



FMUC FACULDADE DE MEDICINA  
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

MARIANA BRANCO FARINHA

***A reação neuroinflamatória em resposta à inflamação sistémica  
aguda durante delirium: estudo caso-controlo com  
biomarcadores moleculares***

ARTIGO CIENTÍFICO

ÁREA CIENTÍFICA DE PSIQUIATRIA

Trabalho realizado sob a orientação de:

PROFESSOR DOUTOR JOAQUIM MANUEL SOARES CEREJEIRA

PROFESSORA DOUTORA LÉLITA CONCEIÇÃO SANTOS

MAIO/2020

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

***A reação neuroinflamatória em resposta à inflamação sistémica  
aguda durante delirium: estudo caso-controlo com  
biomarcadores moleculares***

**Mariana Branco Farinha<sup>1</sup>**

**Prof. Doutor Joaquim Cerejeira<sup>1,2</sup>**

**Prof. Doutora Lélita Santos<sup>1,3</sup>**

<sup>1</sup> Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

<sup>2</sup> Serviço de Psiquiatria, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Portugal

<sup>3</sup> Serviço de Medicina Interna, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Portugal

**Morada Institucional do Orientador:**

Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra,

Praceta Mota Pinto

3075-000 Coimbra

**E-mail do Orientador:**

[joaquim.cerejeira@gmail.com](mailto:joaquim.cerejeira@gmail.com)

## Índice

|  |    |
|--|----|
| Resumo .....   | 4  |
| Abstract .....   | 6  |
| Introdução.....  | 8  |
| Materiais e Métodos.....   | 10 |
| Amostra.....   | 10 |
| Testes Neuropsicológicos .....   | 10 |
| Procedimento .....   | 11 |
| Análise dos biomarcadores inflamatórios .....  | 12 |
| Análise estatística .....  | 13 |
| Resultados.....  | 14 |
| Análises descritivas.....  | 14 |
| Análise da Avaliação Analítica .....   | 17 |
| Discussão .....  | 22 |
| Pontos fortes e limitações do estudo.....  | 25 |
| Conclusão.....   | 27 |
| Agradecimentos.....  | 28 |
| Referências Bibliográficas .....   | 29 |
| Anexo 1- Richmond Agitation and Sedation Scale (RASS) .....                          | 31 |
| Anexo 2 – Teste Confusion Assessment Method (CAM).....                               | 32 |
| Anexo 3 – Critérios DSM-5 para Delirium .....  | 33 |
| Anexo 4 – Teste Montreal Cognitive Assessment (MoCA).....                            | 34 |
| Anexo 5 - Informant Questionnaire on Cognitive Decline in the Elderly (IQCODE-SF) 36 |    |
| Anexo 6 – Critérios DSM-5 para Demência .....  | 38 |

## Resumo

**Introdução:** O delirium e a demência são duas perturbações cognitivas frequentes em pessoas mais velhas, fortemente associadas à ocorrência de complicações durante e após o internamento. As patologias partilham uma relação complexa cujos mecanismos fisiopatológicos subjacentes desconhecemos, sendo a hipótese neuroinflamatória uma das teorias que justifica a sua ligação. Assim, como objetivo deste estudo, propõe-se avaliar se os níveis da expressão de biomarcadores inflamatórios no sangue durante episódios de delirium, em doentes com doenças médicas agudas, está associado ao desenvolvimento dos episódios e à consecutiva progressão para demência.

**Material e métodos:** Estudo caso-controlo longitudinal no qual participaram doentes com idade igual ou superior a 65 anos internados no serviço de medicina interna do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra por patologia médica aguda. Os participantes foram avaliados com testes neuropsicológicos e foram recolhidas informações dos seus processos clínicos e junto dos seus familiares, de forma a avaliar o comprometimento cognitivo dos doentes, com o objetivo de os dividir em quatro grupos: controlo, delirium, demência e delirium sobreposto a demência. Procedeu-se ao doseamento de biomarcadores inflamatórios no sangue, através da determinação da concentração da proteína C reativa (PCR), leucócitos e microRNAs (miR-155, miR-146a, miR-145 e miR23a) nos monócitos circulantes e exossomas. A análise estatística foi efetuada com o programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 25.

**Resultados:** Dos 22 participantes (59,1% do sexo feminino, média de idades  $86,77 \pm 3,811$ ), 13 apresentavam défice cognitivo (5 demência, 2 delirium, 6 delirium sobreposto a demência). O valor médio do teste *MoCA* (*Montreal Cognitive Assessment Test*) foi de  $12,21 \pm 7,08$  pontos ( $6,4 \pm 3,47$  no grupo com défice cognitivo) e o do questionário *IQCODE-SF* (*Informant Questionnaire on Cognitive Decline in the Elderly*) foi de  $5,63 \pm 11,46$  pontos ( $8,86 \pm 14,27$  no grupo défice cognitivo). A concentração de PCR e leucócitos foi superior no grupo controlo ( $8,59 \pm 8,94$  e  $11 \pm 5,00$  respetivamente), enquanto que os valores de miRNAs foi semelhante nos dois grupos. Também não se

verificaram diferenças significativas entre os valores de miRNAs em relação ao gênero e à idade.

**Discussão:** Os resultados obtidos não foram esclarecedores relativamente às alterações de biomarcadores intervenientes no processo fisiopatológico, não sendo comprovada a hipótese neuroinflamatória como base do mesmo. Verificou-se que a concentração de marcadores inflamatórios circulantes no sangue é independente de variáveis relevantes como a idade e o gênero.

**Conclusão:** Os resultados obtidos não validaram a hipótese em estudo. Devem ser realizados mais estudos, de forma a entender a influência dos marcadores inflamatórios no processo fisiopatológico das patologias que apresentam desenvolvimento de déficit cognitivo, permitindo assim a realização de um diagnóstico precoce.

**Palavras-chave:** Delirium; demência; neuroinflamação; biomarcadores; diagnóstico.

## Abstract

**Introduction:** Delirium and dementia are two common cognitive disorders in older people that are strongly associated with complications during hospitalization and after discharge. These pathologies share a complex relationship whose underlying pathophysiology mechanism remain unknown, with the neuroinflammatory hypothesis being one of the theories that justify their connection. The objective of this study is to evaluate whether there is an association between the concentration of inflammatory biomarkers in the blood during delirium, in patients with acute medical diseases, and the development of delirium manifestations and the consecutive progression to dementia.

**Material and Methods:** Longitudinal case-control study in which patients aged 65 years or older admitted to the internal medicine service of the Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra for acute medical pathology participated. Participants were assessed by neuropsychological tests and information from patients' clinical file and from caregivers collected in order to evaluate the cognitive impairment of the patients, with the aim of dividing them into four groups: control, delirium, dementia and delirium superimposed on dementia. Inflammatory biomarkers were assayed in the blood by determining the concentration of C-reactive protein (CRP), leukocytes and microRNAs (miR-155, miR-146a, miR-145 and miR23a) in circulating monocytes and exosomes. Statistical analysis was performed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), version 25.

**Results:** 22 participants were included (59,1% female, mean age  $86.77 \pm 3.811$ ), of which 13 had cognitive impairment (5 dementia, 2 delirium, 6 delirium superimposed on dementia). The average value of the MoCA test (Montreal Cognitive Assessment) was  $12.21 \pm 7.08$  points ( $6.4 \pm 3.47$  in the group with cognitive impairment) and the IQCODE-SF questionnaire (Informant Questionnaire on Cognitive Decline in the Elderly) was  $5.63 \pm 11.46$  points ( $8.86 \pm 14.27$  in the cognitive impairment group). The concentration of CRP and leukocytes was higher in the control group ( $8.59 \pm 8.94$  and  $11 \pm 5.00$  respectively), while the values of miRNAs were similar in both groups. There were no differences between the values of miRNAs regarding gender and age.

**Discussion:** The results obtained were not clear as to the alterations of biomarkers intervening in the pathophysiological process, and the neuroinflammatory

hypothesis as the basis for it was not proven. The value of the inflammatory markers in the blood is independent of relevant variables such as age and gender.

**Conclusion:** The results obtained did not validate the hypothesis under study. Further studies should be carried out in order to understand the influence of the inflammatory biomarkers in the pathophysiological process of the pathologies with cognitive impairment, allowing an early diagnosis.

**Key words:** Delirium; dementia; neuroinflammation; biomarkers; diagnosis.

## Introdução

Nos países europeus a maioria dos doentes internados em hospitais têm mais de 65 anos e esta proporção tenderá a aumentar com o aumento da longevidade esperada para as próximas décadas. Nos doentes mais velhos, o internamento hospitalar está associado a um prognóstico adverso devido a perda de autonomia funcional, maior risco de institucionalização e mortalidade. (1) O delirium e a demência são duas perturbações cognitivas frequentes em pessoas mais velhas que estão fortemente associadas à ocorrência de complicações durante o internamento e após a alta. (2–4)

A demência, sendo causada na maioria dos casos por doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer, manifesta-se com o aparecimento gradual de défices em múltiplos domínios cognitivos (envolvendo a memória e pelo menos um domínio cognitivo adicional), representando assim um declínio em relação ao nível anterior de desempenho de um indivíduo ao interferir com a sua capacidade de realizar autonomamente as atividades de vida diária. (5,6) Por sua vez, o delirium é uma síndrome neuropsiquiátrica de instalação súbita e curso flutuante, clinicamente caracterizada por alteração do nível de consciência e da atenção associada a défices cognitivos globais (ex: memória, linguagem, capacidade visuo-espacial), bem como alterações da percepção, da atividade psicomotora, das emoções e do ciclo sono-vigília. (6,7) Cerca de 11-42% dos doentes idosos internados por patologia médica aguda desenvolvem episódios de delirium (7), prolongando o tempo de internamento, agravando o declínio da função cognitiva e física (podendo mesmo levar a perda de independência), a morbilidade e a mortalidade. (8) O delirium é particularmente frequente em doentes com demência pré-existente complicando 24-89% dos internamentos. A distinção entre delirium e demência é clinicamente relevante para identificar fatores precipitantes de disfunção cognitiva potencialmente reversíveis. (9)

