

# Estudo piloto em neonatos utilizando o laser de baixa intensidade no pós-operatório imediato de mielomeningocele

## Pilot study in neonates using low-level laser therapy in the immediate postoperative period of myelomeningocele

Nathali Cordeiro Pinto<sup>1</sup>, Fernando Campos Gomes Pinto<sup>2</sup>, Eduardo Joaquim Lopes Alho<sup>3</sup>, Elisabeth Matheus Yoshimura<sup>4</sup>, Vera Lucia Jornada Krebs<sup>5</sup>, Manoel Jacobsen Teixeira<sup>6</sup>, Maria Cristina Chavantes<sup>7</sup>

### RESUMO

**Objetivo:** Analisar o comportamento da reparação tecidual de incisão cirúrgica corretiva em neonatos submetidos ao laser de baixa intensidade, auxiliando a redução de incidência de deiscência pós-operatória de correção cirúrgica de mielomeningocele realizada imediatamente após o nascimento. **Métodos:** Estudo piloto, prospectivo, com 13 pacientes operados ao nascimento de mielomeningocele e submetidos ao laser de baixa intensidade como adjuvante. Foi aplicado, ao longo da incisão cirúrgica, o laser de diodo C.W.,  $\lambda = 685 \text{ nm}$ ,  $p = 21 \text{ mW}$ , com  $E = 0,19 \text{ J}$  por ponto, totalizando valores de energia entregue por paciente entre 4 e 10 J, de acordo com a área da cicatriz cirúrgica, e comparando com os resultados obtidos previamente de 23 pacientes operados sem a terapia com o laser (Grupo B). **Resultados:** Este estudo revelou significativa redução de deiscências no pós-operatório de neonatos, quando submetidos ao laser de baixa intensidade comparados ao controle (7,69 *versus* 17,39%, respectivamente), evidenciando ser um método de tratamento eficaz, seguro e não-invasivo. **Conclusão:** Esta nova proposta terapêutica adjuvante com o laser de baixa intensidade auxiliou na reparação tecidual da ferida operatória, evitando morbidades, além de diminuir o tempo de internação, sinalizando possível redução de custos tanto para os pacientes quanto para a instituição.

**Descritores:** Recém-nascido; Doenças congênitas, hereditárias e neonatais e anormalidades/cirurgia; Terapia a laser de baixa intensidade; Deiscência da ferida operatória/prevenção e controle; Meningomielocele/cirurgia; Regeneração tecidual guiada/métodos; Complicações pós-operatórias

### ABSTRACT

**Objective:** To analyze the tissue repair behavior after corrective surgical incision in neonates submitted to low-level laser therapy, in an attempt to diminish the incidence of postoperative dehiscence following the surgery for myelomeningocele performed immediately after birth. **Methods:** It is a prospective pilot study with 13 myelomeningocele patients submitted to surgery at birth who received adjuvant treatment with low-level laser therapy (Group A). Diode laser C.W.,  $\lambda = 685 \text{ nm}$ ,  $p = 21 \text{ mW}$ ,  $E = 0.19 \text{ J}$  was punctually applied along the surgical incision, summing up 4 to 10 J energy delivered per patient, according to the surgical wound area and, then, compared with the previous results, which were obtained from 23 patients undergoing surgery without laser therapy (Group B). **Results:** This pilot study showed a significant decline in dehiscence of surgical wounds in neonates submitted to low-level laser therapy as compared to controls (7.69 *versus* 17.39%, respectively), demonstrating this is an effective, safe and noninvasive treatment method. **Conclusion:** This new adjuvant therapeutic proposal with low-level laser therapy aided healing of surgical wounds, preventing morbidities, as well as decreasing hospital stay, which implies cost of reduction for patients and for the institution.

