

## Sono e cortisol salivar em prematuros: ensaio clínico, randômico, controlado, cruzado

*Sleep and salivary cortisol in preterm neonates: a clinical, randomized, controlled, crossover study*  
*Sueño y cortisol salival en prematuros: ensayo clínico, aleatorio, controlado, cruzado*

Fabrcia Magalhães Araújo<sup>1</sup>, Mavilde da Luz Gonçalves Pedreira<sup>1</sup>, Ariane Ferreira Machado Avelar<sup>1</sup>, Márcia Lurdes de Cácia Pradella-Hallinan<sup>2</sup>, Miriam Harumi Tsunemi<sup>3</sup>, Eliana Moreira Pinheiro<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Enfermagem. São Paulo-SP, Brasil.

<sup>2</sup> Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina. São Paulo-SP, Brasil.

<sup>3</sup> Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências. Botucatu-SP, Brasil.

### Como citar este artigo:

Araújo FM, Pedreira MLG, Avelar AFM, Pradella-Hallinan MLC, Tsunemi MH, Pinheiro EM. Sleep and salivary cortisol in preterm neonates: a clinical, randomized, controlled, crossover study. Rev Bras Enferm [Internet]. 2018;71(Suppl 3):1358-65. [Thematic Issue: Health of woman and child] DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0034-7167-2017-0546>

Submissão: 03-08-2017

Aprovação: 07-10-2017

### RESUMO

**Objetivo:** Verificar a influência do uso de protetores auriculares nos níveis de cortisol salivar basal e resposta e no tempo total de sono de prematuros durante dois períodos de manejo do ambiente de uma unidade de cuidado intermediário neonatal. **Método:** Ensaio clínico, randomizado, controlado e cruzado conduzido em 12 prematuros. O uso de protetores auriculares foi randomizado em dois períodos. A avaliação do sono foi realizada por meio do polissonógrafo Alice 5 e da observação não estruturada. **Resultados:** Não houve diferença significativa entre os níveis de cortisol salivar basal e resposta nos prematuros dos grupos controle e experimental, não havendo também significância estatística entre o tempo total de sono dos dois grupos. Não foi observada relação entre os níveis de cortisol basal e resposta e o tempo total de sono. **Conclusão:** Os protetores auriculares nos prematuros não influenciaram o nível de cortisol salivar e o tempo total de sono nos períodos estudados. **Descritores:** Recém-Nascido Prematuro; Hidrocortisona; Sono; Cuidados de Enfermagem; Estresse Fisiológico.

### ABSTRACT

**Objective:** Analyze the influence of ear protectors on the baseline levels of salivary cortisol and response and total sleep time of preterm neonates during two periods of environmental management of a neonatal intermediate care unit. **Method:** A clinical, randomized, controlled and crossover study conducted with 12 preterm neonates. The use of ear protectors was randomized in two periods. Sleep evaluation was performed using one Alice 5 Polysomnography System and unstructured observation. **Results:** No significant difference was observed between the baseline levels of salivary cortisol and response in preterm neonates from the control and experimental groups, and no statistical significance was observed between the total sleep time of both groups. No relationship was observed between the baseline levels of cortisol and response and total sleep time. **Conclusion:** Ear protectors in preterm neonates did not influence the salivary cortisol level and total sleep time in the studied periods. **Descriptors:** Infant, Premature; Hydrocortisone; Sleep; Nursing Care; Stress, Physiological.

### RESUMEN

**Objetivo:** Certificar la influencia del uso de protectores auriculares en los niveles de cortisol salival basal y la respuesta y en el tiempo total de sueño de prematuros durante dos períodos de manejo del ambiente de una unidad de cuidado intermedio neonatal. **Método:** Ensayo clínico, aleatorio, controlado y cruzado conducido en 12 prematuros. El uso de protectores auriculares ha sido aleatorio en dos períodos. La evaluación del sueño ha sido realizada por medio del aparato de polisomnografía Alice 5 y de la observación no estructurada. **Resultados:** No ha habido diferencia significativa entre los niveles de cortisol salival basal y la respuesta en los prematuros de los grupos control y experimental, no habiendo también significancia estadística entre el tiempo total de sueño de los dos grupos. No ha sido observada la relación entre los niveles de cortisol basal y la respuesta y el

tempo total de sono. **Conclusión:** Los protectores auriculares en los prematuros no han influenciado el nivel de cortisol salivar y el tiempo total de sueño en los períodos estudiados.

**Descriptores:** Recien Nacido Prematuro; Hidrocortisona; Sueño; Atención de Enfermería; Estrés Fisiológico.

CORRESPONDING AUTHOR Eliana Moreira Pinheiro E-mail: pinheiro@unifesp.br

## INTRODUÇÃO

O sono é uma necessidade fisiológica essencial para o adequado desenvolvimento dos recém-nascidos, especialmente os prematuros, uma vez que contribui para a homeostase do organismo e para o bem-estar<sup>(1)</sup>, sendo essencial para a maturação neurológica, a preservação da plasticidade cerebral, a consolidação da memória de longo prazo e o estabelecimento da saúde emocional e da função imunológica, além de contribuir para a restauração celular nos recém-nascidos prematuros (RNPT)<sup>(2-4)</sup>.

