

JOSÉ ALFREDO LACERDA DE JESUS

CONDUTÂNCIA DA PELE COMO INDICADOR DE DOR AGUDA NO RECÉM-
NASCIDO: ESTUDO COMPARATIVO COM FREQUÊNCIA CARDÍACA,
SATURAÇÃO DE OXIGÊNIO E ESCALAS COMPORTAMENTAIS DE DOR

BRASÍLIA, 2011

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

JOSÉ ALFREDO LACERDA DE JESUS

CONDUTÂNCIA DA PELE COMO INDICADOR DE DOR AGUDA NO RECÉM-
NASCIDO: ESTUDO COMPARATIVO COM FREQUÊNCIA CARDÍACA,
SATURAÇÃO DE OXIGÊNIO E ESCALAS COMPORTAMENTAIS DE DOR

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção do
Título de Doutor em Ciências Médicas pelo Programa de Pós-
Graduação em Ciências Médicas da Universidade de Brasília.

Orientador: Dioclécio Campos Júnior
Co-orientadora: Rosana Maria Tristão

BRASÍLIA
2011

JOSÉ ALFREDO LACERDA DE JESUS

CONDUTÂNCIA DA PELE COMO INDICADOR DE DOR AGUDA NO RECÉM-
NASCIDO: ESTUDO COMPARATIVO COM FREQUÊNCIA CARDÍACA,
SATURAÇÃO DE OXIGÊNIO E ESCALAS COMPORTAMENTAIS DE DOR

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção do
Título de Doutor em Ciências Médicas pelo Programa de Pós-
Graduação em Ciências Médicas da Universidade de Brasília.

Aprovada em 22 de agosto de 2011

BANCA EXAMINADORA

Dioclécio Campos Júnior – (presidente)

Álvaro Jorge Madeiro Leite

Dênio Lima

João da Costa Pimentel Filho

Karina Nascimento Costa

Vera Lúcia Vilar de Araújo Bezerra

“Dedico este trabalho a todos os recém-nascidos que não tiveram a oportunidade de uma assistência digna, que lhes permitissem sobreviver ao nascimento”.

À minha sobrinha Ivna Helena, que apesar dessa digna assistência, sucumbiu aos desígnios de Deus e de seu coraçãozinho frágil.

À minha sobrinha Ana Carolina, que tão precoce partida aquebrantou nossos corações, principalmente o do Alci.

Ao meu irmão Adail, que apesar de estristecer seu Jesus, Dona Teresinha e os demais irmãos com sua desencarnação, certamente está alegrando os Céus.

Ao Salvador, que desse mundo partiu na esperança da vida eterna.

AGRADECIMENTOS

Primeiro a Deus, por tudo de bom que me permitiu alcançar e de ruim ultrapassar.

Aos mestres, Dioclécio Campos Júnior e Rosana Maria Tristão, sempre instigantes a respeito do ensinar e aprender.

À banca avaliadora, professores Álvaro, Dênio, João, Karina e Vera, pela disponibilidade e colaboração crítica a este trabalho.

Aos meus pais, sempre espiritualmente presentes, mesmo que fisicamente distantes, pelos exemplos de amor, dedicação aos filhos, sentimento de justiça, humildade e respeito às pessoas, e principalmente por suas vidas.

Aos irmãos, os presentes aqui na terra, e o presente lá no céu, pelo companheirismo e fraternidade.

À Cida, minha esposa querida, e aos meus filhos amados, Fernando e Déborah, razões de ser da minha vida e desse esforço.

Aos demais parentes, sogra, cunhadas e sobrinhos, pelo apoio e presença.

Aos meus amigos e colegas da Área da Medicina da Criança e do Adolescente e da Unidade Neonatal do HUB, pelo apoio e incentivo.

Aos meus alunos, pelos ensinamentos diários. Agradeço especialmente ao Marcos, à Naiara e à Mariana, pela ajuda nas escalas de avaliação de dor.

A todo o pessoal de enfermagem da Unidade Neonatal do HUB, sem o qual essa tese não teria sido desenvolvida.

Ao coordenador da Pós-Graduação em Ciências Médicas da FM-UnB, professor Leopoldo Neto, pela aceitação e apoio à minha proposta de estudo.

A todos os amigos que não puderam comparecer nesta vitória.

Principalmente, às mães e recém-nascidos, cujas disponibilidades permitiram-me chegar ao termo dessa jornada

Meu muito obrigado!

RESUMO

Objetivos: Comparar os escores da atividade de condutância da pele (ACP), da frequência cardíaca (FC) máxima, da saturação de oxigênio (SATO₂) mínima, e das escalas comportamentais de dor *Neonatal Facial Coding System* (NFCS), *Neonatal Infant Pain Scale* (NIPS) e COMFORT modificada frente a um estímulo doloroso agudo, e se eles preenchem os parâmetros psicofísicos de um marcador de dor (intensidade, reatividade, direção, regulação e inclinação). **Método:** Estudo longitudinal prospectivo com 41 recém-nascidos de termo saudáveis. As medidas estudadas foram: FC máxima e SATO₂ mínima; variáveis da ACP: número de ondas por segundo (NOps) e área sob a curva das ondas (ASC); escores das escalas comportamentais de dor acima citadas. Os escores foram obtidos em períodos rotulados como antes, durante e após uma punção do calcanhar. **Resultados:** A intensidade entre os períodos foi significativa para o NOps ($p < 0,01$), ASC ($p < 0,05$), FC máxima ($p < 0,01$), SATO₂ mínima ($p < 0,01$), NFCS ($p < 0,01$), NIPS ($p < 0,01$) e COMFORT modificada ($p < 0,01$). A reatividade e a direção foram significantes para todas as variáveis (todas $p < 0,01$), exceto para ASC ($p > 0,05$). O parâmetro regulação foi significativo para as variáveis NOps ($p < 0,01$), ASC ($p < 0,05$), FC máxima ($p < 0,01$), SATO₂ mínima ($p < 0,01$) e para todas as escalas comportamentais de dor ($p < 0,01$). A inclinação foi estatisticamente significativa para a SATO₂ mínima e as escalas comportamentais de dor NIPS e COMFORT modificada ($p < 0,05$). Não foi encontrada correlação entre os níveis de ACP e os escores das demais variáveis estudadas. **Conclusões:** As respostas da ACP, da FC máxima, da SATO₂ mínima e das escalas comportamentais de dor NFCS, NIPS e COMFORT modificada são similares em eventos dolorosos em recém-nascidos. Todas as variáveis estudadas preenchem os parâmetros psicofísicos de um marcador de dor e servem como medidas válidas para o seu diagnóstico, devendo ser usadas de acordo com as necessidades do contexto.

Palavras-chave: condutância da pele; marcadores comportamentais de dor; marcadores fisiológicos de dor; parâmetros psicofísicos; recém-nascido.

ABSTRACT

Objectives: To compare the scores of the skin conductance activity (SCA), maximum heart rate (HR), minimum oxygen saturation (OS), and *Neonatal Facial Coding System* (NFCS), *Neonatal Infant Pain Scale* (NIPS) and modified COMFORT behavioral pain scales front to painful stimulus, and if they fit the psychophysical parameters to a pain marker (intensity, reactivity, direction, regulation and slope).

Method: Observational prospective study including 41 healthy full term newborns. The measurements studied were: the maximum HR and the minimum OS; the SCA variables: number of waves per second (NWps) and relative area under the curve of waves (AUC); the scores of behavioral pain scales cited above. The measurements were performed in periods labeled before, during, and after a heel prick. **Results:** The values measured for intensity between periods was significant for the NWps ($p<0.01$), AUC ($p<0.05$), maximum HR ($p<0.01$), minimum OS ($p<0.01$), NFCS ($p<0.01$), NIPS ($p<0.01$) and modified COMFORT ($p<0.01$). Also, the reactivity and direction were significant for all variables (all $p<0.01$), except to AUC ($p>0.05$). The regulation parameter was significant for the variables NWps ($p<0.01$), AUC ($p<0.05$), maximum HR ($p<0.01$), minimum OS ($p<0.01$), and to all behavioral pain scales ($p<0.01$). The slope was statistically significant for the minimum OS, and to NIPS and modified COMFORT scales ($p<0.05$). There was not significantly correlation among the SCA scores and the scores of all others variables. **Conclusions:** It was concluded that the responses of the SCA, maximum HR, minimum OS, and NFCS, NIPS and modified COMFORT behavioral pain scales are similarly in painful events, that they fit the psychophysical parameters of a pain marker and serve as valuable measures for pain diagnostic working the use in accordance with the needs of the context.

Keywords: behavioral pain markers; physiological pain markers; psychophysical parameters; skin conductance; newborn.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Registro gráfico da ACP em um período de 15 segundos, antes e durante a estimulação dolorosa, mostrando o NOps, a amplitude das ondas e a ASC.....	11
Figura 2 - Diagrama esquemático dos parâmetros psicofísicos de um marcador fisiológico ao longo de um evento nociceptivo, nos períodos antes, durante e depois de uma punção dolorosa.....	13
Figura 3- Imagem do ambiente de coleta dos dados. Ao fundo, a incubadora com o RN dentro e o oxímetro de pulso acima; à frente, a câmera de vídeo; à direita, o aparelho medidor da ACP. A mãe autorizou a publicação da foto do RN.....	17
Figura 4 - Diagrama esquemático do aparelho usado para medir a atividade de condutância da pele.....	19
Figura 5 - Imagem mostrando o local de colocação dos eletrodos no pé do recém-nascido.....	19
Figura 6. Representação esquemática do cálculo da ASC, mostrando a área sobre os grandes e os pequenos picos.....	20
Figura 7 - Representação gráfica do NOps e da ASC (médias e 2 desvios-padrão), em 15 segundos, para os períodos antes, durante e depois da punção de calcanhar.....	27
Figura 8 - Representação gráfica da FC máxima e da SATO ₂ mínima (médias e 2 desvios-padrão), em três minutos, para os períodos antes, durante e depois da punção de calcanhar.....	27
Figura 9 – Representação gráfica dos escores das escalas NFCS, NIPS e COMFORT modificada (médias e 2 desvios-padrão), em três minutos, para os períodos antes, durante e depois da punção de calcanhar.....	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características demográficas e clínicas dos RNs.....	23
Tabela 2 - Confiabilidade entre os observadores para escalas comportamentais...24	
Tabela 3 - Média (mínimos e máximos) da ACP, da FC máxima, da SATO ₂ mínima e das escalas comportamentais nos períodos antes, durante e depois da punção de calcanhar em 41 RNs de termo saudáveis.....	25
Tabela 4 - Média (mínimos e máximos) das diferenças durante-antes, depois-durante e depois-antes para a ACP, a FC máxima, a SATO ₂ mínima e as escalas comportamentais em 41 RNs de termo saudáveis submetidos à punção de calcanhar.....	26

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIED – Associação Internacional para o Estudo da Dor

ASC – área sob a curva das ondas

ACP - atividade de condutância da pele

CPME – corno posterior da medula espinhal

FC - frequência cardíaca

LVI - lei do valor inicial

NFCS - *Neonatal Facial Coding System*

NIPS - *Neonatal Infant Pain Scale*

NOps – número de ondas por segundo

NRVM – núcleo rostral ventromedial

PIPP - *Premature Infant Pain Profile*

RN – recém-nascido

RNs – recém-nascidos

SATO₂ - saturação de oxigênio

SCMS - Skin Conductance Measure System

SCPA – substância cinzenta periaquedutal

SN – sistema nervoso

SNC- sistema nervoso central

SNS – sistema nervoso simpático

μS – microsiemens

μSseg – microsiemens segundo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 DESENVOLVIMENTO DOS MECANISMOS DE SENSÇÃO E PERCEPÇÃO DA DOR NO FETO E NO RECÉM-NASCIDO	2
1.1.1 Desenvolvimento e Papel dos Sistemas Nociceptivos Periférico e Espinhal no Processamento da Dor	3
1.1.2 Desenvolvimento e Papel do Tronco Cerebral no Processamento da Dor ..	5
1.1.3 Desenvolvimento e Papel do Tálamo no Processamento da Dor.....	6
1.1.4 Desenvolvimento e Papel de Outras Áreas Subcorticais no Processamento da Dor.....	6
1.1.5 Desenvolvimento e Papel do Córtex Cerebral no Processamento da Dor ..	7
1.2 MEDIÇÃO DA DOR NO RECÉM-NASCIDO.....	8
1.2.1 Medidas de Natureza Comportamental Unidimensional.....	9
1.2.2 Medidas de Natureza Multidimensional	9
1.2.3 Medidas de Natureza Fisiológica.....	10
1.2.4 Condutância da Pele e Dor	10
1.3 LEI DO VALOR INICIAL E INDICADORES DE DOR	12
2 HIPÓTESES E OBJETIVOS	14
2.1 HIPÓTESES	14
2.2 OBJETIVO GERAL	14
2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3 MÉTODO	16
3.1 DESENHO DO ESTUDO	16
3.2 PARTICIPANTES	16
3.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	16
3.4 PROCEDIMENTOS E MATERIAIS.....	16
3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	21
4 RESULTADOS	23
4.1 CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA	23
4.2. CONFIABILIDADE ENTRE OS OBSERVADORES PARA AS ESCALAS COMPORTAMENTAIS	24

4.3 ESTADO COMPORTAMENTAL BASAL DOS RECÉM-NASCIDOS E ANÁLISE DA RELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS CLÍNICAS E AS MEDIDAS DE DOR ESTUDADAS	24
4.4 MEDIDAS DE INTENSIDADE DA ATIVIDADE DE CONDUTÂNCIA DA PELE, DA FREQUÊNCIA CARDÍACA MÁXIMA, DA SATURAÇÃO DE OXIGÊNIO MÍNIMA E DAS ESCALAS COMPORTAMENTAIS DE DOR	25
4.5 MEDIDAS DE REATIVIDADE, REGULAÇÃO E INCLINAÇÃO DA ATIVIDADE DE CONDUTÂNCIA DA PELE, DA FREQUÊNCIA CARDÍACA MÁXIMA, DA SATURAÇÃO DE OXIGÊNIO MÍNIMA E DAS ESCALAS COMPORTAMENTAIS DE DOR	26
4.6 CORRELAÇÃO ENTRE A ATIVIDADE DE CONDUTÂNCIA DA PELE E AS MEDIDAS FISIOLÓGICAS FREQUÊNCIA CARDÍACA MÁXIMA, SATURAÇÃO DE OXIGÊNIO E AS ESCALAS COMPORTAMENTAIS DE DOR	29
5 DISCUSSÃO	30
5.1 DA CONFIABILIDADE ENTRE OS OBSERVADORES PARA AS ESCALAS COMPORTAMENTAIS	30
5.2 PARÂMETROS DE INTENSIDADE DA ATIVIDADE DE CONDUTÂNCIA DA PELE, DA FREQUÊNCIA CARDÍACA MÁXIMA, DA SATURAÇÃO DE OXIGÊNIO MÍNIMA E DAS ESCALAS COMPORTAMENTAIS DE DOR	30
5.3 PARÂMETROS DE REATIVIDADE, REGULAÇÃO E INCLINAÇÃO DA ATIVIDADE DE CONDUTÂNCIA DA PELE, DA FREQUÊNCIA CARDÍACA MÁXIMA, DA SATURAÇÃO DE OXIGÊNIO MÍNIMA E DAS ESCALAS COMPORTAMENTAIS DE DOR	33
5.4 DA ANÁLISE DA RELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS	37
5.5 DAS MEDIDAS DE ATIVIDADE DE CONDUTÂNCIA DA PELE, DAS MEDIDAS FISIOLÓGICAS, DAS MEDIDAS COMPORTAMENTAIS E O ATENDIMENTO AOS PARÂMETROS PSICOFÍSICOS DE UMA MEDIDA FISIOLÓGICA	38
5.6 IMPLICAÇÕES CLÍNICAS E PRÁTICAS	39
6 CONCLUSÃO	40
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
ANEXOS	47

1 INTRODUÇÃO

Avaliação da dor no período neonatal é uma tarefa complexa e desafiadora. Devido ao recém-nascido (RN) não conseguir se expressar através da fala e/ou apresentar resposta neurológica diminuída diante circunstâncias especiais, a comunicação desse fenômeno subjetivo pode ser inconsistente (1,2,3). Até recentemente, considerava-se que o RN não sentia dor. O seu sistema nervoso (SN) seria insuficientemente maduro para processar o estímulo doloroso, sendo por isso incapaz de interpretá-lo ou memorizá-lo (1). Hoje, sabe-se que o RN responde mais intensamente ao estímulo doloroso do que indivíduos de outras faixas etárias, embora o RN prematuro possa apresentar uma resposta ambígua. A dificuldade na avaliação da dor no RN ainda permanece nos dias atuais, motivada, entre outros, pela conjuntura envolvendo o RN e o cuidador e pelo insuficiente ou errôneo conhecimento sobre os mecanismos da dor neste período da vida (2).

A dor, no indivíduo que consegue falar, é primariamente avaliada usando o auto-relato, considerado padrão-ouro para tal (4). Segundo a Associação Internacional para o Estudo da Dor (AIED), dor é uma experiência sensorial e emocional associada a dano tecidual potencial ou real, ou descrita em termos de tal dano (5). Dessa forma, as respostas fisiológicas e emocionais somente seriam desencadeadas após sofrimento ou traumatismo prévio. Esse conceito, em tese, não contemplaria o feto, o RN e aquele que não conseguisse expressar-se verbalmente. Em 2003, a AIED reconheceu que essa inabilidade não negaria a possibilidade desse indivíduo sentir dor (6).

Nos últimos 30 anos, o conhecimento dos mecanismos fisiopatológicos da dor no RN alcançou progressos significativos. Evidências confirmam que o feto, já na primeira metade da gestação, bem como o RN, é capaz de sentir dor. Esta seria traduzida por aumento na frequência cardíaca (FC) e nos níveis do cortisol e da beta-endorfina no sangue, em resposta à ativação de ambos os sistemas nervosos, autônomo e central, respectivamente, a partir de um estímulo doloroso na superfície cutânea (2,3,7,8,9). Tal percepção é uma qualidade inerente à vida, aparece precocemente na ontogenia e serve como um sistema de sinalização para dano tecidual (10).

A dor no RN geralmente é aguda, provocada mais frequentemente por lesões

traumáticas teciduais, tem duração relativamente curta e constitui um quinto sinal vital (10). Sua percepção é multidimensional e varia em qualidade, intensidade, duração, localização e imagem simbólica conforme as características individuais do RN. Fatores como idade gestacional, idade pós-natal, experiência dolorosa prévia, cognição, aprendizado, estágio neuropsicomotor, doença subjacente, uso de drogas sedativas e analgésicas, condições familiares e padrões culturais podem modificar a sua expressão clínica (2,3,11). Recém-nascidos (RNs) prematuros, submetidos a até 500 procedimentos dolorosos durante a hospitalização, respondem ao estímulo doloroso de forma mais variável e menos consistente (12,13,14). Embora o padrão de resposta do RN ao estímulo doloroso tenha sido mais bem reconhecido ao longo do tempo, a permanência da dificuldade diagnóstica obrigou a investigação e construção de medidas de dor válidas e confiáveis (15,16).

Mudanças na expressão facial, atividade motora e choro, por refletirem uma resposta do sistema nervoso central (SNC), são os indicadores comportamentais mais utilizados na avaliação da dor no RN (1,2,17,18,19). Variações na FC e na saturação de oxigênio (SATO₂), por refletirem uma resposta do SN autônomo e serem medidas objetivas e de fácil obtenção, são os indicadores fisiológicos mais usados com a mesma finalidade (9,11,12). Essas respostas, embora úteis no manejo da dor no RN, podem ser inespecíficas ou mascaradas por interferências internas e/ou externas ao indivíduo - particularmente o RN prematuro ou aquele com doença grave -, situações nas quais a imaturidade neurológica, a severidade da doença ou o uso de drogas modificam a expressão comportamental e fisiológica da dor. Contudo isso, esses indicadores são ainda os mais utilizados em comparações com novas metodologias de avaliação da dor neonatal.

Fundamental para estudar a dor nos períodos fetal e neonatal é compreender o seu processamento, desde a superfície cutânea até o córtex cerebral, bem como conhecer a regulação das vias excitatórias e inibitórias do SN, como será visto a seguir.

1.1 DESENVOLVIMENTO DOS MECANISMOS DE SENSAÇÃO E PERCEPÇÃO DA DOR NO FETO E NO RECÉM-NASCIDO

As estruturas e os mecanismos neurais do processamento da dor durante o desenvolvimento fetal e neonatal são diferentes dos descritos no adulto, muitos deles não permanecendo além do período neonatal (20,21). O conhecimento da neuroanatomia e da fisiologia do sistema de sensação e percepção de dor nestes períodos é fundamental para entendê-lo. Essa compreensão é fundamentada em estudos experimentais com RNs de ratos e de imagens funcionais em lactentes e adultos humanos, com base na existência de similaridade das vias e mecanismos da dor entre essas duas espécies animais (22).