**Keywords:** Infant, newborn; Congenital, hereditary, and neonatal diseases and abnormalities/surgery; Laser therapy, low-level; Surgical wound dehiscence/ prevention & control; Meningomyelocele/surgery; Guided tissue regeneration/methods; Postoperative complications

Trabalho realizado na Unidade Neonatal e no Departamento de Neurocirurgia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – USP, São Paulo (SP), Brasil.

<sup>1</sup> Pós-graduanda (Doutorado) do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - USP (SP), São Paulo, Brasil.

<sup>2</sup> Doutor, Neurocirurgião do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - USP São Paulo (SP), Brasil.

<sup>3</sup> Doutorando pela Universidade de Würzburg - Alemanha.

<sup>4</sup> Professora-associada do Departamento de Física Nuclear do Instituto de Física da Universidade de São Paulo - USP São Paulo (SP), Brasil.

<sup>5</sup> Livre-docente, Médica do Setor da Unidade de Cuidados Intensivos Neonatais do Instituto da Criança do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo (SP), Brasil.

<sup>6</sup> Livre-docente, Professor titular da Disciplina de Neurocirurgia do Departamento de Neurologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - USP, São Paulo (SP), Brasil.

<sup>7</sup> Professora, Diretora da Central Médica de Laser do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo (SP), Brasil.

Autor correspondente: Nathali Cordeiro Pinto – Rua Dr. Eneas de Carvalho Aguiar – Cerqueira Cesar – CEP 05403-900 – São Paulo (SP), Brasil – Tel.: 11 3069-5233 – e-mail: nathallicordeiro@hotmail.com

Data de submissão: 31/07/2009 – Data de aceite: 11/12/2009

## INTRODUÇÃO

A mielomeningocele (MMC) é a forma mais prevalente de malformação do tubo neural, situação em que ocorre o fechamento incompleto do tubo neural embrionário. É uma das mais incapacitantes malformações congênitas, respondendo por 75% dos casos com maior incidência na região lombar e/ou sacral<sup>(1)</sup>. Na Unidade de Cuidados Intensivos Neonatais (UCIN) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC/FMUSP), no período de junho de 2005 a dezembro de 2006 (18 meses), foram admitidos 3.072 recém-nascidos vivos, cuja incidência de doenças congênitas neurocirúrgicas foi de 1,14%, representando 0,36% de MMC e totalizando 11 casos, sendo tratados logo após o nascimento com cirurgia.

Muitas considerações têm sido feitas em relação ao melhor momento para a reparação cirúrgica objetivando diminuir as complicações, acima de tudo as deiscências, fístulas e infecções. No presente serviço, o “tempo zero” cirúrgico (imediatamente ao nascimento) mostrou a menor taxa de deiscência, 13% comparado a 29%, quando o procedimento era realizado até 48 horas após o nascimento<sup>(2)</sup>. Apesar destes bons resultados, a taxa de deiscência pós-operatória ainda se encontra elevada, principalmente quando suas terríveis consequências são levadas em consideração (fístula liquórica, meningite etc).

No estudo de Filgueiras e Dytz<sup>(1)</sup>, entre as complicações pós-cirúrgicas ocorridas, a fístula liquórica foi a mais prevalente, com 50 casos (16,5%), seguida da deiscência de ferida, com 30 casos (9,9%), e da infecção da lesão cirúrgica, com 23 casos (7,6%). Ventriculite, septicemia e escoliose responderam por 38 casos (12,5%).

A terapia com laser de baixa intensidade (LBI) começou a ser empregada no Instituto do Coração (InCor) há alguns anos para auxiliar o processo de cicatrização de feridas cardíacas e evidenciou, concomitantemente, ter resposta anti-inflamatória e analgésica eficientes. Diversos estudos empregando este método vêm sinalizando a eficácia do LBI na reparação tecidual imediatamente após cirurgias cardiovasculares, como também após cirurgias ortopédicas<sup>(3)</sup>. A laserterapia é capaz de prevenir a formação de deiscências pós-cirúrgicas e leva à recuperação funcional mais rápida, reduzindo o tempo de internação hospitalar<sup>(4-9)</sup>. Seu uso preventivo é não-invasivo, indolor e seguro; além disso, é um método de fácil aplicação sem necessidade de se tocar na lesão, podendo ser realizado no próprio berçário.

