

مقایسه‌ی میزان کورتیزول خون در نوزادان با درد و بدون درد در بخش مراقبت‌های ویژه: مطالعه‌ی مقدماتی

محسن ملاحادی^{*} MSc، فروغ سرهنگی¹ MSc، عباس عبادی¹ PhD، سید داوود تدریسی¹ MSc

^{*} مرکز تحقیقات علوم اعصاب کاربردی و دانشکده‌ی پرستاری، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا... (عج)، تهران، ایران

¹ دانشکده پرستاری، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا... (عج)، تهران، ایران

چکیده

اهداف: پاسخ نوزادان به درد و استرس به سه صورت رفتاری، فیزیولوژیکی و عصبی شیمیایی بروز می‌کند. تغییرات عصبی شیمیایی به درد، شامل ترشح و آزاد شدن هورمون‌ها و موادی همانند کورتیزول، انسولین، اندورفین و کاتکولامین‌ها است. مطالعه‌ی حاضر، با هدف مقایسه‌ی میزان کورتیزول در نوزادان ترم با درد و بدون درد انجام شد.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی مقدماتی در سال 1389، سی نوزاد بستری در بخش مراقبت‌های ویژه‌ی نوزادان بیمارستان بقیه‌ا... (عج) به دو گروه پانزده تایی با و بدون درد تقسیم شدند. سپس میزان کورتیزول خون حین روند دردناک خون‌گیری اندازه‌گیری شد. وجود درد یا عدم وجود آن، با استفاده از مقیاس درد نوزادان و شیرخواران (NIPS) بررسی شد. برای تجزیه و تحلیل اطلاعات از آزمون آماری من ویتنی و ضریب همبستگی اسپیرمن و نرم‌افزار SPSS17 استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که میانگین سطح کورتیزول در دو گروه از لحاظ آماری تفاوت معنی‌دار ندارد ($p>0/05$)؛ اما میان نمرات NIPS و سطح کورتیزول در کل جامعه ارتباط مستقیم و معنی‌دار وجود داشت ($p<0/05$ و $r=0/337$).

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به دست آمده، به نظر می‌رسد که کورتیزول خون معیار مطمئنی برای بررسی وجود درد نیست. ولی باید توجه داشت که، برای اندازه‌گیری سطح کورتیزول و تعیین ارتباط و تغییرات آن با درد، زمان انجام نمونه‌گیری و توجه به ریتم ترشح این هورمون در 24 ساعت شبانه روز، توجه به سن نوزادان و شرایط جسمی آن‌ها بسیار مهم است.

واژگان کلیدی: کورتیزول؛ درد؛ نوزادان؛ استرس

Comparing blood cortisol level in infants with and without pain in Neonatal Intensive Care Unit: A preliminary study

Mohsen Mollahadi^{*} MSc, Forough Sarhangi¹ MSc, Abbas Ebadi¹ PhD, Seyyed Davood Tadrissi¹ MSc

^{*} Applied Neuroscience Research Center and Faculty of Nursing of Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

¹ Faculty of Nursing, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Aims: Neonatal pain and stress response are manifested in three behavioral, physiological and chemical forms. Chemical changes in the pain include secretion and release of hormones and substances such as cortisol, insulin, endorphins and catecholamines. The present study aimed to compare the cortisol level in term infants with and without pain.

Methods: In this pilot study in 2010, 30 infants who were admitted to the neonatal intensive care unit in Baqiyatallah hospital, divided into two 15-participant groups, with and without pain groups. Thereafter, the blood cortisol level was measured during the painful procedure of blood sampling. Pain or lack of pain was determined through Neonatal Infant Pain Scale (NIPS). Analyzing the data was done by using Mann-Whitney U test and Spearman coefficient correlation and SPSS17 software.

Results: Results indicated that cortisol level in both groups had no significant statistical difference ($p>0.05$); but, there was a significant and direct association between NIPS scores and cortisol level in all participants ($p<0.05$; $r=0.337$).

Conclusion: According to the obtained results, it seems that blood cortisol is not a reliable scale to evaluate the pain. However, it should be noted that, measuring the cortisol level and identifying its association and changes with pain, the time of blood sampling, attention to secretion rhythm of this hormone in 24 hours and infants' age and their physical conditions should be highly considered.

Keywords: Cortisol; Pain; Infants; Stress

(این مقاله مستخرجه از پایان‌نامه کارشناسی ارشد است)

^{*} نویسنده مسؤول: محسن ملاحادی، تمام درخواست‌ها باید به نشانی mmollahadi@gmail.com فرستاده شوند.