1.1.1 Desenvolvimento e Papel dos Sistemas Nociceptivos Periférico e Espinhal no Processamento da Dor

Os influxos dolorosos originam-se mais comumente de estímulos mecânicos, térmicos e químicos em receptores sensoriais situados na pele: as fibras A- β , A- δ e as fibras C. As fibras A- β , mecanorreceptores revestidos por espessa camada de mielina, são as primeiras aferências terminais do corno posterior da medula espinhal (CPME) (23); as fibras A- δ , mecanorreceptores finamente revestidos por mielina, encontram seus corpos celulares nos gânglios da raiz dorsal da medula espinhal no terceiro trimestre gestacional e estão associados à dor imediatamente após a lesão tecidual (24); e as fibras C, que não são mielinizadas e seus corpos celulares alcançam o CPME numa fase mais tardia da gestação do que os das fibras A- β e A- δ . Essa ordem no amadurecimento desse sistema de fibras aferentes justifica o fato de que no feto e no RN a informação nociceptiva é transmitida por fibras bem mielinizadas (fibras A- β), ao contrário do que ocorre no indivíduo adulto, onde essas fibras transmitem predominantemente estímulos tácteis. A densidade dessas fibras sensoriais é modulada pela liberação cutânea de um fator de crescimento neural. A expressão desse fator de crescimento é intensificada por lesões cutâneas, o que produz um importante grau de hiperinervação no local das terminações nervosas, explicando assim a hipersensibilidade à dor no local lesionado em RNs expostos a sucessivas punções venosas (25).

Para que esse sistema excitatório amadureça, diferentes neurotransmissores, tais como a substância P, o glutamato, o peptídeo relacionado ao gene calcitonina, a galanina, a somatostatina, o peptídeo intestinal vasoativo e o neuropeptídeo Y exprimem-se no CPME do feto ao longo da gestação

(26,27,28,29). A maturação desse sistema de excitação precede ontogeneticamente a do sistema inibidor da dor. Este último desempenha um papel importante na modulação das informações dolorosas. Vias inibitórias descendentes originam-se na substância cinzenta periaquedutal (SCPA), no núcleo da oliva inferior, no núcleo reticulado da ponte, no locus cerúleo e em outras regiões do tronco cerebral. Em RNs de ratos, os axônios dos neurônios dessas áreas alcançam a medula espinhal muito precocemente na vida fetal. Entretanto, eles não estendem ramos ao CPME antes da primeira semana pós-natal e não são funcionais antes do décimo dia de vida pós-natal, período que corresponde ao terceiro trimestre gestacional em humanos (30). A ausência dessa inibição pode ser resultante do atraso na expressão de neurotransmissores inibidores associados a essas fibras, tais como a serotonina, a dopamina e a norepinefrina, ou de seus receptores. Também pode dever-se também ao atraso na maturação dos interneurônios inibidores ao nível do CPME ou de seus neurotransmissores, tais como o ácido gama-amino butírico e a glicina, conhecidos neurotransmissores inibidores da medula espinhal madura (22).

Um sistema de opióides endógenos pode também modular a dor em RNs humanos. Todos os estudos a respeito de receptores de opióides foram desenvolvidos em fetos e RNs de ratos. Segundo esses estudos, existem três tipos de receptores opióides, expressos em maior ou menor intensidade de acordo com a fase de desenvolvimento: os receptores μ , κ e δ . Eles têm uma ação reguladora sobre o crescimento dendrítico e a formação dos neurônios ao nível do CPME e da SCPA, papel fisiologicamente distinto daquele produzido pela analgesia com opióides exógenos (22).

É importante ainda entender que a imaturidade dos interneurônios do CPME e a ausência de controles inibidores descendentes a partir dos centros supra-espinhais desempenham papel importante na maior sensibilidade à dor no RN (24). A formação de sinapses entre as fibras C e os neurônios do CPME coincide com diminuição no tamanho de seus respectivos campos, com o desenvolvimento de neurônios inibidores, com a retirada dos terminais de fibra A- β da substância gelatinosa e com modificações na expressão dos neurotransmissores excitadores e inibidores, sendo o último trimestre gestacional um período crítico (26).

1.1.2 Desenvolvimento e Papel do Tronco Cerebral no Processamento da Dor

O tronco cerebral é a primeira área supra-espinhal de integração dos estímulos nociceptivos provenientes da medula espinhal. Além disso, recebe impulsos dos sistemas sensoriais trigeminal, vagal e glossofaríngeo. Ao mesmo tempo, é área regulatória de impulsos provenientes de regiões talâmicas, subcorticais e corticais. A esse nível, o sistema regulatório da dor é processado por uma série de núcleos e regiões situadas no bulbo, na ponte e no mesencéfalo, existindo mínima informação científica a respeito do seu desenvolvimento durante a vida fetal, neonatal e primeira infância (22).

O núcleo rostral ventromedial (NRVM) é o maior componente modulatório da dor no tronco cerebral. Ele exerce influxos facilitatórios e inibitórios da transmissão da dor, reforçando outros sítios do tronco cerebral, também responsáveis por essa função, como a SCPA e o locus cerúleo. O núcleo dorsal e o núcleo maior da rafe estão envolvidos com a analgesia induzida por opióides e respondem aos estímulos viscerais (31). A maioria dos impulsos aferentes viscerais parece convergir para os núcleos do trato solitário e vagal dorsal. Estes locais estão envolvidos com alças facilitatórias e inibitórias para o CPME e com a resposta autonômica à estimulação visceral, à dor referida e à hiperalgesia viscerossomática. O núcleo trigeminal tem sido relacionado à dor orofacial e dental. A ponte parece ter um papel menor no processamento da dor, mas existem relatos de que infartos pontinos paramedianos estão associados ao impedimento de sensações de origem espinotalâmica (32). A formação reticular igualmente parece ter um papel menor no processamento do impulso doloroso, embora seus neurônios possam estar envolvidos em respostas somatossensórias, via tálamo e conexões corticais. Neurônios do locus cerúleo participam da inibição descendente através de uma via locus cerúleo-medula espinhal ou indiretamente através de conexões com núcleos penduculopontinos, dorsal da rafe, o NRVM e a SCPA (33).

O mesencéfalo é constituído por uma série de núcleos que se desenvolvem após o quarto mês gestacional e possui funções de integração sensorial. A SCPA, uma estrutura da linha média do tronco cerebral envolvendo o aqueduto de Sylvius ao longo do mesencéfalo, através de sua interação com o CPME atua na

modulação da dor e da homeostase, como os ciclos sono/despertar ou continência/incontinência urinária (34).

1.1.3 Desenvolvimento e Papel do Tálamo no Processamento da Dor

O tálamo funciona como uma estação retransmissora das informações sensoriais e autonômicas dos tratos espinhais e do tronco cerebral para regiões corticais e subcorticais específicas. Entre a 22^a e a 26^a semana gestacional de fetos humanos, axônios provenientes do tálamo alcançam a zona intermediária e a subcortical, onde aguardam até atingir o córtex em formação. Cabe ressaltar que a expressão precoce de neurotransmissores inibidores nos núcleos do tronco cerebral e do tálamo demonstra os papéis inibitórios destes últimos, com efeitos diretos e indiretos na modulação de circuitos subcorticais (34). Lesões de núcleos talâmicos em período crítico alteram o tamanho e o número de células do córtex, supondo-se que esse dano leve a um funcionamento alterado do SNC, incluindo aí o processamento da dor (22,35).

1.1.4 Desenvolvimento e Papel de Outras Áreas Subcorticais no Processamento da Dor

O hipotálamo, o giro cingulado anterior, a amígdala e o hipocampo são estruturas subcorticais com importante papel na integração de influxos ascendentes e descendentes entre a medula espinhal e o córtex cerebral. O hipotálamo desenvolve-se precocemente na gestação, a partir da porção ventral do prosencéfalo e do mesoderma. Conecta-se com a medula espinhal, o mesencéfalo, a hipófise, o giro cingulado anterior, a amígdala, o hipocampo e o córtex cerebral. Ele regula as respostas humorais e autonômicas ao estímulo doloroso. Numerosos hormônios são secretados por esta área cerebral em resposta à dor, particularmente aqueles relacionados ao eixo hipotálamo-hipófise-adrenal. Outros hormônios secretados incluem a vasopressina, o hormônio estimulador de melanócitos, catecolaminas e beta-endorfina (2,3).

O giro cingulado anterior está presente desde a 24^a semana gestacional e contém os neurônios que mais precocemente se desenvolvem no córtex cerebral (35). Ele desempenha um papel crucial na modulação da dor. Evidências experimentais sugerem que receptores opióides nesta área suprimem a

transmissão espinotalâmica da dor ao prosencéfalo, produzindo um efeito inibitório (36). A amígdala é formada por neuroblastos que migram do epitélio germinal a partir da 12^a semana gestacional, compondo os núcleos central, lateral e basal-lateral. Esses três núcleos mediam a resposta emocional, enquanto os dois últimos mediam a resposta somática dolorosa.

No hipocampo do feto humano neurônios formam sinapses entre 15 e 16 semanas gestacionais, com intensa formação dendrítica nas zonas marginal e subcortical (37). Uma evidência de que essa região está associada à dor baseia-se no fato de que lesões nessa área alteram a percepção de dor, ainda que os mecanismos não estejam bem determinados. Por outro lado, estímulos dolorosos são acompanhados de ativação do hipocampo (34).

1.1.5 Desenvolvimento e Papel do Córtex Cerebral no Processamento da Dor

Quatro áreas corticais estão envolvidas no processamento da dor em humanos: os córtices somatossensórios primário e secundário, o primeiro localizado no giro pós-central e o segundo localizado no sulco lateral, e duas outras áreas localizadas no lobo parietal, o córtex retro-insular e a área de Brodmann. A habilidade em localizar a dor é atribuída ao córtex somatossensório primário, evidência confirmada em estudos utilizando tomografia por emissão de pósitrons, ressonância magnética funcional e eletroencefalografia magnética (38). Essa área do córtex recebe influxos nociceptivos do tálamo. Já o córtex somatossensório secundário tem campos receptivos mais amplos e codifica mais pobremente o estímulo doloroso. Entretanto, observações de infarto cerebral em humanos atingido apenas o córtex somatossensório secundário mostraram diminuição da sensação à dor, confirmando o seu papel nesse processamento (39). Em adição ao que ocorre no córtex somatossensório, várias regiões dos córtices parietais, o inferior e o anterior, o córtex insular, o giro cingulado anterior e o córtex medial pré-frontal são consistentemente ativados por estimulação dolorosa de origem cutânea, visceral e muscular (40). Estudo usando espectroscopia infravermelha para monitorar a atividade cerebral em prematuros de 28 a 35 semanas gestacionais mostrou que estímulos tácteis e dolorosos ativam o córtex somatossensório, implicando percepção da dor nesses indivíduos (41). Uma perda gradual da inibição ou uma aumentada excitabilidade devido à repetida exposição a

procedimentos explicaria porque RNs mais velhos respondem ao estímulo doloroso com mais pronunciada atividade cortical (42). Outro fato interessante é que a ativação bilateral de áreas somatossensórias ocorre em todos os RNs expostos a um estímulo doloroso, independente do dimídio corporal em que este ocorrer (34).

Embora limitados em humanos, os dados anteriormente descritos sugerem que o tronco cerebral, o tálamo e as áreas corticais e subcorticais desenvolvem-se precoce e suficientemente durante a gestação, possibilitando o processamento supra-espinhal da dor, mesmo em RNs prematuros.

1.2 MEDIÇÃO DA DOR NO RECÉM-NASCIDO

As mudanças na atividade facial, motora e no choro, em resposta a estímulos dolorosos, podem ser medidas através de escalas comportamentais de dor. Essas escalas podem ser de natureza unidimensional, quando envolvem apenas a observação de uma dimensão do comportamento, por exemplo, a atividade facial, ou de natureza multidimensional, quando envolvem mais de uma dimensão, por exemplo, a atividade facial e a motora, podendo algumas delas incluir indicadores fisiológicos como a FC e a SATO₂. Entretanto, em situações especiais como a prematuridade extrema, a doença grave comprometendo o sensorio e o uso de analgésicos ou sedativos, essas respostas podem ser mascaradas, seja por modificação da resposta autonômica, seja por diminuição das respostas comportamentais. Outro problema enfrentado no uso de escalas de dor que apresentam o componente facial é o fato de que RN submetido à intubação traqueal tem a avaliação da expressão facial prejudicada (19). Um indicador mais específico, sensível, que não sofra a interferência dos citados fatores, que seja consistente ao longo do tempo de avaliação e tenha alcance para as fases de reatividade da resposta e da recuperação ou regulação à dor teria maior eficiência e eficácia no manejo da dor neonatal. A atividade de condutância da pele (ACP), um indicador fisiológico ainda pouco usado no diagnóstico de dor neonatal, ainda não avaliado no Brasil, mostra perspectiva de atender aos parâmetros psicofísicos de uma resposta fisiológica à dor (43). Como base para o entendimento desta pesquisa se fará a seguir uma revisão sobre essas medidas.

1.2.1 Medidas de Natureza Comportamental Unidimensional

Uma medida de natureza unidimensional inclui somente um indicador comportamental relacionado à dor, por exemplo, o choro, em suas várias gradações e tons, ou múltiplos indicadores de um domínio particular, por exemplo, ações faciais dentro do domínio comportamental. Existem disponíveis pelo menos quatro escalas unidimensionais para uso em RNs (2). A escala *Neonatal Facial Coding System* (NFCS), um exemplo dessa categoria, tem elevada confiabilidade inter e intra-observadores, mostra validade do constructo e do conteúdo e apresenta comportamentos exclusivamente faciais, sendo por isso escolhida para comparação com outras medidas de dor nesta pesquisa. Ela é usada em RNs com idade gestacional acima de 25 semanas. Inclui dez comportamentos faciais distintos: fronte saliente, fenda palpebral estreitada, aprofundamento do sulco nasolabial, boca aberta, estiramento horizontal e vertical da boca, tremor de queixo, protrusão e tensão da língua. Atribui-se o valor unitário à presença de cada um destes sinais (17, 44, 45, 46). Um escore maior ou igual a três seria compatível com resposta dolorosa (22). Uma opção mais prática e útil é a NFCS simplificada, por apresentar um menor número de comportamentos faciais, mantendo as mesmas propriedades psicométricas (47).

1.2.2 Medidas de Natureza Multidimensional

Uma medida de natureza multidimensional é constituída por indicadores de domínio comportamentais diferentes (escala multidimensional) ou de indicadores comportamentais e fisiológicos (escala composta). Existem pelo menos 25 escalas multidimensionais disponíveis para uso em RNs (2). A *Neonatal Infant Pain Scale* (NIPS), outra escala escolhida como parâmetro comparativo nesta pesquisa e pertencente a essa categoria, possui elevada confiabilidade interobservadores, consistência interna e validade do conteúdo. Ela avalia a expressão facial, o choro, a respiração, os movimentos dos braços e das pernas e o despertar. Atribui-se o valor unitário para a presença de todos os parâmetros da escala, exceto o choro, que pode receber até dois pontos, sendo o escore total possível de sete. A NIPS é usada em RNs prematuros e de termo, diferenciando estímulo doloroso de não doloroso quando o escore for maior que três (2,48). A escala COMFORT modificada, a terceira utilizada neste estudo, é uma modificação da escala original -

que foi desenhada para avaliar estresse/conforto em crianças ventiladas artificialmente em ambiente de unidade de cuidados intensivos - pela supressão da avaliação da FC e da pressão arterial, sem alterar sua validade. Ela foi validada em crianças menores de três anos de idade sob ventilação artificial ou não, observando-se o estado de alerta, de agitação e calma, a resposta respiratória (não avaliada em bebês respirando espontaneamente), o choro (não avaliado em bebês ventilados), os movimentos físicos, o tônus muscular e a tensão facial. Possui boa confiabilidade interobservadores para todos os seus componentes, exceto para a resposta respiratória, que é moderada, validade do conteúdo, ótima consistência interna e ótima validade convergente com a escala analógica visual. Escore maior ou igual a 17 é aceito como indicação para uso de analgésico (2,49).

1.2.3 Medidas de Natureza Fisiológica

Um indicador fisiológico é um marcador biológico de natureza unidimensional, cuja medida de reatividade ou modificação frente a um estímulo doloroso indiretamente relaciona-se à dor, podendo ser capaz de distingui-la de outros eventos estressantes e/ou não estressantes (2). Essa resposta é resultante da ativação do sistema nervoso simpático (SNS) ao nível do tronco cerebral e do hipotálamo, com o consequente efeito sobre os órgãos de choque (2,11,12).

Idealmente, todo indicador fisiológico deveria apresentar baixo custo, ter acesso não invasivo e ser de pronto resultado à beira do leito, características de difícil ocorrência na prática clínica (3). Nesse grupo de medidas incluem-se: os aumentos da FC, da frequência respiratória e da pressão arterial e, a diminuição da $SATO_2$ (1,2,44,45,46); a elevação dos níveis sanguíneos de substâncias vasoativas e de hormônios, tais como a epinefrina, a norepinefrina, a beta-endorfina, o hormônio do crescimento e o cortisol (50,51,52); o aumento da ACP (43,53,54,55,56,57,58). Como referido anteriormente, a variação da FC e da $SATO_2$ são medidas de dor objetivas e facilmente mensuradas. Entretanto, quando analisadas isoladamente e fora do contexto em que o RN está situado, suas variações podem estar associadas com respostas a outros estímulos estressantes (1,2).

1.2.4 Condutância da Pele e Dor

A ACP é um indicador fisiológico utilizado em avaliações psicológicas desde o

século 19 (56). Nos últimos 20 anos vem sendo utilizada e validada no diagnóstico de dor aguda em RNs de termo, prematuros e crianças submetidas à ventilação mecânica (43,53,54,55,56,57,58). A ACP reflete o aumento da secreção de suor desencadeada pela ativação do SNS após o estímulo doloroso. Cada vez que um estímulo doloroso acontece, a liberação de acetilcolina nas sinapses pós-gangliônicas dos receptores muscarínicos das glândulas sudoríparas palmares e plantares aumenta a secreção de suor. Como consequência, a resistência elétrica da pele diminui e a condutância aumenta, ocorrendo fenômeno inverso quando as mesmas se esvaziam. Essa variação na produção de suor gera ondas de condutância elétrica, fenômeno captado digitalmente como um gráfico por um sistema medidor de condutância galvânica a partir de eletrodos colocados na superfície palmar ou plantar e medido em microsiemens (μS). Os componentes da ACP são expressos em número de ondas por segundo (NOps), amplitude e área sob a curva das ondas (ASC), como pode ser visto na Figura 1.

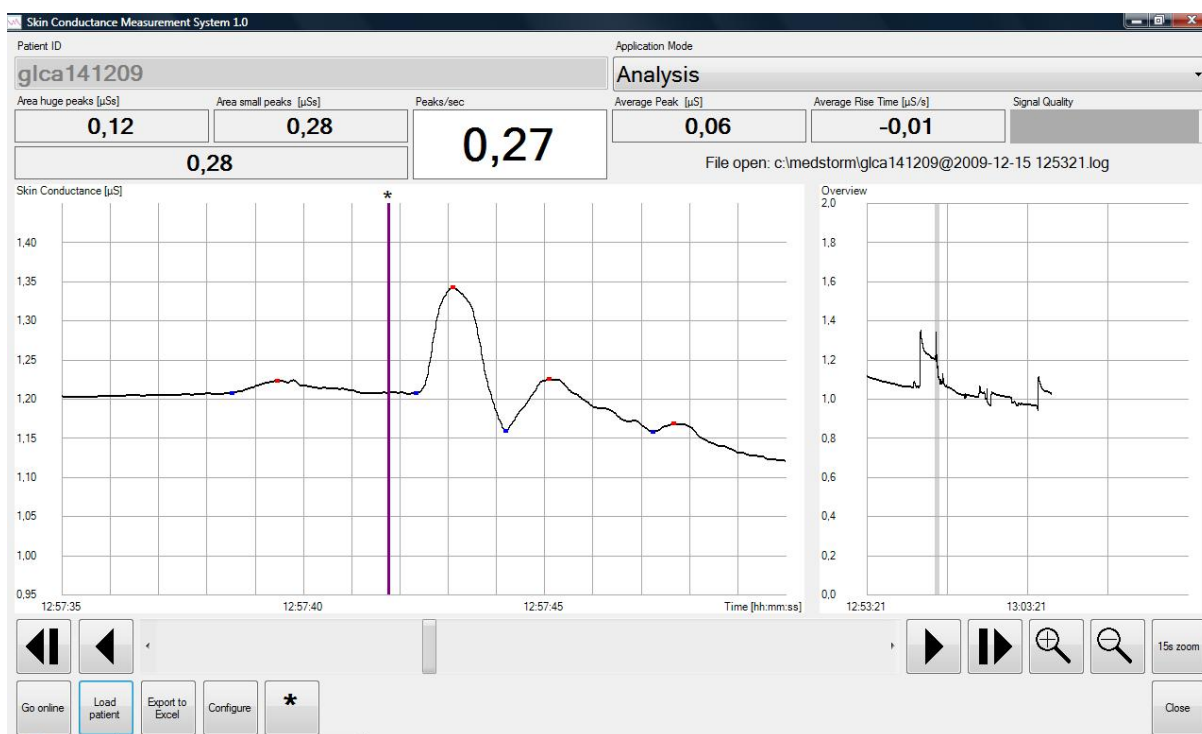


Figura 1 - Registro gráfico da ACP em um período de 15 segundos, antes e durante a estimulação dolorosa, mostrando o NOps, a amplitude das ondas e a ASC

Fonte: retirado da análise de um caso desta pesquisa

O aumento do NOps, da amplitude e da ASC tem mostrado relação com os aumentos dos níveis da FC (57), da pressão arterial (58), da atividade cerebral (59) e das escalas comportamentais *Premature Infant Pain Profile* (PIPP) (56) e COMFORT modificada (58). Várias evidências confirmam que a ACP é uma medida objetiva de dor no RN e na criança maior, que não é influenciada por mudanças na circulação sanguínea, por apnéia, pela ação de drogas na circulação sanguínea, pela temperatura ambiental, e pode ser pronta e continuamente registrada por até 48 horas (43,53,54,55,56,57,58). Trata-se de metodologia inovadora, não invasiva, minimamente estressora, com validade já estudada em outras regiões, porém não ainda em nosso meio, justificando-se assim a sua avaliação neste estudo exploratório comparativo.