Porém, estas patologias partilham uma relação complexa cujos mecanismos fisiopatológicos subjacentes desconhecemos. (6,9) A compreensão destes mecanismos pode fornecer uma boa oportunidade para avançar na conceitualização, abordagens, diagnóstico e terapêuticas para ambas as patologias. (6,7)

Vários mecanismos de como o delirium possa contribuir para a demência foram apresentados, sendo de destacar a hipótese neuroinflamatória, que sugere que diversos

fatores de risco, como infecções e cirurgias, desencadeiam uma resposta inflamatória sistêmica aguda que, induz uma reação neuroinflamatória imediata no sistema nervoso central (SNC) através da ativação das células da microglia, expressão de citocinas pró-inflamatórias e mediadores inflamatórios. Essas alterações neuroinflamatórias induzem disfunção neuronal e sináptica e subsequentes sintomas neurocomportamentais e cognitivos. (9) Contudo, uma descontrolada resposta neuroinflamatória com uma exagerada e prolongada produção de citocinas pró-inflamatórias pode causar severos distúrbios neuroquímicos e funcionais(9) e produzir danos estruturais irreversíveis com perda neuronal. (6) Mesmo níveis normais de inflamação sistêmica aguda podem causar estas perigosas alterações quando o cérebro se encontra mais vulnerável devido aos efeitos da idade e/ou neurodegeneração crônica. (10) Em ambas as condições, há uma mudança para um estado pro-inflamatório de base e uma desregulação de uma resposta homeostática à inflamação. (10)

Os biomarcadores compartilhados pelo delirium e pela DA têm sido foco de estudo, uma vez que são potenciais pontos de "ligação" pelos quais uma condição pode influenciar a outra, podendo ser utilizados no diagnóstico.(8) Um desses biomarcadores são os microRNAs que circulam no sangue, uma vez que são aqui libertados em exossomas, após atravessarem a barreira hemato-encefálica, mantendo-se assim inalterados desde que são libertados pelas células da microglia.(11,12)

Estudos anteriores tentaram relacionar a concentração de biomarcadores com o desenvolvimento de delirium em doentes em pós-operatório. Contudo, raros estudos foram feitos com doentes que tiveram episódios devido a patologias médicas agudas. Assim, como objetivo deste estudo, propõe-se avaliar se os níveis de expressão de biomarcadores (proteína C Reativa, leucócitos e miRNAs) no sangue durante episódios de delirium, em doentes com doenças médicas agudas, está associado ao desenvolvimento dos episódios e à consecutiva progressão para demência. A nossa hipótese é que o nível da resposta neuroinflamatória aguda pode ser usada como um biomarcador de delirium e consecutivamente um fator associado a maior declínio cognitivo, independentemente de outras co-variáveis importantes. Esta confirmação seria útil, uma vez que seria possível realizar o diagnóstico precoce desta patologia.

## **Materiais e Métodos**

O estudo desenvolvido, e aqui apresentado, foi executado de acordo com a Declaração de Helsínquia e foi aprovado pela comissão de ética do Centro Hospitalar Universitário de Coimbra.

### **Amostra**

A amostra utilizada consta da base de dados do projeto de investigação “A reação neuroinflamatória em resposta à inflamação sistémica aguda durante delirium e o seu impacto na trajetória cognitiva e progressão para demência: estudo caso-controlo longitudinal com biomarcadores imagiológicos e moleculares” que se encontra a decorrer no Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC). Foi efetuado um estudo caso-controlo longitudinal com os participantes que integraram o estudo entre janeiro e maio de 2019. Os indivíduos tinham mais de 65 anos e foram internados a partir do serviço de urgência no serviço de medicina interna por patologia médica aguda.

Recorrendo aos registos informáticos dos processos clínicos foi efetuada a identificação sociodemográfica – idade, género, nível de escolaridade, estado civil, residência, existência de cuidador formal ou informal- e recolhidos os antecedentes patológicos, hábitos e mediação habitual, sendo todos os dados anonimizados antes de serem analisados. Dessa amostra, foram excluídos todos os que permaneceram internados menos de 48h, apresentavam quadros clínicos muito graves e com mau prognóstico vital, défices sensoriais que impossibilitassem a comunicação, patologia neurológica major ( ex: AVC, tumores cerebrais, entre outros) ou obtiveram um resultado na escala de RASS < -2 ou RASS >1, uma vez que não seria possível executar a sua avaliação neuropsicológica. Os participantes aptos foram distribuídos de acordo com o seu perfil cognitivo por quatro grupos: 1) Controlo; 2) Delirium; 3) Demência; e 4) Delirium sobreposto a Demência. De forma a determinar alterações significativas nas diferentes variáveis em análise os participantes foram redistribuídos em dois grupos: 1) Controlo; e 2) Défice cognitivo.

O consentimento informado de participação no estudo foi obtido junto de todos os doentes ou seus representantes legais, em caso de incapacidade, antes de qualquer avaliação inicial.

### **Testes Neuropsicológicos**

Os testes neuropsicológicos usados na avaliação dos participantes foram os seguintes:

**Richmond Agitation-Sedation Scale (RASS).** Escala de avaliação do grau de agitação ou sedação dos doentes, com base no seu estado, no contacto visual e resposta a estímulos. É frequentemente utilizada nos cuidados intensivos. A sua pontuação mínima é -5 (não responde) e a máxima +4 (combativo), com 0 indicando o normal nível de agitação.(13) (Anexo 1)

**Confusion Assessment Method (CAM).** Teste constituído por duas partes, focando-se a primeira em examinar o comprometimento cognitivo, enquanto a segunda parte inclui quatro questões que têm maior capacidade de distinguir o delirium de outros tipos de comprometimento cognitivo. Esta inclui critérios como alteração súbita ou flutuante no estado mental, presença de desatenção, pensamento desorganizado e/ou alteração do nível de consciência. O resultado do teste varia entre 0 e 4 (0 - Sem alteração; 1 - Início súbito ou curso flutuante; 2 - Desatento; 3 - Pensamento desorganizado; 4 - Alteração do nível de consciência).(14,15) (Anexo 2)

**Montreal Cognitive Assessment (MoCA).** Teste de 8 itens, validado na sua versão portuguesa, que avalia o comprometimento cognitivo numa escala de 0 a 30. Avalia domínios como a memória a curto prazo, capacidade visuo-espacial, atenção, nomeação, repetição frásica, fluência verbal, abstração e orientação.(16) (Anexo 4)

**Informant Questionnaire on Cognitive Decline in the Elderly (IQCODE-SF).** Questionário que pode ser preenchido por um familiar ou cuidador do idoso de forma a determinar se houve declínio das suas funções cognitivas. É utilizado como auxiliar para fazer o diagnóstico de demência. O teste lista 16 situações do quotidiano, e cada uma é classificada pelo informante quanto à quantidade de mudanças nos últimos 10 anos, através da seguinte escala: 1- Muito melhor; 2- Um pouco melhor; 3- Não há muita mudança; 4- Um pouco pior; 5- Muito pior.(17) (Anexo 5)

## Procedimento

Todos os participantes foram avaliados por um psiquiatra, 72h até à sua admissão, usando a escala de RASS. Os doentes com resultados RASS > -3 foram subsequentemente avaliados com o teste de CAM, para a presença de delirium, durante a realização da versão portuguesa validada do teste MoCA. Resultados positivos de delirium (de acordo com os critérios de CAM) foram confirmados com os critérios DSM-5. Por sua vez, doentes com um resultado  $\leq -3$ , repetiram diariamente a avaliação até que fosse possível aferir a sua função cognitiva, de forma a incluí-los no estudo, sendo que todos os que mantiveram o resultado supracitado durante todo o internamento foram excluídos por incapacidade de avaliação, por se encontrarem demasiado sedados.

Foram recolhidas informações sobre as funções cognitivas afetadas junto do principal cuidador, formal ou informal, ao responderem ao questionário IQCODE-SF. Consequentemente, a demência foi diagnosticada se houvesse evidências suficientes baseados na avaliação cognitiva do participante, informações dos cuidadores, e quando disponível, referências no processo clínico. Assim, foi confirmado que os critérios da DSM-5 tinham sido cumpridos. Com base neste diagnóstico, os participantes foram divididos em dois grupos com base na presença ou ausência de demência.

A função cognitiva de doentes que apresentaram delirium sobreposto a demência no início do estudo foi posteriormente reavaliada com o teste de MoCA, após a resolução deste quadro. Porém, se esse estado persistisse durante todo o internamento, os participantes seriam excluídos do estudo.

Os doentes foram avaliados diariamente para o desenvolvimento de novos episódios de delirium usando a escala RASS e o teste de CAM. Foram classificados na categoria de delirium todos os doentes que desenvolveram pelo menos um episódio de qualquer severidade, durante a hospitalização.

Todos os participantes colheram uma amostra de sangue de forma a proceder-se à análise de biomarcadores inflamatórios como leucócitos, proteína C reativa (PCR) e microRNAs (miR-155, miR-146a, miR-145 e miR-23a) nos monócitos circulantes e exossomas. Os doentes que desenvolveram delirium colheram a sua amostra aquando detetados os episódios.

Todos os participantes do estudo tiveram uma avaliação cognitiva prévia à alta hospitalar.

#### Análise dos biomarcadores inflamatórios

Todas as análises desenvolvidas no âmbito do estudo foram realizadas no Centro de Neurociências e Biologia Celular (CNC).

As amostras de sangue colhidas dos doentes durante o internamento foram imediatamente centrifugadas e armazenadas a -80°C até ser realizada a sua análise bioquímica. Nos casos que desenvolveram quadros de delirium, as amostras foram colhidas até 72 horas após o diagnóstico dos episódios.

Os doseamentos das concentrações dos miRNAs foi realizado com recurso à tecnologia *quantitative Real Time Polymerase Chain Reaction* (qRT-PCR).

## Análise estatística

Os dados recolhidos foram analisados com recurso ao programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 25, com um nível de significância definido para  $p < 0.05$ . A normalidade das distribuições foi analisada através do teste Shapiro-Wilk.

A análise descritiva das variáveis qualitativas incluiu a determinação da frequência absoluta e relativa. O teste qui-quadrado foi implementado para estabelecer associações significativas entre variáveis nominais e ordinais.