Os prematuros apresentam sono polifásico, com alternância entre os três estágios de sono: ativo, quieto e indeterminado<sup>(5)</sup>. Durante estes estágios ocorrem alterações fisiológicas no organismo como a diminuição do nível de cortisol, hormônio corticosteroide produzido pelo eixo hipotálamo-hipófise-adrenal<sup>(6-7)</sup>.

O cortisol é um importante marcador biológico de resposta ao estresse em neonatos<sup>(8)</sup>. O córtex das glândulas suprarrenais é responsável pela secreção desse hormônio presente no plasma sanguíneo e ligado a proteínas carreadoras, mas o cortisol também pode ser detectado em sua forma livre, na urina e na secreção salivar<sup>(9-10)</sup>. A análise do nível de cortisol salivar livre em RNPTs tem sido muito utilizada em pesquisas clínicas por se tratar de uma prática não invasiva<sup>(7)</sup>.

Esse glicocorticoide, assim como o sono, é controlado pelo ciclo circadiano, mas devido a sua ausência nos neonatos, a liberação de cortisol salivar oscila durante as 24 horas<sup>(7,11)</sup>.

A elevação do nível de cortisol acarreta importantes alterações fisiológicas e comportamentais, como aumento da taxa metabólica, com consequente perda de massa corporal, tolerância à glicose, maior frequência de apneias e elevação da pressão intracraniana, podendo ocasionar hemorragia intraventricular. Ocorre ainda diminuição na percepção de estímulos dolorosos e aumento da irritabilidade e do choro<sup>(8)</sup>.

Durante a hospitalização os RNPTs estão expostos a estímulos excessivos – constante presença de luminosidade, elevados níveis de pressão sonora do ambiente e do interior das incubadoras, constantes manipulações e variações de temperatura ambiental – que podem gerar estresse e desencadear frequentes interrupções dos ciclos de sono<sup>(2,5,12)</sup>.

Embora esteja bem documentado na literatura que os vários estímulos oriundos tanto do ambiente das unidades neonatais como dos cuidados podem ocasionar estresse e privação de sono nos neonatos, nota-se uma lacuna de conhecimento de pesquisas clínicas que relacionem o nível de cortisol salivar a variáveis do sono de prematuros durante a hospitalização.

A partir da relação do estresse com o sono e de sua importância para o desenvolvimento infantil, verificou-se a necessidade de pesquisas que possibilitem a implementação de protocolos mais abrangentes para nortear a prática clínica,

visando à proteção e promoção do sono e o consequente desenvolvimento dos neonatos hospitalizados.

## OBJETIVO

Verificar a influência dos protetores auriculares (PAs) no nível de cortisol salivar de RNPTs, no tempo total de sono e em seus respectivos estágios durante dois períodos de manejo do ambiente.

## MÉTODO

### Aspectos éticos

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo e registrada no *Clinical Trials*. A coleta de dados foi iniciada após obtenção da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pelos responsáveis legais dos neonatos.

### Desenho, local do estudo e período

Estudo clínico randômico, controlado e cruzado, desenvolvido em uma unidade de cuidado intermediário neonatal (UCIN) de um hospital universitário de São Paulo. Esta unidade desenvolve algumas estratégias de cuidado desenvolvimental como a manipulação mínima dos neonatos e o manejo do ambiente em dois períodos determinados do dia a fim de proporcionar o sono e repouso dos RNPTs. Essa estratégia, denominada “horário do soninho”, ocorre nos períodos da manhã (10h às 11h) e da tarde (16h às 17h). Nesses intervalos, a equipe multiprofissional da UCIN evita, na medida do possível, a manipulação dos neonatos, proporciona a redução da luminosidade do ambiente e procura minimizar o nível de ruído no interior das salas. A coleta dos dados ocorreu entre julho de 2013 e fevereiro de 2015.

### População e amostra

A amostra do estudo foi composta por RNPTs com idade gestacional inferior a 37 semanas, a partir de 72 horas de vida, com peso entre 1.200 a 2.000 g, que se encontravam no interior de incubadoras, clinicamente estáveis e com teste de emissão otoacústica evocada por estímulo transiente presente. Foram excluídos do estudo neonatos em fototerapia, ventilação mecânica invasiva e não invasiva, com malformação congênita, hemorragia periventricular graus II, III e IV, que faziam uso de medicamento depressor do sistema nervoso central, analgésico ou corticoide, e aqueles cujas mães apresentassem histórico de uso de drogas ilícitas durante a gestação. Utilizou-se o diagrama CONSORT para inclusão dos prematuros no estudo. Os critérios de inclusão e exclusão foram estabelecidos com o objetivo de afastar possíveis influências sobre o sono e o nível de cortisol salivar.

O cálculo amostral foi realizado admitindo-se a hipótese de que o uso dos PAs durante os períodos de manejo ambiental

diminui o nível de cortisol salivar e favorece o aumento do tempo total de sono dos RNPTs. Desse modo, o cálculo foi realizado a partir de nove amostras de saliva inicialmente obtidas nos períodos de manejo do ambiente durante o plantão matutino com RNPTs que fizeram uso ou não dos PAs. Salienta-se que, em algumas coletas dessa amostra inicial, não foi obtido o volume de saliva necessário para análise do nível de cortisol; sendo assim, admitiu-se o valor mínimo detectável pelo teste ELISA, de 0,5 ng/ml para realização do cálculo amostral.