1.3 LEI DO VALOR INICIAL E INDICADORES DE DOR

Caracteristicamente, o comportamento psicofísico de um marcador fisiológico de dor deve partir da condição de uma linha de base, seguido por uma resposta aguda ao estímulo doloroso, terminando no período de recuperação. Ele envolve três dimensões mensuráveis de resposta: magnitude, variabilidade e direção do sinal (60). Os componentes destas dimensões de padrão de resposta à dor podem ser divididos em cinco características quantificáveis: 1) intensidade ou magnitude da resposta, calculada pela média e desvio-padrão dos escores obtidos em relação aos períodos de observação antes, durante e após o estímulo doloroso; 2) reatividade, considerada como a mudança de escore da linha de base para o escore durante o estímulo; 3) direção da variação da resposta, considerando-se o crescimento ou o decréscimo da resposta; 4) regulação ou mudança do escore de dor durante a recuperação; 5) inclinação, refletindo a tendência de sobre-regulação ou baixa-regulação, a qual é calculada pelo coeficiente de regressão linear, conforme esquematizado na Figura 2. Estes parâmetros compõem a base de medidas da Lei do Valor Inicial (LVI), a qual afirma que a magnitude da resposta psicofisiológica depende da comparação do valor obtido durante o evento doloroso com o da linha de base, em relação ao mesmo indivíduo (2,60). O modelo mais utilizado na análise dessas características até o presente momento é o da variabilidade da FC. Por esse modelo, quanto mais imaturo fosse o RN, maior seria o valor basal da FC e menor seria a sua variação durante o evento doloroso. Por

outro lado, à medida que o RN prematuro “envelhecesse”, o valor basal da FC tenderia a cair e a sua variação a aumentar, desempenho semelhante ao obtido em RNs de termo e em crianças mais velhas (2). Não foram identificados estudos envolvendo os acima citados parâmetros psicofísicos na investigação das medidas de dor anteriormente descritas, o que justificou a verificação do atendimento àqueles parâmetros pelas medidas de dor a seguir pesquisadas nesta tese de doutorado.

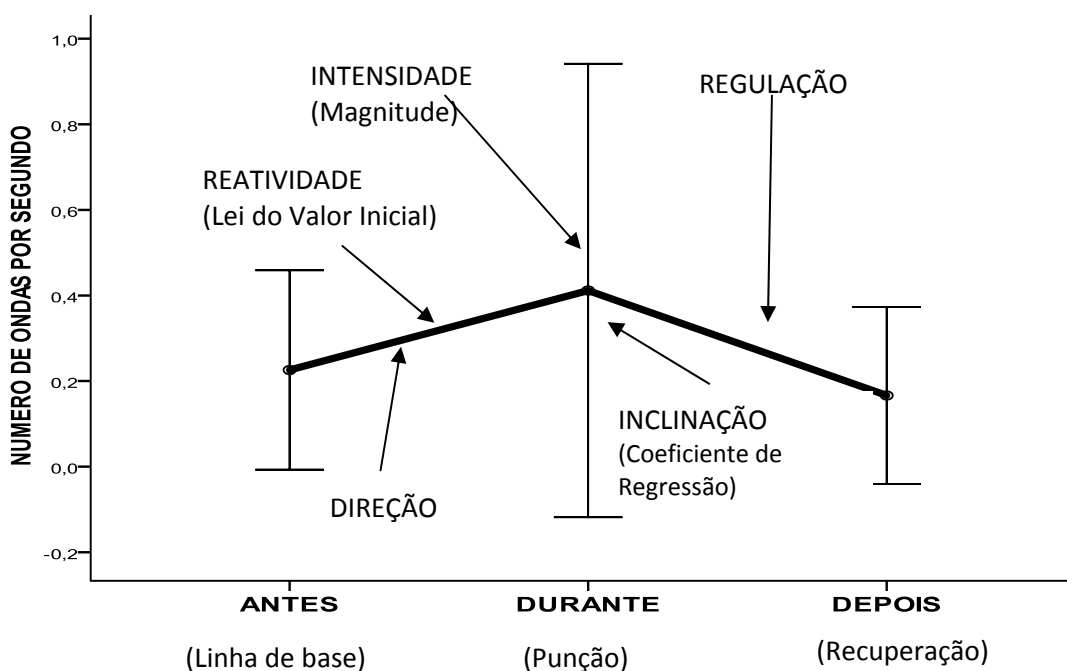


Figura 2 – Diagrama esquemático dos parâmetros psicofísicos de um marcador fisiológico ao longo de um evento nociceptivo, nos períodos antes, durante e depois de uma punção (inspirado em Berntson e Cacioppo, 1994) (60).

2 HIPÓTESES E OBJETIVOS

2.1 HIPÓTESES

1ª H0: Em RN de termo saudável submetido a procedimento doloroso agudo, a ACP responde semelhantemente à FC, à SATO₂ e às escalas NFCS, NIPS e COMFORT modificada.

1ª H1: Em RN de termo saudável submetido a procedimento doloroso agudo, a ACP responde diferentemente da FC, da SATO₂ e das escalas NFCS, NIPS e COMFORT modificada.

2ª H0: Em RN de termo saudável submetido a procedimento doloroso agudo não existe associação entre a ACP e a FC, a SATO₂ e as escalas NFCS, NIPS e COMFORT modificada.

2ª H1: Em RN de termo saudável submetido a procedimento doloroso agudo existe associação entre a ACP e a FC, a SATO₂ e as escalas NFCS, NIPS e COMFORT modificada.

3ª H0: Em RN de termo saudável submetido a procedimento doloroso agudo, a ACP, a FC, a SATO₂ e as escalas NFCS, NIPS e COMFORT modificada não atendem aos parâmetros psicofísicos de uma medida fisiológica.

3ª H1: Em RN de termo saudável submetido a procedimento doloroso agudo, a ACP, a FC, a SATO₂ e as escalas NFCS, NIPS e COMFORT modificada atendem aos parâmetros psicofísicos de uma medida fisiológica.

2.2 OBJETIVO GERAL

O escopo deste estudo foi validar a ACP como uma medida objetiva de dor em RNs de termo saudáveis submetidos a procedimento doloroso agudo, comparando-a com duas medidas fisiológicas e três medidas comportamentais.

2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar a ACP (NOps e ASC) com as variáveis FC máxima, SATO₂ mínima e escalas NFCS, NIPS e COMFORT modificada em RNs de termo saudáveis submetidos a procedimento doloroso agudo;

- Verificar a existência de associação entre a variação da ACP (NOps e ASC) com as variações da FC máxima, da SATO₂ mínima e das escalas NFCS, NIPS e COMFORT modificada em RNs de termo saudáveis submetidos a procedimento doloroso agudo;

- Verificar se a ACP (NOps e ASC), a FC máxima, a SATO₂ mínima e as escalas NFCS, NIPS e COMFORT modificada atendem os pressupostos teóricos dos parâmetros psicofísicos de uma medida fisiológica em RNs de termo saudáveis submetidos a procedimento doloroso agudo.

3 MÉTODO

3.1 DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de estudo observacional, prospectivo, controlado pelo mesmo indivíduo, tipo antes, durante e depois.

3.2 PARTICIPANTES

A amostra foi constituída por 41 RNs com idades gestacionais entre 37 e 41 semanas, aparentemente saudáveis, submetidos à punção de calcânhar nas primeiras 48 horas de vida. Eles foram selecionados por conveniência, na Unidade de Neonatologia do Hospital Universitário de Brasília, Brasília, Distrito Federal, Brasil, entre setembro e dezembro de 2009. O tamanho mínimo da amostra foi calculado em 26, permitindo-se um erro alfa de 5% e um erro beta de 20%, para um poder estatístico de 80%.

3.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram excluídos os RNs cujas mães receberam analgesia opióide menos de 4 horas antes do parto; aqueles cujas mães foram submetidas à anestesia geral há menos de 24 horas; aqueles com escore de Apgar menor que sete no quinto minuto; os que receberam qualquer tipo de analgesia ou sedação antes da punção do calcânhar; os com doenças metabólicas, respiratórias, cardiovasculares, neurológicas ou infecciosas; os com hemorragia intracraniana de 3º ou 4º grau conforme com a classificação de Papille; os com más-formações congênitas cardíacas, pulmonares, gastrointestinais e neurológicas.

3.4 PROCEDIMENTOS E MATERIAIS

Este estudo foi conduzido na Unidade de Neonatologia do Hospital Universitário de Brasília, Brasília, Distrito Federal, Brasil. Após o consentimento informado de um dos pais, os seguintes dados foram registrados em um protocolo: idade materna, idade pós-natal em horas, idade gestacional, tipo de parto, tipo de anestesia, uso de analgesia intra-raquiana, escore de Apgar no quinto minuto de vida, suporte de reanimação na sala de parto, peso ao nascer, gênero, diagnóstico

do RN, amamentação na última hora antes da punção, se o RN recebeu glicose dois minutos antes do procedimento, número de punções prévias de calcanhar e número de procedimentos dolorosos prévios. A punção do calcanhar foi considerada o procedimento doloroso agudo e sua indicação seguiu a rotina médica da unidade.

Cada RN foi colocado em uma incubadora (Fanem, Brasil), a uma temperatura de 30° C, envolto em uma fralda, sob iluminação natural e/ou artificial branca (Figura 3). Os sensores dos instrumentos utilizados foram instalados 10 minutos antes do início da observação. Nenhum procedimento desagradável foi realizado no período de uma hora que antecedeu a punção.



Figura 3. Imagem do ambiente de coleta dos dados. Ao fundo, a incubadora com o RN dentro e o oxímetro de pulso acima; à frente, a câmera de vídeo; à direita, o aparelho medidor da ACP. A mãe autorizou a publicação da fotografia do RN.

Cada RN foi submetido à punção do calcanhar direito uma única vez, sempre pelo mesmo pesquisador, com uma agulha 25x7 (BD Instrumentos, Brasil). A punção, a compressão e a aplicação de um curativo duraram entre 30 e 60

segundos. Cada RN foi observado em três períodos sucessivos, cada período durando três minutos, como descrito a seguir: antes da punção, considerado a linha de base e o período antes; após a punção, compressão e bandagem, considerado o período durante; após o término deste último, considerado o período depois.

As frequências cardíacas e saturações de oxigênio foram obtidas a partir de um oxímetro de pulso (DX 2515-Dixtal) filmado por uma câmera de vídeo (DCR-SR47-Sony) montada em um tripé à distância de um metro de cada RN (Figura 3). Da observação de cada um desses vídeos foi visualizado o máximo valor da FC e o mínimo valor da SATO₂ durante os três minutos de cada período usando-se a técnica de quadro parado segundo a segundo.

Todos os RNs tiveram suas imagens filmadas com a mesma câmera de vídeo utilizada para obter a FC e a SATO₂, com um ângulo de abertura suficiente para captar todo o corpo (Figura 3). Dessas imagens, foi calculado o escore do estado comportamental basal antes do início da observação, de acordo com os critérios de Pretchel (de um a cinco, significando de sono profundo a choro), (61). Das mesmas imagens, os escores das escalas de dor em cada um dos períodos de observação foram consolidados por dois observadores treinados, de forma independente, levando em consideração os comportamentos descritos para as escalas NFCS (17), NIPS (48) e COMFORT modificada (49).

A ACP foi medida por um medidor de condutância elétrica (Skin Conductance Measurement System-SCMS, Med-Storm Innovation, Oslo, Norway), usando uma corrente alternada de 60 Hz (Figura 3). O aparelho emite uma voltagem de 50 mV através de um sistema de três eletrodos (Stress Detector Electrodes, Med-Storm Innovation, Oslo, Norway). O primeiro é o eletrodo de medida, o segundo o de contracorrente e um terceiro, o eletrodo neutro. Este último garante uma voltagem constante até a camada mais interna do estrato córneo para o eletrodo de medida (62), conforme visto nas Figuras 4 e 5.

Os eletrodos foram fixados por meio de discos adesivos no pé esquerdo 10 minutos antes do início da observação. O eletrodo de medida foi posicionado no terço anterior da superfície plantar, imediatamente antes dos espaços interdigitais, o de contracorrente na face lateral externa do terço posterior e o neutro na face lateral interna do terço posterior, de acordo com as orientações de Storm e Edelberg (43,63), conforme visto na Figura 5.

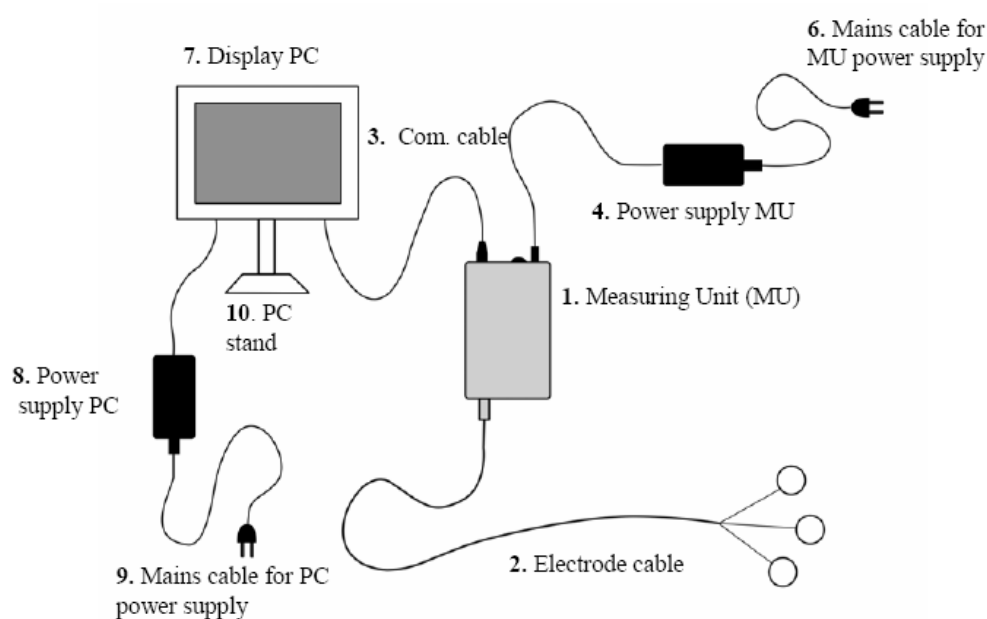


Figura 4 – Diagrama esquemático do aparelho usado para medir a atividade de condutância da pele

Fonte: Med Storm Stress Detector™. User manual version 1.0 English (Europe) Part number 4001 (62). Reprodução autorizada pelo autor



Figura 5 – Imagem mostrando o local de colocação dos eletrodos no pé do recém-nascido

Fonte: Med Storm Stress Detector™. User manual version 1.0 English (Europe) Part number 4001 (62). Reprodução autorizada pelo autor

O SCMS utiliza um programa computacional que registra o NOps e calcula a ASC. O NOps corresponde à taxa de disparos do SNS. As ondas correspondem

aos vales e picos derivados dos impulsos elétricos. Elas são definidas quando a derivada for zero, sendo observáveis em formato gráfico digital em um monitor acoplado ao sistema. A amplitude da onda corresponde à altura da onda, desde o fundo do vale antes do pico até a altura deste último, e é medida em microsiemens (μS). A ASC corresponde à força com que os disparos do SNS são efetuados e é calculada em microsiemens segundo (μSseg), pela soma das áreas sob os grandes e pequenos picos, como visto na Figura 6.

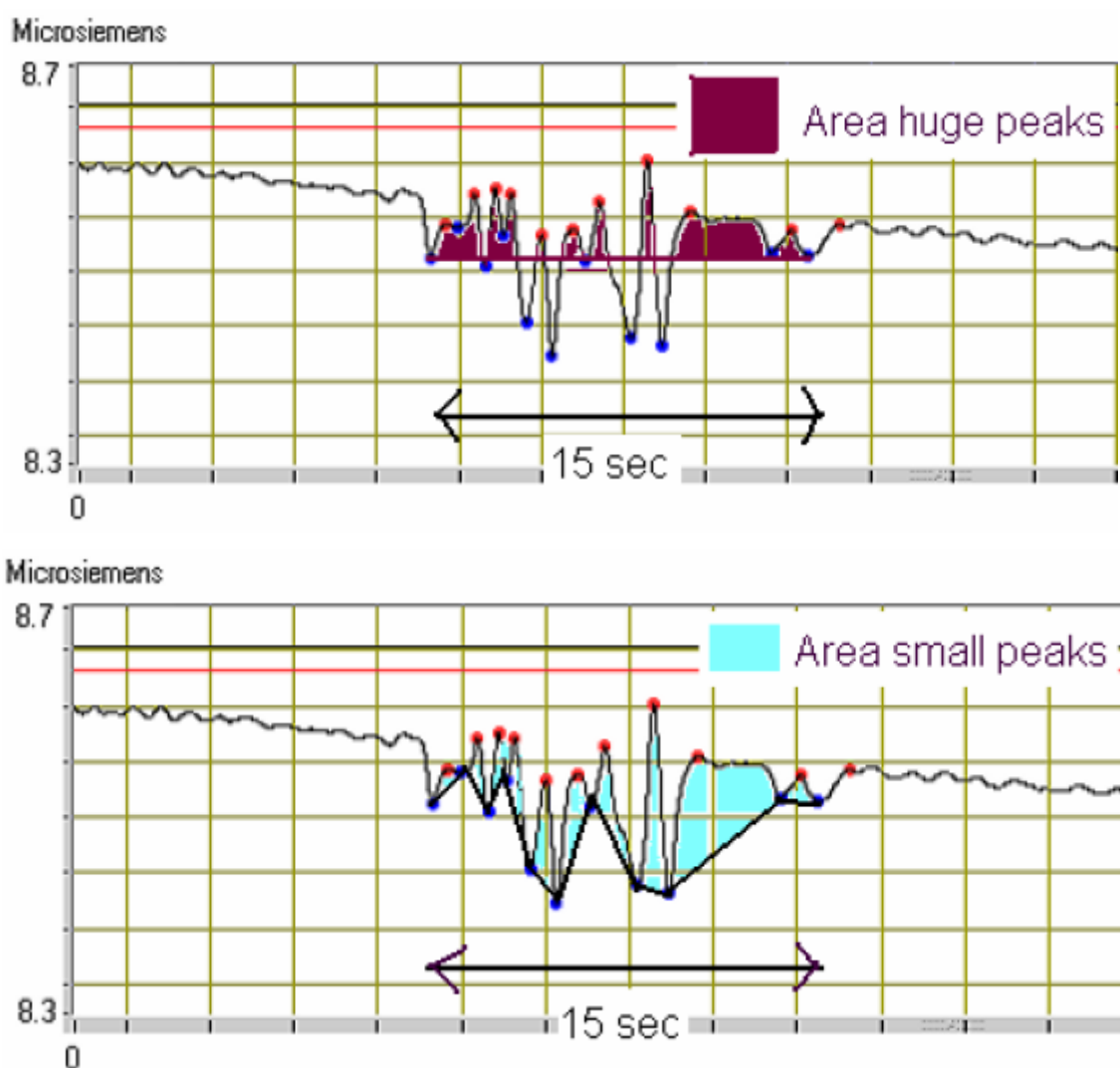


Figura 6. Representação esquemática do cálculo da ASC, mostrando a área sobre os grandes e os pequenos picos.