Para variáveis quantitativas, foi determinada a média e desvio-padrão. Através do teste Mann-Whitney foram procuradas diferenças em variáveis quantitativas entre grupos. Foi também realizada uma análise com recurso a uma regressão linear simples de forma a estabelecer uma associação entre a concentração de miRNAs no sangue e a idade dos doentes. O coeficiente de regressão  $\pm$  desvio padrão foi utilizado para ilustrar a associação entre a concentração dos miRNAs e a idade.

## Resultados

### Análises descritivas

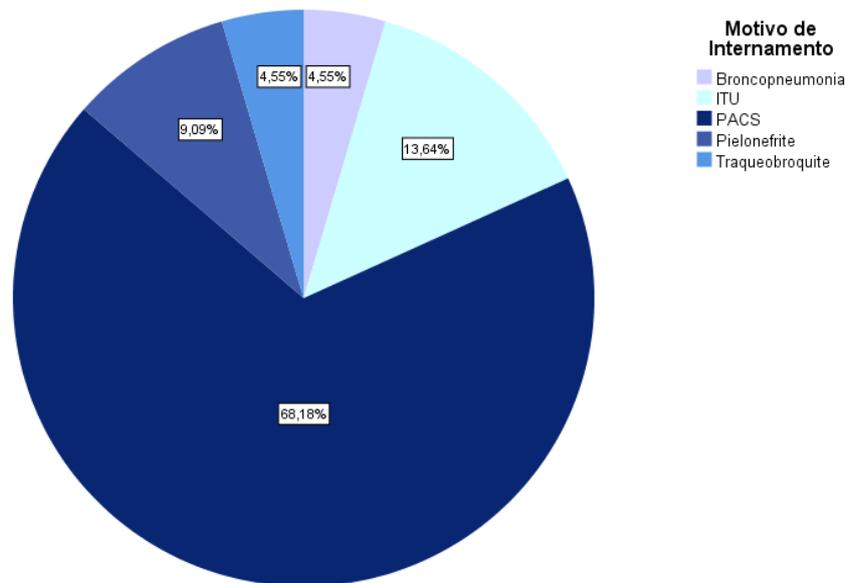
Ao longo dos cinco meses, permaneceram 22 doentes no estudo (59,1% dos indivíduos pertenciam ao sexo feminino e 40,9% ao sexo masculino), tendo uma média de idades de  $86,77 \pm 3,811$ . Destes, 13 apresentavam défice cognitivo com a seguinte distribuição: 5 com demência, 2 com delirium e 6 com delirium sobreposto a demência. A maioria dos doentes (77,3%) tinha cuidador informais, residindo em habitação própria. As características da população encontram-se resumidas na Tabela 1.

**Tabela 1** Análise descritiva e consistência interna das variáveis.

| Variáveis              | Valores            | Amostra total (n=22) | Grupo de controlo (n=9) | Défice Cognitivo (n=13) | Valor de p |
|------------------------|--------------------|----------------------|-------------------------|-------------------------|------------|
| Género                 | Feminino           | 59,1%                | 55,6%                   | 61,5%                   | 0,779      |
| Idade                  | 72-96              | $85,09 \pm 6,11$     | $82,67 \pm 8,06$        | $86,77 \pm 3,81$        | 0,209      |
| Motivo de Internamento | PAC                | 68,2%                | 66,7%                   | 69,2%                   | 0,684      |
|                        | Broncopneumonia    | 4,5%                 | 11,11%                  | 0%                      |            |
|                        | Traqueobronquite   | 4,5%                 | 0%                      | 7,7%                    |            |
|                        | ITU                | 13,6%                | 11,1%                   | 15,4%                   |            |
|                        | Pielonefrite       | 9,1%                 | 11,1%                   | 7,7%                    |            |
| Cuidador               | Formal             | 22,7%                | 22,2%                   | 23,1%                   | 0,962      |
|                        | Informal           | 77,3%                | 77,8%                   | 76,9%                   |            |
| RASS                   | Alerto e Calmo (0) | 72,7%                | 88,9%                   | 61,5%                   | 0,157      |
|                        | Inquieto (1)       | 27,3%                | 11,1%                   | 38,5%                   |            |
| MoCA                   | 4-24               | $12,21 \pm 7,08$     | $18,67 \pm 3,16$        | $6,40 \pm 3,47$         | <0,001     |
| IQCODE-SF              | 0-38               | $5,63 \pm 11,46$     | $1,67 \pm 5,00$         | $8,86 \pm 14,27$        | 0,031      |

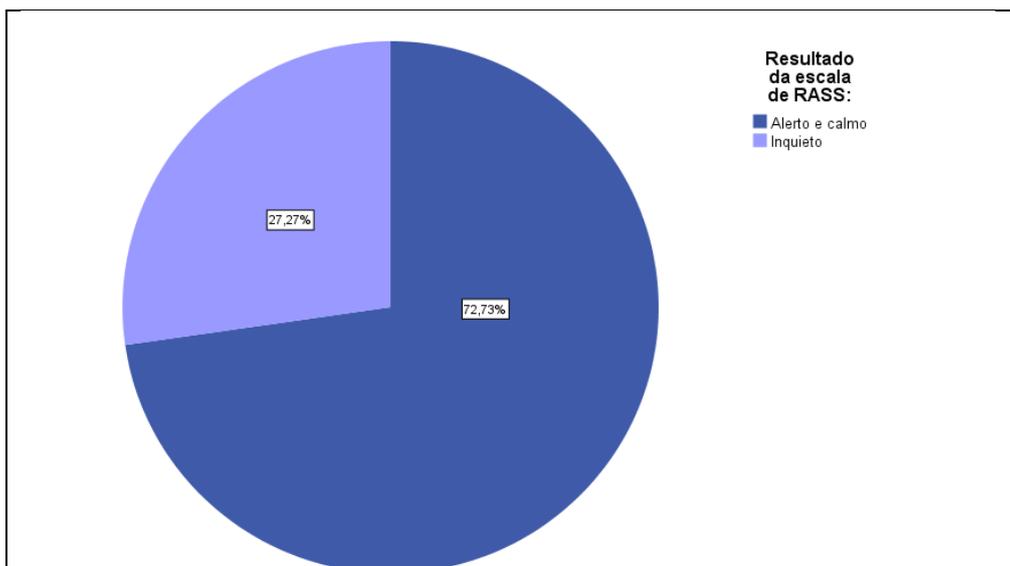
Legenda: PAC – pneumonia adquirida na comunidade, ITU – infeção do trato urinário, RASS – Richmond Agitation-Sedation Scale, MoCA- Montreal Cognitive Assessment, IQCODE-SF- Informant Questionnaire on Cognitive Decline in the Elderly

Todos os participantes estiveram internados durante mais de 48 horas, devido a patologia médica aguda, sendo assim incluídas todas as infeções que não envolvem diretamente o sistema nervoso central, com um valor de PCR superior a 1mcg/mL e que necessitam de tratamento antibiótico. Na figura 1 encontram-se descritos os motivos de internamento.

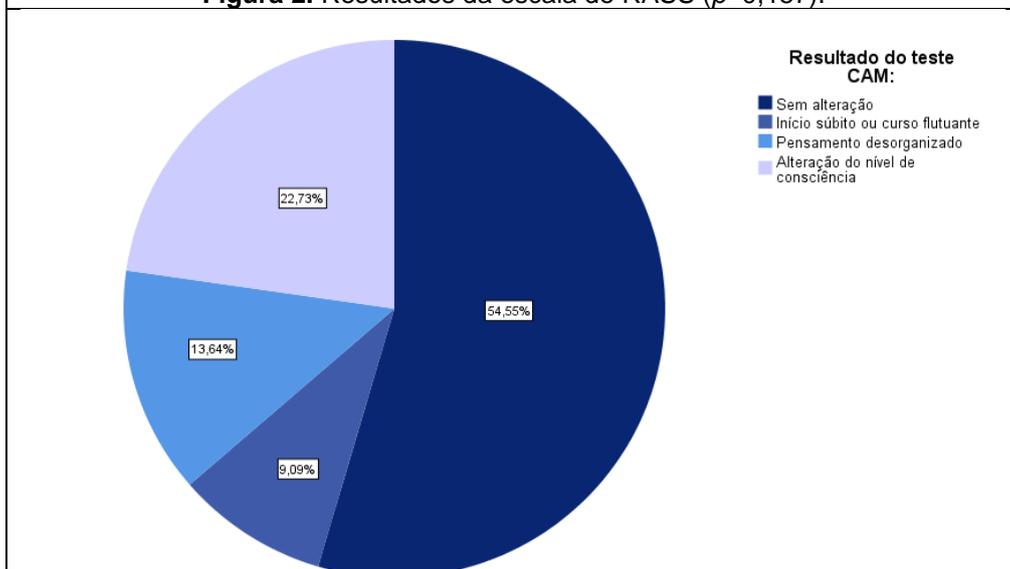


**Figura 1.** Distribuição dos doentes internados pelo seu motivo de internamento durante o período do estudo de janeiro a maio de 2019 (n=22). ( $p=0,684$ )