A literatura tem mostrado bons resultados em pesquisas *in vitro* e *in vivo* com o uso do LBI. Nas últimas décadas, sua utilização vem crescendo por meio de estudos sobre os efeitos dessa irradiação na função biológica e as dúvidas vêm sendo esclarecidas,

favorecendo a analgesia e a cicatrização tanto em animais quanto em humanos<sup>(10,11)</sup>. A literatura evidencia três possíveis níveis de interações, nos quais vários aspectos da fototerapia podem ser considerados: molecular, celular e orgânico. Karu<sup>(12)</sup> descreveu que o LBI é responsável por efeitos fotofísicos, fotoquímicos e/ou fotobiológicos nas células e nos tecidos-alvo.

Sabe-se hoje que, essa modalidade terapêutica, auxilia na resolução do processo inflamatório com resolução da reparação tissular da ferida cirúrgica pela fotobiomodulação dos tecidos operados<sup>(13)</sup>. Em estudos anteriores também foram evidenciados tais benefícios em pacientes cirúrgicos de várias faixas etárias tratados dessa mesma maneira<sup>(4-9)</sup>. A interação da radiação eletromagnética ocorre, principalmente, num meio onde há um estado redox instável (típico em situações de estresse fisiológico), estimulando determinadas moléculas fotoceptoras existentes tanto na membrana celular quanto na crista interna da membrana mitocondrial, sendo capaz de auxiliar o tecido lesionado na busca da homeostase tecidual.

Na literatura, são raros os trabalhos utilizando o LBI em crianças e neonatos. Nos estudos de Ailioaie<sup>(14-15)</sup> foram avaliadas e tratadas crianças com melhora excepcional após a laserterapia. Não obstante, não foram encontrados outros relatos na literatura, sobretudo no uso preventivo do LBI em feridas pós-cirúrgicas de neonatos.

## OBJETIVO

O presente trabalho tem como objetivo avaliar o comportamento da cicatrização de mielomeningocele operada e submetida, preventivamente, à terapia local com LBI no período pós-operatório imediato, na tentativa de reduzir complicações, vindo a auxiliar na reparação tecidual, bem como no arrefecimento de incidência de deiscência pós-operatória em neonatos.

## MÉTODOS

Este projeto foi analisado e aprovado (Protocolo Pesquisa # 0576/09) pelo Comitê de Ética do HC/FMUSP. Os pais de todos os pacientes portadores de MMC deste estudo leram e assinaram o termo de consentimento informado da instituição.

O estudo foi conduzido na Unidade Neonatal do HC/FMUSP, em conjunto com o Departamento de Neurocirurgia da HC/FMUSP e com o Serviço da Central Médica de Laser InCor do HC/FMUSP. Todas as lesões congênitas foram diagnosticadas no período pré-natal e foram tratadas de acordo com o protocolo “tempo zero”, com correção cirúrgica imediata da MMC ao nascimento.

Foram estudados, prospectivamente, 13 pacientes operados de MMC imediatamente ao nascimento e submetidos à terapia adjuvante de forma preventiva no pós-operatório imediato (POI) com o LBI. Foram avaliados dois grupos, sendo que o Grupo A constituía-se de pacientes tratados no período de julho de 2007 a abril de 2008 com laser de Diodo CW (DMC, Brasil), com os seguintes parâmetros:  $\lambda = 685 \text{ nm}$ , 21 mW de potência, aplicado ao redor da incisão a cada 2 cm, totalizando 0,19 J de energia entregue por ponto.

