

Cristiane Damiani Tomasi<sup>1</sup>, Jorge Salluh<sup>2,3</sup>, Márcio Soares<sup>2,3</sup>, Francieli Vuolo<sup>1</sup>, Francieli Zanatta<sup>1</sup>, Larissa de Souza Constantino<sup>1</sup>, Alexandra Ioppi Zugno<sup>4</sup>, Cristiane Ritter<sup>1,5</sup>, Felipe Dal-Pizzol<sup>1,5</sup>

## Atividade basal de acetilcolinesterase e níveis plasmáticos de serotonina não se associam ao *delirium* em pacientes gravemente enfermos

*Baseline acetylcholinesterase activity and serotonin plasma levels are not associated with delirium in critically ill patients*

1. Laboratório de Fisiopatologia Experimental e Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia Translacional em Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Unidade Acadêmica de Ciências da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense - Criciúma (SC), Brasil.
2. Programa de Pós-Graduação em Oncologia, Instituto Nacional do Câncer - Rio de Janeiro (RJ), Brasil.
3. Instituto D'Or de Pesquisa e Ensino - Rio de Janeiro (RJ), Brasil.
4. Laboratório de Neurociências e Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia Translacional em Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Unidade Acadêmica de Ciências da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense - Criciúma (SC), Brasil.
5. Unidade de Terapia Intensiva, Hospital São José - Criciúma (SC), Brasil.

### RESUMO

**Objetivo:** Investigar se os níveis plasmáticos de serotonina e atividade de acetilcolinesterase determinados por ocasião da admissão à unidade de terapia intensiva preveem a ocorrência de disfunção cerebral aguda em pacientes internados em unidade de terapia intensiva.

**Métodos:** Foi conduzido no período entre maio de 2009 e setembro de 2010 um estudo prospectivo de coorte em uma amostra com 77 pacientes não consecutivos. A ocorrência de *delirium* foi determinada utilizando a ferramenta *Confusion Assessment Method for the Intensive Care Unit*, tendo sido determinadas as avaliações de acetilcolinesterase e serotonina em amostras de sangue coletadas até um máximo de 24 horas após admissão do paciente à unidade de terapia intensiva.

**Resultados:** No presente estudo, 38 pacientes (49,6%) desenvolveram *delirium* durante sua permanência na unidade de terapia intensiva. Nem os níveis de atividade de acetilcolinesterase

nem os de serotonina tiveram associação independente com *delirium*. Não se observaram correlações significantes entre atividade de acetilcolinesterase e níveis de serotonina com o número de dias livres de *delirium*/coma, porém, em pacientes que desenvolveram *delirium*, ocorreu uma forte correlação negativa entre níveis de acetilcolinesterase e número de dias livres de *delirium*/coma, demonstrando que níveis mais elevados de acetilcolinesterase se associaram com menos dias de vida sem *delirium* e coma. Nenhuma associação foi identificada entre os biomarcadores e mortalidade.

**Conclusão:** Nem a atividade de acetilcolinesterase nem os níveis séricos de serotonina se associaram com *delirium* ou disfunção cerebral aguda em pacientes gravemente enfermos. A ocorrência de sepse não modificou esse relacionamento.

**Descritores:** Acetilcolinesterase/efeito de drogas; Serotonina/efeito de drogas; Delírio; Sepse; Unidades de terapia intensiva

**Conflitos de interesse:** Nenhum.

Submetido em 1º de janeiro de 2015  
Aceito em 3 de maio de 2015

#### Autor correspondente:

Felipe Dal-Pizzol  
Avenida Universitária, 1.105  
CEP: 88806-000 - Criciúma (SC), Brasil  
E-mail: piz@unesc.net

**Editor responsável:** Rui Moreno

DOI: 10.5935/0103-507X.20150029

### INTRODUÇÃO

O *delirium* é uma complicação frequente de pacientes admitidos em unidades de terapia intensiva (UTI) e se associa independentemente com aumento da duração da ventilação mecânica (VM) e tempo de permanência na UTI, disfunção neurofisiológica em longo prazo e mortalidade.<sup>(1-3)</sup>