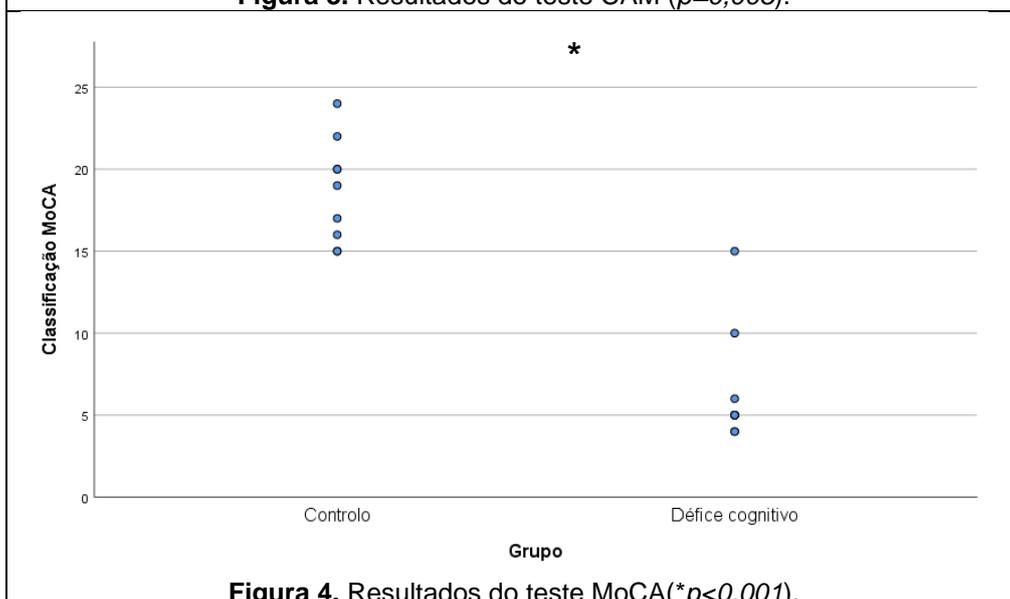
Até 72h da sua admissão os doentes foram avaliados pela escala de RASS de forma a determinar o seu estado de consciência. Verificou-se que 72,7 % dos participantes se apresentavam alerta e calmos, enquanto 27,3% se encontravam inquietos (Figura 2). De seguida, foi avaliado o comprometimento cognitivo pela escala de CAM durante a realização do teste MoCA. Na escala de CAM, 54,5% dos doentes não tinham alterações cognitivas, 9,1% apresentava um estado confusional de início súbito ou com curso flutuante, 13,6% mostravam ter o pensamento desorganizado e 22,7% exibiam alteração do nível de consciência (Figura 3). Por sua vez, o teste de MoCA teve uma média de  $12,21 \pm 7,08$ , com valor mínimo de 4 e valor máximo de 24. Neste teste foram apresentadas diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre os grupos ( $p < 0,001$ ). Verificaram-se resultados mais baixos nos testes em doentes com défice cognitivo em relação aos do grupo controlo (Figura 4).



**Figura 2.** Resultados da escala de RASS ( $p=0,157$ ).



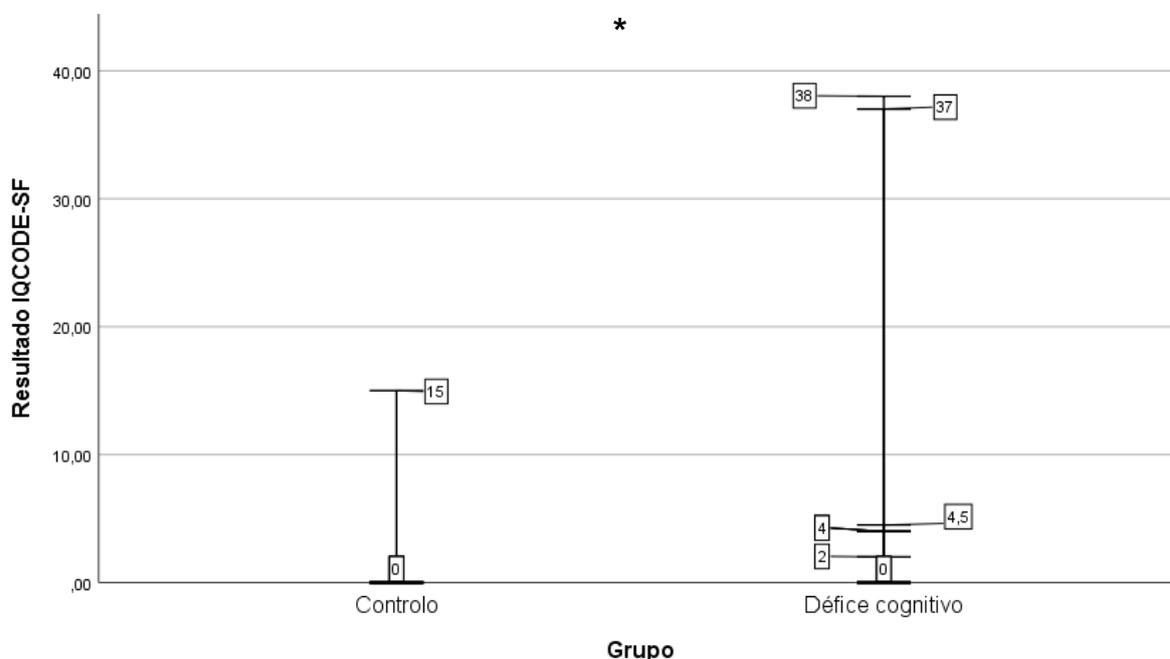
**Figura 3.** Resultados do teste CAM ( $p=0,005$ ).



**Figura 4.** Resultados do teste MoCA ( $*p < 0,001$ ).

O questionário IQCODE-SF registou uma média de  $5,63 \pm 11,46$ , sendo obtido como valor mínimo 0 e máximo 38 (Figura 5). No grupo défice cognitivo, a sua mediana foi 4,00 com o valor mais baixo de 0 e o mais alto 38.

Nos resultados do questionário, verificou-se a existência de diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os grupos ( $p = 0,031$ ).



**Figura 5.** Resultado do teste IQCODE-SF nos grupos (\* $p=0,031$ ).

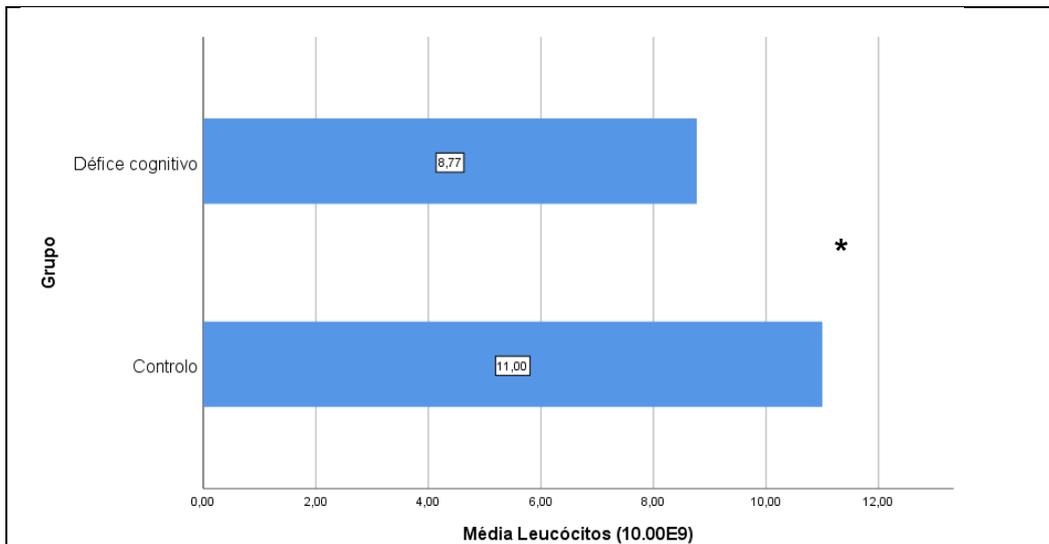
### Análise da Avaliação Analítica

Todos os doentes foram submetidos a um estudo analítico no qual foram registados os valores da concentração de leucócitos, PCR e miRNAs (Tabela 3).

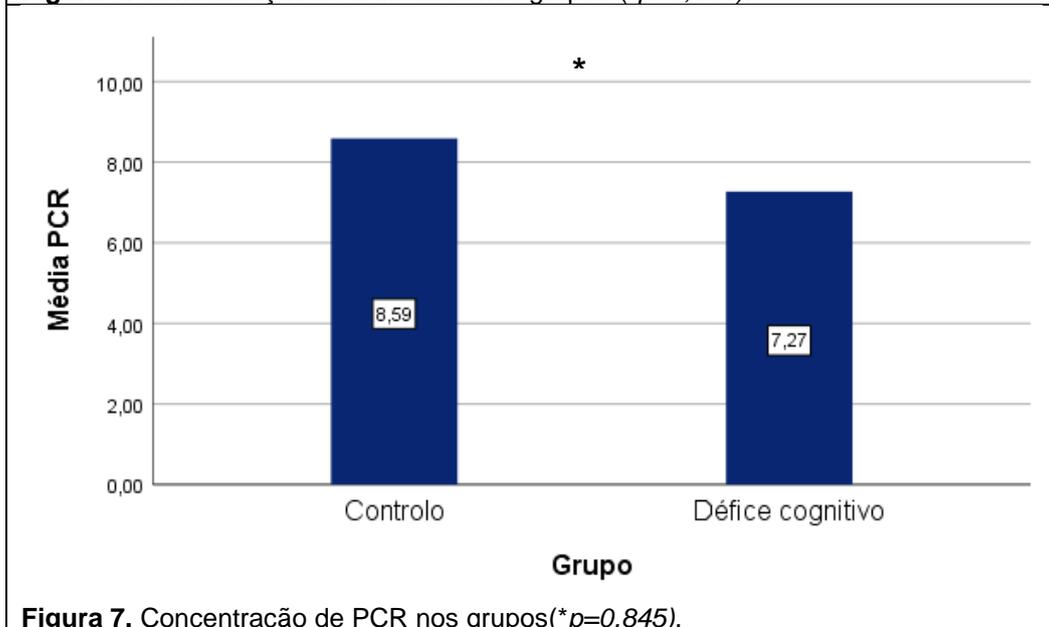
**Tabela 3.** Resultados dos biomarcadores neuro-inflamatórios dos doentes (n=22).

| Variáveis                                  | Valores     | Amostra total (n=22) | Grupo de controlo (n=9) | Défice Cognitivo (n=13) | Valor de p |
|--|-------------|----------------------|-------------------------|-------------------------|------------|
| Leucócitos ( $10^9$ )                      | 3,8-18      | $9,7 \pm 4,1$        | $11 \pm 5,00$           | $8,8 \pm 3,2$           | 0,431      |
| PCR  | 0,44-26,70  | $7,81 \pm 6,90$      | $8,59 \pm 8,94$         | $7,27 \pm 5,42$         | 0,845      |
| miRNA155                                   | 35,65-42,00 | $40,67 \pm 2,28$     | $40,37 \pm 2,58$        | $40,88 \pm 2,14$        | 0,695      |
| miRNA146a                                  | 30,42-36,54 | $33,51 \pm 1,79$     | $33,25 \pm 1,70$        | $33,69 \pm 1,89$        | 0,556      |
| miRNA145                                   | 31,51-36,61 | $33,49 \pm 1,380$    | $33,21 \pm 1,23$        | $33,69 \pm 1,49$        | 0,601      |
| miRNA23a                                   | 26,78-31,59 | $28,44 \pm 1,17$     | $28,68 \pm 1,42$        | $28,28 \pm 1,00$        | 0,647      |
| Nº de partículas/<br>10 $\mu$ L ( $10^5$ ) | 1,1- 11     | $2,8 \pm 1,9$        | $3,4 \pm 2,87$          | $2,4 \pm 0,8$           | 0,393      |
| Exossomas (%)                              | 24,50-100   | $80,61 \pm 19,33$    | $76,56 \pm 24,33$       | $83,41 \pm 15,45$       | 0,556      |

