de gálio (AsGa), com potência de 25W e comprimento de onda de 904 nanômetros irradiando uma área de 0.785 cm² cada ponto com densidade de energia de 7 J/cm².



Figura 1: Aparelho e caneta Laser

Grupos experimentais

Os ratos foram divididos em três grupos sendo cada grupo constituído por dez animais (n = 10), organizados da seguinte forma: grupo controle (ao final do experimento restaram apenas 8 animais); grupo DPOC; grupo DPOC + laser. No grupo controle, os animais foram expostos apenas às condições de ar ambiente; no grupo DPOC, à fumaça de cigarro por inalação; no grupo DPOC + laser, à fumaça de cigarro por inalação e tratados com laser após o estabelecimento da inflamação pulmonar.

Indução da inflamação

A indução da resposta inflamatória pulmonar se deu pela inalação de fumaça de cigarro comercial (13,0 mg de alcatrão, 1,10 mg de nicotina, 10 mg de monóxido de carbono), onde os animais foram fumantes passivos, inalando a fumaça de 14 (quatorze) cigarros por dia para cada dupla, 6 (seis) dias por semana, durante 45 dias, com intervalos de 15 (quinze) minutos entre um cigarro e outro. Em outros trabalhos, a inflamação pulmonar pode ser confirmada com 10, 20, 30, 60 dias e seis meses de inalação de fumaça de cigarro^{12, 13, 14}.

Os animais foram colocados em dupla em uma caixa de madeira, com dimensões estabelecidas por Valença; Porto¹⁵, com adaptações na câmara de inalação, que teve as seguintes medidas: 40 cm x 30 cm e 25 cm de altura, dotada de quatro orifícios na tampa, um em cada lateral de 30 cm, onde se acoplaram os cigarros, totalizando seis orifícios (Figura 4).

Protocolo de tratamento

Após os 45 dias de exposição à fumaça de cigarro, os ratos foram submetidos à LBP durante 12 dias. A aplicação se deu em três pontos na face frontal: um na região da carina e outros dois no centro de cada hemitórax (Figura 3), cada ponto totalizou um tempo de dois minutos e dezoito segundos (determinado pelo aparelho), uma vez ao dia. Antes da aplicação da LBP, foi realizada a tricotomia na região torácica (Figura 2).



Figura 2: Tricotomia da região torácica

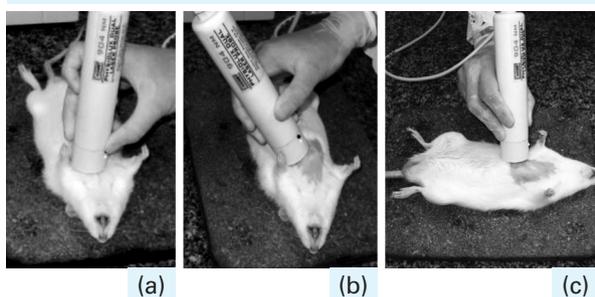


Figura 3: Pontos de aplicação da LBP (a) carina, (b) hemitórax esquerdo, (c) hemitórax direito

Eutanásia

Todos os animais foram sacrificados no mesmo dia, inclusive o grupo que iniciou o fumo com 15 dias de antecedência em relação ao grupo DPOC. O sacrifício foi realizado com hiperdosagem de anestésico (tiopental 300mg/Kg) e os pulmões foram retirados, para análise posterior.

Avaliação histológica

Para a avaliação histológica, reservou-se o pulmão direito dos cinco animais restantes de cada grupo que foram conservados em formol a 10 % para, então, serem realizados os cortes de parênquima pulmonar com espessura de 5µm e corados com hematoxilina e eosina (HE). Após a preparação das lâminas, foi realizada uma análise histopatológica qualitativa, visual com auxílio de microscópio óptico e baseado na concentração de células inflamatórias na região afetada, realizada por um patologista, classificando a inflamação pulmonar em três categorias: leve, moderada e intensa.

Resultados e discussão

A doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) é caracterizada como uma doença inflamatória das vias respiratórias, do parênquima e dos vasos pulmonares, lenta, progressiva e irreversível levando à obstrução do fluxo expiratório, secundária à bronquite crônica ou ao enfisema pulmonar¹⁶.

