

Dora Mahkovic¹, Darja Paro Panjan²

Uporaba tehnologije zaznavanja svetlobe valovnih dolžin blizu spektra infrardeče svetlobe za oceno bolečine pri novorojenčkih *

The Use of Near-infrared Wavelength Detection Technology for Assessing Pain in Newborns

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: svetloba valovnih dolžin blizu spektra infrardeče svetlobe, lokalna tkivna nasičenost s kisikom, bolečina, novorojenčki

IZHODIŠČA. Prepoznavanje bolečine pri novorojenčkih je težavno in velikokrat podcenjeno. Odziv na bolečinski dražljaj lahko opredelimo z različnimi lestvicami, ki merijo spremembo vedenja, ter z meritvami fizioloških parametrov, kot npr. število srčnih utripov in vdihov na minuto ter nasičenost arterijske krvi s kisikom. Tehnologija zaznavanja svetlobe valovnih dolžin blizu spektra infrardeče svetlobe omogoča oceno lokalne tkivne nasičenosti s kisikom v različnih organih. Namen naše naloge je bil ugotoviti, ali pride ob bolečinskem dražljaju do sprememb lokalne tkivne nasičenosti s kisikom v somatosenzoričnem delu možganske skorje novorojenčkov. Postavili smo hipotezi, da bolečinski dražljaj (venepunkcija) povzroči spremembo lokalne tkivne nasičenosti s kisikom v somatosenzoričnih delih možganske skorje in hkrati spremembo števila srčnih utripov in vdihov na minuto ter spremembo nasičenosti arterijske krvi s kisikom. METODE. V prospektivno raziskavo smo zaporedno vključili 28 novorojenčkov, zdravljenih na Kliničnem oddelku za neonatologijo Pediatrične klinike Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana v obdobju od decembra 2011 do aprila 2012. Preiskovancem smo merili lokalno tkivno nasičenost s kisikom nad levo in desno možgansko poloblo, število srčnih utripov in vdihov na minuto ter nasičenost arterijske krvi s kisikom v treh časovnih intervalih: dve minuti pred bolečinskim dražljajem, ob bolečinskem dražljaju in dve minuti po bolečinskem dražljaju. Spremenljivke smo testirali s Tuckeyjevim testom za hkratno mnogokratno primerjavo podatkov. REZULTATI. Pri bolečinskem dražljaju je prišlo do padca najvišjih, najnižjih in srednjih vrednosti lokalne tkivne nasičenosti s kisikom v somatosenzoričnih predelih skorje obeh možganskih polobel. Dokazali smo povečanje števila srčnih utripov na minuto ob bolečinskem dražljaju. Sprememb števila vdihov na minuto in nasičenosti arterijske krvi s kisikom ob bolečinskem dražljaju nismo dokazali. ZAKLJUČKI. Bolečinski dražljaj povzroči spremembo lokalne tkivne nasičenosti s kisikom v somatosenzoričnem predelu možganske skorje obeh možganskih polobel. Merjenje lokalne tkivne nasičenosti s kisikom bi lahko bilo v pomoč pri oceni bolečine pri novorojenčkih v klinični praksi.

¹ Dora Mahkovic, dr. med., Klinični oddelek za neonatologijo, Pediatrična klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Bohoričeva ulica 20, 1000 Ljubljana; dora.mahkovic@gmail.com

² Izr. prof. Darja Paro Panjan, dr. med., Klinični oddelek za neonatologijo, Pediatrična klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Bohoričeva ulica 20, 1000 Ljubljana

* Delo je bilo leta 2012 objavljeno kot Prešernova naloga z naslovom Lokalna tkivna nasičenost s kisikom v somatosenzoričnem delu možganske skorje pri bolečinskem odzivu novorojenčkov.