Legenda: PCR - proteína C-reativa



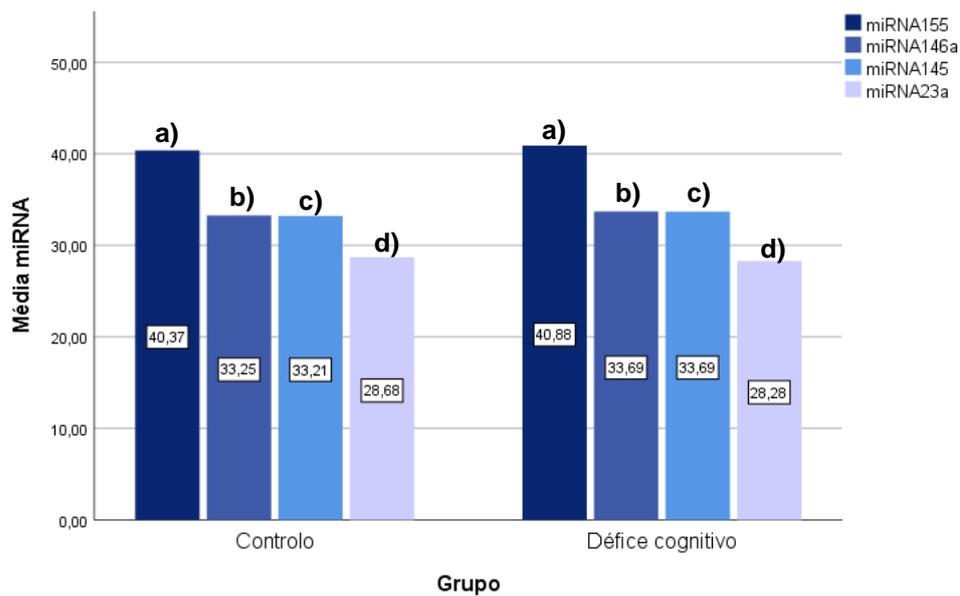
**Figura 6.** Concentração de leucócitos nos grupos (\* $p=0,431$ ).



**Figura 7.** Concentração de PCR nos grupos(\* $p=0,845$ ).

Foram comparados os níveis dos marcadores neuro-inflamatórios nos dois grupos, sendo visível que a média de leucócitos e PCR era superior no grupo de controlo relativamente ao grupo que apresentava déficit cognitivo (Figuras 6 e 7, respetivamente). Porém, a média da concentração dos diferentes miRNAs avaliados foi semelhante em ambos os grupos (Figura 8).

O grupo controlo e déficit cognitivo não mostraram diferir estatisticamente um do outro em nenhum dos biomarcadores, uma vez que nos testes de Mann-Whitney se obteve sempre  $p > 0,05$ .

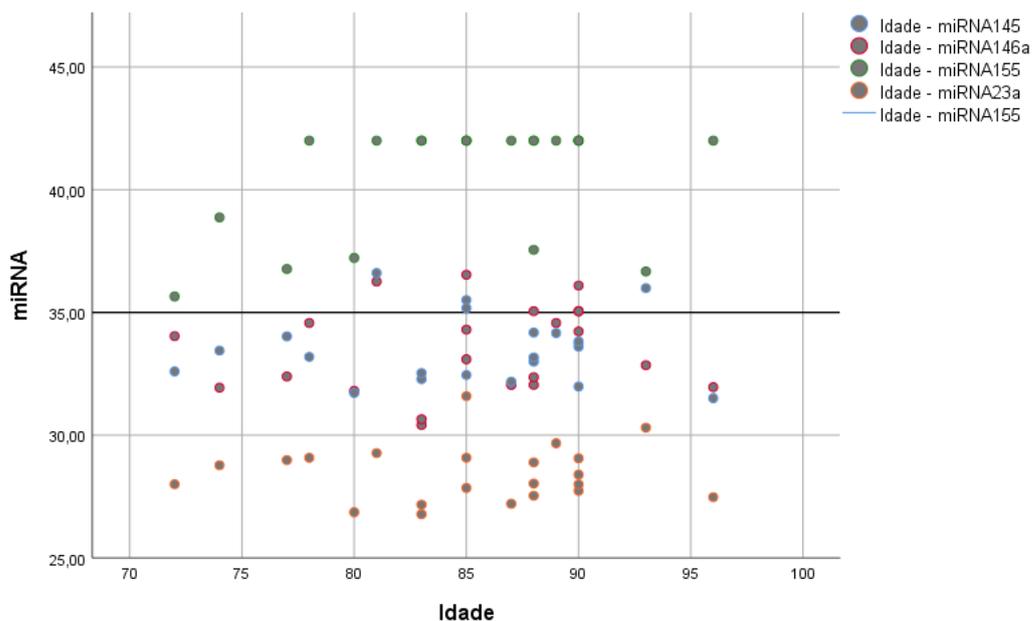


**Figura 8.** Concentração de miRNAs nos grupos (a)  $p=0,695$ ; b)  $p=0,556$ ; c)  $p=0,601$ ; d)  $p=0,647$ ).

De seguida, avaliámos se os níveis de miRNAs estavam relacionados com a idade ou com o género dos doentes. Primeiro comparou-se as concentrações de cada miRNA ao longo da faixa etária dos participantes. Assim, verificou-se que existe uma maior concentração de miRNA155 e uma menor concentração de miRNA23a ao longo de todas as idades (Figura 9). Através de uma regressão linear simples desajustada, é perceptível que as variáveis idade e concentração de miRNAs estão independentemente associadas ( $p > 0,05$ ), visto que os marcadores neuroinflamatórios apresentam uma distribuição homogénea ao longo da faixa etária em estudo (Tabela 4).

**Tabela 4.** Correlação entre os miRNAs e a idade dos doentes.

|           | Idade                     |              |
|-----------|---------------------------|--------------|
|           | Coefficiente de regressão | Valor de $p$ |
| miRNA155  | 0,146 ± 0,082             | 0,093        |
| miRNA146a | 0,037 ± 0,074             | 0,625        |
| miRNA145  | -0,004 ± 0,057            | 0,944        |
| miRNA23a  | 0,030 ± 0,047             | 0,529        |

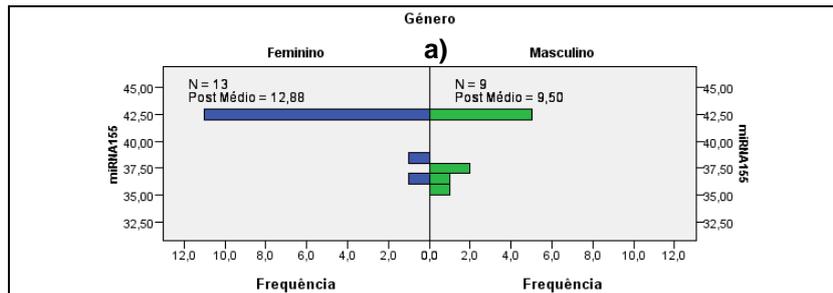


**Figura 9.** Concentração dos miRNAs ao longo da idade dos doentes

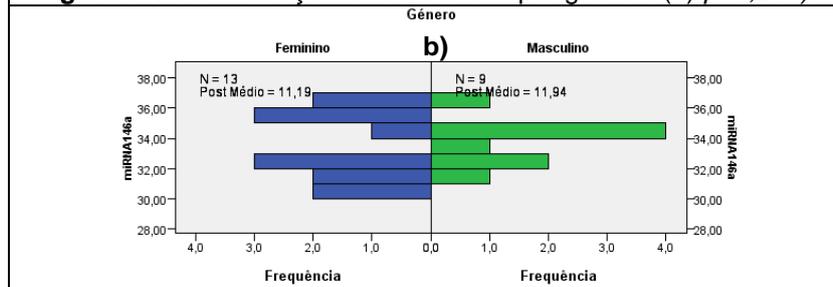
Em seguida, realizando o teste de Mann-Whitney, comparou-se os níveis dos marcadores neuro-inflamatórios com o género dos doentes, revelando este não existirem diferenças estatísticas na distribuição dos biomarcadores ( $p > 0,05$ ). (Tabela 5 e Figuras 10-13).

**Tabela 5.** Comparação entre o género dos doentes e as concentrações de miRNAs.

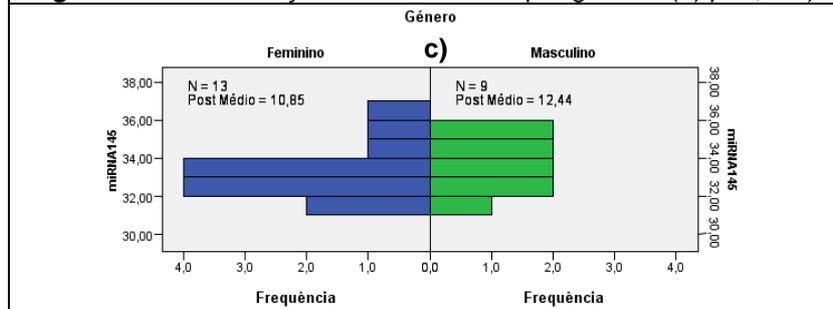
| Variáveis | Valores     | Amostra total<br>(n=22) | Masculino<br>(n=9) | Feminino<br>(n=13) | Valor<br>de $p$ |
|-----------|-------------|-------------------------|--------------------|--------------------|-----------------|
| miRNA155  | 35,65-42,00 | 40,67±2,28              | 39,69±2,79         | 41,35±1,65         | 0,235           |
| miRNA146a | 30,42-36,54 | 33,51±1,79              | 33,70±1,46         | 33,38±2,03         | 0,794           |
| miRNA145  | 31,51-36,61 | 33,49±1,38              | 33,62±1,26         | 33,41±1,50         | 0,601           |
| miRNA23a  | 26,78-31,59 | 28,44±1,17              | 28,74±1,40         | 28,24±1,00         | 0,393           |



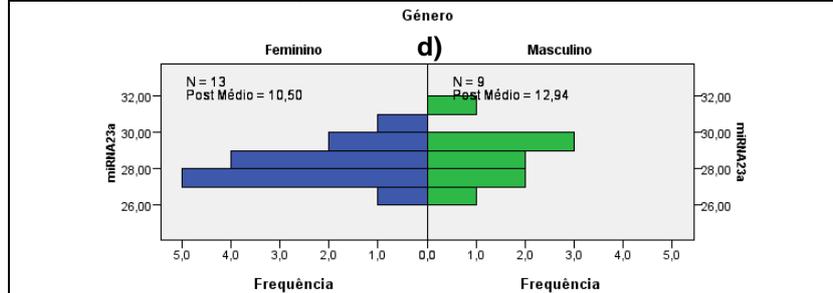
**Figura 10.** Concentração de miRNA155 por gênero. (a)  $p=0,235$ .