Para Rufino¹⁷, a inflamação está relacionada ao fumo e possui duas etapas: a inicial, que aconteceria no epitélio e na submucosa, com participação de neutrófilos e de macrófagos; e a tardia, com a participação adicional dos linfócitos.

Em relação a cortes histológicos do pulmão, o enfisema se refere à distensão e à confluência dos alvéolos, formando sacos aéreos maiores, que são ineficientes para trocas gasosas¹⁸.

Imagens da histologia (Figura 5) apresentam um padrão estrutural bem delimitado no grupo controle com preservação dos espaços aéreos. Lagente¹³ afirma que o enfisema provavelmente resulta quando a fumaça de cigarro causa um extenso e continuado recrutamento de células inflamatórias que liberam enzimas proteolíticas sobre a matriz extracelular. Em seu estudo encontrou um padrão histológico com espessamento de septo e espaços aéreos, redução

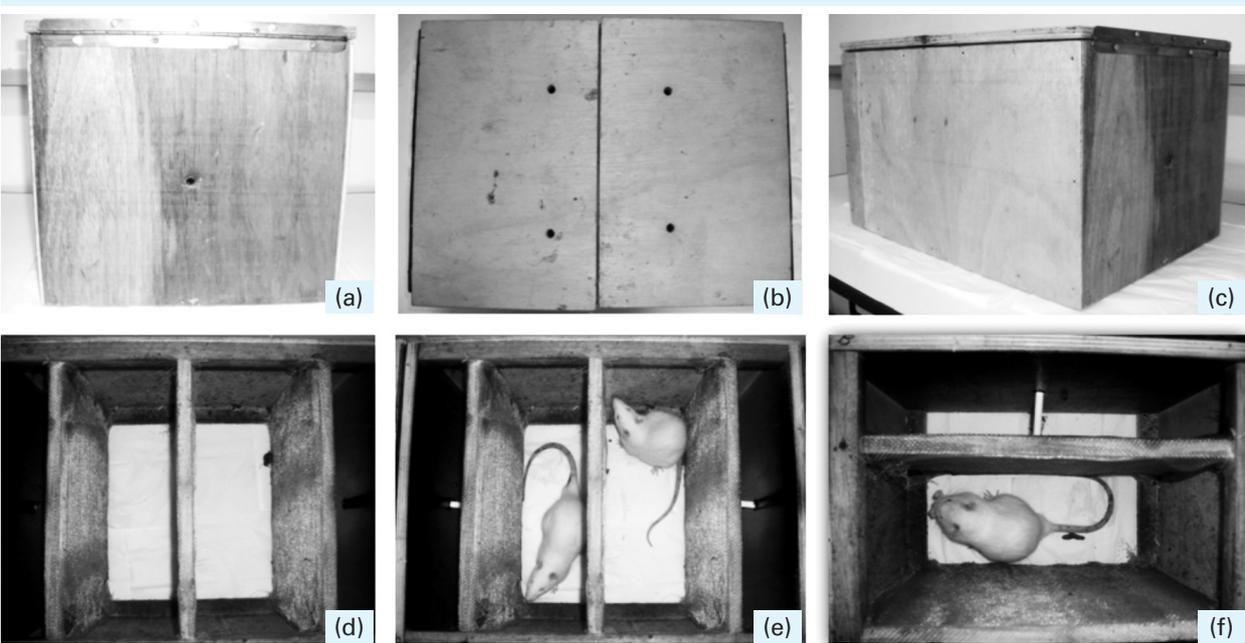


Figura 4: Câmara para inalação do cigarro

(a) vista lateral, (b) vista superior, (c) vista diagonal, (d) visão interna, (e) e (f) disposição dos animais nas divisórias