ABSTRACT

KEY WORDS: near-infrared spectroscopy, regional tissue oxygen saturation, pain, neonates

BACKGROUNDS. Pain in newborns is often difficult to recognize and therefore to treat. Changes in heartbeats per minute, respiration rate and peripheral oxygen saturation levels are most often considered to indicate pain in newborns. Near-infrared spectroscopy technology permits continuous bedside monitoring of regional tissue oxygen saturation by measuring changes in the concentration of oxygenated and deoxygenated hemoglobin. The aim of our study was to determine whether regional tissue oxygen saturation in the somatosensory cortex of the brain changes in response to painful stimulation. We hypothesized that painful stimulus (venipuncture) is associated with change in regional tissue oxygen saturation in the somatosensory cortex of the brain and change in heartbeats per minute, respiration rate and peripheral oxygen saturation levels. **METHODS.** In our prospective study, we consecutively included 28 newborns. The children were treated at the Department of Neonatal Care, University Medical Centre Ljubljana from December 2011 to April 2012. We measured regional tissue oxygen saturation in the somatosensory cortex of the brain, heartbeats per minute, respiration rate and peripheral oxygen saturation levels two minutes before the venipuncture, at the moment of venipuncture and two minutes after venipuncture. The results were tested using Tuckey's range test. **RESULTS.** There was a statistically significant difference in regional tissue oxygen saturation in the somatosensory cortex of the brain at the moment of venipuncture compared to regional tissue oxygen saturation before venipuncture. We also found a statistically significant difference in heartbeats per minute. We found no statistically significant difference in respiration rate and peripheral oxygen saturation levels. **CONCLUSIONS.** Painful stimulation causes changes in the regional tissue oxygenation in the somatosensory cortex of the brain. Our results could indicate the use of near-infrared spectroscopy for recognizing acute pain in newborns.

IZHODIŠČA

Novorojenčki na neonatalnih oddelkih in v enotah intenzivne terapije so v sklopu diagnostičnih in terapevtskih metod pogosto izpostavljeni bolečim postopkom (1, 2). Dokazali so, da pogosta bolečina v času razvoja povzroči nevro-anatomske spremembe v razvijajočih se možganih in vodi do vedenjskih motenj ter dolgoročnih sprememb v dojetanju bolečine (3, 4). Predhodne raziskave na tem področju so kot primerne pokazatelje akutne bolečine pri novorojenčkih dokazale spremembe vedenja in spremembe različnih fizioloških parametrov, kot so sprememba števila srčnih utripov in vdihov na minuto ter nasičenosti arterijske krvi

s kisikom (SaO_2) (5–11). Dokazali so, da pride ob bolečinskem dražljaju pri novorojenčkih do statistično značilnega povečanja števila srčnih utripov na minuto, variabilnosti srčnega utripa in krvnega tlaka, povečanja števila vdihov na minuto ter do zmanjšanja SaO_2 zaradi vazokonstrikcije ob delovanju simpatičnega avtonomnega sistema (1, 12–15). Novejše raziskave so dokazale vpliv bolečine na prevodnost kože pri novorojenčkih (9, 10). Zaradi povečanega potenja ob delovanju simpatičnega sistema pride ob bolečini do povečane prevodnosti kože na plantarnem delu stopala in palmar-nem delu dlani (9). Kot manj občutljive metode ocenjevanja bolečine so avtorji

opisovali spremembe vedenja, kot so jok, sunkoviti gibi telesa in spremembe obrazne mimike (5, 7). Raziskave so pri ocenjevanju bolečine dokazale tudi uporabnost bolečinskih lestvic, ki združujejo vedenjske in fiziološke parametre (12, 16–18).