**Figura 11.** Concentração de miRNA146a por gênero. (b)  $p=0,794$ .



**Figura 12.** Concentração de miRNA145 por gênero. (c)  $p=0,601$ .



**Figura 13.** Concentração de miRNA23a por gênero. (d)  $p=0,393$ .

## Discussão

O diagnóstico de alterações do estado mental durante o período de internamento dos doentes é muitas vezes difícil, em resultado da apresentação de alterações agudas (perturbação/variação do estado de consciência e/ou episódios de delirium) ou, frequentemente, não possuem diagnóstico prévio de demência. É deste modo comprometida a realização de um diagnóstico fiável mesmo durante a prestação de cuidados de saúde.(18)

Neste estudo, foram avaliados 22 doentes internados por patologia médica aguda, com o objetivo de caracterizar alterações em biomarcadores com concomitante alteração do resultado de testes neuropsicológicos, de forma a realizar um diagnóstico precoce de doenças com comprometimento cognitivo (ex: delirium e demência).

Procedeu-se, por esse motivo, à recolha de amostras de sangue para determinação da concentração de PCR, Leucócitos e de miRNAs-alvo (miRNA155, miRNA146a, miRNA145, miRNA23a).

Ao comparar a concentração de PCR e Leucócitos entre os grupos, verificou-se que o grupo sem défice cognitivo apresentava valores superiores de ambos os biomarcadores, relativamente ao grupo que apresentava demência e/ou delirium. Porém, apesar de os seus valores absolutos serem superiores, a sua diferença não foi estatisticamente significativa ( $p=0,845$  e  $p=0,431$  respetivamente). Este comportamento da PCR deve-se ao seu efeito de pleiotropia antagónica relativamente à memória.(19) Estudos demonstraram que elevadas concentrações de PCR estão positivamente relacionadas com o melhor desempenho da memória em indivíduos com mais de 75 anos, sem comprometimento cognitivo ou outras condições predisponentes.(19,20) Deste modo, os 5 casos de demência podem justificar o diferir de concentrações, apesar desta diferença não ser estatisticamente significativa. Por sua vez, esta situação é contraditória ao desenvolvimento de delirium, uma vez que foi comprovado que nestes casos se verifica um aumento dos níveis desta proteína.(21)

A disfunção neuronal, refletida nos biomarcadores resultantes da reação neuroinflamatória pode representar a existência de um processo fisiopatológico comum entre o delirium e a demência. Estudos prévios demonstraram que miRNAs são estáveis em diversos fluidos corporais, incluindo no soro e no LCR(22) e, como tal, têm potencial como biomarcadores no envelhecimento e em distúrbios relacionados com a idade, uma vez que alterações na sua concentração tem sido relacionada com várias patologias ou estados fisiológicos alterados.(18) O LCR está em contacto direto com o espaço extracelular do cérebro, conseguindo assim refletir com precisão alterações bioquímicas

que ocorrem no cérebro, constituindo assim uma ótima forma de obter biomarcadores. Porém, a sua técnica de colheita é complicada e a sua recolha pode ser ainda mais dificultada em doentes que tenham, por exemplo, delirium. Deste modo, a colheita de sangue é menos invasiva, e de mais fácil acesso, tornando-a mais atrativa como fonte de biomarcadores.(8) Por estas razões, neste estudo foi analisada a concentração de miRNAs circulantes no sangue dos doentes, uma vez que estes neuromarcadores são libertados e protegidos da degradação extracelular ao serem transportados em exossomas ou microvesículas,(23) conseguindo atravessar a Barreira Hematoencefálica (BHE) e facilitando a comunicação intercelular. A BHE, tendo em conta o processo inflamatório sistémico, demonstra um aumento da sua permeabilidade e alterações na expressão das tight-junctions.(9) No nosso estudo, a percentagem de exossomas foi superior nos participantes com défice cognitivo, porém sem diferença estatística significativa, pelo que um maior número de testes será necessário para estabelecer tal ligação ou a desconsiderar.

Os biomarcadores circulantes presentes no estudo foram escolhidos tendo em conta a sua possível intervenção no processo fisiopatológico, considerando as teorias atualmente prevalentes, sendo a hipótese neuro-inflamatória a mais aceite relativamente à neuropatogénese comum ao delirium e demência. Apesar de todos os estudos efetuados para identificar fatores de risco para o desenvolvimento de delirium e demência, os seus mecanismos fisiopatológicos permanecem desconhecidos e o diagnóstico precoce de doentes negligenciado, subestimando assim a incidência destas patologias.(5–7)

Atualmente, considera-se que na base da fisiopatologia do delirium existe um estado de perturbação aguda e global da função cerebral como resultado da complexa interação entre fatores predisponentes (por exemplo, idade avançada ou a demência prévia) e precipitantes.(9) Entre os fatores precipitantes mais comuns do delirium, estão as infeções e os distúrbios do sistema nervoso central. Indivíduos com mais vulnerabilidade cerebral podem desenvolver delirium quando expostos a estímulos nocivos leves, como a incidência de uma patologia médica aguda (por exemplo, infeção urinária, pneumonia adquirida na comunidade, entre outras).(10) O seu desenvolvimento sugere a existência de uma doença neurológica subjacente, como a demência precoce, que se encontrava oculta. Deste modo, o desenvolvimento de patologia médica aguda pode revelar a patologia subjacente.(18) No nosso estudo, poucos doentes tinham o diagnóstico prévio de demência. Porém, após a incidência do processo inflamatório foi possível estabelecer o seu diagnóstico, mostrando

vulnerabilidade cerebral. Mas, no nosso estudo, não se verificaram diferenças na concentração de miRNAs entre o grupo de controlo e de défice cognitivo.

Foi utilizado o miR-155 tendo em conta a hipótese neuro-inflamatória, tendo em conta este ser um marcador de inflamação, pelo papel desempenhado na regulação de citocinas nos macrófagos.(24) Deste modo, a sua concentração superior aos outros miRNA em ambos os grupos indica-nos a existência de um processo inflamatório subjacente, confirmado pelo motivo de internamento, e que terá contribuído para o revelar da vulnerabilidade cerebral dos doentes do grupo défice cognitivo.

A utilidade do uso do miR-146a em pesquisas deve-se a fortes evidências noutros estudos que demonstram que este miRNA é responsável pela regulação da inflamação em patologias neurológicas em humanos, que pode ser induzido como um regulador de feedback negativo da resposta inflamatória mediada por astrócitos, e que consegue atenuar a ação de um repressor da imunidade inata que atua na resposta à inflamação cerebral na doença de Alzheimer. (18) O nosso estudo foi contraditório neste ponto, visto não se ter registado uma diferença de concentrações neste marcador entre os grupos. Porém, no estado fisiológico, a transcrição do miRNA146a ocorre a um nível basal (18), o que justifica registo deste biomarcador no grupo controlo.

Deste modo, a conjugação destes neuromiRNAs (miR-155 e miR-146a), pode ser responsável pela resposta inflamatória. De acordo com certos estudos, a sua elevada concentração no LCR e sêrum de doentes com delirium pode refletir um estado inflamatório crónico de baixo-nível em cérebros mais vulneráveis.(25)

Por sua vez, o miR-23a tem provas de se apresentar significativamente diminuído em doentes com Alzheimer (11), considerando a sua função de melhoria de diferenciação dos oligodendrócitos, e contribui para a síntese e manutenção de mielina. (26) Não se registaram diferenças nas suas concentrações entre os grupos, podendo conferir a sugestão de que a sua baixa concentração relativamente aos outros miRNAs se deve ao envelhecimento fisiológico das células cerebrais.

O envelhecimento e as doenças neurodegenerativas são conhecidos fatores de risco predisponentes para o desenvolvimento de delirium e são também acompanhados por um baixo nível de inflamação crónica.(25) Estudos desenvolvidos indicam que alguns miRNAs, como por exemplo o miR-146a, aumentam significativamente a sua expressão ao longo do processo de senescência dos fibroblastos.(27) No nosso estudo, a amostra foi constituída por doentes com mais de 65 anos ( $85,09 \pm 6,11$ ). Podemos então concluir que a concentração semelhante deste biomarcador entre os grupos se deve, igualmente, ao processo natural de senescência. Contudo, ao relacionarmos as

idades da amostra com as concentrações dos neuromarcadores, verificou-se que as variáveis concentrações miRNAs e idade estão independentemente relacionadas.

É conhecido que o declínio funcional e cognitivo com o envelhecimento cerebral é diferente entre homens e mulheres, verificando-se também incidências de patologias diferentes entre géneros (por exemplo: Doença de Alzheimer). (28) As hormonas e os cromossomas sexuais podem ser os responsáveis por estas discrepâncias, uma vez que se suspeita que os cromossomas sexuais consigam regular microRNAs em doenças neurodegenerativas. (29) Porém, poucos estudos em humanos mediram a diferenças, entre géneros, da expressão de microRNAs em cérebros de doentes. (18) Existem estudos que demonstram que o miR-23a pode estar implicado no dimorfismo sexual entre as patologias.(29) Os nossos resultados foram contraditórios ao indicado, visto que não existiram alterações entre os grupos quando comparámos as concentrações de miRNAs com o género dos doentes.