São propostos diversos mecanismos para explicar o desenvolvimento do *delirium* em pacientes de UTI. Sugere-se que a toxicidade farmacológica, a inflamação e a resposta aguda ao estresse<sup>(4-6)</sup> poderiam afetar diversos aspectos da função mental.<sup>(7)</sup> Outros potenciais mecanismos são a redução do fluxo sanguíneo cerebral e a extração de oxigênio pelo cérebro, ruptura da barreira

hematoencefálica, comprometimento da função astrocítica e degeneração neuronal.<sup>(8,9)</sup> A via comum final que leva ao *delirium* é, provavelmente, o comprometimento da neurotransmissão cerebral.

As vias colinérgica e serotoninérgica representam os principais neurotransmissores implicados no desenvolvimento do *delirium*.<sup>(5,10)</sup> A ativação de receptores colinérgicos modula a cognição, o despertar, o aprendizado e a memória, ou seja, as principais funções cerebrais afetadas pelo *delirium*. A síntese de acetilcolina é vulnerável a diferentes estressores, como o comprometimento do metabolismo energético e a inflamação.<sup>(11,12)</sup> A serotonina tem um papel no ciclo sono-vigília, sendo que, na encefalopatia hepática, ocorre um aumento da atividade da serotonina.<sup>(13,14)</sup> Além disso, acontece, nos pacientes com *delirium*, um desequilíbrio nos níveis de precursores da síntese de serotonina, o que sugere que a serotonina tem um papel na gênese do *delirium*.<sup>(15,16)</sup> Pandharipande et al.<sup>(16)</sup> demonstraram que tanto níveis muito baixos quanto muito altos de triptofano, um precursor da serotonina, são fatores independentes de risco para ocorrência de *delirium* em pacientes de UTI submetidos à VM. Foi proposto que a atividade de colinesterase tem um papel no desenvolvimento de *delirium* em pacientes em pós-operatório,<sup>(17,18)</sup> porém não há evidências definitivas que sugiram um papel para esses neurotransmissores no desenvolvimento do *delirium* em pacientes gravemente enfermos.

Assim, formulamos a hipótese de que os níveis plasmáticos de serotonina e atividade de acetilcolinesterase, determinados quando da admissão à UTI, poderiam prever a ocorrência de disfunção cerebral aguda em pacientes de UTI. Além disso, como o metabolismo de ambos os neurotransmissores pode ser alterado pela inflamação, formulamos também a hipótese de que poderiam ser diferentemente modulados em pacientes com *delirium* associado à sepse.

## MÉTODOS

### Delineamento do estudo, ambiente e seleção de pacientes

Foi realizado entre maio de 2009 e setembro de 2010 um estudo prospectivo de coorte em uma amostra de conveniência de 77 pacientes. Foram incluídos pacientes com idade acima dos 18 anos, admitidos por mais de 24 horas a uma UTI clínico-cirúrgica com 20 leitos em um hospital universitário. Cada um dos pacientes incluídos só podia ser inscrito uma vez no estudo. Os registros clínicos dos pacientes foram revisados cuidadosamente quanto a

diagnósticos prévios de doenças do sistema nervoso central, depressão, demência e esquizofrenia. Foram excluídos pacientes que não puderam ser avaliados quanto a *delirium* em qualquer momento durante a permanência na UTI, assim como aqueles admitidos em decorrência de traumatismo cerebral, *delirium* ou outras razões neurológicas graves que impedissem a avaliação de *delirium* (por exemplo: acidente vascular cerebral ou hemorragia subaracnóidea). Este estudo foi realizado em conformidade com a Declaração de Helsinki. O Comitê de Ética do Hospital São José aprovou o estudo (Ref. 49/2008), tendo sido dispensada a necessidade de obter um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