Fonte: Med Storm Stress Detector™. User manual version 1.0 English (Europe) Part number 4001 (62). Reprodução autorizada pelo autor

O programa possui uma configuração básica de calibração da sensibilidade em $0,02 \mu\text{S}$ para os valores dos NOps e ASC. A fim de eliminar artefatos eletrônicos, a inclinação da curva (tempo para alcançar o pico) foi ajustada para menos de $2\mu\text{S}/\text{segundo}$. O NOps e a ASC foram analisados em intervalos de tempo de 15 segundos, registrados nos últimos 15 segundos do período antes e nos primeiros 15 segundos dos períodos durante e depois da punção do calcanhar. Todos os dados para a ACP foram analisados e armazenados em um computador exclusivo.

Todos os dados foram coletados pelo mesmo pesquisador e armazenados em um banco de dados eletrônico. Consentimento livre e esclarecido de um dos pais foi obtido antes da inclusão do RN no estudo. Esta pesquisa seguiu as recomendações da resolução 196/96 do Conselho Nacional de Pesquisa e foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília.

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O coeficiente de correlação intraclasse (CCI) para dois fatores, com um intervalo de confiança de 95% e baseado em concordância absoluta, foi usado com o fim de verificar a confiabilidade entre os observadores para as escalas comportamentais de dor. Valores superiores a 0,75 representam uma concordância excelente, entre 0,40 e 0,75, uma concordância moderada e inferiores a 0,40 uma baixa concordância.

O teste não paramétrico de Friedman foi usado para comparar as intensidades das variáveis NOps, ASC, FC máxima, SATO_2 mínima e escalas NFCS, NIPS e COMFORT modificada nos períodos antes, durante e depois da punção do calcanhar. O mesmo teste foi usado para verificar se houve mudança de estado comportamental durante a punção.

O teste não paramétrico de Wilcoxon foi usado para determinar a significância estatística dos parâmetros reatividade e direção, quando comparadas as diferenças durante-antes dos valores obtidos para as variáveis estudadas. O mesmo teste também foi utilizado para determinar a significância estatística do parâmetro regulação, quando comparadas as diferenças depois-durante dos valores obtidos para as variáveis estudadas.

Análise de regressão linear foi usada para verificar a inclinação das medidas de dor entre os períodos durante e antes. Para testar se a ACP correlacionava-se com a FC máxima, com a SATO₂ mínima e com as escalas comportamentais durante a punção do calcânhar, também foi usada a análise de regressão linear. As diferenças de escores durante-antes das demais medidas fisiológicas e das escalas comportamentais foram usadas como variáveis independentes, tendo as diferenças de escores durante-antes dos níveis da ACP como variáveis dependentes.

Os testes ANCOVA unidirecional, Kolmogorov-Smirnov e Levine foram usados para verificar se as variáveis clínicas e demográficas teriam algum efeito sobre os resultados das variáveis estudadas durante a punção do calcânhar. Um nível de $p < 0,05$ foi considerado como limiar para significância estatística.

4 RESULTADOS

4.1 CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA

Tabela 1 - Características demográficas e clínicas dos RNs

Características demográficas e clínicas (N=41)	Valor
Idade materna em anos (m±dp)	28,4 ± 6,1
Idade gestacional em semanas (m±dp)	38,9 ± 1,3
Tipo de anestesia materna [n(%)]	
nenhuma	2 (4,9%)
local	11 (26,8%)
regional	26 (63,4%)
geral há mais de 24 horas	2 (4,9%)
Tipo de parto [n(%)]	
vaginal	13 (31,7%)
cesareano	28 (68,3%)
Suporte de reanimação na sala de parto [n(%)]	
nenhum	22 (53,7%)
oxigênio inalatório	16 (39%)
ventilação com pressão positiva e máscara	3 (7,3%)
Peso ao nascer em gramas (m±dp)	3184 ± 692
Gênero [n(%)]	
masculino	21 (51,2%)
feminino	20 (48,8%)
Diagnóstico do RN [n(%)]	
adequado para idade gestacional	3 (7,3%)
grande para a idade gestacional	16 (39%)
pequeno para a idade gestacional	17 (41,5%)
mãe diabética	5 (12,2%)
Amamentou 1 hora antes [n(%)]	
não	13 (31,7%)
sim	28 (68,3%)
Recebeu glicose por via oral 2 minutos antes [n(%)]	
não	37 (90,2%)
sim	4 (9,8%)
Idade no momento do procedimento em horas (m±dp)	18 ± 9,9
Número de punções de calcanhar prévios (m±dp)	2,3 ± 1,0
Número de procedimentos dolorosos prévios (m±dp)	2,6 ± 1,3

Notas: m= média; dp= desvio-padrão; n= número; %= porcentagem

Os dados do NOps de dois RNs e da ASC de oito RNs não foram considerados, porque os seus registros apresentavam ruídos eletrônicos atribuídos à corrente alternada de 60 Hz das instalações elétricas do ambiente clínico de

coleta, desde que o SCMS foi dimensionado para uso com uma corrente alternada de 50 Hz. As FC máximas de dois RNs e as SATO₂ mínimas de quatro RNs não foram consideradas devido a falhas de coleta atribuídas a não estabilização das oscilações no oxímetro de pulso. Os dados restantes desses sujeitos foram considerados.

4.2 CONFIABILIDADE ENTRE OS OBSERVADORES PARA AS ESCALAS COMPORTAMENTAIS

As escalas NIPS e COMFORT modificada apresentaram excelentes concordâncias entre os observadores nos períodos antes e depois da punção de calcanhar (CCI acima de 0,75) e moderadas concordâncias entre os observadores no período durante a punção do calcanhar (CCI entre 0,40 e 0,75). A escala NFCS apresentou moderada concordância entre os observadores nos períodos antes e depois da punção do calcanhar e baixa concordância entre os observadores durante (CCI abaixo de 0,40). Como as três escalas apontavam concordâncias significativas entre os observadores nos três períodos, utilizou-se a média dos escores consolidados pelos observadores neste estudo (Tabela 2).

Tabela 2 - Coeficientes de correlação intraclassa entre os observadores para escalas comportamentais NFCS, NIPS e COMFORT modificada, antes, durante e depois da punção de calcanhar

Período / Escala	NFCS	NIPS	COMFORT modificada
Antes	0,60**	0,82**	0,76**
Durante	0,27**	0,44**	0,56**
Depois	0,71**	0,79**	0,82**

Notas: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; NFCS = *Neonatal Facial Coding System*; NIPS = *Neonatal Infant Pain Scale*

4.3 ESTADO COMPORTAMENTAL BASAL DOS RECÉM-NASCIDOS E ANÁLISE DA RELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS CLÍNICAS E AS MEDIDAS DE DOR

A análise do estado comportamental mostrou que os RNs estavam despertos no início da observação (escore de Pretchel = 2,3) havendo um significativo aumento durante a punção do calcanhar (escore de Pretchel = 4,9; $\chi^2 = 56,66$; $p < 0,01$). Os testes ANCOVA unidirecional, de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e o de Levine para variância homogênea foram não significantes ($p > 0,05$), mostrando a ausência de correlação entre as variáveis clínicas e demográficas e as medidas de dor estudadas. Dessa forma, todos os sujeitos foram incluídos no estudo.

4.4 MEDIDAS DE INTENSIDADE DA ATIVIDADE DE CONDUTÂNCIA DA PELE, DA FREQUÊNCIA CARDÍACA MÁXIMA, DA SATURAÇÃO DE OXIGÊNIO MÍNIMA E DAS ESCALAS COMPORTAMENTAIS DE DOR

A análise da intensidade mostrou que o NOps, a ASC, a FC máxima, a SATO₂ mínima e as escalas comportamentais de dor foram significativamente diferentes entre os períodos antes, durante e depois da punção de calcanhar, como pode ser observado na Tabela 3.

Tabela 3 – Média (mínimos e máximos) da ACP, da FC máxima, da SATO₂ mínima e das escalas comportamentais nos períodos antes, durante e depois da punção de calcanhar em 41 RNs de termo saudáveis

Medidas	Antes	Durante	Depois	p
NOps	0,12 (0-0,36)	0,24 (0-0,6)	0,13 (0-0,56)	<0,01
ASC (μ Sseg)	1,43 (0-6,45)	1,85 (0-9,77)	1,10 (0-10,91)	<0,05
FC máxima (bpm)	139 (112-160)	149 (119-185)	139 (119-168)	<0,01
SATO ₂ mínima (%)	94 (87-98)	92 (80-98)	93 (66-98)	<0,01
Escala NFCS	2,05 (0-7)	6,22 (4-7)	5,12 (0-8)	<0,01
Escala NIPS	2,37 (0-7)	5,54 (1-7)	2,41 (0-7)	<0,01
Escala COMFORT modificada	12,1 (6-28)	23,39 (17-30)	13,12 (6-27)	<0,01

Notas: ACP= atividade de condutância da pele; NOps= número de ondas por segundo; ASC= área sob a curva das ondas; μ Sseg = microsiemens segundo; FC=

frequência cardíaca; bpm = batimentos por minuto; SATO₂= saturação de oxigênio; % = porcentagem ; NFCS= *Neonatal Facial Coding System*; NIPS= *Neonatal Infant Pain Scale*

4.5 MEDIDAS DE REATIVIDADE, REGULAÇÃO E INCLINAÇÃO DA ATIVIDADE DE CONDUTÂNCIA DA PELE, DA FREQUÊNCIA CARDÍACA MÁXIMA, DA SATURAÇÃO DE OXIGÊNIO MÍNIMA E DAS ESCALAS COMPORTAMENTAIS DE DOR

Tabela 4 - Média (mínimos e máximos) das diferenças durante-antes, depois-durante e depois-antes para a ACP, a FC máxima, a SATO₂ mínima e as escalas comportamentais em 41 RNs de termo saudáveis submetidos à punção de calcanhar

Medidas	Durante-Antes	Depois-Durante	Depois-Antes
NOps	0,12(-0,2—0,53) **	-0,11(-0,86—0,4) **	0,08 (-0,2—0,3)
ASC (μSseg)	0,42(-4,94--8,26)	-0,74(-9,77—8,07) *	-0,32(-5,32—9,97)
FC máxima (bpm)	9,72(-39—52) **	-9,71(-45—21) **	0,21(-36—37)
SATO ₂ mínima (%)	-1,68(-13—4) **	1,19(-30—14) **	-0,54(-29—8)
Escala NFCS	4,17(-1—7) **	-2,64(-9—2) **	3,07(-2—8)
Escala NIPS	3,17(-2—7) **	-3,12(-7—2) **	0,05(-7—7)
Escala COMFORT modificada	11,29(1—20) **	-10,27(-17—1) **	1,02(-10—16)

Notas: * p < 0,05; ** p < 0,01; ACP= atividade de condutância da pele; NOps= número de ondas por segundo; ASC= área sob a curva das ondas; μSseg = microsiemens segundo; FC= frequência cardíaca; bpm = batimentos por minuto; SATO₂ = saturação de oxigênio; % = porcentagem ; NFCS= *Neonatal Facial Coding System*; NIPS= *Neonatal Infant Pain Scale*

O NOps, a FC máxima, a SATO₂ mínima e todas as escalas comportamentais de dor atenderam aos parâmetros psicofísicos reatividade e direção. As diferenças durante-antes dos valores medidos, refletindo a reatividade e a direção para o NOps (Z = -4,20, p < 0,01), a FC máxima (Z = -3,50, p < 0,01), a SATO₂ mínima (Z = 3,03, p < 0,01) e as escalas NFCS (Z = -11,34, p < 0,01), NIPS

($Z = -8,47$, $p < 0,01$) e COMFORT modificada ($Z = -15,32$, $p < 0,01$), foram estatisticamente significativas. A ASC, embora tenha aumentado de intensidade durante a punção, não atendeu ao parâmetro reatividade ($Z = -0,539$, $p > 0,05$). O parâmetro regulação, obtido pela análise da diferença depois-durante dos valores medidos, foi significativo para todas as variáveis estudadas: NOps ($Z = -3,48$, $p < 0,01$), ASC ($Z = -2,038$, $p < 0,05$), FC máxima ($Z = -3,50$, $p < 0,01$), SATO₂ mínima ($Z = -2,60$, $p < 0,01$) e escalas NFCS ($Z = 3,07$, $p < 0,01$), NIPS ($Z = 3,88$, $p < 0,01$) e COMFORT modificada ($Z = 14,7$, $p < 0,01$).

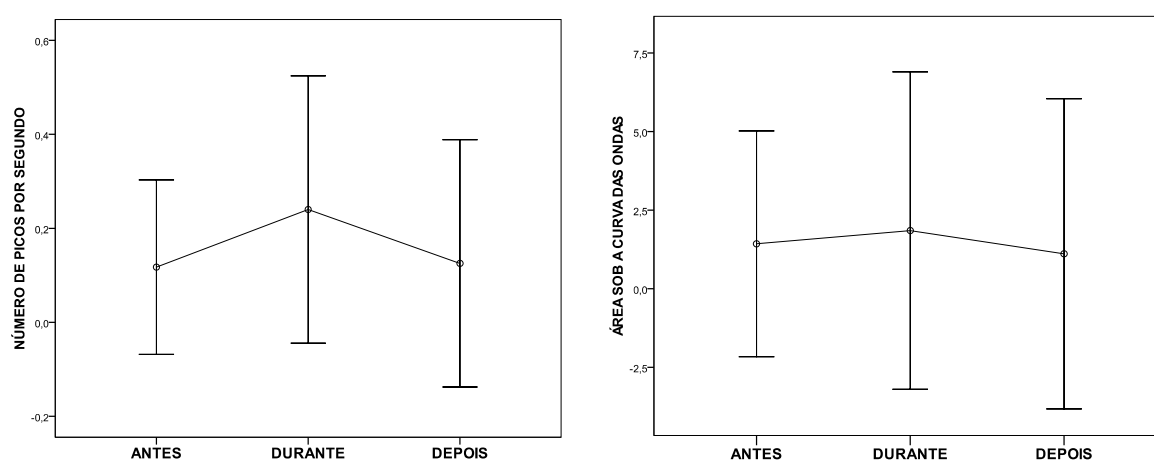


Figura 7 – Representação gráfica do NOps e da ASC (médias e 2 desvios-padrão), em 15 segundos, para os períodos antes, durante e depois da punção de calcanhar

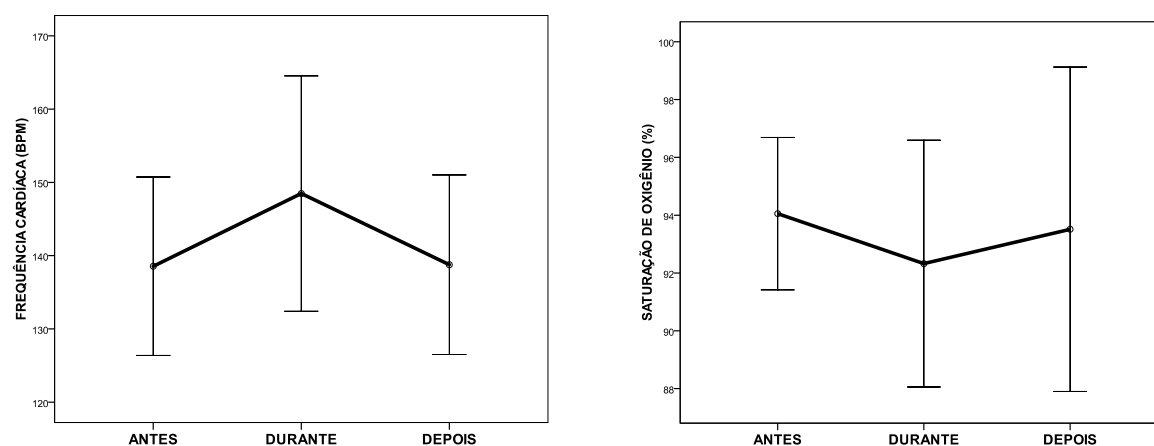


Figura 8 – Representação gráfica da FC máxima e da SATO₂ mínima (médias e 2 desvios-padrão), em três minutos, para os períodos antes, durante e depois da punção de calcanhar

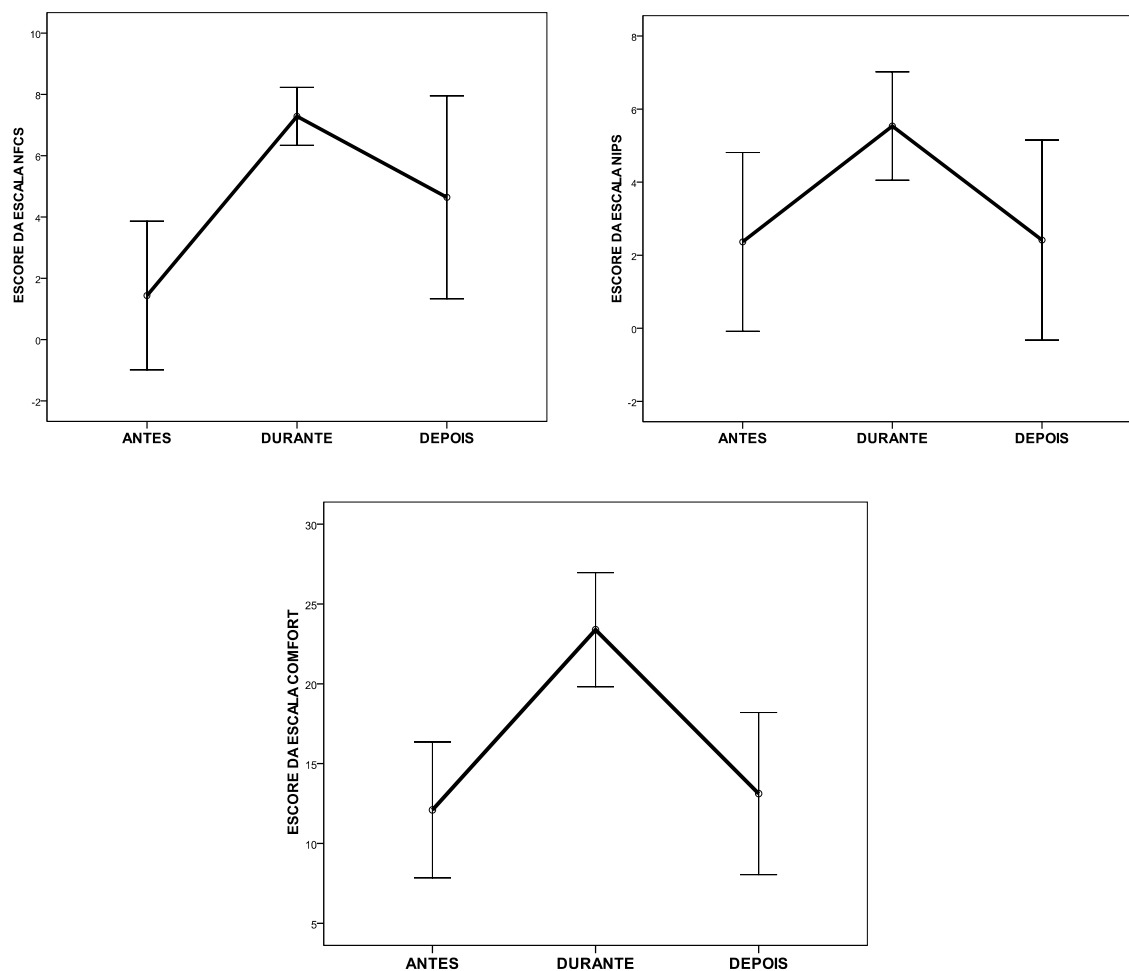


Figura 9 – Representação gráfica dos escores das escalas NFCS, NIPS e COMFORT modificada (médias e 2 desvios-padrão), em três minutos, para os períodos antes, durante e depois da punção de calcanhar

Os valores medidos voltaram à linha de base ao final do período de recuperação de 15 segundos para o NOps e a ASC e, ao final de 3 minutos, para a FC máxima, a SATO₂ mínima e as escalas comportamentais de dor, não havendo diferença significativa entre os períodos antes e depois (Tabela 4 e Figuras 7, 8 e 9).

A análise de regressão linear mostrou que a inclinação da curva entre os períodos antes e durante a punção do calcanhar foi estatisticamente insignificante para as variáveis NOps ($R = 0,19$, $R^2 = 0,04$; $p > 0,05$), ASC ($R = 0,23$, $R^2 = 0,05$, $p > 0,05$), FC máxima ($R = 0,26$, $R^2 = 0,07$, $p > 0,05$) e escala NFCS ($R = 0,42$, $R^2 = 0,00$, $p > 0,05$). Entretanto, foi significativa para a SATO₂ mínima ($R = 0,58$, $R^2 =$

0,34, $p < 0,01$) e para as escalas NIPS ($R = 0,33$, $R^2 = 0,11$, $p < 0,05$) e COMFORT modificada ($R = 0,49$, $R^2 = 0,23$, $p < 0,05$).