Tehnologija zaznavanja svetlobe valovnih dolžin blizu spektra infrardeče svetlobe (angl. *near infrared spectroscopy*, NIRS) omogoča določanje razmerja med oksigeniranim in deoksigeniranim hemoglobinom v tkivu in s tem oceno lokalne preskrbljenosti in porabe kisika (19). Omogoča neinvazivno in nenehno spremljanje možganske hemodinamike in nasičenosti s kisikom, zato je uporabnost metode velika predvsem v enotah intenzivne terapije novorojenčkov (20). Dokazali so uporabnost NIRS pri spremljanju učinkov intenzivne terapije na razvoj možganov prezgodaj rojenih otrok in pri vrednotenju sprememb v možganih pri hipoksično-ishemični encefalopatiji (21, 22). Pred našo raziskavo je bila leta 2007 objavljena le ena manjša študija na področju uporabe NIRS pri prepoznavanju bolečine novorojenčkov. Slaterjeva in sodelavci so merili spremembo lokalne tkivne nasičenosti s kisikom (angl. *regional tissue oxygen saturation*, rSO_2) ob venepunkciji v heterogeni skupini z 12 vključenimi novorojenčki, ki so imeli gestacijsko starost od 26 do 40 tednov (23). Hkrati z rSO_2 so bolečino ocenjevali z eno od vedenjskih bolečinskih lestvic (angl. *pre-mature infant pain profile*, PIPP), ki poda oceno bolečine na podlagi sprememb vedenja in gibov (12). Dokazali so spremembo rSO_2 v somatosenzoričnih delih možganov ob bolečini in dobro povezanost med spremembo rSO_2 in oceno PIPP (23). Največja povezanost je bila med spremembo rSO_2 in spremembo obrazne mimike. V nekaterih primerih je prišlo do spremembe rSO_2 v somatosenzoričnih delih možganov brez spremembe obrazne mimike, kar so si avtorji razlagali z nezrelostjo živčnega sistema. Glede na rezultate so sklepali, da je uporaba NIRS bolj zanesljiva pri ugotavljanju prisotnosti

bolečine pri novorojenčkih v primerjavi z vedenjskimi lestvicami oziroma da odsotnost sprememb vedenja ne pomeni odsotnost bolečine (23).

Namen naše raziskave je bil ugotoviti, ali pride pri venepunkciji v skupini donošenih novorojenčkov do sprememb rSO_2 v somatosenzoričnih delih možganske skorje, do sprememb števila srčnih utripov in vdihov na minuto ter SO_2 . Naši hipotezi sta bili, da venepunkcija povzroči spremembo rSO_2 v somatosenzoričnih delih možganov novorojenčkov in spremembo števila srčnih utripov in vdihov na minuto ter spremembo v SO_2 .

METODE

Prospektivna študija je potekala na Kliničnem oddelku za neonatologijo Pediatrične klinike Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana, v obdobju od 1. decembra 2011 do 30. aprila 2012. V raziskavo smo vključili 35 zaporedno sprejetih novorojenčkov z gestacijsko starostjo od 37 do 42 tednov in postnatalno starostjo od 0 do 30 dni, ki so bili sprejeti na Klinični oddelek za neonatologijo zaradi različnih vzrokov in so imeli predviden venozni odvzem krvi v sklopu diagnostične obravnave. Razlogi za sprejem v bolnišnično oskrbo so bili različni in so prikazani v tabeli 1. Vključili smo donošene novorojenčke v starosti 0–30 dni. Izključitveni dejavniki so bili:

- nedonošenost,
- hemodinamska nestabilnost,
- dokazane prirojene nepravilnosti,
- povišana telesna temperatura in
- prejemanje pomirjeval, sredstev proti bolečini ali anestetičnih sredstev v zadnjih 24 urah.

Raziskava je potekala v skladu z načeli Helsinške deklaracije o biomedicinskih raziskavah na človeku. Odobrila jo je Komisija Republike Slovenije za medicinsko etiko (št. odobritve 123/08/11). Vsi starši so pred vključitvijo v raziskavo podpisali izjavo o strinjanju s sodelovanjem.

Tabela 1. Razlogi za bolnišnično obravnavo vključenih novorojenčkov.

| Diagnoza | Število novorojenčkov (N = 28) |
|-------------------------------------|--------------------------------|
| akutni bronhiolitis | 5 |
| sistolni šum | 3 |
| aspiracija mekonija | 3 |
| sum na sepsa | 3 |
| dihalna stiska | 3 |
| hiperbilirubinemija | 2 |
| hidronefroza | 2 |
| slabo pridobivanje telesne mase | 1 |
| makulopapulozni izpuščaji | 1 |
| okužba z virusom citomegalije | 1 |
| dehidracija | 1 |
| hemolitična bolezen | 1 |
| nenadni življenje ogrožujoč dogodek | 1 |
| okužba s toksoplazmo gondii | 1 |