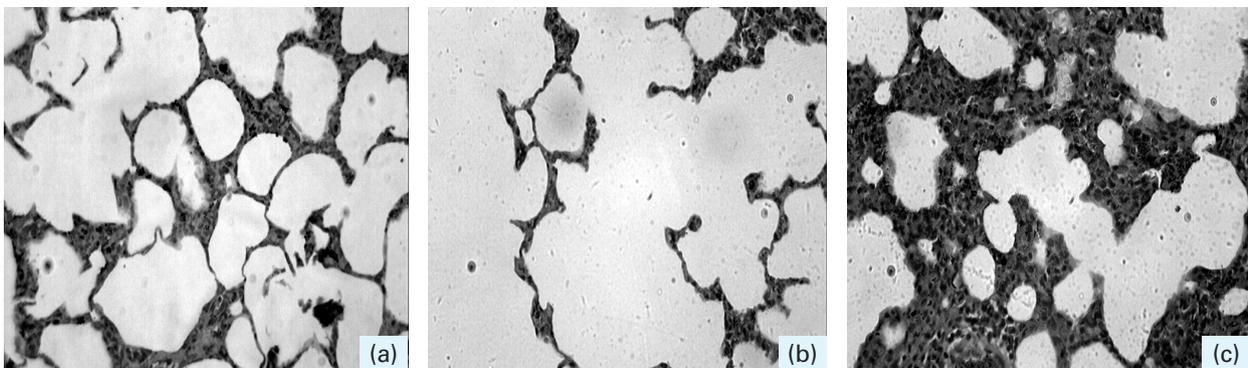


Figura 5: Lâminas com coloração do HE com aumento de 16x40

(a) grupo controle (espaços alveolares bem delimitados, sem espessamento e infiltrado septal); (b) grupo DPOC (aumento dos espaços alveolares com destruição evidente das paredes alveolares); (c) grupo laser 904nm (distorção arquitetural discreta com espessamento septal acentuado e presença de eosinófilos)

de fibras colágenas e elásticas em paralelo a um aumento de macrófagos alveolares.

Dados mostrados na Tabela 1 evidenciam a presença de distorção arquitetural periférica do pulmão e mononucleares no grupo controle, com características de enfisema discreto. Dados encontrados em um trabalho comparando a resposta inflamatória em ratos jovens (<3 meses) e idosos (>18 meses) sugerem que a questão da idade é um dos principais fatores que influenciam a suscetibilidade a estímulo

los inflamatórios do pulmão e dano tecidual subsequente¹⁹. Entretanto neste estudo os ratos são considerados jovens e não existem dados na literatura que expliquem a existência de enfisema discreto nesse grupo específico. Valença²⁰ encontrou em pulmões de controle a condição de espaços aéreos tamanho normal com septos finos onde ocasionais macrófagos alveolares foram observados.

Em nosso estudo, o grupo DPOC encontra-se com um enfisema acentuado associado

Tabela 1: Análise histopatológica dos grupos estudados

Achados Grupos	Distorção Arquitetural (Enfisema)	Espessamento septal	Infiltrado inflamatório septal	Células presentes	Outros
Controle					
Lobo superior	+ (P)	-	-	-	-
Lobo médio	+ (P)	-	-	-	-
Lobo inferior	+ (P)	+ (F)	+	Mn	-
DPOC					
Lobo superior	+++	+ (F)	+	Mn	-
Lobo médio	+++	-	++ (atelectasia)	Mn	Atelectasia
Lobo inferior	+++	+	+	Mn	-
Laser 904 NM					
Lobo superior	+	+++ (C)	++	Mn c/ eosinófilos	-
Lobo médio	+	+++ (C)	++	Mn c/ eosinófilos	-
Lobo inferior	+	+++ (C)	++	Mn c/ eosinófilos	-

Legenda: + (Discreto); ++ (Moderado); +++ (Acentuado); C (congestão); E (edema); Mn (mononucleares); P (periférico); F (focal).

a áreas de atelectasias em lobo médio, além de mononucleares. Nas imagens das lâminas histológicas, percebe-se uma destruição das paredes alveolares evidente, característica de enfisema pulmonar pela distorção arquitetural acentuada. Um estudo anterior²⁰ descreveu o enfisema também de acordo com um patologista pelo aumento anormal permanente dos espaços aéreos distais ao bronquíolo terminal, acompanhado de destruição dos septos alveolares.

Em seu estudo D'hulst¹⁴, também provocou o enfisema através da inalação da fumaça de cigarro e encontrou na histologia alargamento do espaço aéreo significativo. Fusco²¹, utilizando papaína encontrou aumento de espaços alveolares, com ruptura de septos alveolares, satisfazendo critérios morfológicos de reprodução do enfisema pulmonar.