گزارش کرده‌اند. تعدادی از این مطالعات نشان داده‌اند که در نوزادان با نقص مادرزادی قلبی که تحت عمل جراحی قرار می‌گیرند، سطح کورتیزول خون کمتر از $10\text{mcg}/100\text{ml}$ - 5 است [15].

مداخله‌های دردناک قلبی، یکی از عوامل مهم در ترشح کورتیزول پلاسما در نوزادانی است که مداخله‌ی دردناک برای دفعات بعدی روی آن‌ها انجام می‌شود [16]. مطالعات و آزمایشات انجام شده در بزرگسالان نشان می‌دهد که میزان کورتیزول پلاسما، تحت تأثیر عوامل کنترل نشده‌ی متعددی قرار می‌گیرد. این مسأله در نوزادان بیشتر دیده می‌شود [11]. اما مطالعات در مورد نوزادان ترم بدون مشکلات پاتولوژی خاص کمتر انجام شده است. به همین دلیل و به علت نتایج متفاوت به دست آمده، مطالعه‌ی حاضر با هدف مقایسه‌ی میزان کورتیزول در نوزادان ترم با درد و بدون درد و تعیین میزان ارتباط درد با تغییرات کورتیزول خون انجام شد.

روش‌ها

مطالعه‌ی حاضر یک مطالعه‌ی مقدماتی است که برای شروع مطالعه‌ی با حجم نمونه‌ی بزرگتر در سال 1389 انجام شد. سی نوزاد ترم که در بخش مراقبت‌های ویژه‌ی نوزادان بستری بودند، براساس معیارهای ورود به مطالعه و با استفاده از روش نمونه‌گیری در دسترس، انتخاب شدند. معیارهای ورود شامل ابتلا به یرقان، عدم دریافت داروهای مسکن هنگام اندازه‌گیری درد و حداقل سه ساعت قبل از آن، عدم وجود بیماری زمینهای و جراحی‌های وسیع ایجاد کننده‌ی درد (مانند جراحی‌های شکمی)، عدم وجود بیماری‌های فلج کننده و نقایص آناتومیکی اعضا (دستها و پاها) و عدم وجود بیماری‌های عفونی، شکستگی‌ها و بیماری‌های التهابی شدید بود. بر همین اساس، معیارهای خروج لزوم استفاده از داروهای مسکن یا کورتیکواستروئید قبل از انجام نمونه‌گیری بود.

نوزادان مورد نظر بعد از اثبات میزان درد در آن‌ها، به دو گروه بدون درد و با درد تقسیم شدند. تشخیص وجود درد به وسیله‌ی مقیاس سنجش درد نوزادان و شیرخواران (NIPS) که پایایی و روایی آن توسط ملاحادی در زبان فارسی تأیید شده است، انجام شد [17].

NIPS شامل شش شاخص رفتاری گریه، حالت چهره و صورت، کیفیت تنفس، توان عضلانی و حرکت دست‌ها، پاها و حالت برانگیختگی است، که در پاسخ به روندهای دردناک در نوزادان نارس (با سن بارداری کمتر از 37 هفته)، و نوزادان ترم (با سن بارداری بیش از 37 هفته) به کار می‌رود. محدوده‌ی نمره‌گذاری هر یک از حیطه‌های این ابزار، از صفر تا یک است به جز حیطه‌ی گریه‌ی نوزاد که از صفر تا دو نمره‌گذاری می‌شود. نمره‌ی کل، می‌تواند عددی بین صفر تا هفت باشد [18]. در این قسمت نوزادانی که نمره‌ی NIPS آن‌ها بالاتر از سه بود، در گروه با درد قرار گرفتند.

نوزادان در معرض تعداد زیادی از عوامل استرس‌زا قرار دارند. این استرس‌ها، به خصوص در نوزادان بستری در بخش مراقبت‌های ویژه افزایش می‌یابد. از این استرس‌ها می‌توان به، صداها و نورهای خاص، بیماری‌های مزمن یا حاد، جدایی از والدین، روندهای تهاجمی و... اشاره کرد [1, 2].