V raziskavi smo merili rSO_2 nad levim in desnim delom somatosenzorične možganske skorje, število srčnih utripov in vdihov na minuto ter SaO_2 dve minuti pred, med in dve minuti po bolečinskem dražljaju – venepunkciji. Meritve števila srčnih utripov in vdihov na minuto ter SaO_2 smo opravili z monitorjem Philips IntelliVue MP50. Elektrode za merjenje števila srčnih utripov in vdihov na minuto ter senzor za merjenje nasičenosti hemoglobina s kisikom smo novorojenčkom namestili eno uro pred začetkom izvajanja meritve. Za merjenje rSO_2 z metodo NIRS smo uporabili sistem INVOS (angl. *Somanetics In Vivo Optical Spectroscopy*). Elektrode smo prilepili na kožo nad somatosenzoričnimi predeli možganov eno uro pred bolečinskim dražljajem. Venepunkcijo je pri vseh meritvah izvajala ista medicinska sestra. Novorojenčki med postopkom niso imeli igralne dude, prav tako niso prejeli protibolečinskih sredstev. Sedem novorojenčkov smo zaradi neuspešnih meritve izključili iz raziskave. Pri petih je zaradi premikanja prišlo do odlepitve elektrod s kože med meritvijo, pri dveh

novorojenčkih prva venepunkcija ni uspela, zato je bila potrebna ponovna izvedba.

Statistična analiza

Normalnost porazdelitve podatkov smo testirali s postopkom Univariate. Pri obdelavi podatkov s statističnim modelom smo uporabili postopek General Linear Models. Spremembe spremenljivk v različnih časovnih intervalih smo analizirali s Tuckeyjevim testom za hkratno mnogokratno primerjavo podatkov. Za statistično značilne razlike smo rezultate vrednotili s stopnjo tveganja $p < 0,05$. Za statistično obdelavo podatkov smo uporabili programski paket SAS/STAT (SAS 9.2., 2012, ZDA).

REZULTATI

V skupini novorojenčkov je bilo 13 (46,4 %) deklic in 15 (53,6 %) dečkov. Povprečna starost vključenih otrok je bila 12,3 dni (standardni odklon 8,273), njihova povprečna teža pa 3.180 g (standardni odklon 553,194). V skupini otrok ni bilo odstopanj od normalne porazdelitve vrednosti spremenljivk.

Ob bolečinskem dražljaju je v skupini opazovanih otrok prišlo do padca srednjih vrednosti rSO_2 v somatosenzoričnih predelih skorje obeh možganskih polobel (tabela 2). Dokazali smo statistično značilno razliko v vrednostih rSO_2 leve in desne poloble ob vbodu in dve minuti po vbodu, v primerjavi z vrednostmi rSO_2 dve minuti pred vbodom (tabela 2).

Pri merjenju fizioloških parametrov v izbranih časovnih intervalih smo dokazali statistično značilno razliko med srednjimi vrednostmi števila srčnih utripov na minuto ob različnih trenutkih meritev. Srednja vrednost števila srčnih utripov je bila v skupini novorojenčkov med vbodom in dve

minuti po vbodu statistično značilno večja od srednje vrednosti števila utripov na minuto dve minuti pred vbodom (tabela 3). V skupini otrok nismo dokazali statistično značilne razlike v srednjih vrednostih števila vdihov na minuto in SaO_2 med izbranimi časovnimi intervali (tabela 3).

RAZPRAVA

Namen naše raziskave je bil ugotoviti, ali pride pri novorojenčkih ob bolečinskem dražljaju do sprememb rSO_2 v somatosenzoričnih delih možganske skorje in do sprememb fizioloških parametrov. Dokazali smo, da je ob bolečinskem dražljaju pri opazovanih novorojenčkih prišlo do sprememb rSO_2

Tabela 2. Srednje, najnižje in najvišje vrednosti tkivne nasičenosti s kisikom v somatosenzoričnem delu leve in desne možganske poloble v izbranih časovnih intervalih. rSO_2 – lokalna tkivna nasičenost s kisikom.