Entre as médias dos níveis de cortisol antes ( $2,29 \pm 1,44$  ng/ml) e depois ( $1,17 \pm 0,93$  ng/ml) da intervenção, detectou-se diferença de 1,12 ng/ml. Tomando por base essa diferença como aquela a ser identificada e adotando um nível de significância de 5% e um poder de estudo de 80%, verificou-se que seriam necessários 12 RNPTs para detecção dessa diferença com resultado estatisticamente significativo. Para realização do cálculo amostral utilizou-se o teste t-pareado do *software* STATISTICA®, Oklahoma – EUA.

A pesquisa contou com a coleta de amostras de saliva de 32 RNPTs. No entanto, devido a volumes insuficientes de saliva coletada para análise do nível de cortisol, apenas 12 prematuros foram incluídos no estudo, atendendo assim a determinação do cálculo amostral.

### Protocolo do estudo

A variável experimental constitui-se no uso dos PA nos RNPT durante um dos períodos de manejo do ambiente da UCIN, formando o grupo experimental. Os PAs são da marca Natus® Pediatrics, denominados MiniMuffs® Neonatal Noise Attenuators, Califórnia – EUA, e permitem a redução dos níveis de pressão sonora de 7 a 12 decibéis<sup>(13-15)</sup>.

Os PAs são dispositivos de formato oval e anatômico que possibilita o adequado posicionamento sobre as orelhas. São confeccionados de espuma macia e possuem adesivo de hidrogel nas bordas externas para fixação na pele. Considerando a possibilidade de descolamento desses dispositivos nos RNPTs, utilizou-se uma substância com polietileno e celulose que auxilia na proteção da pele e melhora a aderência dos protetores. Os PAs foram colocados nos RNPTs por uma das pesquisadoras, em média doze minutos antes de iniciar os horários de manejo ambiental da UCIN, e retirados logo após o término desses períodos.

A variável de controle constituiu-se na condição do não uso dos PAs pelos RNPTs durante um dos períodos de manejo do ambiente da UCIN, permitindo a formação do grupo-controle.

Os níveis de cortisol salivar dos RNPTs com e sem o uso dos PAs antes do início (cortisol basal) e ao final (cortisol-resposta) dos períodos de manejo do ambiente e o tempo total de sono e seus respectivos estágios foram as variáveis de desfecho.

A coleta de saliva dos RNPTs foi realizada com auxílio de esponjas oftálmicas Merocel® – EUA, com alto poder de absorção de fluidos corporais, fixadas a uma haste flexível<sup>(16)</sup>. Duas amostras iniciais foram obtidas 20 minutos antes do período de manejo ambiental (cortisol basal) e outras duas foram coletadas imediatamente após o término desse mesmo período (cortisol-resposta), antecedendo a retirada dos PAs, totalizando quatro amostras de cada indivíduo. Antes da coleta, todos os sujeitos foram submetidos a higiene oral com gaze e água estéril a fim de remover resíduos de leite que pudessem influenciar a análise<sup>(17)</sup>.

O procedimento de coleta da saliva na cavidade bucal foi realizado por uma das pesquisadoras e durou, em média, oito minutos.

Todas as amostras de saliva foram acondicionadas em tubos Eppendorf sob refrigeração, com as esponjas voltadas para cima, e encaminhadas ao laboratório de análise. As amostras foram centrifugadas à velocidade de 3000 rpm durante 5 minutos em aparelho também refrigerado, sendo depois armazenadas em freezer à temperatura de  $-18^{\circ}\text{C}$  a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento da análise<sup>(16,18)</sup>.

A análise laboratorial foi realizada por meio do método ELISA, que determina a concentração imunoenzimática direta da quantidade de cortisol. Nesse método, a sensibilidade mínima para detecção dos níveis de cortisol salivar é de 0,5 ng/ml<sup>(19)</sup>.

A avaliação do tempo total de sono e de seus respectivos estágios (ativo, quieto ou indeterminado) foi realizada com auxílio de polissonógrafo (Alice 5, Philips Respironics®, Pensilvânia – EUA), instrumento utilizado para efetuar os registros do sono dos RNPTs<sup>(20)</sup>. A instalação do polissonógrafo nos RNPTs foi efetuada por técnico especialista em polissonografia. Destaca-se que o início desse procedimento ocorreu, em média, duas horas antes do período de manejo ambiental da manhã. O início dos registros dos dados do sono deu-se, em média, uma hora antes do começo do manejo do ambiente, sendo a partir daí registrados ininterruptamente até a pesquisadora finalizar a última coleta de saliva, após o manejo do ambiente da tarde.

A análise das polissonografias obedeceu as diretrizes estabelecidas pela American Academy of Sleep Medicine (AASM), versão 2.0, sendo realizada por neuropediatra especializada em medicina do sono<sup>(21)</sup>.

Cada RNPT foi submetido aos dois períodos de manejo do ambiente, em um destes utilizando os PAs (grupo experimental) e não os utilizando no outro período (grupo-controle). A randomização foi obtida a partir do método de delineamento quadrado latino, que possibilitou distribuir o uso ou não dos PAs nos dois períodos de manejo ambiental da UCIN.