Neste estudo, a incidência de fístula incisional, deiscência da ferida operatória e infecção (meningite/ventriculite) pós-operatórias, foi comparada com os dados retrospectivos de 23 pacientes portadores de MMC, também operados imediatamente ao nascimento, pela mesma equipe médica, nas mesmas instalações, durante o período de junho de 2004 até dezembro de 2006, sem a aplicação da terapia adjuvante com laser, constituindo-se o Grupo B.

## RESULTADOS

As características epidemiológicas e os dados cirúrgicos observados denotaram similaridade e homogeneidade entre os grupos (Tabelas 1 e 2). Na grande maioria dos casos (46,1%), uma única sessão de iluminação foi necessária (Figuras 1a e 2b). Não obstante, ao serem evidenciadas possíveis deiscências na ferida cirúrgica, foram administradas novas doses, conforme evidenciado na Tabela 3.

**Tabela 1.** Dados epidemiológicos de ambos os grupos

Características da população	Grupo A (LBI)	Grupo B
Número de pacientes	13	23
Masculino	6	11
Feminino	7	12
Peso ao nascimento (média, g)	2.889	2.944
Idade da mãe (média, anos)	24,8	23,2
Diagnóstico pré-natal	13 (100%)	23 (100%)
Hidrocefalia	6 (46%)	15 (65%)

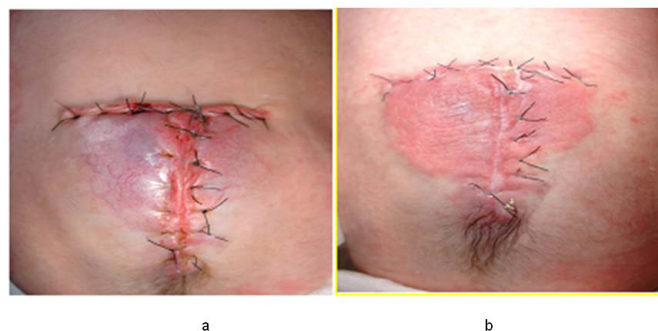
\* LBI: laser de baixa intensidade.

**Tabela 2.** Dados cirúrgicos

Características do defeito	Grupo A (LBI)	Grupo B
Dimensão do defeito (cm <sup>2</sup> )		
Média	16,4	16,9
Máximo	36,8	80
Mínimo	10,0	2,25
Localização do defeito		
Toracolombar	1	5
Lombossacral	12	18
Ruptura pré-operatória	6 (60%)	9 (39%)
Procedimento cirúrgico		
Fechamento direto	12	21
Retalho cutâneo	1	2

\* LBI: laser de baixa intensidade.

Foi realizado um *follow-up* da evolução da ferida cirúrgica durante um período de 6 a 12 meses, sendo possível observar uma extensa área de lesão tratada imediatamente após a cirurgia com o LBI (Figura 2a) e após um ano (Figura 2b).



**Figura 1.** Pós-operatório imediato (a) e 11º pós-operatório, após uma aplicação do laser de baixa intensidade (b)



**Figura 2.** Neonato no segundo pós-operatório após uma única aplicação do laser de baixa intensidade durante o pós-operatório imediato (a) e follow-up de 12 meses após a cirurgia de mielomeningocele (b)

**Tabela 3.** Quantidade de aplicações do laser de baixa intensidade após procedimento neurocirúrgico

Número de pacientes (%)	Total de aplicações do LBI
6 (46,1)	1
5 (38,5)	2
2 (15,4)	3

LBI: laser de baixa intensidade.

Dentre as complicações identificadas até 30 dias após a cirurgia, os pacientes do Grupo A, que foram submetidos à terapia preventiva com LBI, revelaram duas vezes menos deiscências do que quando comparado ao Grupo B (7,69 *versus* 17,39%, respectivamente). Ademais, no Grupo B identificou-se um paciente que veio a desenvolver deiscência e necessitou de reoperação, conforme identificado na Tabela 4.