| N = 28 | Vrednost | Dve minuti pred vbodom | Ob vbodu | Dve minuti po vbodu | Standardni odklon | p-vrednost (Tuckeyjev test) |
|---------------|----------|------------------------|----------|---------------------|-------------------|-----------------------------|
| rSO_2 | srednja | 75,611 | 72,374 | 72,442 | | |
| leva polobla | najnižja | 67 | 55 | 62 | 0,721 | < 0,013 ^a |
| | najvišja | 95 | 83 | 87 | | |
| rSO_2 | srednja | 77,522 | 74,414 | 74,116 | | |
| desna polobla | najnižja | 69 | 62 | 67 | 0,747 | < 0,015 ^a |
| | najvišja | 93 | 90 | 85 | | |

^a Povprečne vrednosti so se statistično značilno razlikovale ($p < 0,05$).

Tabela 3. Srednje, najnižje in najvišje vrednosti fizioloških parametrov v izbranih časovnih intervalih. SaO_2 – nasičenost arterijske krvi s kisikom.

| N = 28 | Vrednost | Dve minuti pred vbodom | Ob vbodu | Dve minuti po vbodu | Standardni odklon | p-vrednost (Tuckeyjev test) |
|----------------------------------|----------|------------------------|----------|---------------------|-------------------|-----------------------------|
| Število srčnih utripov na minuto | srednja | 137,743 | 161,351 | 158,742 | | |
| | najnižja | 105 | 85 | 122 | 2,957 | < 0,012 ^a |
| | najvišja | 160 | 192 | 200 | | |
| Število vdihov na minuto | srednja | 39,337 | 43,111 | 41,764 | | |
| | najnižja | 18 | 25 | 31 | 1,652 | 0,263 |
| | najvišja | 58 | 59 | 65 | | |
| SaO_2 | srednja | 96,341 | 94,653 | 93,440 | | |
| | najnižja | 80 | 70 | 80 | 1,054 | 0,184 |
| | najvišja | 100 | 100 | 100 | | |

^a Povprečne vrednosti so se statistično značilno razlikovale ($p < 0,05$).

v somatosenzoričnih delih možganske skorje. Ob bolečinskem dražljaju je prišlo tudi do sprememb števila srčnih utripov na minuto, nismo pa dokazali spremembe števila vdihov na minuto in SaO_2 ob bolečinskem dražljaju.

Z raziskavo smo potrdili hipotezo, da bolečinski dražljaj povzroči spremembo $r\text{SO}_2$ v somatosenzoričnih delih možganov novorojenčkov. Rezultati so primerljivi z rezultati predhodne raziskave Slaterjeve in sodelavcev; prednost naše raziskave je, da je potekala na večjem vzorcu novorojenčkov ter da so bili preiskovanci bolj primerljivi tako glede na gestacijsko kot tudi glede na postnatalno starost. Nedonošenost je bila v naši raziskavi eden od izključitvenih kriterijev, saj smo sklepali, da bi nezrelost živčnega in kardiorespiratornega sistema lahko vplivala na rezultate. Druga pomembna razlika med študijama je, da smo v naši raziskavi $r\text{SO}_2$ merili tudi dve minuti po venepunkciji. Ugotovili smo, da je bila $r\text{SO}_2$ statistično značilno različna od izhodiščne vrednosti še dve minuti po bolečinskem dražljaju. Sklepamo lahko, da nenadna bolečina pri novorojenčkih sproži dalj časa trajajoč odziv v osrednjem živčevju. Rezultati naše raziskave nakazujejo uporabnost NIRS za oceno prisotnosti akutne bolečine pri novorojenčkih. Kvalitativna ocena bolečine, ki bi bila primerljiva objektivizirani oceni na vizualno analogni bolečinski lestvici, ostaja težavna, saj so vrednosti $r\text{SO}_2$ v možganih novorojenčkov odvisne od številnih dejavnikov, predvsem gestacijske starosti in prisotnosti različnih bolezenskih stanj (24). Potrebna bi bila večja raziskava na skupinah novorojenčkov različnih gestacijskih starosti, ki bi potrdila uporabo NIRS za kvantitativno in kvalitativno oceno akutne bolečine pri novorojenčkih.