### Coleta dos dados e definições

As variáveis demográficas e características da doença foram coletadas para todos os pacientes admitidos. A condição mental foi avaliada diariamente, desde a inscrição até a alta da UTI, ou até 28 dias. A ocorrência de *delirium* foi avaliada utilizando a ferramenta *Confusion Assessment Method for the Intensive Care Unit* (CAM-ICU),<sup>(19,20)</sup> duas vezes ao dia, durante a permanência na UTI, às 8h e às 14h. A UTI utilizava rotineiramente um protocolo de suspensão diária da sedação, realizado diariamente às 7h. Dessa forma, em geral, a avaliação foi realizada com a ferramenta CAM-ICU após superficialização da sedação até o ponto de o paciente poder ser despertado. Os pacientes receberam diagnóstico de *delirium* quando tinham pelo menos um critério de triagem positivo na avaliação pela ferramenta CAM-ICU. O nível de sedação foi avaliado utilizando a escala *Richmond Agitation-Sedation Scale* (RASS).<sup>(21)</sup> A ocorrência de coma foi definida como um escore RASS -4 ou -5 (responsivo a estímulos físicos ou não responsivo). A disfunção cerebral aguda foi avaliada pela estimativa do número de dias livres de *delirium*/coma, que representa o número de dias em que os pacientes estavam vivos e sem apresentar *delirium* ou coma.<sup>(22)</sup> Quando da inscrição, os pacientes foram alocados para os grupos séptico ou não séptico, segundo critérios internacionais.<sup>(23)</sup> Pacientes que desenvolveram sepse durante a permanência na UTI, mas não tinham na admissão, foram contabilizados como não sépticos.

### Coleta e armazenagem das amostras de sangue

Foram coletadas amostras de sangue até no máximo 24 horas após a admissão à UTI. O sangue foi coletado em tubos secos, sendo o soro armazenado a -80°C até que fossem determinados os níveis séricos de serotonina e a atividade de acetilcolinesterase.

### Mensuração da acetilcolinesterase no soro

A atividade de acetilcolinesterase foi determinada por ensaio segundo o método de Ellman et al.<sup>(24)</sup> A mistura para a reação (volume final de 2mL) continha tampão de K<sup>+</sup>-fosfato (pH 7,5) e ácido 5,5-ditiobisnitrobenzóico 1mM. O método se baseia na formação do ânion amarelo 5,5-ditio-bis-ácido-nitrobenzóico, que é medido por absorvância a 412nm durante uma incubação de 2 minutos a 25°C. A enzima (40 - 50µg de proteína) foi pré-incubada por 2 minutos. A reação foi iniciada pela adição de iodato de acetiltiocolina (AcSCh) 0,8mM. Todas as amostras foram corridas em duplicata, sendo a atividade enzimática expressa em micromoles de AcSCh por hora por miligrama de proteína. Os níveis proteicos foram medidos pelo método de Lowry et al.<sup>(25)</sup> utilizando albumina sérica bovina como padrão.

### Mensuração da serotonina no soro

Os níveis séricos de serotonina foram medidos utilizando um pacote comercial de imunoenensaio enzimático (Immuno-Biological Laboratories, Inc. - IBL - Minneapolis, Estados Unidos). Os níveis de serotonina foram expressos como nanogramas por mililitro.

### Análise estatística

As variáveis contínuas foram descritas como mediana (variação interquartil), e os dados categóricos como frequências e proporções. Foi utilizado o teste U de Mann-Whitney para comparar as variáveis contínuas. Foi realizado o teste qui quadrado para comparação das variáveis categóricas. Para estudar as associações entre os níveis de acetilcolinesterase e serotonina com dias sem *delirium*/coma foi utilizada regressão linear. Foi realizada regressão logística binária para examinar as associações entre os biomarcadores e *delirium* (como variável dependente). O modelo foi ajustado para o uso de sedação, sepse, escore na ferramenta *Sequential Organ Failure Assessment* (SOFA), biomarcador, e interação entre sepse e o biomarcador. Assim, foi gerado um modelo para cada biomarcador. Para identificar os fatores associados com mortalidade, foi realizada uma análise univariada, e realizada uma regressão logística binária para examinar as associações entre os biomarcadores e mortalidade (como variável dependente). O modelo foi ajustado para modificações fisiológicas que poderiam confundir o relacionamento entre os biomarcadores e sobrevivência. Assim, incorporaram-se ao modelo a gravidade da doença, a idade, a necessidade de VM, o coma, a necessidade de fármacos vasoativos e a necessidade de sedação.