**Tabela 4.** Complicações pós-operatórias

Complicações	Grupo A (LBI)	Grupo B
Número de deiscências	1/13 (7,6%)	4/23 (17,4%)
Deiscências mínimas	1	3
Deiscências maiores com necessidade de reoperação	0	1
Fístula líquórica	1/13 (7,6%)	3/23 (13%)
Infecção cirúrgica/meningite	1/13 (7,6%)	2/23 (8,7%)

LBI: laser de baixa intensidade.

## DISCUSSÃO

Os defeitos do tubo neural apresentam causas multifatoriais, estando presentes fatores genéticos e ambientais, com maior incidência em classes sociais desfavorecidas. No levantamento realizado, de janeiro de 2000 a agosto de 2001, pelo Estudo Colaborativo Latino-Americano de Malformações Congênitas (ECLAMC), encontrou-se uma prevalência média de 2,4/1.000 nascimentos nos cinco países da América Latina<sup>(16)</sup>. O Brasil denotou a maior taxa (3,3 por mil), seguido da Argentina (2,6 por mil) e do Uruguai (1,7 por mil)<sup>(16)</sup>. Para Filgueiras e Dytz<sup>(1)</sup>, a MMC foi o defeito mais prevalente (91%), localizado principalmente na região lombossacral, dado também identificado em um estudo prévio (Grupo B).

A taxa de deiscência encontrada nas MMC operadas nos últimos anos no Berçário de Alta Complexidade do HC/FMUSP, apesar de reduzida, representa ainda uma porcentagem alta com risco de fístula liquórica e meningite. A morbimortalidade e o prognóstico funcional destes pacientes têm relação direta com as complicações infecciosas; portanto, técnicas adicionais para incrementar os resultados cirúrgicos são sempre bem-vindas.

A deiscência de sutura no reparo cirúrgico do defeito espinhal pode significar infecção local e tensão nos pontos. Pang<sup>(17)</sup> considerou que lesões extensas são fatores predisponentes para deiscência, infecção e fístula liquórica. Neste trabalho, foi encontrada média no tamanho das incisões cirúrgicas semelhantes entre os grupos (Tabela 2), sendo que o tamanho máximo de incisão foi de 36,8 cm<sup>2</sup> e o mínimo de 10 cm<sup>2</sup> no grupo tratado com laser, no qual se denotou menor morbidade.

No estudo de Braga<sup>(18)</sup>, sobre recém-nascidos que apresentaram extensa lesão espinhal (maior que 5 cm), 47% evoluíram com deiscência de sutura do reparo cirúrgico, 35% com fístula liquórica, 24% com infecção no sistema nervoso central (SNC) e 6% com infecção local. Diferentemente, no presente estudo, 7,69% dos neonatos que fizeram uso do LBI evoluíram com deiscência. Entretanto, um percentual bem mais elevado (17,39%) dos neonatos que não se beneficiaram dessa terapia adjuvante desenvolveu deiscências, sendo que em um dos casos houve necessidade de reoperar a lesão deiscente.

*In vitro*, o LBI tem evidenciado modulação da atividade de uma variedade de células envolvidas no processo de reparação tissular, incluindo macrófagos, fibroblastos, queratinócitos, células gigantes, linfócitos e células endoteliais<sup>(19)</sup>.

Em estudo realizado por Pugliese et al.<sup>(10)</sup>, o LBI contribuiu para uma intensa redução do edema do infiltrado inflamatório, bem como com incremento da vascularização, além de maior produção de fibras

colágenas e elásticas durante o processo cicatricial em animais. Segundo Bjordal et al., o LBI incrementa a angiogênese por meio do aumento na secreção do fator de crescimento e formação de vasos colaterais na região lesada em vários estudos de células e animais, durante os sete primeiros dias após a lesão<sup>(20)</sup>. Neste estudo piloto, foram encontrados dados de redução de morbidade dos infantes, após a aplicação do laser nas primeiras horas do pós-operatório imediato, possivelmente este foi o responsável por promover também uma resposta eficiente dentre o Grupo A.