4.6 CORRELAÇÃO ENTRE A ATIVIDADE DE CONDUTÂNCIA DA PELE E AS MEDIDAS FISIOLÓGICAS FREQUÊNCIA CARDÍACA MÁXIMA, SATURAÇÃO DE OXIGÊNIO E AS ESCALAS COMPORTAMENTAIS DE DOR

Não foi encontrada correlação entre as variáveis da ACP (NOps e ASC) e as variáveis fisiológicas (FC máxima e SATO₂ mínima) e comportamentais (escalas NFCS, NIPS e COMFORT modificada). A análise de regressão linear das diferenças durante-antes para as variáveis NOps, ASC, FC máxima, SATO₂ mínima e as escalas NFCS, NIPS e COMFORT modificada mostrou-se não significativa ($R = 0,35$, $R^2 = 1,22$, $p > 0,05$).

5 DISCUSSÃO

Este estudo comparou em 41 RNs de termo saudáveis submetidos à punção do calcanhar as respostas de dois indicadores fisiológicos – FC máxima e SATO₂ mínima – e de três escalas comportamentais de dor - NFC, NIPS e COMFORT – com o NOps e a ASC de um novo marcador fisiológico de dor, a ACP.

5.1 DA CONFIABILIDADE ENTRE OS OBSERVADORES PARA AS ESCALAS COMPORTAMENTAIS

Os coeficientes de correlação intraclasse encontrados nesta pesquisa, embora mostrassem concordância significativa entre os dois observadores para as três escalas comportamentais, foram bem inferiores aos encontrados em outros estudos. Grunau e Kraig, idealizadores da escala NFCS, obtiveram um coeficiente de correlação entre observadores de 0,88 (17). Guinsburg e colaboradores, comparando o escore obtido para a escala NFCS por dois observadores em 22 prematuros não expostos a estímulos desagradáveis durante 10 minutos, num primeiro momento à beira do leito e num segundo momento em um filme três meses após a observação inicial, encontraram para estes dois momentos coeficientes de correlação intraclasse de 0,62 e 0,61, respectivamente (44). Lawrence e colaboradores, propositores da escala NIPS, encontraram elevada confiabilidade entre observadores, de 0,92 a 0,97 (48). van Dijk e colaboradores, que modificaram a escala COMFORT, encontraram confiabilidade entre observadores com Kappa variando de 0,63 a 0,93 (49). Essas evidências e o encontro de correlação entre os dois observadores para as três escalas deste estudo justificaram a utilização dos seus escores nesta pesquisa como padrão de dor em comparação com as variáveis NOps, ASC, FC máxima e SATO₂ mínima.

5.2 PARÂMETROS DE INTENSIDADE DA ATIVIDADE DE CONDUTÂNCIA DA PELE, DA FREQUÊNCIA CARDÍACA MÁXIMA, DA SATURAÇÃO DE OXIGÊNIO MÍNIMA E DAS ESCALAS COMPORTAMENTAIS DE DOR

O NOps reflete a taxa de disparos do SNS desencadeada pelo estímulo doloroso na superfície cutânea, enquanto a ASC está relacionada à força desses disparos (43). Até recentemente, usava-se a amplitude das ondas como a medida dessa força. Atualmente, consolida-se a idéia de que a ASC tem mais poder do que

a amplitude das ondas em medir essa força. Apenas um trabalho já aceito e ainda não publicado foi identificado usando a ASC como segundo componente da ACP. Embora não sejam medidas de grandeza semelhante, neste estudo comparamos os valores da ASC (em μSseg) com os valores da amplitude das ondas (em μS).

As intensidades do NOps obtidos neste estudo nos três períodos (ver Tabela 3) foram bem maiores do que os encontrados por Harrison e colaboradores em RNs prematuros de diversas idades pós-natais submetidos à punção capilar (de 0,05; 0,08 e 0,06 ondas por segundo, respectivamente para antes, durante e após a punção de calcanhar), (64). Storm, em prematuros submetidos à punção de calcanhar, obteve um NOps de zero, 0,03 e zero, respectivamente, para antes, durante e depois da punção de calcanhar (54). Gjerstad e colaboradores, em crianças com idades entre um dia e 11 anos de idade, submetidas à intubação orotraqueal para ventilação assistida, encontraram um NOps de zero, 0,045 e zero, respectivamente, para antes, durante e depois da aspiração traqueal (58). O mesmo comportamento citado para o NOps aconteceu com a ASC na presente pesquisa. As intensidades da ASC foram bem superiores aquelas encontradas em outros estudos utilizando a amplitude das ondas. Os mesmos autores citados anteriormente encontraram semelhantes amplitudes das ondas, de zero, 0,03 e zero μS , respectivamente, para os períodos antes, durante e depois da punção do calcanhar (54,58), valores proporcionalmente bem inferiores aos encontrados no presente estudo. Embora as grandezas das medidas para a ASC e a amplitude das ondas sejam diferentes (μSseg e μS), a tendência de variação e significância se manteve.

Pensou-se em duas explicações para essa intensa resposta do NOps e da ASC: 1) Embora não tenha havido interferência das variáveis clínicas sobre os resultados, como se pode depreender da aplicação dos testes ANCOVA unidirecional, de normalidade Kolmogorov-Smirnov e o de Levine, uma possível exposição dos RNs a estresse intra-uterino, devido a maioria dos RNs ser grande ou pequeno para a idade gestacional, ou filho de diabética, interferiu com os resultados, aumentando a ACP. Existe evidência que o estresse materno pode aumentar a ACP materna e a FC fetal (55). Gjerstad e colaboradores mencionam que o aumento do nível do estresse pós-cirúrgico pode aumentar a sensibilidade da ACP (58). RNs expostos a um grande número de punções tendem a apresentar

resposta mais intensa ao estímulo doloroso (11), contrário ao que foi visto neste estudo, onde os RNs foram submetidos em média a 2,6 punções prévias, fato que não contribuiu para reduzir a intensidade da ACP. 2) o estado comportamental basal dos RNs exerceria um efeito potencializador na ACP, desde que os RNs estavam despertos antes da punção do calcanhar (escore de Pretchel = 2,1), valor bem superior ao encontrado em um estudo com prematuros, de 1,8 (54). Em outro estudo ainda não publicado, RNs de termo com 22 dias de vida, em repouso (escore de Pretchel = 1), observados seis vezes em 48 horas, mostraram um NOps médio de 0,002 (variando entre zero e 0,04 ondas por segundo), reforçando a idéia que o estado comportamental do recém-nascido pode estar associado à ACP.

No presente estudo a FC máxima aumentou significativamente em intensidade durante a punção do calcanhar e retornou aos níveis da linha de base três minutos depois. Como esperado, a SATO₂ mínima caiu significativamente em intensidade durante a punção do calcanhar, retornando a níveis próximos à linha de base três minutos depois. Variações da FC e da SATO₂, analisadas isoladamente, representam marcadores de baixa especificidade no diagnóstico de dor, porque esses indicadores podem reagir significativamente ou paradoxalmente tanto a estímulos dolorosos como a estímulos não dolorosos. Além disso, situações de caráter individual ou ambiental, tais como febre, cardiopatia, pneumopatia, neuropatia, uso de medicamentos analgésicos e sedativos e ambiente estressante podem alterar seus resultados (1,2,44,45,55). As intensidades encontradas neste estudo para a FC máxima e a SATO₂ mínima nos três períodos foram semelhantes às encontradas em outros estudos (45,58), confirmando a expectativa em torno de suas respostas a um estímulo doloroso. Duas limitações foram aqui verificadas: a não determinação dessas medidas por um programa computadorizado e sim pela observação em quadro parado segundo a segundo das imagens gravadas e o não estabelecimento do exato momento em que foram atingidos a FC máxima e a SATO₂ mínima.

As intensidades dos escores das três escalas de dor em cada um dos períodos estudados foram significativamente diferentes. Os escores aumentaram durante a punção, retornando a um nível levemente maior que o encontrado no período basal, comportamento semelhante ao esperado em uma medida fisiológica de dor (ver Tabela 3). A recuperação do escore da escala NFCS no período depois

foi quantitativamente menor do que para as demais escalas. A expressão facial parece ser o indicador não invasivo mais sensível e específico na avaliação da dor em RNs de termo e prematuros (1,2,18). Considerando-se que a escala NFCS é constituída exclusivamente por indicadores de expressão facial e que o choro e a movimentação corporal são outros dois indicadores da dimensão do comportamento com forte apelo de dor em crianças não verbais ou pré-verbais (1,2,17), pode-se afirmar que a NFCS tem maior efeito discriminante de dor três minutos após a aplicação do estímulo doloroso do que as escalas NIPS e COMFORT modificada.

5.3 PARÂMETROS DE REATIVIDADE, REGULAÇÃO E INCLINAÇÃO DA ATIVIDADE DE CONDUTÂNCIA DA PELE, DA FREQUÊNCIA CARDÍACA MÁXIMA, DA SATURAÇÃO DE OXIGÊNIO MÍNIMA E DAS ESCALAS COMPORTAMENTAIS DE DOR

A resposta simpática desencadeada pelo estímulo doloroso ao nível das glândulas sudoríparas - produzindo suor e aumentando a flutuação das ondas de condutância elétrica, base para o cálculo do NOps - acontece cerca de dois segundos após o estímulo doloroso (53,54,56). Neste estudo foi observada significativa reatividade, de 0,12 para 0,24 ondas por segundo, em um período de 15 segundos após a punção do calcanhar. Estes valores foram semelhantes aos NOps encontrados por Hellerud e Storm durante punção de calcanhar em RNs de termo com uma semana de vida, que aumentaram de 0,22 para 0,25 ondas por segundo (65), e muito maiores que os encontrados por Harisson e colaboradores em RNs prematuros de diversas idades pós-natais, onde houve um aumento de 0,03 ondas por segundo (64). Storm encontrou um aumento de zero para 0,03 ondas por segundo após punção de calcanhar em RNs prematuros (54), valor durante a punção quase 10 vezes menor o encontrado neste estudo, diferença que também foi atribuída à variável idade gestacional, desde que em nossa amostra não foram estudados RN prematuros.

A reatividade da ASC na presente pesquisa foi não significante, embora a ASC tenha aumentado de 1,43 para 1,85 μ Sseg entre os períodos antes e durante a punção do calcanhar. Tendência semelhante foi encontrada em dois estudos utilizando a amplitude das ondas como componente da ACP, com um aumento na

amplitude de zero para $0,03 \mu\text{S}$ em ambos (54,58). Até recentemente a amplitude das ondas era utilizada como a variável secundária da ACP, o que dificultou a comparação com os resultados da ASC aqui obtidos. A ausência de reatividade da ASC foi atribuída a um curto intervalo de observação, de 15 segundos, pois ao observamo-la em períodos de 30 e 180 segundos, fora do contexto dessa pesquisa, a mesma mostrou-se presente, fato a ser investigado posteriormente. A maioria dos estudos sobre reatividade de indicadores fisiológicos utiliza intervalos de tempo entre 30 segundos e cinco minutos. No caso da ACP, estudos anteriores utilizaram períodos de tempo entre 15 segundos e três minutos, argumento usado para a escolha de cada período de tempo de observação utilizado nesta pesquisa. Cabe ressaltar que um período de pelo menos 10 vezes a duração da onda do indicador tem sido recomendado em estudos de reatividade com indicadores fisiológicos (2). Neste estudo, durante a punção, foram observadas em média 0,24 ondas por segundo, ou seja, uma onda a cada quatro segundos, o que exigiria um tempo de 40 segundos de observação para cumprir essa norma, fato que hipotetiza-se ter limitado a reatividade da ASC durante o tempo de observação de 15 segundos e corroborado a sua presença quando da análise em 30 ou 180 segundos.

Houve significativa reatividade da FC máxima e da SATO_2 mínima (Tabela 4). As reatividades da FC e da SATO_2 , como exposto anteriormente, se analisadas isoladamente são considerados marcadores de baixa especificidade para o diagnóstico de dor (1,2,46). Ainda que exista uma tendência de aumento da FC e de uma queda da SATO_2 durante o evento doloroso, a diferença encontrada entre os períodos antes e durante nem sempre é significativa (58). Amamentação ou uso oral de glicose antes do evento doloroso pode mudar a resposta da FC e da SATO_2 (57). Na amostra deste estudo, a maioria dos RNs foi amamentada na última hora que antecedeu a punção e somente quatro receberam glicose por via oral dois minutos antes. Não houve interferência dessas covariáveis com os resultados encontrados, como visto pela análise com ANCOVA unidirecional. Estes achados estão em concordância com um estudo onde RNs prematuros foram alimentados ou receberam glicose por via oral, o qual mostrou redução do tempo de choro, mas não mostrou efeito da alimentação ou da glicose oral sobre a FC e a ACP (57). Em contraste, dois outros estudos, um com RNs de termo, não expostos à glicose oral (46), o outro, com prematuros expostos à glicose oral (66), mostraram diminuição

da FC no período que se seguiu ao evento doloroso. Pereira e colaboradores, em RNs expostos à punção capilar, observaram aumento inicial da $SATO_2$, seguido por queda somente um minuto após o procedimento, uma resposta paradoxal à descrita por outros autores (46). Guinsburg e colaboradores confirmaram esse comportamento paradoxal da $SATO_2$ ao verificarem o impacto da analgesia em prematuros ventilados. Eles não encontraram aumento da $SATO_2$ no período pós-analgesia, concluindo que no âmbito do modelo de dor continuada a $SATO_2$ não constitui um indicador sensível (67). Assim, a $SATO_2$ seria uma medida aceitável de dor se associada a outros métodos de avaliação e, adicionalmente, se levada em consideração conjuntamente com outras variáveis do RN.

Ainda como foi visto anteriormente, os escores da escalas NFCS e NIPS aumentaram significativamente durante a punção do calcanhar, retornando a níveis levemente maiores que os do período basal no período depois do procedimento (Tabelas 3 e 4). Estes achados estão em conformidade com Pereira e colaboradores, que mostraram que o escore da escala NFCS reagiu de zero a oito em até um minuto após o procedimento doloroso, retornando ao nível basal após três minutos, enquanto que a o escore da escala NIPS variou de zero a sete em até um minuto após o procedimento doloroso, retornando ao nível basal após três minutos (46). Entretanto, em RNs prematuros recebendo analgésicos opióides e submetidos a estímulos dolorosos, a redução do escore da NFCS ocorreu somente 30 minutos após a administração dessas drogas, mostrando que essa escala comportamental pode não ser um indicador sensível de dor na monitorização imediata da administração de analgésicos (67). Uma explicação para essa regulação mais tardia seria o processamento mais lento da resposta facial e motora no tálamo e córtex somatossensório, ao contrário das respostas autonômicas, que são processadas rapidamente ao nível dos núcleos do tronco cerebral, onde se encontram os receptores de opióides que regulam a liberação de substâncias inibitórias da resposta simpática.

O desempenho da escala COMFORT foi similar ao obtido com as escalas NFCS e NIPS (Tabelas 3 e 4). Um estudo sobre o comportamento psicofísico da escala COMFORT após aspiração traqueal em crianças de um dia a 11 anos de idade mostrou significativas reatividade e regulação do escore em até dois minutos após o procedimento (de sete para 12,5, entre antes e durante, e de 12,5 para oito,

entre durante e depois) (58), porém com valores bem inferiores aos encontrados nesta pesquisa.

As demais variáveis estudadas apresentaram significativa regulação. O NOps e a ASC diminuíram significativamente, de 0,24 para 0,13 ondas por segundo e de 1,85 para 1,1 μ Sseg, respectivamente. Esses achados foram consistentes com os encontrados por outros pesquisadores (54,56,57,65), salvo o fato dos níveis aqui encontrados serem muito mais elevados. A FC máxima durante o período de recuperação retornou a um valor semelhante ao da linha de base e a regulação foi significativa (Tabelas 3 e 4). A SATO₂ mínima aumentou no período depois do procedimento doloroso, não retornando aos valores da linha de base. Entretanto, a regulação da SATO₂ foi considerada significativa (Tabelas 3 e 4). Estes comportamentos estão em conformidade com o esperado para indicadores fisiológicos, nos quais os valores no período de recuperação devem manter-se levemente acima daqueles encontrados no período basal (37). Uma explicação para a recuperação do NOps em 15 segundos e da FC máxima e da SATO₂ mínima em até três minutos seria que curtos intervalo de tempo são suficientes para a regulação da resposta pelo SNS. Entretanto, estudo com 70 RNs de termo encontrou recuperação da FC somente 10 minutos depois da punção e para a SATO₂ somente no quinto minuto depois da punção, apontando para a inconsistência e falta de sensibilidade da FC e da SATO₂ na avaliação da dor. Esses autores atribuíram o resultado inesperado a falhas no manuseio do aparelho medidor (oxímetro de pulso), sugerindo o uso da eletrocardiografia associada à oximetria de pulso na medição da FC (46).

Não foi identificado estudo a respeito do parâmetro inclinação envolvendo a ACP, a FC, a SATO₂ e as escalas comportamentais de dor. Neste estudo, a inclinação foi significativa para as variáveis SATO₂ mínima e escalas NIPS e COMFORT e não significativa para as demais variáveis. A inclinação de uma medida prevê o nível da intensidade da resposta durante o evento doloroso. Segundo Berntson e colaboradores, quando a intensidade da linha de base é grande, geralmente a inclinação é pequena e a capacidade de se prever a resposta diminui (60). Neste estudo, a SATO₂ mínima no período antes foi similar à descrita na literatura e a presença de inclinação para a SATO₂ mínima foi considerado um parâmetro psicofísico previsível para um indicador fisiológico de dor. Do mesmo

modo, os escores das escalas comportamentais NIPS e COMFORT no período antes, de 2,05 e 12,1 respectivamente, foram considerados elevados quando comparados aos escores de zero e de sete encontrados em outros dois estudos (46,58), o que não justificaria o achado de inclinação significativa para essas duas medidas. Por outro lado, as intensidades da ACP, da FC e da escala NFCS no período antes foram bem superiores às encontradas em um desses estudos (46), fato que poderia justificar a ausência de inclinação significativa para elas.

5.4 DA ANÁLISE DA RELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS

Este estudo não encontrou correlação significativa entre a ACP e as variáveis FC máxima, SATO₂ mínima e escalas NFCS, NIPS e COMFORT. O achado de correlação entre ACP e os demais indicadores de dor utilizados nesta pesquisa não apresenta consistência. Um estudo com RNs prematuros de 29 semanas gestacionais ou mais concluiu que, embora o NOps, a amplitude das ondas e o estado comportamental tivessem aumentado significativamente durante a punção capilar, não houve correlação entre eles. Além disso, analisando a existência de associação entre idade gestacional, idade pós-natal, número de coletas prévias de sangue, ACP e estado comportamental durante o procedimento doloroso, concluiu-se que apenas o número de coletas prévias estava significativamente associado à ACP (54). Outro estudo, com 27 RNs de termo entre três e cinco dias de idade, envolvendo ACP e escala PIPP, constatou que o NOps, a amplitude das ondas e o escore da escala PIPP aumentaram significativamente quando comparados o período durante com o período antes do procedimento, sem haver entretanto correlação entre eles (56). Storm e Fremming verificaram que prematuros que receberam glicose hipertônica e leite por via oral na última hora respondiam ao estímulo doloroso com aumento da ACP e da FC, resposta semelhante à encontrada naqueles que fizeram jejum. Ao mesmo tempo, houve redução do tempo de choro e melhora do estado comportamental. Todavia, esses autores não encontraram correlação entre os indicadores fisiológicos, mas a obtiveram entre eles e o tempo de choro. Concluíram que o aumento da ACP e da FC deveu-se à possível regulação inibitória diminuída das vias nociceptivas descendentes do CPME do prematuro (57). Por isso a resposta fisiológica ao estresse em RN prematuro pode ser mais acentuada do que a apresentada por RN

de termo durante procedimento doloroso. Em adultos, Storm e colaboradores encontraram aumento não significativo da FC, do NOps e da amplitude das ondas após intubação traqueal para anestesia, contudo sem existir correlação entre eles (55).

Gjerstad e colaboradores, estudando NOps, amplitude das ondas, condutância média, FC, pressão arterial e escala COMFORT modificada, antes, durante e 10 minutos após sucção traqueal em crianças ventiladas artificialmente, concluíram que o NOps, a condutância média, a pressão arterial e o escore da escala COMFORT modificada aumentaram durante a sucção da traquéia, em contraste com a FC e a amplitude das ondas, bem como que houve correlação apenas entre o NOps e a escala COMFORT modificada (58).

Destarte, a ACP pode correlacionar-se ou não com outros indicadores fisiológicos e comportamentais de dor. Embora a ACP possa ter maior especificidade, o mais prudente no modelo de dor aguda é avaliá-la em conjunto com os indicadores fisiológicos e comportamentais possíveis e disponíveis em cada situação.

5.5 DAS MEDIDAS DE ATIVIDADE DE CONDUTÂNCIA DA PELE, DAS MEDIDAS FISIOLÓGICAS, DAS MEDIDAS COMPORTAMENTAIS E O ATENDIMENTO AOS PARÂMETROS PSICOFÍSICOS DE UMA MEDIDA FISIOLÓGICA

A expectativa de que a ACP funcione como um indicador fisiológico é a mesma que rege a avaliação dos demais indicadores fisiológicos. Espera-se que a ACP atenda aos cinco parâmetros psicofísicos descritos em uma medida fisiológica de dor (2,60). A maioria dos estudos sobre as variáveis aqui estudadas versam apenas sobre a reatividade e a regulação da medida de dor, sem levar em consideração os demais parâmetros psicofísicos.