### Análise dos resultados e estatística

Os dados coletados foram armazenados no *software* Microsoft Excel® e analisados no programa SPSS Statistics® 20.0, Chicago – EUA, por meio de análise estatística descritiva, testes paramétricos (teste t-pareado) e regressão linear quando atendidos os pré-requisitos necessários para esses testes (normalidade e homogeneidade). Estimou-se assim o efeito do tempo total de sono e dos níveis de cortisol salivar basal e resposta sobre variáveis independentes. O teste não-paramétrico (Correlação de Spearman) foi realizado com a finalidade de avaliar a força da relação entre as variáveis. Utilizou-se também o Programa R, Nova Zelândia – EUA, para a construção de modelos mistos lineares com a finalidade de avaliar se o efeito aleatório do uso dos protetores auriculares foi o mesmo em cada indivíduo pesquisado. Para todas as análises foram adotados níveis de significância de 5% ( $p \leq 0,05$ ).

### RESULTADOS

As características demográficas e clínicas dos RNPTs que atenderam aos critérios de elegibilidade elencados para a pesquisa estão apresentadas na Tabela 1.

**Tabela 1** – Características dos recém-nascidos prematuros avaliados, São Paulo, Brasil

Variáveis	Média ± DP	n (%)
<b>Idade</b>		
Gestacional pela DUM (semanas)	32,5 ± 2,1	12 (100,0)
Gestacional pela DUM – corrigida (semanas)	33,0 ± 1,4	12 (100,0)
Cronológica (dias)	18,3 ± 6,7	12 (100,0)
<b>Peso</b>		
Ao nascer (gramas)	1499,2 ± 330,4	12 (100,0)
Atual (gramas)	1635,4 ± 218,7	12 (100,0)
<b>Parto</b>		
Cesáreo	–	11 (91,7)
Vaginal	–	1 (8,3)
<b>Sexo</b>		
Feminino	–	8 (66,7)
Masculino	–	4 (33,3)
<b>Adequação à idade gestacional</b>		
PIG	–	8 (66,7)
AIG	–	4 (33,3)
<b>Diagnósticos</b>		
Respiratório	–	6 (50,0)
Hematológico	–	4 (33,3)
Digestivo	–	2 (16,7)
<b>Uso de Corticoide antenatal</b>		
Sim	–	7 (58,3)
Não	–	5 (41,7)
<b>Uso de Cafeína</b>		
Sim	–	7 (58,3)
Não	–	5 (41,7)

Nota: DP – desvio padrão; DUM – data da última menstruação; PIG – pequeno para a idade gestacional; AIG – adequado para a idade gestacional.

**Tabela 2** – Níveis de cortisol salivar basal e resposta dos recém-nascidos prematuros nos grupos controle e experimental durante os períodos de manejo do ambiente da unidade neonatal, São Paulo, Brasil

Coeficientes	Grupo-Controle		Grupo Experimental	
	Cortisol Salivar Basal (ng/ml)	Cortisol Salivar Resposta (ng/ml)	Cortisol Salivar Basal (ng/ml)	Cortisol Salivar Resposta (ng/ml)
	0,532	0,398	7,004	2,782
	2,989	2,098	3,765	1,798
	0,300	0,310	2,071	2,343
	2,361	2,733	0,285	0,172
	1,358	2,875	0,050	0,050
	0,050	1,535	0,050	0,643
	1,158	3,531	2,546	2,169
	1,852	1,843	2,681	6,021
	3,651	5,707	3,941	4,701
	0,306	0,267	0,408	0,158
	1,583	0,899	1,449	0,275
	18,37	6,667	1,711	1,477
Média ± DP	2,88 ± 5,01	2,41 ± 2,07	2,16 ± 2,04	1,88 ± 1,90
Valor de p		0,668	0,594	

Nota: DP – desvio padrão.

Os recém-nascidos apresentavam prematuridade moderada, sendo em sua maioria classificados como pequenos para idade gestacional e com muito baixo peso ao nascer. Houve predominância do parto cesáreo e de prematuros do sexo feminino. Destaca-se que pouco mais da metade das mães fizeram uso de corticoide pré-natal, sendo que a mesma proporção de RNPTs fez uso de cafeína durante a hospitalização.

Os níveis de cortisol salivar basal e resposta dos RNPTs nos grupos controle e experimental durante os períodos de manejo do ambiente da unidade neonatal não apresentaram diferença estatisticamente significativa (Tabela 2). No entanto, a observação das médias destes níveis demonstra que houve redução mais expressiva dos valores no grupo-controle em comparação com o grupo experimental.

O teste de correlação linear de Spearman revela forte relação entre os níveis de cortisol salivar basal e resposta dos RNPTs nos períodos de manejo do ambiente, nos grupos controle ( $p = 0,727$ ;  $p = 0,007$ ) e experimental ( $p = 0,848$ ,  $p = <0,001$ ), demonstrando que o nível elevado de cortisol salivar basal tende a se manter no cortisol-resposta salivar independente de intervenções.

O tempo total de sono dos RNPTs foi maior no grupo-controle, com média de 5,3 minutos a mais de sono em comparação aos neonatos no grupo experimental. Quanto aos estágios de sono, evidencia-se a predominância do sono quieto em ambos os grupos estudados. O uso dos PAs nos prematuros não demonstrou significância estatística entre os dois grupos estudados (Tabela 3).

A correlação linear de Spearman entre o tempo total de sono e seus estágios revelou a existência de forte relação apenas com o sono ativo no grupo experimental ( $p = 0,617$ ;  $p = 0,033$ ), demonstrando que quanto maior o tempo total de sono nos RNPTs, maior será a ocorrência de sono ativo. Já no grupo-controle, observou-se relação moderada entre o tempo total de sono e o estágio de sono quieto ( $p = 0,560$ ;  $p = 0,058$ ).