O grupo que foi tratado com LBP não evidencia uma reestruturação completa e demonstra um aumento do espessamento septal e no infiltrado inflamatório em relação ao grupo exposto e não tratado. Entretanto encontra-se com melhor aspecto e com um enfisema discreto detectado pela patologista, o que demonstra uma regressão de enfisema acentuado (grupo DPOC) para discreto (grupo tratado com LBP). Um dado

curioso é a presença de mononucleares com frequentes eosinófilos. A evidência científica da participação dos eosinófilos na inflamação da DPOC é recente²².

Na DPOC, alguns trabalhos^{23,24} têm demonstrado sua presença nas exacerbações, bem como nas fases de estabilidade da doença, através de biópsias, lavado broncoalveolar e escarro. Ao contrário do proposto anteriormente pela literatura, vários trabalhos têm enfatizado a presença de eosinófilos na agudização da DPOC, confirmando esses dados, alguns autores²⁵ demonstraram, em bronquíticos crônicos, o aumento de quimiotáticos para eosinófilos: eotaxina, proteína quimiotática para monócito 4 (MCP4 – *monocyte chemoattractant protein*) e RANTES (*regulated on activation, normal T –cell expressed and secreted*). Tais achados sugerem similaridade entre a inflamação na asma brônquica e na exacerbação da bronquite crônica.

Vários autores^{26,27}, verificaram importantes efeitos anti-inflamatórios e analgésicos da terapia laser de baixa potência. A terapia com esse tipo de laser pode ser efetiva em mediar os sintomas do processo inflamatório, por meio da estabilização da membrana celular pela normalização das concentrações de

cálcio, sódio e potássio, contribuindo com a reparação celular; da vasodilatação, pelo aumento do transporte de oxigênio e nutrientes para as células danificadas, facilitando a remoção dos restos celulares; aceleração da atividade dos leucócitos; crescimento da síntese de prostaglandina, por conta da conversão das prostaglandinas PGG2 e PGH2 periósideos em prostaglandina PGI2 que possui ação vasodilatadora e anti-inflamatória; diminuição da interleucina I; aumento da resposta dos linfócitos, afetando benéficamente toda a resposta linfática; estímulo à angiogênese de capilares linfáticos e sanguíneos, por induzir o aumento de óxido nítrico e de fatores do crescimento que contribuem com esse processo, levando a um aumento na capacidade de aderência celular, e reparação tecidual²⁸.

Os achados de Naves²⁹ mostram que a LBP tem um efeito significativo sobre os neutrófilos reduzindo-os no LBA tanto 6 horas quanto 12 horas após a irradiação, corroborando com os nossos resultados.

Um estudo realizado em humanos com diagnóstico de asma brônquica evidenciou que a LBP influenciou positivamente no sistema imune desses pacientes, diminuindo a quantidade de linfócitos T supressores, de linfócitos B e diminuição da T helper / T supressor³⁰.

Conclusão

Entende-se a partir das análises realizadas que a inflamação pulmonar por inalação do cigarro pode ser comprovada e que a laserterapia de baixa potência atenuou o processo inflamatório agindo diretamente na cessação do processo inflamatório, porém não regredindo a destruição arquitetural do parênquima pulmonar. Portanto, nota-se a necessidade de novos estudos que possam corroborar com esses resultados, podendo futuramente fundamentar a utilização da LBP no tratamento de pacientes com DPOC.

Referências

1. Nascimento AO, Jardim J. Avaliação do diagnóstico e tratamento da DPOC na região metropolitana de São Paulo (SP) – Estudo PLATINO – Uma amostra de base populacional [Tese]. São Paulo: USP; 2006.
2. Lopez AD, Shibuya K, Rao C, Mathers CD, Hansell AL, Held LS, et al. Chronic obstructive pulmonary disease: current burden and future projections. *European Respiratory Journal*. 2006; 27:397–412
3. Weis LC, Arieta A, Souza J, Guirro RR. Utilização do laser de baixa potência nas clínicas de fisioterapia de Piracicaba, São Paulo. *Fisioterapia Brasil*. 2005;6:124-129.
4. Sauleda J, García-palmer FJ, González G, Palou A, Agustí AGN. The activity of cytochrome oxidase is increased in circulating lymphocytes of patients with chronic obstructive pulmonary disease, asthma, and chronic arthritis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;161:32–35.
5. Saetta M. Airway inflammation in chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. November, 1999; 5(160).
6. Anthonisen NR, Manfreda J, Warren CPW. Antibiotic therapy in acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Ann Intern Med*. 1987;106:196–204.
7. Rodrigues JR, Pereira, CAC. Resposta a broncodilatador na espirometria: que parâmetros e valores são clinicamente relevantes em doenças obstrutivas?. *J Pneumol*. 2000;27(1):35-47.
8. Niewoehner DE. The role of systemic corticosteroids in acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Respiratory Medicine*. June, 2002;26(348):2679-681.
9. Ferreira CAS. Efeito da oxigenoterapia e dos broncodilatadores no desempenho físico de pacientes com DPOC. [Tese]. São Paulo: USP; 2005.
10. Matera JM; Tatarunas AC; Oliveira SM. Uso do laser arseneto de gálio (904nm) após excisão artroplástica da cabeça do fêmur em cães. *Acta Cirúrgica Brasileira*. 2003;(2)18.
11. Ramey DW; Basford JR. Laser therapy in horses. *Comp Cont Educ*; 2000.
12. Dhami R. et al. Acute cigarette smoke-induced connective tissue breakdown is mediated by neutrophils and prevented by alpha1-antitrypsin. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 2000;22(2):244-52.