Como exposto anteriormente, as intensidades de todas as variáveis mostraram-se significativas entre os períodos. As diferenças durante-antes das variáveis NOps, FC máxima, SATO₂ mínima, escalas NFCS, NIPS e COMFORT, base para o estabelecimento do parâmetro reatividade, mostraram-se altamente significativas. No entanto, apenas a diferença durante-antes da ASC, embora sua intensidade fosse bem superior no período durante quando comparada ao período basal, foi não significativa. O intervalo de tempo de observação de 15 segundos

pode ter contribuído para essa falta de reatividade, uma vez que quando essa diferença foi testada em 30 segundos a reatividade da ASC foi significativa. As diferenças depois-durante de todas as variáveis, base de cálculo para o parâmetro regulação, foram significativas, mostrando que intervalos de tempo de até 15 segundos para a ACP e de até 3 minutos para as outras variáveis fisiológicas e as comportamentais são suficientes para mostrar uma resposta inibitória do SN ao estímulo doloroso.

Observando ainda o comportamento da diferença depois-antes, verificou-se que todas as variáveis retornaram aos valores basais, significando que ao final do período depois nenhuma das variáveis estudadas apresentou qualquer atividade do SN relacionada à resposta dolorosa (Tabela 4 e Figuras 6, 7 e 8).

5.6 IMPLICAÇÕES CLÍNICAS E PRÁTICAS

A abordagem adotada nesta pesquisa ajuda a entender como tradicionais indicadores fisiológicos de dor em RNs, como a FC e a SATO₂, bem como escalas comportamentais de dor mundialmente utilizadas, e uma nova metodologia na avaliação nociceptiva, a ACP, reagem a um estímulo doloroso agudo, do ponto de vista dos parâmetros psicofísicos normalmente encontrados em indicadores fisiológicos, mas que até o presente momento não tinham sido estudados em conjunto. Estes parâmetros psicofísicos, particularmente a intensidade, a reatividade e a regulação são características físicas importantes de uma medida fisiológica de dor e contribuem nas análises de validade do uso clínico dessas medidas. Este estudo comparativo foi realizado em RNs a termo, aparentemente saudáveis, com a finalidade de introduzir e validar a metodologia da ACP em nosso meio, com vista à posterior aplicação prática em RNs de alto risco expostos a situações críticas, onde as tradicionais medidas de dor estão sujeitas a erros de medida e de observação clínica. A ACP é uma medida objetiva, facilmente obtida, não invasiva, podendo ser medida continuamente e, neste trabalho, mostrou-se comparativamente tão eficiente no diagnóstico da dor quanto às demais medidas aqui utilizadas. A perspectiva agora é avaliar a técnica em outros grupos de recém-nascidos, incluindo estudos de eficácia terapêutica medicamentosa e não medicamentosa.

6. CONCLUSÃO

Neste estudo envolvendo RNs de termo saudáveis submetidos à punção de calcanhar, o NOps e a ASC, dois componentes da ACP, mostraram ser medidas significativas para o diagnóstico de dor quando comparadas à FC máxima, à SATO₂ mínima e às escalas comportamentais NFCS, NIPS e COMFORT.

Embora tenha havido um aumento dos valores e escores de todas as variáveis durante a punção do calcanhar dos RNs, não houve correlação entre elas.

O NOps, a FC máxima, a SATO₂ mínima e as escalas NFCS, NIPS e COMFORT apresentaram um aumento significativo dos valores e escores durante estímulo doloroso, atendendo ao pressuposto da quinta característica de uma medida psicofísica, a LVI ou reatividade, fato que não foi constatado somente para a ASC.

Todas as variáveis atenderam ao parâmetro regulação, retornando no período depois, em 15 segundos para o NOps e a ASC, e em até três minutos para as demais variáveis, a valores semelhantes aos encontrados no início da observação, mostrando ausência de atividade do SN relacionada à dor ao final de nove minutos de observação.

As variáveis NOps, ASC, FC máxima e escala NFCS não atenderam ao parâmetro inclinação, indicando que seus valores basais não foram capazes de prever a intensidade da resposta. A presença de inclinação para a SATO₂ mínima foi um achado esperado para uma medida fisiológica. O atendimento a esse parâmetro pelas escalas NIPS e COMFORT corrobora a validade de seus usos em RNs saudáveis como preditores da resposta dolorosa.

Por fim, considera-se que a dor no RN deve ser avaliada por um conjunto de medidas, fisiológicas e comportamentais, levando-se em conta o contexto individual e ambiental. Contudo, tanto em pesquisa quanto no manejo clínico da dor, sugere-se privilegiar o uso de tecnologias não invasivas, de baixo-custo e mais eficientes na dimensão tempo. Neste sentido, a ACP atende aos pressupostos psicofísicos de uma medida fisiológica de dor e corrobora resultados de outros estudos de validação.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Nader R, Craig KD. Infant pain expression throughout the first year of life. Saarbrücken: VDM Verlag Dr. Müller, 2008.
- 2 Stevens BJ, Riddell RRP, Oberlander TE, Gibbins S. Assessment of pain in neonates and infants. In: KJS Anand, BJ Stevens and PJ McGrath. Pain in Neonates and infants (third Edition).2007
- 3 Goldman RD, Koren G. Biologic markers of pain in the vulnerable infant. Clin Perinatol. 2002; 29: 415-26.
- 4 Anand KJ, Craig KD. New perspectives on the definition of pain. Pain.1996; 67: 3-6.
- 5 Merkey H, Albe-fessard DG, Bonica, JJ, Carmon A, Dubner R, Kerr FWL, et al. Pain terms a list with definitions and notes on usage. Recommended by the IASP subcommittee on taxonomy. Pain. 1979; 6: 249-52.
- 6 IASP Task Force on Taxonomy 2003. IASP pain terminology. Disponível: <http://www.iasp-pain.org/terms-p.html>.
- 7 Ginnakoulopoulos X, Sepulveda W, Kourtis P, Glover V, Fisk NM. Fetal plasma cortisol and beta-endorphin response to intrauterine needling. Lancet. 1994; 344: 77-81.
- 8 Anand KJS, Carr DB. The neuroanatomy, neurophysiology and neurochemistry of pain, stress, and analgesia in newborns, infants, and children. Ped Clin North Am. 1989; 36: 795-822.
- 9 Landrot IR, Roche F, Pichot V, Teyssier G, Gaspoz JM, Barthelemy JC, et al. Autonomic nervous system activity in premature and full-term infants from theoretical term to 7 years. Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical. 2007; 136: 105-9.
- 10 Booss J, Drake A, Kerns RD, Ryan B, Wasse L. Pain as the 5th vital sign. Illinois: Joint Commission on Accreditation of Healthcare Organizations 2000. Available from: http://www.va.gov/oa/pocketcard/pain5thvitalsign/PainToolkit_Oct2000.doc.
- 11 Okada M, Teixeira MJ, Tengan SK, Bezerra SL, Ramos CA. Dor em pediatria. Rev Med (São Paulo). 2001; 80: 135-56.
- 12 Guinsburg R. Conforto e analgesia no período neonatal. In: Costa HPF, Marba ST. O recém-nascido de muito baixo peso. São Paulo: Atheneu; 2004.

- 13 Simons SH, Van Dijk M, Van Lingen RA. Routine morphine infusion in preterm newborns who received ventilatory support: a randomized controlled trial. *J Amer Med Ass.* 2003; 290 (18): 2419-27.
- 14 Prestes AC, Guinsburg R, Balda RCX, Marba STM, Rugolo LMSS, Pachi, PR, et al. Frequência do emprego de analgésicos em unidades de terapia intensiva neonatal universitárias. *J Pediatr. (Rio J)* 2005; 81(5):405-10.
- 15 Stevens B, Johnston C, Petryshen P, Taddio, AB. Premature Infant Pain Profile: Development and Initial Validation. *The Clinical Journal of Pain.* 1996; 12 (1): 13-20.
- 16 Walden M, Penticuff JH, Stevens B, Lotas MJ, Kozinetz CA, Clark A, et al. Maturation changes in physiologic and behavioral responses of preterm neonates to pain. *Advances in Neonatal Care.* 2001; 1(2):94-106.
- 17 Grunau R, Craig KD. Pain expression in neonates: facial action and cry. *Pain.* 1987; 28:395-410.
- 18 Grunau RVE, Craig K. Facial activity as a measure of neonatal pain expression. In: Tyler DC, Krane EJ. *Advances in pain therapy and research: Pediatric Pain.* New York: Raven Press; 1990.
- 19 Slater R, Cantarella A, Franck L, Meek J, Fitzgerald M. How well do clinical pain assessment tools reflect pain in infants? *PLOS MEDICINE.* 2008; 5(6):928-33.
- 20 Narsinghani U, Anand KJS. Developmental neurobiology of pain in neonatal rats. *Lab Animal.* 2000; 29(9):27-39.
- 21 Fitzgerald M. The development of nociceptive circuits. *Nat Rev Neurosci.* 2005; 6(7):507-20.
- 22 Anand KJS. Fisiologia da dor em lactentes e crianças. In: *A dor na infância.* Anais Nestlé. 2000;59:1-13.
- 23 Fitzgerald M, Butcher T, Shortland P. Developmental changes in the laminar termination of A fibre cutaneous sensory afferents in the rat spinal cord dorsal horn. *J Comp Neurol.* 1987; 261:98-104.
- 24 Fitzgerald M, Anand KJS. The developmental neuroanatomy and neurophysiology of pain. In: Schechter N, Berde C, Yaster M. *Pain management in infants, children and adolescents.* Baltimore: Williams & Williams, 1993.
- 25 Constantinou J, Reynolds ML, Woolf CJ, Safieh-Garabedian B, Fitzgerald M. Nerve growth factor levels in developing rat skin: upregulation following skin wounding. *Neuro Report.* 1994; 5:2281-4.

- 26 Marti E, Gibson SJ, Polak MN, Facer P, Springall DR, Aswegen G, et al. Ontogeny of peptide- and amine-containing neurons in motor, sensory and autonomic regions of rat and human spinal cord, dorsal root ganglia and rat skin. *J Comp Neurol.* 1987; 266:332-59.
- 27 Garthwaite J. NMDA receptors, neuronal development and neurodegeneration. In: Watkins JC, Collinridge GL. *The NMDA receptor.* Oxford: IRL Press, 1989.
- 28 Kalb RG, Hockfield S. The distribution of spinal cord N-methyl-D-aspartate receptors in developmentally regulated. *Soc Neurosci Abstr.* 1991; 17:1534.
- 29 Gonzalez DL, Fuchs JL, Droge MH. Distribution of NMDA receptor binding in developing mouse spinal cord. *Neurosci Lett.* 1993; 151:134-7.
- 30 Fitzgerald M, Koltzenburg M. The functional development of descending inhibitory pathways in the dorsolateral funiculus of the newborn rat spinal cord. *Brain Res.* 1986; 24:261-70.
- 31 Fields HL. Pain modulation: expectation, opioid analgesia and virtual pain. *Prog Brain Res.* 2000; 122:245-53.
- 32 Cerrato P, Baima C, Bergui M, Grasso M, Lentini A, Giraud M, Azzaro C, et al. Restricted pain and thermal sensory loss in a patient with pontine lacunar infarction: a clinical MRI study. *Eur J Neurol.* 2005; 12:564-5.
- 33 Freitas RL, Ferreira CM, Ribeiro SJ, Carvalho AD, Elias-Filho DH, Garcia-Cairasco N, Coimbra NC. Intrinsic neural circuits between dorsal midbrain neurons that control fear-induced responses and seizure activity and nuclei of the pain inhibitory system elaborating postictal antinociceptive processes: a functional neuroanatomical and neuroanatomical and neuropharmacological study. *Exp Neurol.* 2005; 191(2):225-42.
- 34 Anand KJS, Al-Chaer ED, Bhutta A, Hall RW. Developing of supraspinal pain processing. In: Anand KJS, Stevens BJ, McGrath PJ. *Pain in neonates and infants.* Third edition. New Jersey: Elsevier, 2007.
- 35 Slagle TA, Oliphant M, Gross SJ. Cingulate sulcus development in preterm infants. *Pediatr Res.* 2006; 26:598-602.
- 36 Liu JH, Rovnaghi CR, Garg S, Anand KJS. Hyperalgesia in young rats associated with opioid receptor desensitization in the forebrain. *Euro J Pharmacol.* 2004; 491:127-36.

- 37 Kostovic I, Seress L, Mrzljak, Judas M. Early onset of synapse formation in the human hippocampus: a correlation with Nissl-Golgi architectonics in 15-and 16.5-week-old fetuses. *Neuroscience*. 1989; 30:105-16.
- 38 Bushnell MC, Duncan GH, Hofbauer RK, Ha B, Chen JI, Carrier B. Pain perception: is there a role for primary somatosensory cortex? *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999; 96:7705-9.
- 39 Greenspan JD, Lee RR, Lenz FA. Pain sensitivity alterations as a function of lesion location in the parasyllian cortex. *Pain*. 1999; 81:273-82.
- 40 Davis KD, Kwan CL, Crawley AP, Mikulis DJ. Functional MRI study of thalamic and cortical activations evoked by cutaneous heat, cold, and tactile stimuli. *J Neurophysiol*. 1998; 80:1533-46.
- 41 Bartocci M, Bergqvist LL, Lagercrantz H, Anand KJ. Pain activates cortical areas in the preterm newborn brain. *Pain*. 2006; 122:109-17.
- 42 Taddio A, Shah V, Gilbert-MacLeod C, Katz J. Conditioning and hyperalgesia in newborns exposed to repeated heel lances. *JAMA* 2002; 288:857-61.
- 43 Storm H. Changes in skin conductance as a tool to monitor nociceptive stimulation and pain. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2008; 21:796-804.
- 44 Guinsburg R, de Almeida MFB, Peres CA, Shinzato AR, Kopelman BI. Reliability of two behavioral tools to assess pain in preterm neonates. *S Paulo Med J*. 2003; 121(2): 72-6.
- 45 Serpa ABM, Guinsburg R, Balda RCX, dos Santos AMN, Areco KCN, Peres CA. Multidimensional pain assessment of preterm newborns at the 1st, 3rd and 7th days of life. *S Paulo Med J*. 2007; 125(1): 29-33.
- 46 Pereira ALST, Guinsburg R, de Almeida MFB, Monteiro AC, dos Santos AMN, Kopelman BI. Validity of behavioural and physiologic parameters for acute pain assessment of term newborn infants. *São Paulo Med J*. 1999; 117:72-80.
- 47 Grunau RVE, Oberlander T, Holsti L, Whitfield MF. Beside application of the Neonatal Facial Coding System in pain assessment of premature neonates. *Pain*. 1998; 76:277-86.
- 48 Lawrence J, Alcock D, Mcgrath P, Kay J, Macmurray SB, Dulberg C. The development of a tool to assess neonatal pain. *Neonat Netw*. 1993; 12:59-66.
- 49 van Dijk M, de Boer JB, Koot HM, Tobboel D, Passchier J, Duivenvoorden HJ. The reliability and validity of the COMFORT scale as a postoperative pain

instrument in 0 to 3-year-old infants. *Pain*. 2000; 84:367-77.

50 Nelson N, Arbring K, Theodorsson E. Neonatal salivary cortisol in response to heelstick: method modifications enable analysis of low concentrations and small sample volumes. *Scand J Clin Lab Invest*. 2001; 61:287-92.

51 Taddio A, Shah V, Shah P, Katz J. β -Endorphin concentration after administration of sucrose in preterm infants. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2003; 157:1071-74.

52 Price DA, Close GC, Fielding BA. Age of appearance of circadian rhythm in salivary cortisol values in infancy. *Arch Dis Child*. 1983; 58:454-6.

53 Gladman G, Chiswick ML. Skin conductance and arousal in the newborn infant. *Arch Dis Child*. 1990; 65:1063-6.

54 Storm H. Skin conductance and the stress response from heel stick in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2000; 83:143-47.

55 Storm H, Myre K, Rostrup M, Stokland O, Lien MD, Raeder JC. Skin conductance correlates with perioperative stress. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2002; 46(7):887-95.

56 Eriksson M, Storm H, Fremming A, Schollin J. Skin conductance compared to a combined behavioural and physiological pain measure in newborn infants. *Acta Paediatrica*. 2008; 97(1):27-30.

57 Storm H, Fremming A. Food intake and oral sucrose in preterms prior to heel prick. *Acta Paediatrica*. 2002; 91(5):555-60.

58 Gjerstad AC, Wagner K, Henrichsen T, Storm H. Skin conductance versus modified COMFORT sedation score as a measure of discomfort in artificial ventilated children. *Pediatrics*. 2008; 122:848-53.

59 Dubé AN, Duquette M, Mathieu R, Lepore F, Duncan G, Rainville P. Brain activity associated with the electrodermal reactivity to acute heat pain. *Neuroimage*. 2009;45:169-80.

60 Berntson GG, Uchino BT, Cacioppo JT. Origins of baseline variance and the Law of Initial Values. *Psychophysiology*. 1994; 31:204-10.

61 Pretchel HF. The behavioural states of the newborn infant (a review). *Brain Res*. 1974; 76:185-212.

62 Med Storm Stress Detector™ User manual version 1.0 English (Europe) Part number 4001.

- 63 Edelberg R. Electrical properties of the skin. In: Brown CC. *Methods in psychophysiology*. Baltimore: Williams & Wilkins; 1967.
- 64 Harrison D, Boyce S, Loughnan P, Dargaville P, Storm H, Johnston L. Skin conductance as a measure of pain and stress in hospitalized infants. *Early Hum Dev*. 2006; 82:603-8.
- 65 Hellerud BC, Storm H. Skin conductance and behavior during sensory stimulation of preterm and term infants. *Early Hum Dev*. 2002; 70:35-46.
- 66 Freire NB, Garcia JBS, Lamy ZC. Evaluation of analgesic effect of skin-to-skin contact compared to oral glucose in preterm neonates. *Pain*. 2008; 13(1):928-33.
- 67 Guinsburg R, Kopelman BI, Almeida MFB, Miyoshi MH. A dor do recém-nascido prematuro submetido à ventilação mecânica através de cânula traqueal. *J. Pediatr. (Rio J)* 1994; 70(2):82-90.

ANEXO I
PARECER DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



Universidade de Brasília
Faculdade de Medicina
Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos

Campus Universitário, Asa Norte – CEP 70910-9000 – Brasília, DF - Tel.: (061) 3307-2520 / 3273-4069

ANÁLISE DE PROJETO DE PESQUISA

Registro de projeto: CEP-FM 046/2008

Título: "Avaliação Multidimensional da dor em Recém-Nascido sob Ventilação Mecânica".

Pesquisador responsável: José Alfredo Lacerda de Jesus

Documentos analisados: Folha de rosto, carta de encaminhamento, declaração de responsabilidade, protocolo de pesquisa, termo de consentimento livre e esclarecido, cronograma, bibliografia pertinente e currículo(s) de pesquisador(es).

Data de entrada: 10/07/2008

Proposição do(a) relator(a)

Aprovação

Não aprovação

Data da primeira análise pelo CEP-FM/UnB: 30/07/2008

Data do parecer final do projeto pelo CEP-FM/UnB: 30/07/2008

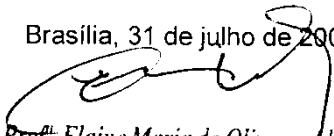
PARECER

Com base na Resolução CNS/MS Nº 196/96 e resoluções posteriores, que regulamentam a matéria, o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília decidiu **APROVAR**, na reunião ordinária de 30/07/2008, conforme parecer do (a) relator (a), o projeto de pesquisa acima especificado, quanto aos seus aspectos éticos.

1 – Modificações no protocolo devem ser submetidas ao CEP, assim como a notificação imediata de eventos adversos graves;

2 – O (s) pesquisador (es) deve (m) apresentar relatórios periódicos do andamento da pesquisa ao CEP-FM.

Brasília, 31 de julho de 2008.


Prof.^a Elaine Maria de Oliveira Alves
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa
Faculdade de Medicina-UnB



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE MEDICINA
Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos

ANÁLISE DE PROJETO DE PESQUISA

Registro de Projeto: CEP-FM 046/2008.

Título: "Avaliação Multidimensional da dor em Recém-Nascido sob ventilação mecânica".

Pesquisador Responsável: José Alfredo Lacerda de Jesus.

Documentos analisados: Proposta de Modificações em projeto de pesquisa entregues como emenda e anexas a folha nº 74 e nº 75 do mesmo.

Data de entrega: 11/11/2009.

Proposição do (a) relato (a)

Aprovação

Não aprovação.

Data da primeira análise pelo CEP-FM/UNB: 23/11/2009.