A Tabela 4 apresenta a relação entre o cortisol salivar basal e resposta e o tempo total de sono dos neonatos durante os períodos de manejo ambiental nos grupos controle e experimental. Observa-se que esta relação é fraca e negativa nos dois grupos. Mesmo não sendo evidenciada significância estatística, essa correlação negativa indica que o nível de cortisol elevado implica em um tempo menor de sono dos RNPTs em ambos os grupos.

**Tabela 3** – Tempo total de sono e seus respectivos estágios, em minutos, dos recém-nascidos prematuros nos grupos controle e experimental durante os períodos de manejo do ambiente da unidade neonatal, São Paulo, Brasil

Grupos de estudo	Tempo total de sono	Sono ativo	Sono quieto	Sono indeterminado
Grupo-controle	49,0	15,0	30,0	4,0
	54,5	29,5	18,5	6,5
	52,0	37,0	5,5	9,5
	47,0	4,0	22,5	20,5
	55,0	12,5	33,0	9,5
	34,0	6,0	21,0	7,0
	44,5	28,0	7,0	9,5
	52,5	3,0	38,5	11,0
	32,0	3,0	15,0	14,0
	54,0	13,0	29,0	12,0
	44,5	15,0	16,5	13,0
40,0	27,5	4,5	8,0	
Média ± DP	46,6 ± 7,9	16,1 ± 11,7	20,1 ± 11,1	10,4 ± 4,3
Grupo experimental	45,0	11,5	16,0	17,5
	29,5	0,0	20,5	9,0
	44,0	25,5	13,0	5,5
	31,5	0,0	13,0	18,5
	54,0	6,5	36,5	11,0
	46,5	25,5	15,0	6,0
	55,5	27,0	23,5	5,0
	39,0	0,0	26,5	12,5
	33,5	11,5	13,0	9,0
	33,5	10,5	13,0	10,0
39,5	25,0	6,5	8,0	
44,0	10,0	23,5	10,5	
Média ± DP	41,3 ± 8,4	12,8 ± 10,5	18,3 ± 8,1	10,2 ± 4,3
Valor de p	0,149	0,381	0,613	0,913

Nota: DP – desvio padrão.

**Tabela 4** – Coeficiente de correlação linear de Spearman entre o tempo total de sono e os níveis de cortisol salivar basal e resposta dos recém-nascidos prematuros nos grupos controle e experimental nos períodos de manejo do ambiente da unidade neonatal, São Paulo, Brasil

Variáveis	Grupo-controle (n = 12)		Grupo experimental (n = 12)		
	Coefficiente de correlação	Valor de p	Coefficiente de correlação	Valor de p	
TTS	Cortisol Salivar Basal	-0,154	0,632	-0,214	0,503
	Cortisol Salivar Resposta	-0,371	0,235	-0,035	0,914

Nota: TTS – tempo total de sono.

**Tabela 5** – Relação entre cortisol salivar basal e resposta e o tempo total de sono com a frequência de apneia central, idade gestacional corrigida pela data a última menstruação e uso de cafeína pelos recém-nascidos prematuros quando em uso do protetor auricular, São Paulo, Brasil

Variáveis	Estimativa	Erro Padrão	Valor de p	
Cortisol Salivar Basal e Resposta	Intercepto	0,82	5,65	–
	Apneia Central	-0,00	0,01	0,573
	Idade Corrigida DUM	0,03	0,16	0,742
	Usou Cafeína	-0,10	0,71	0,811
	Protetor Auricular	-0,17	0,51	0,742

Continua

O comportamento das variáveis idade gestacional corrigida pela data da última menstruação (DUM), peso atual, não uso de cafeína pelos RNPTs e de corticoide pré-natal pelas mães dos neonatos em relação ao tempo total de sono e cortisol salivar basal e resposta, foi estimado com a regressão linear múltipla e não demonstrou significância estatística. Entretanto, verificou-se no grupo-controle o aumento de sete minutos no tempo total de sono dos RNPTs cujas mães não utilizaram corticoide no pré-natal e acréscimo de 2,1 minutos na ausência de cafeína. Já no grupo experimental, os aumentos no tempo total de sono foram de 0,8 minutos e 2,3 minutos para os respectivos critérios. Esse modelo explica 13,53% da variação do tempo total de sono.

A análise de regressão linear dos níveis de cortisol salivar basal e resposta com essas mesmas variáveis demonstra uma tendência na redução desses níveis nos RNPTs que não foram expostos a essas substâncias, exceto para os de cortisol salivar resposta no grupo experimental não exposto à cafeína, que tende a elevação (2,2 ng/ml). Esta análise elucida 15,4% da variação dos níveis de cortisol salivar basal e resposta dos neonatos.

A avaliação da frequência média de apneias centrais durante os períodos de manejo ambiental, a partir do teste t-pareado, revelou maior ocorrência no grupo-controle (M = 37,4 ± 31,6) em comparação ao grupo experimental (M = 22,9 ± 26,0), p = 0,028. A partir desse resultado, para melhor avaliar a frequência de apneia central e de outros parâmetros, realizou-se o ajuste de modelos lineares mistos considerando somente o momento (uso de protetores auriculares) como efeito aleatório.

O efeito dos PAs sobre apneia central, idade gestacional corrigida a partir da DUM e uso de cafeína em relação às variáveis níveis cortisol salivar basal e resposta baseando-se nos fatores momento de diferenciação entre esses níveis e tempo total de sono dos RNPTs (Tabela 5) constatou significância estatística apenas entre o tempo total de sono e a ocorrência de apneia central (p < 0,035).