A necessidade de fármacos vasoativos já estava incorporada ao escore SOFA. Assim, para evitar contabilizar duplamente, este aspecto não foi avaliado separadamente como covariável no modelo. Ocorreu colinearidade entre o uso de sedação e VM. Assim, foi gerado um modelo utilizando o escore SOFA (e não o escore *Acute Physiology Chronic Health Evaluation* - APACHE, como variável associada à gravidade da doença), idade, necessidade de VM e biomarcadores. Gerou-se, assim, um modelo para cada biomarcador. Foi utilizado o teste de *Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit* para avaliar a concordância entre a mortalidade observada e a esperada. Definiu-se significância estatística como um valor de  $p < 0,05$ . Todas as análises foram realizadas utilizando a versão 17.0 do pacote estatístico *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS, IBM Corporation, Nova Iorque, Estados Unidos).

## RESULTADOS

O presente estudo incluiu um total de 77 pacientes, sendo que 39 (50,6%) eram não *delirium* e 38 (49,6%) pacientes com *delirium*. As variáveis demográficas e clínicas são apresentadas na tabela 1.

### Medidas de atividade de acetilcolinesterase e serotonina, e ocorrência de *delirium*

Os níveis de atividade de acetilcolinesterase e de serotonina foram comparáveis nos pacientes dos grupos *delirium* e não *delirium* (Tabela 1). Nos modelos de regressão binária, os níveis de atividade de acetilcolinesterase e serotonina não se associaram de forma independente com *delirium*. Além disso, não houve interação significativa entre os biomarcadores e sepse (Tabela 2).

### Correlação da atividade de acetilcolinesterase e serotonina com disfunção cerebral aguda e mortalidade

Não ocorreram correlações significantes entre atividade de acetilcolinesterase ou níveis de serotonina com dias sem *delirium*/coma ( $r = 0,003$ ;  $p = 0,959$  e  $r = 0,014$ ;  $p = 0,317$ , respectivamente). Em pacientes que desenvolveram *delirium*, houve forte correlação negativa entre os níveis da enzima acetilcolinesterase (AChE) e dias sem *delirium*/coma ( $r = 0,838$ ;  $p \leq 0,001$ ); pacientes com níveis mais altos de AChE tiveram menos dias vivos sem *delirium* e coma.

Na análise univariada, o uso de sedação e VM, a idade, o escore SOFA na admissão, o número de dias em coma e dias sem *delirium*/coma se associaram com mortalidade (Tabela 3). Assim, foi realizada uma análise multivariada utilizando idade, SOFA, necessidade de VM e biomarcadores. Apenas VM foi um fator de risco para óbito nesta