#### Pontos fortes e limitações do estudo

A amostra foi constituída por doentes de ambos os géneros com uma vasta dispersão de idades, porém todas acima dos 65 anos, contribuindo assim para a generalização dos seus resultados, e conferindo-lhes robustez. Todos os doentes foram acompanhados ao longo do seu internamento havendo desta forma possibilidade de avaliar prospectivamente alterações individuais no seu estado de mental. Merece ainda destaque o uso de biomarcadores, tendo em consideração a hipótese neuroinflamatória, como base do processo fisiopatológico subjacente às patologias que constituem e caracterizam o défice cognitivo.

A amostra utilizada foi reduzida impedindo assim que os resultados sejam representativos da população, ou extrapolados para a mesma sem a realização de novos testes. Da amostra utilizada não foram considerados os antecedentes pessoais dos doentes, nem a medicação por eles realizada. Desta forma, não pode ser salvaguardado que não haja implicação desta variável no diagnóstico do estado de saúde mental. Os critérios de exclusão tiveram, cumulativamente, impacto na constituição da amostra, tendo sido utilizado como critério o défice sensorial major, excisando da amostra possíveis participantes. Apesar de ser difícil a avaliação do estado mental nestes doentes, a exclusão dos mesmo contribui para que os resultados deste estudo sejam uma subestimação. Destaca-se ainda que o foco do estudo em apenas 4 miRNAs. Contudo, existem outros miRNAs que contribuem para o processo neuroinflamatório e neurodegenerativo, que devem ser igualmente estudados. Por último devemos ter em consideração que o estudo foi realizado num único hospital,

sendo aconselhável replicar o estudo em diversos locais, de forma a assegurar a validade dos resultados.

## **Conclusão**

Da realização deste estudo, concluímos que não existe relação entre os níveis de biomarcadores inflamatórios circulantes no sangue e o desenvolvimento de déficit cognitivo em doentes internados por patologia médica aguda. Assim, os resultados obtidos não foram esclarecedores relativamente às alterações de biomarcadores, intervenientes no processo fisiopatológico do delirium e da demência, que permitam a confirmação da hipótese neuroinflamatória na sua génese e a realização de um diagnóstico precoce destas doenças.

Deverão ser realizados mais estudos no sentido de esclarecer a influência dos miRNAs no processo fisiopatológico das patologias que apresentam desenvolvimento de déficit cognitivo. Esses estudos devem ter uma amostra de doentes superior ao usado neste estudo e de diferentes hospitais, de forma que os resultados sejam representativos da população e tenham em consideração hábitos pessoais dos doentes, como por exemplo hábitos etílicos e tabágicos assim como a sua medicação habitual.

## **Agradecimentos**

Agradeço, antes de mais, ao Professor Doutor Joaquim Cerejeira e à Professora Doutora Lélita Santos por orientarem este trabalho e pela oportunidade de conhecer uma parte deste projeto de investigação, cujo tema me interessou desde o início quando apresentado.

Agradeço em particular ao Professor Doutor Joaquim Cerejeira por toda a disponibilidade, acompanhamento e prontidão na resolução de todos os problemas que foram surgindo ao longo destes meses.

Um agradecimento especial à Doutora Patrícia Regueira que, mesmo na sua atarefada vida de interna, demonstrou sempre disponibilidade para me ajudar na realização deste trabalho e esclarecimento de dúvidas.

À Dourtora Ana Rita Silva pela ajuda na colheita de dados.

Aos responsáveis e técnicos, em especial à Investigadora Ana Luísa, do Centro de Neurociências e Biologia Celular pela disponibilização dos resultados dos biomarcadores inflamatório.

Aos meus pais pelo apoio diário. Sem eles este trabalho e este curso não seriam realizáveis.

Ao meu irmão Tiago por toda a ajuda na resolução dos problemas informáticos de última hora.

À Ana Rita Fradique e ao Ricardo Silva por 6 anos de acompanhamento e pela força especial para a conclusão deste trabalho.

Ao António, à Diana, ao João, ao Pimenta, ao Rubén, ao Stev, ao Tiago, ao Zé e a tantos outros que ouviram os meus dramas durante a realização deste trabalho.

## Referências Bibliográficas

1. Morse A. Discharging older patients from hospital. *Natl Audit Off* 2016 [Internet]. 2016;(May):1–61. Available from: [http://www.journals.cambridge.org/abstract\\_S1041610204210912](http://www.journals.cambridge.org/abstract_S1041610204210912)
2. Sampson EL, Blanchard MR, Jones L, Tookman A, King M. Dementia in the acute hospital: Prospective cohort study of prevalence and mortality. *Br J Psychiatry*. 2009;195(1):61–6.
3. John R.Giudicessi, BA.Michael J.Ackerman. 2013. 基因的改变NIH Public Access. *Bone* [Internet]. 2008;23(1):1–7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3624763/pdf/nihms412728.pdf>
4. Lagarto L, Albuquerque E, Loureiro D, Vieira F, Esteves P, Neves S, et al. Arousal changes and delirium in acute medically-ill male older patients with and without dementia: a prospective study during hospitalization. *Aging Ment Heal* [Internet]. 2018;0(0):1–8. Available from: <https://doi.org/10.1080/13607863.2018.1548569>
5. Cerejeira J, Lagarto L, Mukaetova-Ladinska EB. Behavioral and psychological symptoms of dementia. *Front Neurol*. 2012;MAY(May):1–21.
6. Fong TG, Davis D, Growdon ME, Albuquerque A, Inouye SK. The interface between delirium and dementia in elderly adults. *Lancet Neurol* [Internet]. 2015;14(8):823–32. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)00101-5](http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(15)00101-5)
7. Cerejeira J, Mukaetova-Ladinska EB. A Clinical Update on Delirium: From Early Recognition to Effective Management. *Nurs Res Pract*. 2011;2011:1–12.
8. Fong TG, Vasunilashorn SM, Libermann T, Marcantonio ER, Inouye SK, Israel B, et al. HHS Public Access. 2019;34(6):781–9.
9. Joaquim, FirminCerejeirao H, Vaz-Serra A, Mukaetova-Ladinska EB. The neuroinflammatory hypothesis of delirium. *Acta Neuropathol*. 2010;119(6):737–54.
10. Cerejeira J, Lagarto L, Mukaetova-Ladinska EB. The immunology of delirium. *Neuroimmunomodulation*. 2014;21(2–3):72–8.
11. Kumar S, Reddy PH. Are circulating microRNAs peripheral biomarkers for Alzheimer’s disease? *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis*. 2016;1862(9):1617–27.
12. Trotta T, Panaro MA, Cianciulli A, Mori G, Di Benedetto A, Porro C. Microglia-derived extracellular vesicles in Alzheimer’s Disease: A double-edged sword. *Biochem Pharmacol* [Internet]. 2018;148:184–92. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2017.12.020>
13. Sessler CN, Gosnell MS, Grap MJ, Brophy GM, O’Neal P V., Keane KA, et al. The Richmond Agitation-Sedation Scale: Validity and reliability in adult intensive care unit patients. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;166(10):1338–44.
14. Yates C, Stanley N, Cerejeira JM, Jay R, Mukaetova-Ladinska EB. Screening instruments for delirium in older people with an acute medical illness. *Age Ageing*. 2009;38(2):235–7.
15. Waszynski CM. Confusion Assessment Method (CAM). *Medsurg Nurs*. 2004;13(4):269–70.

16. Freitas S, Simões MR, Alves L, Vicente M, Santana I. Montreal cognitive assessment (MoCA): Validation study for vascular dementia. *J Int Neuropsychol Soc*. 2012;18(6):1031–40.
17. Christie J. Informant Questionnaire on Cognitive Decline in the Elderly (IQCODE) for the Early Diagnosis of Dementia Across a Variety of Healthcare Settings. *Issues Ment Health Nurs*. 2018;39(5):445–6.
18. Dong R, Sun L, Lu Y, Yang X, Peng M, Zhang Z. NeurimmiRs and postoperative delirium in elderly patients undergoing total hip/knee replacement: A pilot study. *Front Aging Neurosci*. 2017;9(JUN):1–11.
19. Aftab AR, Donnellan F, Zeb F, Courtney G. Advancing age is not a reason to withhold ERCP. *Age Ageing*. 2009;38(2):233–5.
20. Gong C, Wei D, Wang Y, Ma J, Yuan C, Zhang W, et al. A Meta-Analysis of C-Reactive Protein in Patients with Alzheimer’s Disease. *Am J Alzheimers Dis Other Demen*. 2016;31(3):194–200.
21. Vasunilashorn SM, Dillon ST, Inouye SK, Ngo LH, Fong TG, Jones RN, et al. High C-reactive Protein Predicts Delirium Incidence, Duration, and Feature Severity after Major Non-cardiac Surgery Elements of Financial/Personal Conflicts HHS Public Access. *J Am Geriatr Soc* [Internet]. 2017;65(8):109–16. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5700456/pdf/nihms915789.pdf>
22. Stoicea N, Du A, Lakis CD, Tipton C, Arias-Morales CE, Bergese SD. The miRNA journey from theory to practice as a CNS biomarker. *Front Genet*. 2016;7(FEB):1–8.
23. Sohel MH. Extracellular/Circulating MicroRNAs: Release Mechanisms, Functions and Challenges. *Achiev Life Sci* [Internet]. 2016;10(2):175–86. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.als.2016.11.007>
24. Mashima R. Physiological roles of miR-155. *Immunology*. 2015;145(3):323–33.
25. Olivieri F, Rippo MR, Procopio AD, Fazioli F. Circulating inflamma-miRs in aging and age-related diseases. *Front Genet*. 2013;4(JUN):1–9.
26. Lin ST, Huang Y, Zhang L, Heng MY, Ptáček LJ, Fu YH. MicroRNA-23a promotes myelination in the central nervous system. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(43):17468–73.
27. Bhaumik D, Scott GK, Schokrpur S, Patil CK, Orjalo A V., Rodier F, et al. MicroRNAs miR-146a/b negatively modulate the senescence-associated inflammatory mediators IL-6 and IL-8. *Aging (Albany NY)*. 2009;1(4):402–11.
28. Morgan CP, Bale TL. Sex differences in microRNA-mRNA networks: Examination of novel epigenetic programming mechanisms in the sexually dimorphic neonatal hypothalamus. *Biol Sex Differ* [Internet]. 2017;8(1):1–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13293-017-0149-3>
29. Sharma S, Eghbali M. Influence of sex differences on microRNA gene regulation in disease. *Biol Sex Differ* [Internet]. 2014;5(1):1–8. Available from: *Biology of Sex Differences*