Esse modelo permite inferir que a ocorrência de apneia central aumentou o tempo total de sono em 0,11 minutos quando os PAs foram utilizados. No entanto, não se observou qualquer relação entre os níveis de cortisol salivar basal e resposta e as variáveis anteriormente citadas nos momentos em que os RNPTs fizeram uso desses dispositivos. Estas variáveis também não apresentaram nenhum tipo de relação com os sonos ativo, quieto e indeterminado avaliados no modelo linear misto (Tabela 5).

Tabela 5 (cont.)

Variáveis		Estimativa	Erro Padrão	Valor de p
Tempo Total de Sono	Intercepto	39,42	36,23	–
	Apneia Central	0,11	0,05	0,035*
	Idade Corrigida DUM	0,16	1,06	0,872
	Usou Cafeína	– 5,63	4,59	0,229
	Protetor Auricular	– 4,42	3,27	0,186

Nota: DUM – data da última menstruação; \* $p < 0,05$ .

## DISCUSSÃO

Os níveis de cortisol salivar basal e resposta e o tempo total de sono e seus respectivos estágios não diferiram significativamente em relação ao uso ou não dos protetores auriculares nos períodos de manejo ambiental da UCIN investigada.

A comparação dos resultados deste estudo é limitada devido à inexistência de outras pesquisas conduzidas com delineamento metodológico semelhante, e seu ineditismo se deve à associação do uso dos PAs com as variáveis cortisol salivar e sono dos RNPTs, corroborada pela análise do sono por meio de polissonografia, o que permitiu sua avaliação precisa durante todo o período investigado, contribuindo assim para a confiabilidade dos resultados alcançados.

Entre as pesquisas sobre o uso dos PAs, somente duas incluíram o sono nas variáveis avaliadas, revelando seu favorecimento no sono dos RNPTs. No entanto, a coleta de dados dessas pesquisas deu-se com a aplicação de escalas que classificaram/quantificaram o sono a partir da observação direta dos estados comportamentais dos neonatos, estabelecendo, assim, escores que vão desde o estado de alerta até as diferentes classificações do sono<sup>(13,18)</sup>.

Não foi observada correlação significativa entre os níveis de cortisol salivar basal e resposta e o tempo total de sono nos períodos de manejo do ambiente em que os RNPT fizeram uso dos protetores auriculares. No entanto, mesmo não se constatando significância estatística, a correlação negativa encontrada no presente estudo indica que o tempo total de sono aumenta com a diminuição do nível de cortisol, sugerindo a necessidade de novas pesquisas para avaliar essa correlação.

Um estudo clínico randomizado cruzado, conduzido na UTI neonatal que desenvolve o NIDCAP (Newborn Individualized Developmental Care and Assessment Program), utilizou a escala EDIN (*échelle douleur inconfort nouveau-né*) com o objetivo de avaliar a resposta ao estresse, a qualidade do sono, a dor, a frequência cardíaca, a saturação de oxigênio e o impacto de medidas ambientais a partir da aplicação de algumas intervenções comportamentais, como posicionamento, toque, sucção não nutritiva durante o procedimento de pesagem em recém-nascidos a termo e RNPTs. Esse estudo não evidenciou diferença significativa nos níveis de cortisol salivar basal e resposta, mas sim nos parâmetros fisiológicos e nas respostas comportamentais dos neonatos tanto no grupo-controle quanto no experimental<sup>(22)</sup>.

A forte correlação positiva entre os níveis de cortisol salivar basal e resposta dos RNPTs, encontrada na presente pesquisa, demonstra que esses níveis praticamente não variaram entre os grupos controle e experimental. Além disso, também não

foi possível identificar a presença de ritmo circadiano do cortisol nos períodos de manejo ambiental da UCIN, o que pode ser consequência da própria imaturidade dos neonatos<sup>(23)</sup>.

O tempo de duração dos períodos de manejo do ambiente, estabelecido pelo serviço onde a pesquisa foi realizada, pode não ter sido suficiente para promover a adaptação dos neonatos aos PAs e o conseqüente declínio do nível de cortisol salivar resposta nos neonatos. Esse fator pode explicar a ausência de diferença estatisticamente significativa entre os níveis de cortisol salivar basal e resposta nos grupos controle e experimental.

Pesquisas que utilizaram os PAs com o objetivo de avaliar aspectos comportamentais como sono, resposta motora, dor e parâmetros fisiológicos como temperatura corporal, saturação de oxigênio, pressão arterial e frequências cardíaca e respiratória em RNPTs implementaram a intervenção por períodos de duas horas ou mais<sup>(13-15,24-25)</sup>.

Os níveis de cortisol salivar basal e resposta dos prematuros desta pesquisa não tiveram grande variação em comparação a outros estudos. Na literatura observa-se ausência de parâmetros destes níveis nos recém-nascidos de diferentes idades gestacionais<sup>(17,26)</sup>.

Os níveis de cortisol salivar basal e resposta dos prematuros desta pesquisa não tiveram grande variação em comparação a outros estudos. Na literatura observa-se ausência de parâmetros destes níveis nos recém-nascidos de diferentes idades gestacionais<sup>(17,26)</sup>.