درد، یکی از ابعاد مفهوم بزرگ استرس به حساب می‌آید [3]. پاسخ نوزادان به درد و استرس به سه صورت رفتاری، فیزیولوژیک و عصبی شیمیایی بروز پیدا می‌کند. البته شدت و نحوه‌ی بروز این پاسخ‌ها به عواملی مانند سن بارداری، شدت بیماری، مدت‌زمان بستری در بخش مراقبت‌های ویژه نوزادان و... بستگی دارد. از پاسخ‌های رفتاری نسبت به درد می‌توان به گریه، حرکات اعضای بدن، در هم کشیدن چهره، کاهش و اختلال در تغذیه اشاره کرد [4]. پاسخ‌های فیزیولوژیک نسبت به درد در نوزادان نیز شامل، تغییرات فشار خون و ضربان قلب، هایپوکسی و افزایش مصرف اکسیژن است [4-7]. تغییرات عصبی شیمیایی به درد شامل ترشح و آزاد شدن هورمون‌ها و موادی همانند کورتیزول، انسولین، اندورفین و کاتکولامین‌ها است. کورتیزول، اولین گلوکوکورتیکوئیدی است که به عنوان عامل فعالیت محور هیپوتالاموس، هیپوفیز و غده آدرنال، در خون و بزاق ترشح می‌شود [8].

غلظت اولیه‌ی کورتیزول و افزایش آن نسبت به یک رویداد استرس‌زا متناسب با سن تغییر می‌کند. این تغییر در سنین کودکی و نوزادی بیشتر است [9]. درد یکی از عوامل استرس‌زا به ویژه در نوزادان و کودکان کوچک است [10]. مطالعات قلبی نشان داده‌اند که استرسورهای روانی باعث واکنش‌پذیری تحریک ترشح کورتیزول نمی‌شوند و در مقابل استرسورهای فیزیکی ترشح کورتیزول را تحریک می‌کنند [11].

کورتیزول پلاسما در نوزادان ترم و سالم بعد از تولد، به $200-300\text{nmol}/1$ افزایش می‌یابد. این مقدار تا روز هفتم زندگی به $100-120\text{nmol}/1$ کاهش می‌یابد و در هفته‌ی دوم زندگی به زیر $100\text{nmol}/1$ می‌رسد [12]. هر چند که این مکانیسم ترشح در سنین مختلف متفاوت است و اطلاعات دقیقی به خصوص در مورد ترشح کورتیزول در کودکان زیر شش ماه در دسترس نیست، با این حال استرسورهای فیزیکی و روندهای دردناک، بیش‌تر باعث ترشح کورتیزول می‌شوند [11].

نوزادان ترم بستری در بخش مراقبت‌های ویژه در مقابل روندهای دردناک، پاسخ‌های رفتاری و افزایش سطح کورتیزول خون را نشان می‌دهند. این مسأله به خصوص در سنین چهار تا شش ماه بیشتر دیده می‌شود [13, 14]. مطالعات و اطلاعات متفاوتی نسبت به میزان ترشح کورتیزول در نوزادان، به خصوص در نوزادان ترم بستری در بخش مراقبت‌های ویژه، انجام شده است که هر کدام نتایجی را

جدول 1. مشخصات نوزادان شرکت کننده در مطالعه

نوزادان با درد		نوزادان بدون درد		گروه ←	
درصد	تعداد	درصد	تعداد		متغیر ↓
36/4	4	46/2	6	پسر	جنسیت
63/6	7	53/8	7	دختر	
54/5	6	46/2	6	1000-2700	وزن (گرم)
45/5	5	53/8	7	2700-4000	
45/5	5	84/6	11	1-5	سن (روز)
54/5	6	15/4	2	5-10	
36/4	4	15/4	2	7>	آپگار دقیقه اول
63/6	7	84/6	11	7-10	
-	-	-	-	7>	آپگار دقیقه پنجم
100	11	100	13	7-10	
-	-	38/5	5	120>	ضربان قلب
-	-	61/5	8	120-140	[تعداد در دقیقه]
100	11	-	-	140<	
45/5	5	-	-	95>	اشباع اکسیژن
54/5	6	100	13	95-100	[درصد]
18/2	2	23/1	3	طبیعی	نوع زایمان مادر
81/8	9	76/9	10	سزارین	
18/2	2	100	13	1-3	نمره NIPS
81/8	9	-	-	3-7	

مقایسه‌ی میزان کورتیزول خون در نوزادان با درد و بدون درد در بخش مراقبت‌های ویژه: مطالعه‌ی مقدماتی 107

بعد از اثبات وجود درد یا عدم وجود آن، با استفاده از مقیاس NIPS، حین انجام نمونه‌گیری روتین بخش که بر اساس دستور پزشک معالج نوزادان انجام می‌شد، یک نمونه اضافی خون از آن‌ها برای تعیین میزان کورتیزول پلازما گرفته شد. ساعت نمونه‌گیری در همه‌ی نوزادان، هشت صبح و یک ساعت بعد از تغذیه با شیر مادر بود. بعد از انجام نمونه‌گیری، نمونه‌ها سریعاً برای جداسازی سرم به آزمایشگاه انتقال داده می‌شد.