As complicações locais, como infecção e deiscência de sutura cirúrgica e a fístula liquórica, podem adiar o momento da alta hospitalar. Estas excrescências também atuam como porta de entrada para infecção sistêmica e, particularmente, do SNC, além de elevar o tempo de espera para a realização de derivação ventricular<sup>(18)</sup>. No presente trabalho, observou-se que o LBI atuou como agente biomodulador nas feridas cirúrgicas, sendo capaz de reduzir as complicações, quando comparado com o grupo não-tratado com laser, auxiliando na cicatrização precoce da incisão cirúrgica em neonatos, corroborando os resultados encontrados por Bjordal et al.<sup>(13,20)</sup>.

Neste trabalho constatamos que a taxa total de deiscência da ferida operatória foi menor no grupo que recebeu a laserterapia (Grupo A) do que comparado ao Grupo B, que recebeu apenas o tratamento convencional de rotina na Unidade Neonatal. A laserterapia denota ser uma nova possibilidade terapêutica eficaz, incorrendo numa melhora dos resultados no pós-operatório, principalmente, na prevenção de deiscências ou de suas recorrências, buscando respostas terapêuticas seguras e não-invasivas. Neste estudo pioneiro, foi proposta a utilização do LBI para incrementar a reparação tissular na incisão cirúrgica pós-correção de MMC, sendo que estes resultados sinalizam uma menor taxa de deiscência cirúrgica. Nessa afecção, especificamente, a resposta adequada de cicatrização protege a criança do risco de infecção no SNC, o que poderia causar sequelas e atraso no desenvolvimento neuropsicomotor destes neonatos.

Estudos futuros que conduzam a valores ideais de dose poderão provavelmente contribuir com um prognóstico ainda melhor para esses pacientes. O seguimento dos pacientes deste estudo se faz necessário, já que, possivelmente, o LBI poderá ainda trazer um benefício adicional de longo prazo, que seria a diminuição da taxa de medula ancorada, evitando-se, assim, novas intervenções cirúrgicas no futuro.

## CONCLUSÃO

A análise deste estudo em neonatos sinaliza a redução da incidência de deiscência de ferida cirúrgica de



mielomeningocele com a administração do laser de baixa intensidade, preventivamente.

O laser revelou ser uma ferramenta adjuvante eficaz na cicatrização da ferida operatória, denotando ser um método seguro e não-invasivo, podendo vir a reduzir o tempo de hospitalização, bem como o ônus tanto para os pacientes quanto para a Instituição envolvida (*cost-effectiveness*).