V raziskavi smo dokazali, da bolečina pri novorojenčkih povzroči povečanje števila

srčnih utripov na minuto. Naši rezultati so pričakovani in so primerljivi z rezultati predhodnih raziskav (8, 13, 15). Avtorji so si povečanje števila srčnih utripov razlagali z aktivacijo simpatičnega nitja avtonomnega živčnega sistema, ki je tesno povezano z nociceptivnim živčnim sistemom, oba pa sta pri novorojenčkih že razvita (25–27). V nasprotju s pričakovanji nismo potrdili hipoteze, da bolečinski dražljaj pri novorojenčkih vpliva na število vdihov na minuto in SaO_2 . Oba parametra sta se že v nekaterih novejših raziskavah izkazala za manj zanesljiva pokazatelja bolečine (28). Dokazali pa so, da je njuna zanesljivost večja pri uporabi v sklopu neonatalnih bolečinskih lestvic, kot je npr. PIPP (11). Na naše rezultate bi lahko vplivala različna bolezenska stanja vključenih novorojenčkov ali manjša natančnost pri izvajanju nekaterih meritev.

Omeniti moramo še nekatere pomanjkljivosti naše raziskave. Prva slabost je bila predvsem majhno število vključenih novorojenčkov. Kljub natančnim vključitvenim kriterijem, je bila skupina preiskovancev heterogena glede bolezenskih stanj, kar je lahko vplivalo na rezultate. Zaradi pomanjkanja števila sodelujočih preiskovalcev pri meritvah so bile nekatere od njih, predvsem merjenje števila vdihov na minuto, pri nekaj preiskovancih verjetno opravljene manj natančno.

ZAKLJUČKI

Z našo raziskavo smo potrdili prisotnost fizioloških sprememb ob bolečinskem dražljaju in s tem dodatno poudarili pomen prepoznavne bolečinskega dražljaja pri novorojenčkih. Naši rezultati nakazujejo možnost uporabe tehnologije NIRS za oceno prisotnosti akutne bolečine pri novorojenčkih. Za potrditev vloge NIRS pri zaznavanju in kvalitativni oceni bolečine novorojenčkov so potrebne nadaljnje večje študije.