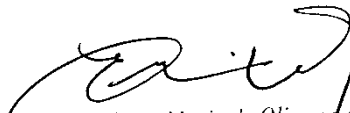
Data do parecer final do projeto pelo CEP-FM/UNB: 25/11/2009.

PARECER

Com base na Resolução CNS/MS nº 196/96 e resoluções posteriores, que regulamentam a matéria, o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília decidiu **APROVAR** "ad referendum", conforme parecer do (a) relator (a) o projeto de pesquisa acima especificado, quanto aos seus aspectos éticos.

1. Modificações no protocolo devem ser submetidas ao CEP, assim como a notificação imediata de eventos adversos graves;
2. O (s) pesquisador (es) deve (m) apresentar relatórios periódicos do andamento da pesquisa ao CEP-FM.

Brasília, 26 de Novembro de 2009.


Prof. Elaine Maria de Oliveira Alves
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa
Faculdade de Medicina-UNB

Brasília, 11 de novembro de 2009

PROPOSTA DE MODIFICAÇÕES EM PROJETO DE PESQUISA

Registro de Projeto: CEP-FM 046/2008

Título: "Avaliação Multidimensional da Dor em Recém-Nascido sob Ventilação Mecânica"

Pesquisador Responsável: José Alfredo Lacerda de Jesus

Data de Entrada: 10/07/2008

Data da Primeira Análise pelo CEP-FM/UnB: 30/07/2008

Data do Parecer Final pelo CEP-FM/UnB: 30/07/2008

Ilma. Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da
Universidade de Brasília

Profa. Elaine Maria de Oliveira Alves

Solicito à V. Sa. a avaliação por este Comitê de Ética em Pesquisa sobre a inclusão dos acréscimos abaixo mencionados, ao projeto de pesquisa supracitado, tendo em vista as seguintes justificativas:

- 1) a necessidade da validação do instrumento de detecção de dor, em neonatos aparentemente normais, que necessitem ser submetidos a procedimento doloroso agudo, por indicação da equipe médica, tal como punção de calcanhar.
- 2) Estudo de um novo grupo de avaliação da dor em recém-nascidos submetidos a procedimentos dolorosos repetidos.
- 3) Introdução de uma medida fisiológica hormonal a ser comparada com o instrumento de detecção de dor em questão e outras medidas fisiológicas.
- 4) Comparar as medidas fisiológicas com outras medidas de avaliação comportamental da dor.

ACRÉSCIMOS A SEREM INTRODUZIDOS NO PROJETO DE PESQUISA:

- 1) Na página 9 (nove), dentro dos objetivos específicos, acrescentar as escalas de avaliação comportamental da dor : PIIP (Escala de Dor em Prematuro), NFCS (Sistema de Codificação Facial Neonatal) e NIPS (Escala de Dor Neonatal) .
- 2) Nas páginas 9 (nove) e 10(dez), acrescentar na amostragem de um grupo controle, com a finalidade de validar o instrumento de detecção de dor, composto de crianças aparentemente normais que necessitem ser submetidas a procedimento doloroso agudo, por indicação da equipe médica. Para tanto, será selecionada uma amostra de conveniência constituída por 40(quarenta) recém-nascidos de termo, entre 0 e 48 horas de vida, que necessitem ser submetidos à punção de calcanhar, por indicação da equipe médica da unidade, estáveis do ponto de vista hemodinâmico e sem alteração aparente do estado de consciência, cujas mães ou pais consentirem livremente, por escrito, após esclarecimento. Serão excluídos: 1) recém-nascidos de mães que tenham feito uso de opióides por via oral ou endovenosa, em qualquer época da gravidez , trabalho de parto e parto, porque essa classe de drogas pode atravessar facilmente a barreira placentária e alterar a nocicepção do feto ou do recém-nascido; 2) recém-nascidos de mães que tenham recebido anestesia geral no parto, porque anestésicos podem facilmente atravessar a barreira placentária e alterar a nocicepção do recém-nascido; 3) recém-nascidos que tenham feito uso de sedativos e analgésicos por via endovenosa menos de meia hora antes do primeiro tempo de observação; 4)

Faculdade de Medicina/UnB
Secretaria do Comitê de Ética em Pesquisa
Elaine Maria de Oliveira Alves
Recebemos em: 11/11/09

Recém-nascidos com Boletim de Apgar menor ou igual a 4 no quinto minuto de vida, porque a hipóxia grave pode alterar a resposta a dor; 5) recém-nascidos com diagnóstico de hemorragia peri/intraventricular grau 3 ou 4 de Papille, porque a hemorragia intracraniana pode alterar a resposta a dor; 6) recém-nascidos com malformações congênitas do aparelho respiratório, circulatório e nervoso.

- 3) Na amostragem ainda, acrescentar um outro grupo de 40(quarenta) recém-nascidos submetidos à procedimentos dolorosos repetidos, por indicação da equipe médica da unidade, a fim de estudar a habituação ao estímulo doloroso, com a mesma metodologia desenvolvidas para os outros dois grupos.
- 4) Estes dois novos grupos de recém-nascidos serão observados através de vídeo e monitorização computadorizada, como descrito no subitem "Procedimentos" na página 10, para as escalas comportamentais COMFORT, NIPS, PIPP e NFCS, frequência cardíaca, saturação de oxigênio e atividade de condutância da pele, durante 3(três) minutos antes e 3(três) minutos imediatamente depois do procedimento de punção do calcanhar, findos os quais se seguirão mais 3(três) minutos de observação, durando a observação total 9(nove) minutos.
- 5) Ainda no subitem "Procedimentos", acrescentar a coleta de saliva com cotonete destinada à análise do cortisol salivar, em todos os 3 grupos de recém-nascidos, imediatamente antes e 30 (trinta) minutos depois do procedimento doloroso, por intermédio de um "kit" chamado "Salivette", da empresa Salimetrics. Este é um procedimento indolor, de beira de leito e com uma grande correlação com o cortisol plasmático.
- 6) Segue anexo termo de consentimento livre e esclarecido para os dois novos grupos.

Coloco-me ao inteiro dispor para maiores esclarecimentos,

Atenciosamente,

José Alfredo Lacerda de Jesus

ANEXO II

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para os responsáveis pelo bebê

Universidade de Brasília
Faculdade de Medicina
Hospital Universitário de Brasília

Você está sendo convidado (a) a participar de um estudo sobre um novo jeito de avaliar a dor frente a um procedimento doloroso, como a punção do calcanhar, entre outros que se realizam durante a permanência do bebê no hospital. Se o seu bebê, por um motivo de saúde identificado pela equipe médica e de enfermagem do hospital, necessitar ser submetido à punção do calcanhar, o pesquisador colocará no pé, sem machucar, três pequenos “eletrodos” ligados a um computador, como se fosse fazer um eletrocardiograma. Ao mesmo tempo, será também observada através de um vídeo a resposta do rosto e do corpo e medidos os batimentos do coração, a quantidade de oxigênio no sangue e a pressão arterial da criança. O pesquisador não intervirá em nenhum dos procedimentos indicados pelas equipes médica e de enfermagem. Espera-se com isso validar em nosso meio um novo método de quantificar a dor de bebês submetidos a procedimentos dolorosos.

Essas sessões de avaliação da dor não causam nenhum desconforto a mais para o seu bebê. Colocamo-nos a disposição para sempre que sentir vontade ou tiver dúvidas procurar os pesquisadores para esclarecermos quaisquer questões durante toda a realização da pesquisa. Você poderá desistir de participar deste estudo a qualquer momento que desejar e isso não mudarão a atenção a você e à saúde do seu bebê oferecido pelo hospital.

As gravações de vídeo e de áudio serão utilizadas apenas para os fins da pesquisa, não sendo divulgadas em qualquer tipo de meio de comunicação. Também serão anotados dados dos prontuários do bebê. Os resultados que surgirão com este trabalho serão publicados em revistas científicas e apresentados em congressos da área visando à melhora dos serviços de atendimento de bebês em Unidades de Neonatologia. Todo o material adquirido com a pesquisa ficará em sigilo e sob a guarda dos pesquisadores responsáveis.

Este documento está escrito em duas vias, uma com fica com você, o responsável pelo bebê, e a outra com o pesquisador responsável pela pesquisa.

Desde já agradecemos a sua colaboração!

Eu, _____, responsável por _____, estou ciente dos termos aqui colocados e concordo em participar do estudo.

Assinatura do responsável

Doutorando José Alfredo Lacerda de Jesus
Fone: 34485502

Profa. Dr. Dioclécio Campos Júnior
Fone: 34485502

Profa. Dra. Rosana Maria Tristão
Fone: 34485502

Telefone do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina UnB: 3307-3799

ANEXO III
ARTIGOS ACEITOS PARA PUBLICAÇÃO EM REVISTAS INDEXADAS

embs@papercept.net para adson, adsonr, mim, rosana.tristao, rmtt, hanne.storm, dicampos
mostrar detalhes 19 jun
de embs@papercept.net

para adson@unb.br, adsonr@gmail.com

cc

jalfredo.jesus@gmail.com,

rosana.tristao@gmail.com,

rmtt@unb.br,

hanne.storm@medisin.uio.no,

dicampos@terra.com.br

data: 19 de junho de 2011 18:38

assunto : Acknowledgement of the final submission of Contributed paper 2008 for EMBC'11
Message from The Engineering in Medicine and Biology Conference Management System

To: Dr. Adson F. da Rocha

Re: Final version of paper No. 2008, entitled: "Heart rate,
oxygen saturation, and skin conductance: a comparison study
of acute pain in brazilian newborns"

Dear Dr. Adson F. da Rocha:

This email is to acknowledge receipt of your final paper
submitted to the 33rd Annual International IEEE EMBS
Conference to be held in Boston Marriott Copley Place,
Boston, MA, USA during August 30 - September 3, 2011. You
may update the paper information or reupload papers till
June 27th by logging in as author via:

<http://embs.papercept.net>

For any correspondence regarding this paper, be sure to
refer to your paper ID as well as your PIN.

Please check the conference website for information about
hotel registration and other conference related matters.

Thank you for your submission.

Andrew Laine and Metin Akay Program Chairs, EMBC'11

Manuscript data

=====

Authors and title:

Jose Alfredo Lacerda de Jesus, Rosana Maria Tristao, Hanne Storm, Adson F. da Rocha, Dioclécio
Campos Junior

Heart rate, oxygen saturation, and skin conductance: a comparison study of acute pain in brazilian newborns

Submission number: 2008

Type of submission: Contributed paper

Status: Final version received

Conference: 33rd Annual International IEEE EMBS Conference

Log in at <https://embs.papercept.net/conferences/scripts/start.pl> using your PIN 22159 and password to check the status of your submission

You may update the final version information and re-upload the manuscript until the final submission deadline June 20, 2011

If you do not have your password then follow the link

<https://embs.papercept.net/conferences/scripts/pinwizard.pl> to retrieve it

Heart rate, oxygen saturation, and skin conductance: a comparison study of acute pain in Brazilian newborns

Jose Alfredo L. de Jesus, Rosana M. Tristao, Hanne Storm, Adson F. da Rocha, *Member, IEEE*, and Dioclecio Campos, Jr.

Abstract— Heart rate variability (HRV), oxygen saturation variability (OSV) and skin conductance activity (SCA) are recognized physiological markers of acute pain. In order to verify which of them has the best correlation with psychophysical parameters of pain (*intensity, reactivity, direction, regulation and slope*), an observational prospective study was performed, including 41 healthy full term newborns. The measurements studied were the HRV, the OSV, and the following SCA variables: number of waves per second (NWps) and relative area under the curve of waves (AUC). The measurements were performed in periods labeled *before, during, and after* a heel prick. The variation measured for *intensity* between periods was significant for the NWps ($p=0.001$), AUC ($p=0.03$), HRV ($p=0.001$) and OSV ($p=0.004$). Also, the *reactivity* and *direction* were significant for all variables, except AUC. The *regulation* parameter was significant for the variables NWps ($p<0.01$), AUC ($p<0.05$), HRV ($p<0.01$) and OSV ($p<0.01$). The *slope* was statistically significant only for the OSV variable ($p=0.000$). We concluded that the responses of the SCA, HRV and OSV to painful events fit the psychophysical parameters of a physiological marker and serve as valuable measures for pain diagnostic working the use in accordance with the needs of the context.

I. INTRODUCTION

Behavioral responses to a painful event are limited in critically ill newborns as they are unable to display them, especially when sedated or receiving muscle relaxants [1]-[4]. Physiological measures such as heart rate variability (HRV) [3],[5],[6], oxygen saturation variability (OSV) [5],[6], and skin conductance activity (SCA) [7]-[13] have been studied as indicators of response to noxious stimuli in newborns in such critical contexts. Heart rate (HR) and oxygen saturation (OS) are relatively easy and of low cost to obtain, being often regarded as a useful measure of pain reactivity. However, HRV and OSV may have limited clinical use due to their low specificity and efficacy in emergency contexts [3],[5],[6],[10],[14]. Recent studies have considered SCA a physiological measure more linked

to pain, as it shows faster reaction (within seconds after noxious stimuli). Moreover, it is an objective method, the variability between individuals is minimal, and it is not influenced by circulatory changes, cardiovascular drugs, environmental temperature, or changes in respiratory rhythm like apnea. Thus, it seems to be more sensitive and specific to pain than other available methods [15]-[22].

The SCA reflects changes in secretions in the palm and sole sweat glands after activating the sympathetic nervous system (SNS) from the skin surface. Each time the SNS is activated, the sweat glands of those areas are filled up and a spontaneous wave of SCA occurs. SCA is an electrical phenomenon translated by a conductance measuring system as number of waves per second (NWps) showing how often the SNS is firing; and the area under the curve (AUC) showing how forcefully the SNS is firing. An increase in these measures may be interpreted as increased activity of the SNS, demonstrating a positive correlation with other physiological and behavioral pain indicators [8],[10]-[13],[18].

The response pattern of physiological indicators to a painful event in an acute pain context starts from a baseline condition followed by reactivity to the painful stimulus, ending with the recovery period. According to Oberlander's model for studying pain [7], pain measures can be analyzed by five parameters: *intensity* or magnitude, calculated as the average and standard deviation of the score; *reactivity* (significant change of score from baseline to the stimulus); *direction* (is an increase the same as a decrease?); *regulation* (or score change from pain to recovery); and *slope* (which reflects the over-regulation or down-regulation trends, and is calculated by the linear regression coefficient) [3],[14]. *Intensity* and *reactivity* are interdependent parameters which pain measures must always meet [23]. In this sense, the *reactivity* would be inversely dependent of a baseline value, e.g., the higher the baseline value the lower the *reactivity* would be and *vice versa*. The *reactivity* parameter constitutes the basis for theoretical application of the Law of Initial Value (LIV), which states that the magnitude of a physiological response depends on the comparison from the baseline of the same individual [3],[20],[23]. On the other hand, a return to baseline (*regulation*) would occur faster [3],[23]. The *direction* would depend on the presence of a stimulus to increase or decrease the baseline value and thus the response could be ascendant or descendent. Finally, the *slope* refers to the rate at which the change occurs in the baseline score during the stimulation, which is calculated by a statistical resource, the regression coefficient. Therefore, the higher the value of the *slope*, the more significant the possibility is of the value of the period *before* predicting the value of the period *during* the procedure [9],[12].

Manuscript received April 15, 2011. This work was supported by grants from the Brazilian National Research Council (CNPq) and the Federal District Research Support Foundation (FAPDF).

J. A. L. de Jesus is with the University of Brasilia, Brasilia, DF, Brazil (e-mail: alfredo@unb.br, jalfredo.jesus@gmail.com).

R. M. Tristao is with the University of Brasilia, Brasilia, DF, Brazil (e-mail: rosana.tristao@gmail.com).

H. Storm is with Simulation Lab, Rikshospital and Ullevål University Hospital, University of Oslo, Oslo, Norway (e-mail: hanne.storm@medisin.uio.no, hanne@med-storm.no).

A. F. da Rocha is with the University of Brasilia, Gama Campus, Brasilia, DF, Brazil (corresponding author – phone: +5561-33485502; e-mail: adsonr@gmail.com).

D. Campos, Jr. is with the University of Brasilia, Brasilia, DF, Brazil (e-mail: dicampos@terra.com.br).

No reports were found comparing HRV, OSV, and SCA based on the theoretical parameters of the interpretation model of pain in newborns cited above. The criticism made of the use of these measures is that variability associated with response to the noxious stimulus, including the baseline, reactivity and recovery phases, depends on several individual conditions [2],[3],[23] and a good measure must be less sensitive to them. Hence, this study aims to verify if the HRV, OSV, and SCA fit well into Oberlander's model, especially for the five proposed parameters of pain measurement.

II. METHODS

A. Study design and participants

This is an observational study, controlled by the individual, *before*, *during*, and *after* the painful event. The sample population studied consists of 41 healthy newborns with gestational ages between 37 and 41 weeks, subjected to a heel prick for capillary blood glucose level testing within 48 hours of life. They were selected based on convenience from the neonatal care unit at the University of Brasília Hospital, Brazil. Newborns excluded were those with a five minute Apgar score less than seven, those that received any analgesia or sedation before the heel prick, those with metabolic, respiratory, cardiovascular, neurological or infectious diseases, third or fourth degree intracranial hemorrhage, those with impaired skin integrity, and those with cardiac, pulmonary, gastrointestinal, and neurological congenital malformations. Written informed consent from a parent was obtained before inclusion of the newborns in the study, which was performed in accordance with the Declaration of Helsinki [24] and the Resolution 196/1996 of the Brazilian National Commission of Ethics in Research [25], and approved by the Research Ethics Committee of the University of Brasília.

B. Procedure

The heel prick was considered as the painful event. The following clinical variables were recorded: maternal and gestational age, type of delivery and maternal anesthesia, resuscitation support of the newborn in the delivery room, birth weight, gender, breastfeeding at the last hour before the puncture, if the newborn received glucose two minutes before the procedure, postnatal age, number of previous heel pricks and number of other previous painful procedures.

All instruments were installed ten minutes before heel prick. The newborns were subjected to heel prick on the right foot with a 25x7 needle (BD Instruments). The heel lancing, squeezing and application of the compression bandage lasted for 30-60 seconds. No unpleasant procedure was carried out in the one-hour period that preceded the puncture. The newborns were observed during three periods, each of three minutes: before heel prick, considered to be the baseline or *before* period; immediately after the lancing, squeezing and application of the compression bandage (considered as the painful stimulus), the *during* period; and the remaining three minutes after this procedure being

considered to be the recovery or *after* period. HRV and OSV were obtained using a pulse oximeter (DX 2515-Dixtal) videotaped by a tripod mounted digital video camera (DCR-SR47-Sony). The highest HR value and the lowest OS value for the three minutes of each period were read from these video recordings, away from the clinical setting, using a second to second stop frame technique. From the images recorded with the video camera, the behavioral state of the newborns received a score from 1 to 5, meaning from deep sleep to crying state, according to Pretchel's criteria [26].

The SCA was measured by an electric conductance meter (Skin Conductance Measure System-SCMS, Med-Storm Innovation, Oslo, Norway), using an alternating current (AC) at 60 Hz. The device emits a voltage of 50 mV through a system of three electrodes (Electrodes Skin Conductance Algesimeter, Med-Storm Innovation, Oslo, Norway). The first is the measurement electrode, the second, the current electrode and the third, the reference electrode, which ensures a constant voltage from the innermost layer of the cornea stratum to the measurement electrode. These electrodes were fastened to the newborn's left foot. The measurement electrode was placed on the sole of the foot, adjacent to the toes, the current electrode on the internal side of the ankle and the reference electrode on the external side of the ankle, according to Edelberg and Storm guidelines [12],[27]. The electrodes were wrapped in order to eliminate any unwanted movements. This setting is non obtrusive as OSV and HRV and can follow the infant continuously for 48 hours.

The SCMS uses a computer program that records the NWps and calculates the AUC in the periods studied. The record of the NWps corresponding to the valleys and peaks derived from the electrical impulses is defined when the derivative of the wave is zero and is observed on a monitor attached to the system in a digital graph format. The NWps correlates directly to the rate of firing in the sympathetic nerves. The AUC of the waves is measured, in μS s, by the highest value of the area huge peaks and area small peaks. The program has a basic configuration, calibration sensitivity of 0.02 μS . NWps and AUC were analyzed in time intervals of 15 seconds at the beginning of each observation period. All data was collected and stored in an electronic database by the same researcher.

C. Statistical analysis

The sample size was estimated at 26 newborns for an alpha error of 5%, a beta error of 20% and a statistical power of 80%. In order to verify significant differences of *intensity* among the periods *before*, *during* and *after* heel prick with respect to SCA, HRV, OSV, and behavioral state, the Friedman nonparametric-paired test was performed. To determine statistical significance for *reactivity* and *direction*, when comparing the differences *during-before*, the Wilcoxon nonparametric-paired test was used. To determine statistical significance for *regulation*, when comparing the differences *after-during*, the Wilcoxon nonparametric-paired test was used. Linear regression was used to verify the regression coefficient of pain indicators for the period

during (*slope* component). To verify if the clinical and demographic variables were related, two-way ANCOVA analysis was used. A level of $p < 0.05$ has been chosen as the threshold for statistical significance.