13. Lagente V. et al. Role of matrix metalloproteinases in the development of airway inflammation and remodeling. *Braz J Med Biol Res.*2005;38(10):1521-30.
14. D'hulst AI. et al. Time course of cigarette smoke-induced pulmonary inflammation in mice. *European Respiratory Journal.*2005;26:204-13.
15. Valença SS; Porto LC. Estudo imunohistoquímico do remodelamento pulmonar em camundongos expostos à fumaça de cigarro. *Jornal Brasileiro de Pneumologia.* out. 2008;34(10):787-95.
16. Global initiative for chronic obstructive lung disease, 2008. [Acesso em: 2 nov. 2009] Disponível em: <http://www.copd.com>.
17. Rufino R. et al. Perfil celular do escarro induzido e sangue periférico na doença pulmonar obstrutiva crônica. *Jornal Brasileiro de Pneumologia, São Paulo.*Sept./Oct., 2007;5(33).
18. Davis E, Rush BR. Equine recurrent airway obstruction: pathogenesis, diagnosis, and patient management. *Vet. Clin. N. Am.: Equine Pract.* 2002;(18):453-67.
19. Salvatore C. Aumento da inflamação pulmonar aguda em ratos velhos induzido por carragenina. *Jornal de Imunologia;*2005.
20. Valença SS. Emphysema and metalloelastase expression in mouse lung induced by cigarette smoke. *Toxicologic Pathology;*2004.
21. Fusco LB. Modelo experimental de enfisema pulmonar em ratos induzido por papaína. *Jornal de Pneumologia.* Jan.-fev., 2002;28(1):1-7.
22. Cosio MG, Guerassimov A. Chronic obstructive pulmonary disease: inflammation of small airways and lung parenchyma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.* Nov. 1999;160(5 Pt 2):S21-5.
23. Pizzichini E. Sputum eosinophilia predicts benefit from prednisone in smokers with chronic obstructive bronchitis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.* 1998;5(158).
24. Keatings VM, Barnes PJ. Granulocyte activation markers in induced sputum: comparison between chronic obstructive pulmonary disease, asthma, and normal subjects. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.* 1997;2(155).
25. Zhu J. Exacerbations of bronchitis: bronchial eosinophilia and gene expression for interleukin-4, interleukin-5, and eosinophil chemoattractants. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.*2001;164(1):109-16.
26. Guerino MR. Laser treatment of experimentally induced chronic arthritis. *Applied Surface Science;*2000.
27. Jimbo K. Suppressive effects of low-power laser irradiation on bradykinin evoked action potentials in cultured murine dorsal root ganglion cells. *Neuroscience Letters* jan., 1998;2(240):93-6.
28. Costardi CHZ. Efeito do laser de baixa intensidade (670nm) após contusão muscular em ratos. *Fisioterapia em Movimento.* Abr./jun.,2008;2(21).
29. Naves KT. Estudo da ação da terapia com laser de baixa potência (TLBP) em um modelo de inflamação pulmonar aguda induzida por LPS. [Dissertação]. São Paulo: Universidade do Vale do Paraíba;2008.
30. Mikhailov VA. Immunomodulating effect of low-energy laser radiation in therapy of bronchial asthma. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult.*Jul-ago.,1998;(4):23-5.