LITERATURA

1. Stevens BJ, Harrison D, Rashotte J, et al. Pain assessment and intensity in hospitalized children in Canada. *J Pain*. 2012; 13 (9): 857–65.
2. Foster J, Spence K, Henderson-Smart D, et al. Procedural pain in neonates in Australian hospitals: a survey update of practices. *J Paediatr Child Health*. 2013; 49 (1): 35–9.
3. Anand KJ, Coskun V, Thirivikraman KV, et al. Long-term behavioral effects of repetitive pain in neonatal rat pups. *Physiol Behav*. 1999; 66 (4): 627–37.
4. Anand KJ. Pain, plasticity, and premature birth: a prescription for permanent suffering? *Nat Med*. 2000; 6 (9): 971–3.
5. Grunau RV, Johnston CC, Craig KD. Neonatal facial and cry responses to invasive and non-invasive procedures. *Pain*. 1990; 42 (3): 295–305.
6. Van Dijk M, de Boer JB, Koot HM, et al. The association between physiological and behavioral pain measures in 0- to 3-year-old infants after major surgery. *J Pain Symptom Manage*. 2001; 22 (1): 600–9.
7. Schiavenato M, Butler-O'Hara M, Scovanner P. Exploring the association between pain intensity and facial display in term newborns. *Pain Res Manag*. 2011; 16 (1): 10–2.
8. Lindh V, Wiklund U, Sandman PO, et al. Assessment of acute pain in preterm infants by evaluation of facial expression and frequency domain analysis of heart rate variability. *Early Hum Dev*. 1997; 48 (1–2): 131–42.
9. Munsters J, Wallström L, Agren J, et al. Skin conductance measurements as pain assessment in newborn infants born at 22–27 weeks gestational age at different postnatal age. *Early Hum Dev*. 2012; 88 (1): 21–6.
10. Eriksson M, Storm H, Fremming A, et al. Skin conductance compared to a combined behavioural and physiological pain measure in newborn infants. *Acta Paediatr*. 2008; 97 (1): 27–30.
11. Holsti L, Grunau RE, Oberlander TF, et al. Is it painful or not? Discriminant validity of the Behavioral Indicators of Infant Pain (BIIP) scale. *Clin J Pain*. 2008; 24 (1): 83–8.
12. Stevens B, Johnston C, Petryshen P, et al. Premature Infant Pain Profile: development and initial validation. *Clin J Pain*. 1996; 12 (1): 13–22.
13. Schäffer L, Burkhardt T, Müller-Vizentini D, et al. Cardiac autonomic balance in small-for-gestational-age neonates. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008; 294 (2): 884–90.
14. Faye PM, De Jonckheere J, Logier R, et al. Newborn infant pain assessment using heart rate variability analysis. *Clin J Pain*. 2010; 26 (9): 777–82.
15. Logier R, De Jonckheere J, Jeanne M, et al. Fetal distress diagnosis using heart rate variability analysis: design of a high frequency variability index. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*. 2008; 2008: 4728–31.
16. Van Dijk M, Roofthoof DW, Anand KJ, et al. Taking up the challenge of measuring prolonged pain in (pre-mature) neonates: the COMFORTneo scale seems promising. *Clin J Pain*. 2009; 25 (7): 607–16.
17. Hummel P, Puchalski M, Creech SD, et al. Clinical reliability and validity of the N-PASS: neonatal pain, agitation and sedation scale with prolonged pain. *J Perinatol*. 2008; 28 (1): 55–60.
18. Lawrence J, Alcock D, McGrath P, et al. The development of a tool to assess neonatal pain. *Neonatal Netw*. 1993; 12 (6): 59–66.
19. Ancora G, Maranella E, Grandi S, et al. Early predictors of short term neurodevelopmental outcome in asphyxiated cooled infants. A combined brain amplitude integrated electroencephalography and near infrared spectroscopy study. *Brain Dev*. 2013; 35 (1): 26–31.
20. Van Bel F, Lemmers P, Naulaers G. Monitoring neonatal regional cerebral oxygen saturation in clinical practice: value and pitfalls. *Neonatology*. 2008; 94 (4): 237–44.
21. Greisen G, Leung T, Wolf M. Has the time come to use near-infrared spectroscopy as a routine clinical tool in preterm infants undergoing intensive care? *Philos Trans A Math Phys Eng Sci*. 2011; 369 (1955): 4440–51.
22. Wintermark P, Hansen A, Warfield SK, et al. Near-infrared spectroscopy versus magnetic resonance imaging to study brain perfusion in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy treated with hypothermia. *Neuroimage*. 2014; 85: 287–93.
23. Slater R, Cantarella A, Franck L, et al. How well do clinical pain assessment tools reflect pain in infants? *PLoS Med*. 2008; 5 (6): 129.
24. McNeill S, Gatenby JC, McElroy S, et al. Normal cerebral, renal and abdominal regional oxygen saturations using near-infrared spectroscopy in preterm infants. *J Perinatol*. 2011; 31 (1): 51–7.
25. Appelhans BM, Luecken LJ. Heart rate variability and pain: associations of two interrelated homeostatic processes. *Biol Psychol*. 2008; 77 (2): 174–82.

26. Cong X, Ludington-Hoe SM, McCain G, et al. Kangaroo Care modifies preterm infant heart rate variability in response to heel stick pain: pilot study. *Early Hum Dev.* 2009; 85 (9): 561–7.
27. Longin E, Gerstner T, Schaible T, et al. Maturation of the autonomic nervous system: differences in heart rate variability in premature vs. term infants. *J Perinat Med.* 2006; 34 (4): 303–8.
28. Ledowski T, Reimer M, Chavez V, et al. Effects of acute postoperative pain on catecholamine plasma levels, hemodynamic parameters, and cardiac autonomic control. *Pain.* 2012; 153 (4): 759–64.

Prispelo 25. 2. 2015