III. RESULTS

Data of two newborns for NWps and eight for AUC do not were considered due to an electronic noise attributed to the 60 Hz AC in the electrical installations of the clinical setting, compared to the 50 Hz AC used in the majority of research settings. Data of two newborns for HRV and four for OSV also do not were used on analysis due to collection failure, as there was no stabilization of the oscillations in the monitoring apparatus. The remaining data of these subjects were analyzed.

The newborns had a mean gestational age of 38.9 weeks and mean birth weight of 3184 g, 51% were male and 68.3% were delivered by cesarean section, 39% were large for gestational age, 41.5% small for date and 5.1% from diabetic mothers; 68% of the newborns were breastfed one hour before the puncture and only 9.8% received glucose orally two minutes before the procedure. The newborns' mean postnatal age at the time of procedure was of 18 hours and the mean of previous painful events before the procedure was 2.6. The neonates were awake in the period *before*, as observed from of the behavioral state analysis (mean value = 2.3) and there was a significant increase in the latter at the period *during* (mean value = 4.9, $\chi^2 = 56.66$, $p = 0.000$). No effect was found among the clinical and demographic variables and the variation between *before* and *during* the painful event by each of the measures and the entire sample data was used in the following analyses.

The analysis of the *intensity* showed that the NWps and the AUC were significantly different between the periods *before*, *during* and *after* ($\chi^2 = 13.07$, $p = 0.001$ and $\chi^2 = 7.02$, $p = 0.03$, respectively), as well for HRV and OSV ($\chi^2 = 15.17$, $p = 0.001$ and $\chi^2 = 10.97$, $p = 0.004$, respectively) (Table I).

NWps, HRV and OSV variables fit the psychophysical parameters *reactivity* and *direction* of a physiologic marker. Differences *during-before* as reflecting the *reactivity* and *direction* to NWps ($Z = -4.20$, $p = 0.000$), HRV ($Z = -3.50$, $p = 0.001$) and OSV ($Z = 3.03$, $p = 0.004$) were statistically significant. The *regulation* parameter, obtained by the difference *after-during* was significant for the variables NWps ($Z = -3.48$, $p = 0.000$), AUC ($Z = -2.038$, $p = 0.042$) HRV ($Z = -3.50$, $p = 0.000$) and OSV ($Z = -2.60$, $p = 0.009$). The values of all variables return to baseline level after recovery, as expected. Therefore, there was no significant difference between the periods *before* and *after* for all variables (Table II).

Regression analysis, used to evaluate the *slope* of the curve among the periods *during* and *before*, was not significant for the variables NWps ($R = 0.19$, $R^2 = 0.04$, $p = 0.22$), AUC ($R = 0.23$, $R^2 = 0.05$, $p = 0.12$) and HRV ($R = 0.26$, $R^2 = 0.07$, $p = 0.102$), however it was significant for OSV ($R = 0.58$, $R^2 = 0.34$, $p = 0.000$).

TABLE I

Mean values (ranges) for SCA (number of waves per second and area under the curve of waves), HRV and OSV (maximum HR and minimum OS) for the periods *before*, *during* and *after* heel prick in 41 healthy full-term newborns

	<i>before</i>	<i>during</i>	<i>after</i>	<i>p</i>
NWps	0.12 (0-0.36)	0.24 (0-0.6)	0.13 (0-0.56)	0.000
AUC (μ Ss)	1.43 (0-6.45)	1.85 (0-9.77)	1.10 (0-10.91)	0.03
Maximum HR (bpm)	139 (112-160)	149 (119-185)	139 (119-168)	0.001
Minimum OS (%)	94 (87-98)	92 (80-98)	93 (66-98)	0.004

Notes: SCA = skin conductance activity; NWps = number of waves per second; AUC = area under the curve of waves; HRV = heart rate variability; OSV = oxygen saturation variability; μ Ss = microsiemens second; HR= heart rate; bpm= beats per minute; OS= oxygen saturation; (%) = percent

TABLE II

Means (ranges) for differences in SCA (number of waves per sec and area under the curve of waves), HRV and OSV (maximum HR and minimum OS) between *during* and *before*, between *after* and *during*, and between *after* and *before* periods related heel prick in 41 healthy full-term newborns

	<i>during-before</i>	<i>after-during</i>	<i>after-before</i>
NWps	0.12(-0.2—0.53)**	-0.11(-0.6—0.23)**	0.08(-0.2—0.3)
AUC (μ Ss)	0.42(-4.94—8.26)	-0.74(-9.77—8.07) *	-0.32(-5.32—9.97)
Maximum HR (bpm)	9.72(-39—52)**	-9.71(-45—21) **	0.21(-36—37)
Minimum OS (%)	-1.68(-13—4)**	1.19(-30—14)**	-0.54(-29—8)

Notes: Wilcoxon test * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$; SCA = skin conductance activity; NWps = number of waves per sec; AUC = area under the curve of waves; HRV= heart rate variability; OSV = oxygen saturation variability; μ Ss = microsiemens second; HR= heart rate; bpm= beats per minute; OS=oxygen saturation; (%) = percent

IV. DISCUSSION

Three measures of pain in newborns, HRV, OSV, and SCA, were fit to the model analyzed. Measures of autonomic nervous system response to pain stimulus can also be derived from HRV and OSV, although these can suffer interference from individual and environmental variables [3],[5],[6]. Despite that SCA can vary according to gestational age, prior number of painful events and duration of stimulus, it seems to be more specific to pain response as it is not influenced by circulatory or respiratory changes or the use of cardiovascular drugs [12],[13]. Moreover, the HRV and OSV are regulated at brainstem level, different from the SCA, where higher brain areas known to be involved in pain perception are activated during painful procedures [29],[30].

In this study we found that NWps, HRV and OSV measures fit the parameters *intensity*, *reactivity* and *direction*. The parameter *regulation* was confirmed by NWps, AUC, HRV and OSV. The *slope* between the periods *before* and *during* was not satisfactory for the variables NWps, AUC and HRV. However, it was significant for OSV. The *intensity* level for both HRV and OSV was similar to those found in other studies with full term newborns, [5],[6],[13] varying significantly among the three periods observed, not suffering effects of clinical and demographic variables.

The NWps reaction is around two seconds after the stressor event and the level of these responses does not vary with gestational age and postnatal age [7],[8],[10],[11]-[13],[28],[31],[32]. This fact was confirmed in this study by a significant elevation of the NWps from 0.12 to 0.24 in a 15 second period after heel prick (Table I). These values are quite similar to those found by Hellerud and Storm that found 0.25 NWps in term newborns at one week postnatal age also subjected to heel prick [10]; and different to those by Harisson and colleagues, in newborns of several gestational ages, which showed an increase in the NWps up to 0.08 immediately after heel prick [18]. These latter values may be different due to the presence of premature conditions where there is evidence of significant increase of 0 to 0.03 NWps after heel prick in premature newborns with gestational age between 29 and 35 weeks, and with postnatal age between 1 and 25 days [31].

The *intensity* level for the NWps found by us was larger than those found by Harrison and colleagues [18] and there may be two justifications for this. The first one is the possible exposure of our sample to an intrauterine stress, because most of the newborns were either large or small for gestational age or from diabetic mothers. There is evidence that stress can affect SCA as maternal stress increases the SCA of the mother and the fetal HRV [33]; and premature newborns exposed to a greater number of punctures are more sensitive than those exposed to fewer punctures [11]. Otherwise, the small number of times that our newborns were subjected to punctures seems not to have interfered with the increase of the SCA baseline. However, none of these covariates was correlated with the variables studied here. Secondly, the behavioral state at baseline may have an effect enhancing the SCA as all the newborns were awake before heel prick, as seen by the behavioral state score of 2.1, that was almost twice as large as those found in research with premature newborns submitted to a heel prick [28]. In another study where 15 infants at rest, i.e. asleep and not moving (behavioral state 1) were observed six times during 48 hours the NWps had low values, varying between 0 and 0.04 waves per second and the mean value was 0.002 [34].

The AUC *reactivity* in the present research was not significant, although the AUC had an increment of 1.43 to 1.85 μ Ss between *before* and *during* the heel prick. There is a similar finding in another study with an increase in the amplitude of waves from 0 to 0.03 μ S [31]. Until recently, the amplitude of waves has been used in most research works as a secondary variable for analysis of the SCA [8],[10],[11],[13],[18],[31], making a comparison with the AUC data here obtained difficult. We hypothesized that this absence of ACU *reactivity* can be attributed to short 15 second observing periods as it seems to increase in bigger intervals of 30 and 180 seconds as we could observe during the tests, but it must be tested in further studies.

The *reactivity* of HRV and OSV analyzed separately are considered an indicator of low specificity for the diagnosis of pain, due to environmental and paradoxical variations like instability in blood circulation and respiration [2],[3],[5],[6],[35]. Although there is a trend to HR increment and OS decrement during a painful procedure, the

difference found between the periods *before* and *during* may not always be significant [31]. Breastfeeding or use of oral glucose before the painful event may change the HR and OS values [13],[36]. In our sample, most newborns were nursed in the last hour before the procedure and only four newborns received hypertonic sucrose orally, features that did not influence the variables studied as viewed by two-way ANCOVA analysis for clinical variables. This is in agreement with one study with premature newborns that were fed or received oral glucose, which showed reduced crying time, but not differences for HR and SCA [13]. In contrast, two studies with term and premature newborns have shown decreased HR after heel prick, being that the first group was not exposed to oral glucose and the second was exposed to oral glucose before heel prick [5],[36].

The *regulation* parameter was significant for all variables. Several articles involving SCA discuss variation in values found for the periods *during* and *after* heel prick. In our study the NWps and AUC fell significantly from 0.24 to 0.13 and from 1.85 to 1.1 μ Ss, respectively (Table I). All findings were consistent with those found in other research works [8],[10],[11],[13]. The difference was that the amplitude of waves rather than the AUC was used in those studies. Recent investigations, however, have worked with a new calibration of the SCMS and AUC which now appears to be an index considered more sensitive to assess how forcefully the SNS is firing [37].

The *slope* for all variables, except for OS, was not significant. The function of the *slope* is to predict the level of response during the painful event. However, when the baseline level is high, as in this study, generally the slope is low and the use of this parameter degrades in analysis. No reports were found involving *slope* and SCA. It was noted that the values for HRV and OSV in the period *after* returned to an equal or inferior level than in the period *before*, that the NWps was slightly above that found for the period *before*, and that the AUC was much lower in the *after* period than the *before* period. However, significant differences were not observed between the periods *after* and *before* for all variables. The behavior of the SCA agreed with the expected evaluation of pain through physiological indicators, where the tendency of the baseline of the *after* period to stay above that of the period *before* the painful stimulus to NWps. One explanation for the findings of HRV and OSV would be that intervals of time less than three minutes are more than sufficient to regulate the inhibitory response of the autonomic nervous system [1],[5].

V. CONCLUSION

In conclusion, NWps, HRV and OSV fit four of the psychophysical parameters of a physiologic measure being sensitive enough to show significant psychophysical change to a painful stimulation. The reactivity for AUC was not significant and needs major studies for acceptance. Our results help to state the response of the SCA as a valid physiological measure. Despite the fact that OSV was the only measure to meet the five parameters, SCA may be considered a marker related more specifically with the

painful event and reliable to be used alone in clinical contexts, suitable especially to surgery or in critically ill newborns due to its high efficacy, as both HRV and OSV show strong evidence of being also sensitive to a great influence of exogenous and endogenous factors. Thus, the HRV and OSV would only be recommended in non-emergencies contexts if adopted in combination with other physiological and behavioral methods of pain assessment [5],[6],[10].

ACKNOWLEDGMENT

This research was sponsored by grants from FAPDF, CNPq and FAHUB and received the support of the staff of the Neonatal Care Unit, University of Brasilia Hospital, Brazil. Hanne Storm is also CEO and co-owner of Med-Storm Innovation, which has developed the equipment used in this study. Special thanks to the mothers, babies, Marcos Vinicius Melo de Oliveira, Mariana Bittencourt Aflalo and Naiara Viudes for their participation and Adrian Tildesley as a native English reviewer.

REFERENCES

- [1] R. D. Goldman and G. Koren, "Biologic markers of pain in the vulnerable infant," *Clin. Perinatol.*, vol. 29, no.3, pp. 415-426, Sep. 2002.
- [2] R. Nader and K.D. Craig, *Infant pain expression throughout the first year of life*, Saarbrücken, VDM Verlag Dr. Müller Aktiengesellschaft & Co KG, 2008, pp.1-55.
- [3] B. J. Stevens, R. R. P. Riddell, T. E. Oberlander, and S. Gibbins, "Assessment of pain in newborns and infants," in: *Pain in Neonates and Infants*, 3rd ed., K.J.S. Anand, B.J. Stevens and P.J. McGrath, Ed. Philadelphia. Elsevier, 2007, pp. 67-90.
- [4] M. Walden, J. H. Penticuff, B. Stevens, M. Lotas, C. A. Kozinetz, A. Clark, *et al.*, "Maturation changes in physiologic and behavioral responses of preterm newborns to pain," *Adv. Neonatal Care*, vol. 1, no. 2, pp. 94-106, Dec. 2001.
- [5] A. L. S. T. Pereira, R. Guinsburg, M. F. B. Almeida, A. C. Monteiro, A. M. N. Santos, and B. I. Kopelman, "Validity of behavioral and physiologic parameters for acute pain assessment of term newborn infants," *Sao Paulo Med. J.*, vol. 117, pp. 72-80, 1999.
- [6] A. B. M. Serpa, R. Guinsburg, R. C. X. Balda, A. M. N. Santos, K. C. N. Areco, and C. A. Peres, "Multidimensional pain assessment of preterm newborns at the 1st, 3rd and 7th days of life," *Sao Paulo Med. J.*, vol. 125, pp. 29-33, 2007.
- [7] D. H. Crowell, C. M. Davis, B. J. Chun, and F. J. Spella, "Galvanic Skin Reflex in newborn humans," *Science*, vol. 21, no. 148, pp. 1108-1111, May 1965.
- [8] M. Eriksson, H. Storm, A. Fremming, and J. Schollin, "Skin conductance compared to a combined behavioural and physiological pain measure in newborn infants," *Acta Paediatr.*, vol. 97, pp. 27-30, 2008.
- [9] G. Gladman and M. L. Chiswick, "Skin conductance and arousal in the newborn infant," *Arch. Dis. Child.*, vol. 65, pp. 1063-1066, 1990.
- [10] B. C. Hellerud and H. Storm, "Skin conductance and behavior during sensory stimulation of preterm and term infants," *Early Hum. Dev.*, vol. 70, pp. 35-46, 2002.
- [11] H. Storm, "Skin conductance and the stress response from heel stick in preterm infants," *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed.*, vol. 83, pp. 143-147, 2000.
- [12] H. Storm, "Changes in skin conductance as a tool to monitor nociceptive stimulation and pain," *Curr. Opin. Anaesthesiol.*, vol. 21, pp. 796-804, 2008.
- [13] H. Storm and A. Fremming, "Food intake and oral sucrose in preterms prior to heel prick," *Acta Paediatr.*, vol. 91, pp. 555-560, 2002.
- [14] T. F. Oberlander and J. P. Saul, "Methodological considerations for the use of heart rate variability as a measure of pain reactivity in vulnerable infants," *Clinics in Perinatology*, vol. 29, no. 2, pp. 427-443, Sep. 2002.
- [15] G. Bini, K. E. Hagbarth, P. Hynninen, and B. G. Wallin, "Thermoregulatory and rhythm-generating mechanisms governing the sudomotor and vasoconstrictor outflow in human cutaneous nerves," *J. Physiol.*, vol. 306, pp. 537-552, Sep. 1980.
- [16] K. E. Hagbarth, R. G. Hallin, A. Hongell, H. E. Torebjork, and B. G. Wallin, "General characteristics of sympathetic activity in human skin nerves," *Acta Physiol. Scand.*, vol. 84, pp. 164-176, 1972.
- [17] H. J. Habler, W. Janig, M. Krummel, and O. A. Peters, "Respiratory modulation of the activity in postganglionic neurons supplying skeletal muscle and skin in the rat hindlimb," *J. Neurophysiol.*, vol. 70, pp. 920-930, 1993.
- [18] D. Harrison, S. Boyce, P. Loughnan, P. Dargaville, H. Storm, and L. Johnston, "Skin conductance as a measure of pain and stress in hospitalised infants," *Early Hum. Dev.*, vol. 82, no 9, pp. 603-608, September 2006.
- [19] V. G. Macefield and B. G. Wallin, "The discharge behaviour of single sympathetic outflow in normotensive human sweat glands," *J. Auton. Nerv. Syst.*, vol. 14, pp. 277-286, 1996.
- [20] D. Oken and H. A. Heath, "The Law of Initial Values: some further considerations," *Psychosom. Med.*, vol. 25 no. 1, pp. 3-12, January 1963.
- [21] B. G. Wallin, "Recordings of impulses in unmyelinated nerve fibres in man: Sympathetic activity," *Acta Anaesthesiol. Scand.*, vol. 70, pp. 130-136, Supplement, 1978.
- [22] B. G. Wallin, G. Sundlöf, and W. Delius, "The effect of carotid sinus nerve stimulations on muscle and skin nerve sympathetic activity in man," *Pflugers Arch.*, vol. 358, no.2, pp. 101-110, 1975.
- [23] G. G. Berntson, B. T. Uchino, J. T. Cacioppo, "Origins of baseline variance and the law of Initial Values," *Psychophysiology*, vol. 31, pp. 204-210, 1994.
- [24] Declaration of Helsinki, Ethical Principles for Medical Research involving human subjects, World Medical Association. Available from: <http://www.wma.net/e/policy/b3.htm>. [last access on 2010 sep 01]
- [25] Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos. Resolução 196/96, do Conselho Nacional de Saúde, Brasília, Brasil. Ministério da Saúde, 1996, pp.1-19.
- [26] H. F. Pretchel, "The behavioral states of the newborn infant (a review)," *Brain Res.*, vol. 76, pp. 185-212, 1974.
- [27] R. Edelberg, "Electrical properties of the skin", in: *Methods in psychophysiology*, C. C. Brown, Ed. Baltimore. Williams & Wilkins, 1967, pp. 1-59.
- [28] H. Storm, "The development of a software program for analyzing skin conductance changes in preterm infants," *Clinical Neurophysiology*, vol. 112, no 8, pp. 1562-1568, Aug. 2001.
- [29] A. A. Dubé, M. Duquette, M. Roy, F. Lepore, G. Ducan, and P. Rainville, "Brain activity associated with the electrodermal reactivity to acute heat pain," *Neuroimage*, vol. 45, no.1, pp. 169-180, Mar. 2009.
- [30] M. Fredrikson, T. Furmark, M. A. Olsson, H. Fischer, J. Andersson, and B. Långström, "Functional neuroanatomical correlates of electrodermal activity: A positron emission tomographic study," *Psychophysiology*, vol. 35, no. 2, pp. 179-185, Apr. 1998.
- [31] A. C. Gjerstad, K. Wagner, T. Henrichsen, H. Storm, "Skin conductance as a measure of discomfort in artificial ventilated children," *Pediatrics*, vol. 122, no. 4, pp. 848-53, Oct. 2008.
- [32] H. Storm, K. Myre, M. Rostrup, O. Stokland, M.D. Lien, and J.C. Raeder, "Skin conductance correlates with perioperative stress," *Acta Anaesthesiol. Scand.*, vol. 46, pp. 887-895, 2002.
- [33] J. A. DiPietro, K. A. Costigan, and E. D. Gurewitsch, "Fetal response to induced maternal stress," *Early Hum. Dev.*, vol. 74, no 2, pp. 125-138, Nov. 2003.
- [34] I. Roeggen, D. Harrison, L. Johnston, S. Boyce, P. Loughnan, H. Storm, *et al.*, "Skin conductance variability between and within hospitalized infants at rest (Periodical style—Accepted for publication)," *Early Hum. Dev.* to be published.
- [35] I. R. Landrot, F. Roche, V. Pichot, G. Teyssier, J.M. Gaspoz, J.C. Barthelemy, *et al.*, "Autonomic nervous system activity in premature and full-term infants from theoretical term to 7 years," *Auton. Neurosci.*, vol. 136, pp. 105-109, Oct. 2007.
- [36] N. B. Freire, J. B. S. Garcia, Z. C. Lamy, "Evaluation of analgesic effect of skin-to-skin contact compared to oral glucose in preterm neonates," *Pain*, vol. 13, no. 1, pp. 928-33, Sep. 2008.
- [37] L. Pereira-da-Silva, D. Virella, I. Monteiro, S. Gomes, P. Rodrigues, H. Storm, *et al.*, "Acute nociceptive responses to stimuli of different durations are better differentiated in neonates by Skin Conductance Algesimeter than by Neonatal Infant Pain Scale," (submitted for publication).