Ao avaliar as médias do tempo total de sono e seus diferentes estágios evidenciou-se que no grupo-controle houve maior tempo de sono quieto. Esse achado contradiz pesquisa que avaliou o uso dos PAs em RNPTs e constatou maior tempo de sono quieto quando esses dispositivos foram implementados<sup>(13)</sup>. Além disso, no grupo experimental, o uso dos PAs favoreceu o tempo de sono ativo. Esse resultado inédito é de grande importância, uma vez que esse estágio de sono é fundamental para os RNPTs, sobretudo no desenvolvimento neurossensorial, o que indica a necessidade de outros estudos<sup>(1-2)</sup>.

Constatou-se maior frequência de apneia nos momentos em que os RNPTs fizeram uso dos PAs, além de maior tempo de sono. Não se detectou relação significativa entre a ocorrência de apneia central e os diferentes estágios de sono. Um estudo realizado com polissonógrafo, que avaliou o efeito da termorregulação sobre a ocorrência de episódios de apneia em RNPTs durante os estágios de sono quieto e ativo, revelou maior frequência de apneia central neste último estágio, relacionando-a à perda de calor corporal<sup>(27)</sup>.

### Limitações do estudo

A limitação do estudo foi a dificuldade de obter o volume de saliva suficiente para análise devido à característica peculiar da hipossalivação dos RNPTs. Recomenda-se que outros estudos sejam conduzidos por maior período, pois o tempo de adaptação dos neonatos aos PAs pode não ter sido suficiente para que o declínio do nível de cortisol salivar começasse a ser observado.

### Contribuições para a área da enfermagem

A intervenção proposta proporcionou maior tempo de sono ativo aos prematuros.

## CONCLUSÃO

O uso dos PAs nos RNPTs não influenciou os níveis de cortisol salivar basal e resposta e no tempo total de sono nos períodos de manejo do ambiente da UCIN. No entanto, o uso dos dispositivos favoreceu o aumento do tempo de sono ativo, essencial para o desenvolvimento neurossensorial. O maior tempo total de sono no momento em que os RNPTs fizeram

uso dos protetores auriculares propiciou mais episódios de apnéia central.

## FOMENTO

Esta pesquisa foi desenvolvida com apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp), processo nº 2012/50365-2.

---

## REFERÊNCIAS

1. Arditi-Babchuk H, Feldman R, Eidelman AI. Rapid eye movement (REM) in premature neonates and developmental outcome at 6 months. *Infant Behav Dev* [Internet]. 2009[cited 2016 Jun 15];32(1):27-32. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0163638308000775?via%3Dihub>
2. Dorn F, Wirth L, Gorbey S, Wege M, Zemlin M, Maier RF, et al. Influence of acoustic stimulation on the circadian and ultradian rhythm of premature infants. *Chronobiol Int* [Internet]. 2014[cited 2016 Jun 16];31(9):1062-74. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/07420528.2014.948183?scroll=top&needAccess=true>
3. Calciolari G, Montirosso R. The sleep protection in the preterm infants. *J Matern Fetal Neonatal Med* [Internet]. 2011[cited 2016 Jun 26];24(Suppl-1):12-4. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/14767058.2011.607563?journalCode=ijmf20>
4. Miller DJ, Duka T, Stimpson CD, Schapiro SJ, Baze WB, McArthur MJ, et al. Prolonged myelination in human neocortical evolution. *Proc Natl Acad Sci USA*[Internet]. 2012[cited 2016 Jul 20];109(41):16480-5. Available from: <http://www.pnas.org/content/109/41/16480.full>
5. Bonan KC, Pimentel Filho JC, Tristão RM, Jesus JA, Campos Jr D. Sleep deprivation, pain and prematurity: a review study. *Arq Neuropsiquiatr* [Internet]. 2015[cited 2016 Jul 12];73(2):147-54. Available form: <http://www.scielo.br/pdf/anp/v73n2/0004-282X-anp-73-02-147.pdf>
6. Mörelus E, He HG, Shorey S. Salivary cortisol reactivity in preterm infants in neonatal intensive care: an integrative review. *Int J Environ Res Public Health* [Internet]. 2016[cited 2016 Jul 23];13(3):337-51. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4809000/pdf/ijerph-13-00337.pdf>
7. Silva ML, Mallozi MC, Ferrari GF. Salivary cortisol to assess the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in healthy children under 3 years old. *J Pediatr*[Internet]. 2007[cited 2016 Jun 30];83(2):121-6. Available from: <http://www.jped.com.br/conteudo/07-83-02121/port.pdf>
8. Tollenaar MS, Beijers R, Jansen J, Riksen-Walraven JM, Weerth C. Solitary sleeping in young infants is associated with heightened cortisol reactivity to a bathing session but not to a vaccination. *Psychoneuroendocrinol*[Internet]. 2012[cited 2016 Jun 30];37(2):167-77. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306453011001065>
9. 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* [Internet]. 2005[cited 2016 Jun 26];113(3):293-300. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1447527/>
10. Herrington CJ, Olomu IN, Geller SM. Salivary cortisol as indicators of pain in preterm infants: a pilot study. *Clin Nurs Res*[Internet]. 2004[cited 2016 Jun 25];13(1):53-68. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14768767>
11. Custodio RJ, Martinelli Jr CE, Milani SL, Simões AL, Castro M, Moreira AC. The emergence of the cortisol circadian rhythm in monozygotic and dizygotic twin infants: the twin-pair synchrony. *Clin Endocrinol*[Internet]. 2007[cited 2016 Jun 30];66(2):192-7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1859886/>
12. Smith SL, Haley S, Slater H, Moyer-Mileur LJ. Heart rate variability during caregiving and sleep after massage therapy in preterm infants. *Early Hum Dev* [Internet]. 2013[cited 2016 Jul 25];89(8):525-9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3647010/>
13. Duran R, Ciftdemir NA, Ozbek UV, Berberoğlu U, Durankuş F, Süt N, et al. The effects of noise reduction by earmuffs on the physiologic and behavioral responses in very low birth weight preterm infants. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* [Internet]. 2012[cited 2016 Jun 26];76(10):1490-3. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165587612003874>
14. Abdeyazdan Z, Ghassemi S, Marofi M. The effects of earmuff on physiologic and motor responses in premature infants admitted in neonatal intensive care unit. *Iran J Nurs Midwifery Res* [Internet]. 2014[cited 2016 Jun 25];19(2):107-12. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4020017/>
15. Abujarir R, Salama H, Greer W, Thani MA, Vlisda F. The impact of earmuffs on vital signs in a neonatal intensive care unit. *Neonatal Today* [Internet]. 2012[cited 2016 Jun 25];7(2):1-8. Available from: <http://www.neonatologytoday.net/newsletters/nt-feb12.pdf>
16. Weerth C, Jansen J, Vos MH, Maitimu I, Lentjes EG. A new device for collecting saliva for cortisol determination. *Psychoneuroendocrinol*[Internet]. 2007[cited 2016 Jun 24];32(8-10):1144-8. Available from: [http://www.psyneuen-journal.com/article/S0306-4530\(07\)00200-4/pdf](http://www.psyneuen-journal.com/article/S0306-4530(07)00200-4/pdf)