## Anexo 1- Richmond Agitation and Sedation Scale (RASS)

### ESTADO DE CONSCIÊNCIA - Richmond Agitation and Sedation Scale

#### Procedimento:

1. Observar o doente (0 a +4)
2. Se não estiver alerta dizer: “Boa tarde, Sr. ... Pode abrir os olhos e olhar para mim?” (-1 a -3)
3. Se não houver resposta a estímulo verbal: realizar estimulação física (-4 a -5)

| Pontos | Classificação                    | Descrição   |
|--------|----------------------------------|---|
| +4     | <b>Agressivo</b>                 | Claramente violento, coloca em perigo os profissionais  |
| +3     | <b>Muito agitado</b>             | Puxa ou remove tubos ou cateteres   |
| +2     | <b>Agitado</b>                   | Movimentos frequentemente não dirigidos   |
| +1     | <b>Inquieto</b>                  | Ansioso mas sem movimentos agressivos ou vigorosos  |
| 0      | <b>Alerta e calmo</b>            |   |
| -1     | <b>Sonolento</b>                 | Não totalmente alerta mas permanece acordado (abre os olhos e faz contacto visual) após <i>estimulação por voz</i> ( $\geq 10$ s) |
| -2     | <b>Sedação ligeira</b>           | Acorda rapidamente e estabelece contacto visual após <i>estimulação por voz</i> ( $< 10$ s)                                       |
| -3     | <b>Sedação moderada</b>          | Movimenta-se ou abre os olhos após <i>estimulação por voz</i> (mas sem contacto visual)   |
| -4     | <b>Sedação profunda</b>          | Sem resposta à <i>estimulação por voz</i> mas movimenta-se ou abre os olhos após <i>estimulação física</i>                        |
| -5     | <b>Incapaz de ser despertado</b> | Sem resposta à <i>estimulação por voz</i> ou à <i>estimulação física</i>  |

**Se RASS < -2 ou > +1: O PARTICIPANTE NÃO É ELEGÍVEL PARA O ESTUDO**

## Anexo 2 – Teste Confusion Assessment Method (CAM)

| CONFUSION ASSESSMENT METHOD  |   | Critério  | ✓ Presente               |
|--|---|---|--------------------------|
| <b>1- Início agudo e curso flutuante</b>   |   |   |                          |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>■ O estado mental do doente é diferente em relação ao seu estado prévio habitual? <b>OU</b></li> <li>■ Houve flutuação do estado mental nas últimas 24h (ex.: alteração de RASS ou na avaliação cognitiva)?</li> </ul>                    |   | Se sim a uma das perguntas ►  | <input type="checkbox"/> |
| <b>2- Perturbação da atenção</b>   |   |   |                          |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Desempenho na série de letras do MoCA <b>OU</b></li> <li>■ Perguntar “Por favor diga-me os meses do ano, de trás para a frente, a começar em dezembro”. Para ajudar o doente pode dizer-se “qual é o mês antes de dezembro?”</li> </ul> |   | ≥ 2 erros na série de letras<br>< 7 meses corretos ►  | <input type="checkbox"/> |
| <b>3- Alteração do estado de consciência</b>   |   |   |                          |
| ■ RASS ≠ 0   |   | Se RASS ≠ 0 ►   | <input type="checkbox"/> |
| <b>4- Pensamento desorganizado</b>   |   |   |                          |
| <b>Perguntas SIM/NÃO.</b> Perguntar ao doente:<br>1. Uma pedra pode flutuar na água?<br>2. Existem peixes no mar?<br>3. Um quilo pesa mais do que dois quilos?<br>4. Pode usar-se um martelo para pregar um prego?   | <b>Ordens:</b> Pedir ao doente para cumprir as instruções seguintes:<br>a) “ <i>Levante o mesmo número de dedos que eu</i> ” (levantar 2 dedos diante do doente)<br>b) “ <i>Agora faça o mesmo com a outra mão</i> ” (não mostrar o número de dedos desta vez)<br>Se incapaz de mover o outro membro, pedir para levantar mais um dedo. | Se mais do que 1 erro ►   | <input type="checkbox"/> |
| <b>Delirium</b>  | N <input type="checkbox"/>  | S <input type="checkbox"/> (Presentes os critérios obrigatórios e pelo menos 1 critério opcional) |                          |

## Anexo 3 – Critérios DSM-5 para Delirium

| Critérios DSM-5 para Delirium  |                              |                              |
|--|------------------------------|------------------------------|
| <b>A. Perturbação da atenção</b> (i.e., redução da capacidade de dirigir, focar, manter e mudar a atenção) e da <b>consciência</b> (diminuição da orientação em relação ao ambiente)   |                              |                              |
| <b>B.</b> O distúrbio desenvolve-se num <b>curto período de tempo</b> (habitualmente horas a poucos dias), representa uma alteração do nível base de atenção e estado de consciência, e tende a flutuar em gravidade durante o dia   |                              |                              |
| <b>C.</b> Um <b>distúrbio cognitivo adicional</b> (ex.: déficit de memória, desorientação, linguagem, capacidade visuo-espacial ou <b>percepção</b> )  |                              |                              |
| <b>D.</b> As alterações dos critérios A e C não são melhor explicadas por outra perturbação neurocognitiva pré-existente ou em evolução e não ocorrem no contexto de um estado de redução grave do nível de alerta, como no coma   |                              |                              |
| <b>E.</b> Existe evidência a partir da história, exame físico ou exames laboratoriais que a perturbação é uma <b>consequência fisiológica direta</b> de outra condição médica, intoxicação ou abstinência de substância (droga de abuso ou medicamento), ou exposição a toxina, ou é devido a múltiplas etiologias |                              |                              |
| Cumprem-se os critérios para delirium?   | Sim <input type="checkbox"/> | Não <input type="checkbox"/> |
|  | ▼<br>DRS-98-R                |                              |



**Orientação auto-psíquica:**

Idade: \_\_\_\_ Data de nascimento: \_\_\_\_

## Anexo 5 - Informant Questionnaire on Cognitive Decline in the Elderly (IQCODE-SF)

| IQCODE-SF   |                |                   |                      |                 |              |
|---|----------------|-------------------|----------------------|-----------------|--------------|
| <p>Tente lembrar-se como o seu familiar estava há 10 anos atrás em comparação com o estado em que ele se encontra agora. Há 10 anos estávamos em 2008-2009. Vamos dar-lhe exemplos de situações nas quais o seu familiar tem que usar a memória ou inteligência e pretendíamos que nos dissesse em que medida ele melhorou, piorou ou ficou na mesma perante essas situações durante os últimos 10 anos. É importante que compare como ele é agora em relação ao que era há 10 anos. Por exemplo, se ele há 10 anos já se esquecia onde colocava as coisas e agora continua a esquecer-se, isso significa que “não se alterou muito”. Por favor, assinale as respostas mais apropriadas com um X.</p> |                |                   |                      |                 |              |
| <b>Em comparação com há 10 anos atrás, como é que o seu familiar é capaz de:</b>  |                |                   |                      |                 |              |
|   | Melhorou muito | Melhorou um pouco | Não se alterou muito | Piorou um pouco | Piorou muito |
|   | (1)            | (2)               | (3)                  | (4)             | (5)          |
| 1. Se lembrar de coisas acerca da família e amigos (ex: profissões, datas de aniversário, moradas)  |                |                   |                      |                 |              |
| 2. Se lembrar de coisas que aconteceram recentemente  |                |                   |                      |                 |              |
| 3. Se recordar das conversas alguns dias mais tarde   |                |                   |                      |                 |              |
| 4. Se lembrar da morada e do número de telefone   |                |                   |                      |                 |              |
| 5. Saber em que dia e em que mês está   |                |                   |                      |                 |              |
| 6. Se lembrar onde as coisas estão habitualmente guardadas  |                |                   |                      |                 |              |
| 7. Se lembrar onde encontrar coisas que foram colocadas em local diferente do habitual  |                |                   |                      |                 |              |
| 8. Saber utilizar os aparelhos habitualmente existentes na casa   |                |                   |                      |                 |              |
| 9. Aprender a utilizar um novo aparelho existente na casa   |                |                   |                      |                 |              |
| 10. Aprender coisas novas, em geral   |                |                   |                      |                 |              |
| 11. Acompanhar uma história num livro ou na televisão   |                |                   |                      |                 |              |
| 12. Tomar decisões sobre assuntos do dia a dia  |                |                   |                      |                 |              |
| 13. Lidar com dinheiro para compras   |                |                   |                      |                 |              |
| 14. Lidar com assuntos financeiros (ex: pensão, banco)  |                |                   |                      |                 |              |
| 15. Fazer cálculos no dia a dia (ex: saber a quantidade de comida a comprar, saber quanto tempo decorreu entre visitas de familiares)   |                |                   |                      |                 |              |
| 16. Usar a inteligência para compreender o que se passa à sua volta e para avaliar as situações   |                |                   |                      |                 |              |
|   |                |                   |                      |                 |              |

**CLASSIFICAÇÃO:** Soma de todos os resultados = \_\_\_\_\_ =  Cut-off para demência ≥ 3.6

Número de perguntas                      16

## Anexo 6 – Critérios DSM-5 para Demência

| <b>CRITÉRIOS DSM-V PARA DEMÊNCIA</b>  |
|---|
| A. Desenvolvimento de múltiplos défices cognitivos manifestados por:<br>1) Défice de <b>memória</b> (capacidade diminuída para aprender nova informação ou recordar informação previamente aprendida)<br>2) Um ou mais dos seguintes; <b>Afasia; Apraxia; Agnosia; Défice executivo</b> |
| B. Os défices causam um prejuízo significativo no funcionamento social ou ocupacional e representam um declínio significativo em relação ao nível de funcionamento prévio.  |