## REFERÊNCIAS

1. Filgueiras MG, Dytz JL. Avaliação do perfil de recém-nascidos portadores de defeitos do tubo neural. *Brasília Med.* 2006;43(1/4):17-24.
2. Pinto FCG, Alho E, Matushita H, Plese JPP. Tratamento cirúrgico imediato após o nascimento em pacientes portadores de mielomeningocele [abstract]. [Apresentado no 7º Congresso da Sociedade Brasileira de Neurocirurgia Pediátrica; 2007 Maio; Curitiba. PR, Brasil].
3. Chavantes MC. Laser em Problemas Cardio-respiratórios. In: Chavantes MC, editor. *Laser em Bio-Medicina*. São Paulo: Atheneu; 2009. p. 149-81.
4. Kajita GT. Efeitos do laser de baixa potência no membro pós-safenectomia em diabéticos submetidos à revascularização miocárdica [Mestrado]. São José dos Campos (SP): Universidade do Vale do Paraíba; 2002.
5. Shoji N. Estudo sobre o efeito do laser de baixa potência em deiscência da safenectomia pós-revascularização miocárdica [Mestrado]. São José dos Campos (SP): Universidade do Vale do Paraíba; 2003.
6. Luiz MCRA. Análise do efeito do laser de baixa potência no processo de reabilitação pós-reconstrução do ligamento cruzado anterior [Mestrado]. São José dos Campos (SP): Universidade do Vale do Paraíba; 2004.
7. Baptista IMC, Chavantes MC, Oliveira SA. O Laser de Baixa Potência pode prevenir deiscência incisional em esternotomia pós-cirurgia cardíaca? *Rev Soc Bras Lase.* 2006;3(13):10-6.
8. Pinto NC, Pereira MHC, Stolf NAG, Chavantes MC. Laser de baixa intensidade em deiscência aguda de safenectomia pós-revascularização miocárdica: proposta terapêutica. *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 2009;24(1):88-91.
9. Pinto NC, Chavantes MC, Stolf NAG. Prevent complications in cardiovascular surgery: a successful method applying low level laser therapy [abstract]. [Presented at 28<sup>th</sup> American Society for Laser Medicine and Surgery (ASLMS) Annual Conference; 2008 Apr 2-6; Kissimmee, Florida, USA].
10. Pugliese LS, Medrado AP, Reis SRA, Andrade ZA. The influence of low-level laser therapy on biomodulation of collagen and elastic fibers. *Pesqui Odontol Bras.* 2003;17(4):307-13.
11. Damante CA, Greggi SLA, Santana ACP, Passanezi E. Clinical evaluation of the effects of low-intensity laser (GaAIAS) on wound healing after gengivoplasty in humans. *J Appl Oral Sci.* 2004;12(2):133-6.
12. Karu T. Primary and secondary mechanisms of action of visible to near-IR radiation on cells. *J Photochem Photobiol B.* 1999;49(1):1-17.
13. Lopes-Martins RAB, Labat RL, Ramos L, Pallota RC, Penna SC, Bjordal JM. Novos paradigmas no processo inflamatório: possíveis mecanismos de ação da laserterapia de baixa intensidade e considerações sobre dosimetria. *J Bras Laser.* 2007;1(1):12-9.
14. Ailioaie C, Ailioaie L, Topoliceanu F. Self-organizing phenomena at membrane level and low-level laser therapy of rhinitis. In: Longo L, Hofstetter AG, Pasqu ML, Waidelich WR, editors. *Laser Florence 99: A Window on the Laser Medicine World*. Bellingham: SPIE; 2000. v. 4166, p. 309-15. [Proceedings SPIE].
15. Ailioaie C, Ailioaie LM, Chiran DA. Laser regeneration of nerve injuries triggered by low level laser therapy in children. OP1-05. [Abstract]. [Presented at 4<sup>th</sup> International Congress of World Association of Laser Therapy; 2002 June 27-30; Tokyo, Japan].
16. Castilla EE, Orioli IM, Lopez-Camelo JS, Dutra Mda G, Nazer-Herrera J; Latin American Collaborative Study of Congenital Malformations (ECLAMC). Preliminary data on changes in neural tube defect prevalence rates after folic acid fortification in South America. *Am J Med Genet A.* 2003;123A(2):123-8.
17. Pang D. Surgical complications of open spinal dysraphism. *Neurosurg Clin N Am.* 1995;6(2):243-57.
18. Braga MA. Resultado neonatal na espinha bífida de acordo com marcadores do ultra-som obstétrico. [Dissertação de mestrado]. Botucatu: Universidade Estadual Paulista; 2002.
19. Agaiby AD, Ghali LR, Wilson R, Dyson M. Laser modulation of angiogenic factor production by T-lymphocytes. *Lasers Surg Med.* 2000;26(4):357-63.
20. Bjordal JM, Johnson MI, Iversen V, Aimbire F, Lopes-Martins RAB. Low-level laser therapy in acute pain: a systematic review of possible mechanisms of action and clinical effects in randomized placebo-controlled trials. *Photomed Laser Surg.* 2006;24(2):158-68.