17. Cândia MF, Osaku EF, Leite MA, Toccolini B, Costa NL, Teixeira SN, et al. Influence of prone positioning on premature newborn infant stress assessed by means of salivary cortisol measurement: pilot study. *Rev Bras Ter Intensiva*[Internet]. 2014[cited 2016 Jul 10];26(2):169-75. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/rbti/v26n2/0103-507X-rbti-26-02-0169.pdf>
18. Neu M, Goldstein M, Gao D, Laudenslager ML. Salivary cortisol in preterm infants: validation of a simple method for collecting saliva for cortisol determination. *Early Hum Dev* [Internet]. 2007[cited 2016 Jun 25];83(1):47-54. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378378206001319>
19. DiaMetra. Cortisol Saliva for routine analysis, direct immunoenzymatic determination of cortisol in saliva [Internet]. 2017[cited 2016 Jul 10]. Available from: <http://www.diametra.com/home/register.html>
20. American Academy of Sleep Medicine. The AASM Manual for the Scoring of Sleep and Associated Events Rules, Terminology and Technical Specifications. Version 2.0. Illions (US): AASM; 2012. 58 p.
21. American Academy of Sleep Medicine. International Classification of Sleep Disorders, revised. Diagnostic and coding manual. 2th ed. Westchester: AASM; 2005. 208 p.
22. Catelin C, Tordjman S, Morin V, Oger E, Sizun J. Clinical, physiologic, and biologic impact of environmental and behavioral interventions in neonates during a routine nursing procedure. *J Pain* [Internet]. 2005[cited 2016 Jun 26];6(12):791-7. Available from: <http://50.28.28.219/wp-content/uploads/2013/12/Catelin-2005-Clinical-psychological-and-biologic.pdf>
23. Antonini SR, Jorge SM, Moreira AC. The emergence of salivary cortisol circadian rhythm and its relationship to sleep activity in preterm infants. *Clin Endocrinol*[Internet]. 2000[cited 2016 Jul 6];52(4):423-6. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2265.2000.tb00561.x/pdf>
24. Aita M, Johnston C, Goulet C, Oberlander TF, Snider L. Intervention minimizing preterm infants' exposure to NICU light and noise. *Clin Nurs Res* [Internet]. 2013[cited 2016 Jun 27];22(3):337-58. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/1054773812469223>
25. Abdeyazdan Z, Ghasemi S, Marofi M, Berjis N. Motor responses and weight gaining in neonates through use of two methods of earmuff and receiving silence in NICU. *Sci World J*[Internet]. 2014[cited 2016 Jun 15];2014:1-5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/864780>
26. Cabral DM, Antonini SR, Custódio RJ, Martinelli Jr CE, Silva CA. Measurement of salivary cortisol as a marker of stress in newborns in a neonatal intensive care unit. *Horm Res Paediatr* [Internet]. 2013[cited 2016 Jun 30];79(6):373-8. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/241696910\\_Measurement\\_of\\_Salivary\\_Cortisol\\_as\\_a\\_Marker\\_of\\_Stress\\_in\\_Newborns\\_in\\_a\\_Neonatal\\_Intensive\\_Care\\_Unit](https://www.researchgate.net/publication/241696910_Measurement_of_Salivary_Cortisol_as_a_Marker_of_Stress_in_Newborns_in_a_Neonatal_Intensive_Care_Unit)
27. Tourneux P, Cardot V, Museux N, Chardon K, Léké A, Telliez F, et al. Influence of thermal drive on central sleep apnea in the preterm neonate. *Sleep* [Internet]. 2008[cited 2016 Jun 27];31(4):549-56. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2279750/>