همه‌ی نوزادان مورد مطالعه، نوزادانی بودند که به علت یرقان در بخش مراقبت‌های ویژه بستری شده بودند و هیچ‌گونه مشکل پاتولوژی دیگری نداشتند. قبل از انجام نمونه‌گیری، از والدین نوزادان، رضایت آگاهانه برای شرکت در مطالعه اخذ شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از مطالعه، از نرم‌افزار آماری SPSS17، استفاده شد. برای مقایسه‌ی میانگین کورتیزول در دو گروه به دلیل این که توزیع داده‌ها غیرنرمال بود، از آزمون آماری یومن‌ویتنی استفاده شد. همچنین برای تعیین ارتباط میان درد و کورتیزول خون از آزمون ضریب هم‌بستگی اسپیرمن استفاده شد.

یافته‌ها

از تعداد سی نوزاد شرکت‌کننده در مطالعه، دو نمونه از گروه بدون درد و چهار نمونه از گروه با درد، به عنوان داده‌های خارج از محدوده‌ی طبیعی (Outlier data) از نمونه‌ها حذف شدند. در مجموع، مطالعه و اطلاعات آن بر روی 24 نوزاد (سیزده نوزاد از گروه بدون درد و یازده نوزاد از گروه با درد) گزارش می‌شود. از 24 نوزاد، ده نوزاد، پسر (41/7 درصد) و چهارده نوزاد، دختر (58/3) بودند. میانگین سن نوزادان در جامعه‌ی مورد مطالعه $4/17 \pm 1/97$ بود. جدول 1 مشخصات نمونه‌های مورد مطالعه را به تفکیک در دو گروه نشان می‌دهد.

میانگین نمره‌ی NIPS در گروه بدون درد: $0/08 \pm 0/277$ و در گروه با درد: $5/36 \pm 1/50$ بود. میانگین کورتیزول پلازما در گروه بدون درد $71/54 \pm 33/9$ و در گروه با درد $122/55 \pm 105/37$ بود. نتایج بر اساس آزمون آماری یومن‌ویتنی نشان داد، که میانگین سطح کورتیزول در دو گروه از لحاظ آماری تفاوتی نداشتند ($p=0/192$). میان نمرات NIPS و سطح کورتیزول در کل جامعه ارتباط مستقیم و معنی‌دار وجود دارد ($r=0/337$ و $p<0/05$)، هر چند که این ارتباط به تفکیک در دو گروه معنی‌دار نبود ($p=0/108$).

بحث

کورتیزول هورمونی است که در قسمت کورتکس غده‌ی آدرنال در پاسخ به تحریک، استرس، درد و هورمون ACTH از پیش ساز خود یعنی کلسترول ساخته می‌شود [15]. یکی از عملکردهای کورتیزول و دیگر گلوکوکورتیکوئیدها متابولیسمه کردن سریع آمینو اسیدها و چربی‌ها برای آزادسازی انرژی برای مصرف سلول‌هاست. این

میزان ترشح کورتیزول در طول شبانه‌روز متفاوت و متغیر است. ترشح کورتیزول و غلظت آن در خون، در اوایل صبح و بعد از بیدار شدن از خواب در بالاترین سطح خود، و در زمان خواب در شب، در کمترین سطح خود قرار دارد [22]. این میزان همچنین با توجه به سن تغییر می‌یابد. در مطالعه‌ی تولنر و هم‌کاران که میزان کورتیزول در نوزادان در سه مرحله‌ی سنی مختلف صفر تا شش هفته، شش هفته تا پنج ماه و پنج ماه تا دوازده ماه اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که با افزایش سن میزان ترشح و غلظت کورتیزول کاهش می‌یابد [23].

مطالعات انجام شده حاکی از آن است که مکانیسم ترشح کورتیزول نسبت به تحریکات دردناک در نوزادان تحریک می‌شود؛ اما بعضی از مطالعات نیز افزایش میزان کورتیزول بعد از تحریک دردناک را تأیید نمی‌کنند. در تأیید یا رد این مساله، زمان نمونه‌گیری عاملی مهم به شمار می‌آید [11].

در مطالعه ریکورد و همکاران که میزان کورتیزول قبل و بعد از خون‌گیری از پاشنه در شانزده نوزاد انجام شد، کورتیزول بعد از مداخله دردناک ($30 \pm 10/3$) کمتر از قبل از مداخله ($33/4 \pm 19/8$) بود [24]. در مطالعه‌ی مورلیوس نیز که مشابه مطالعه‌ی قبلی بر روی سی نوزاد، قبل و بعد از تعویض دیپایر نوزادان انجام شد، کورتیزول خون بعد از مداخله کمتر از قبل از آن بود [25].

اما در مطالعاتی نیز میزان کورتیزول بعد از مداخله دردناک یا بعد از اثبات وجود درد، نسبت به قبل از آن بالاتر بوده است. در مطالعه‌ی لیزا و همکاران، میزان کورتیزول در نوزادانی که در معرض مداخلات تهاجمی قرار گرفته بودند، بعد از مداخله‌ی دوم، بالاتر از نوزادانی بود که مداخله‌ی قبلی روی آنها انجام نشده بود ($r=0/30$ و $p=0/01$) [26].

در مطالعه‌ی تیلور که بر روی گروهی از نوزادان که بر حسب نوع زایمان مادر به سه گروه زایمان طبیعی، زایمان با وسایل کمکی [مانند فورسپس] و سزارین تقسیم شده بودند انجام شد، میزان کورتیزول بزاق و طول گریه نوزادان در زمان واکسیناسیون ماه دوم بررسی شد. نتایج نشان داد که تغییرات سطح کورتیزول در گروه زایمان کمکی بیش‌تر و در گروه سزارین کمتر از دو گروه دیگر است [27].

از محدودیت‌های مطالعه‌ی حاضر، می‌توان به کم بودن حجم نمونه، به علت نوع مطالعه (مقدماتی) اشاره کرد. نتایج مطالعه‌ی حاضر و

هورمون در 24 ساعت شبانه‌روز، توجه به سن نوزادان و شرایط جسمی آن‌ها و تعداد نمونه‌ی مناسب، بسیار مهم است.

تشکر و قدردانی

این مقاله، محصول بخشی از نتایج طرح پژوهشی مصوب است که با حمایت مالی دانشکده‌ی پرستاری و مرکز تحقیقات علوم اعصاب کاربردی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا... (عج) انجام شده است. مراتب قدرشناسی از همه‌ی پرستاران شرکت کننده در این مطالعه، مدیران پرستاری و آموزش و پژوهش و همچنین مادران و نوزادان شرکت کننده در این طرح اعلام می‌شود.

مطالعات قبلی مشابه نشان می‌دهد که کورتیزول خون، معیار مطمئنی برای ارزیابی وجود درد نیست. هم‌چنان که عوامل دیگری همچون استرس، گرسنگی و... باعث تغییرات سطح کورتیزول می‌شود.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج متفاوت به‌دست آمده از مطالعات گوناگون، به نظر می‌رسد که برای اندازه‌گیری سطح کورتیزول و تعیین ارتباط و تغییرات آن با درد، زمان انجام نمونه‌گیری و توجه به ریتم ترشح این

References

1. Grunau RE, Holsti L, Peters JWB. Long-term consequences of pain in human neonates. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*. 2006;11(4):268-75.
2. Rohrmeister K, Kretzer V, Berger A, Haiden N, Kohlhauser C, Pollak A. Pain and stress management in the Neonatal Intensive Care Unit -- a national survey in Austria. *Wiener Klinische Wochenschrift*. 2003;115(19):715-9.
3. Grunau RE, Holsti L, Haley DW, Oberlander T, Weinberg J, Solimano A, et al. Neonatal procedural pain exposure predicts lower cortisol and behavioral reactivity in preterm infants in the NICU. *Pain*. 2005;113(3):293-300.
4. Epstein E. Toward a New Conceptualization for Stress Response in Newborn Infants. *Newborn and Infant Nurs Rev*. 2005;5(2):97-103.
5. Cong X. Kangaroo care for analgesia in preterm infants' undergoing heel stick pain: Doctor of PhD thesis, case west reserve univ, Fr Payne Bolton Sch of Nurs; 2006.
6. Marilyn j Hockenberry, David Wilson. Wong nursing care of infant and children, 8th ed. St louis: Mosby, Elsevier, printed in Canada; 2007. P.214.
7. Dunwoody CJ, Krenzschek DA, Pasero C, Rathmell JP, Polomano RC. Assessment, physiological monitoring, and consequences of inadequately treated acute pain. *Pain Manag Nurs*. 2008;9(1):11-21.
8. Taddio A, Katz J. The effects of early pain experience in neonates on pain responses in infancy and childhood. *Pediatr Drugs*. 2005;7(4):245-57.
9. Felt BT, Mollen E, Diaz S, Renaud E, Zeglis M, Wheatcroft G, et al. Behavioral interventions reduce infant distress at immunization. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2000;154(7):719-24.
10. Morelius E, Theodorsson E, Nelson N. Salivary cortisol and mood and pain profiles during skin-to-skin care for an unselected group of mothers and infants in neonatal intensive care. *Pediatr*. 2005;116(5):1105-13.
11. Jansen J, Beijers R, Riksen-Walraven M, de Weerth C. Cortisol reactivity in young infants. *Psychoneuroendocrinology*. 2009;35(3):329-38.
12. Ogilvy-Stuart A, Midgley P. *Practical neonatal endocrinology*. Cambridge: Cambridge Univ Press; 2006. P.86-87.
13. Anand KJS, Scalzo FM. Can adverse neonatal experiences alter brain development and subsequent behavior? *Biol Neonate*. 2000;77(2):69-82.
14. Ramsay DS, Lewis M. The effects of birth condition on infants' cortisol response to stress. *Pediatrics*. 1995;95(4):546-9.
15. Fernandez E, Watterberg K. Relative adrenal insufficiency in the preterm and term infant. *J of Perinatol*. 2009;29(2):44-9.
16. Grunau RE, Tu MT, Whitfield MF, Oberlander TF, Weinberg J, Yu W, Thiessen P, et al. Cortisol, behavior, and heart rate reactivity to immunization pain at 4 months corrected age in infants born very preterm. *Clin J Pain*. 2010;26(8):698-704.
17. Mollahadi M. Validity and reliability of neonatal infant pain scale in newborn hospitalized in NICU in Baqiyatallah hospital. [MSc Thesis]. Tehran: baghiyatallah University Of Medical Sciences; 2010. [Persian]
18. Ana-Maria G. The fifth vital sign: implementation of the neonatal infant pain scale. *J of Obstet, Gynecol, and Neonatal Nurs*. 2003;32(2):199-206.
19. Levine A, Zagoory-Sharon O, Feldman R, Lewis JG, Weller A. Measuring cortisol in human psychobiological studies. *Physiol & Behav*. 2007;90(1):43-53.
20. Putman P, Hermans EJ, Van Honk J. Cortisol administration acutely reduces threat-selective spatial attention in healthy young men. *Physiol & Behav*. 2010;99(3):294-300.
21. Mantella RC, Butters MA, Amico JA, Mazumdar S, Rollman BL, Begley AE, et al. Salivary cortisol is associated with diagnosis and severity of late-life generalized anxiety disorder. *Psychoneuroendocrinology*. 2008;33(6):773-81.
22. Hanson D, Hall W, Mills LL, Au S, Bhagat R, Hernandez M, et al. Comparison of distress and pain in infants randomized to groups receiving

- standard versus multiple immunizations. *Infant Behav and Dev.* 2010;33(3):289-96.
23. Tollenaar MS, Jansen J, Beijers R, Riksen-Walraven JM, Weerth Cd. Cortisol in the first year of life: Normative values and intra-individual variability. *Early Hum Dev.* 2010;86(1):13-6.
24. Rice MJ, Records K. Comparative analysis of physiological adaptation of neonates of abused and nonabused mothers. *J Forensic Nurs.* 2008;4(2):80-90.
25. Morelius E, Hellstrom-Westas L, Carlen C, Norman E, Nelson N. Is a nappy change stressful to neonates? *Early Hum Dev.* 2006;82(10):669-76.
26. Holsti L, Weinberg J, Whitfield MF, Grunau RE. Relationships between adrenocorticotrophic hormone and cortisol are altered during clustered nursing care in preterm infants born at extremely low. *Early Hum Dev.* 2007;83(5):341-8.
27. Taylor A, Fisk NM, Glover V. Mode of delivery and subsequent stress response. *Lancet.* 2000;355(9198):120.