**Tabela 1** - Características demográficas e basais

Variáveis	Não <i>delirium</i> N = 39 (50,6%)	<i>Delirium</i> N = 38 (49,4%)	Todos pacientes N = 77 (100%)	Valor de p
Idade (anos)	55 (29)	57 (28)	56 (25)	0,362
Sexo masculino	30 (76,9)	23 (60,5)	53 (68,8)	0,123
APACHE II	18,5 (11,5)	19,5 (14)	18 (11)	0,996
Escore SOFA na admissão	7 (5,5)	8 (6)	7 (5,75)	0,749
Pacientes de cirurgia de emergência	8 (20,5)	3 (7,9)	11 (14,3)	
Pacientes de cirurgia eletiva	5 (12,8)	9 (23,7)	14 (18,2)	0,182
Pacientes clínicos	26 (66,7)	26 (68,4)	52 (67,5)	
Ventilação mecânica (sim)	23 (67,6)	24 (63,2)	47 (65,3)	0,805
Uso de sedação	21 (55,3)	28 (73,7)	49 (64,5)	0,09
Condição mental quando da inscrição				
Comatoso	16 (41)	15 (39,5)	31 (40,3)	
<i>Delirium</i>	0	1 (2,6)	1 (1,3)	0,990
Normal	23 (59)	22 (57,9)	45 (58,4)	
Motivo para admissão				
Cardiovascular	5 (13,2)	5 (13,2)	10 (13,2)	
Pós-operatório	8 (21,1)	5 (13,2)	13 (17,1)	
Neurológico	9 (23,7)	7 (18,4)	16 (21,1)	
Trauma	7 (18,4)	4 (10,5)	11 (14,5)	
Angústia respiratória (exceto sepse)	5 (13,2)	8 (21,1)	13 (17,1)	0,625
Sepse	2 (5,3)	1 (2,6)	3 (3,9)	
Choque (exceto sepse)	1 (2,6)	2 (5,3)	3 (3,9)	
Digestivo	1 (2,6)	3 (7,9)	4 (5,3)	
Renal/metabólico	0	1 (2,6)	1 (1,3)	
Outro	0	2 (5,3)	2 (2,6)	
Atividade de AChE ( $\mu\text{mol AcSCh/h mg de proteína}$ )	1,7 (1,2)	1,5 (1,6)	1,7 (1,3)	0,181
Serotonina (ng/mL)	3,1 (0,8)	2,9 (1,1)	3,0 (0,9)	0,845
Tempo de permanência no hospital (dias)	19 (13,5)	18 (19)	18,5 (16)	0,466
<i>Delirium</i> (dias)	0	1 (1)	-	-
Coma (dias)	3 (12)	3 (6)	3 (6,75)	0,719
Dias livres de <i>delirium</i> /coma	25 (22)	22 (14)	23 (15,75)	0,543
Mortalidade dentro de 28 dias da inscrição	8 (20,5)	12 (31,6)	20 (26)	0,307

APACHE II - *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II*; SOFA - *Sequential Organ Failure Assessment*; AChE - enzima acetilcolinesterase. Dados apresentados utilizando mediana (IQR) ou número (percentagem). \* Diferenças estatisticamente significantes (valor de p para diferença estatisticamente significante  $\leq 0,05$ ).

amostra (*odds ratio* - OR: 7,2; intervalo de confiança de 95% - IC95%: 1,03 - 50,9; p = 0,047).

## DISCUSSÃO

No presente estudo, os níveis plasmáticos de serotonina e atividade de acetilcolinesterase, quando da admissão à UTI, não se associaram com a ocorrência de disfunção cerebral aguda e mortalidade. Esses achados são opostos à hipótese de que um desequilíbrio nos neurotransmissores é fator-chave da patogênese na disfunção cerebral aguda.

O sistema colinérgico cerebral modula a atenção, o aprendizado, a memória, o controle dos movimentos e outras funções periféricas,<sup>(26)</sup> desempenhando extenso papel na atenção e consciência. A acetilcolina focaliza a vigília, agindo como um modulador da razão sinal/ruído nos estímulos sensoriais e cognitivos; irregularidades nessas funções cerebrais poderiam causar sintomas de *delirium*, tanto hipotativo quanto hiperativo, inclusive desatenção, pensamento desorganizado e distúrbios da percepção.<sup>(11)</sup> Alguns estudos demonstram que níveis mais elevados de atividade de AChE se associam com *delirium* no período

**Tabela 2** - Análise de regressão binária das características associadas com a ocorrência de *delirium*, segundo cada biomarcador

	OR (IC95%)	Valor de p
AChE	0,86 (0,48 - 1,5)	0,62
Sepse	1,7 (0,26 - 12)	0,55
SOFA	0,98 (0,82 - 1,16)	0,83
Sedação	1,4 (0,35 - 5,5)	0,62
AChE* sepse	0,84 (0,39 - 1,8)	0,66
Serotonina	2,9 (0,59 - 14)	0,18
Sepse	57 (0,15 - 21)	0,18
SOFA	1,06 (0,88 - 1,2)	0,48
Sedação	1,03 (0,25 - 4,2)	0,96
Serotonina* sepse	0,29 (0,046 - 1,8)	0,19

OR - odds ratio; IC95% - intervalo de confiança de 95%; AChE - enzima acetilcolinesterase; SOFA - Sequential Organ Failure Assessment. Teste de Hosmer and Lemeshow Goodness-of-fit: AChE  $\chi^2 = 7,05$ , p = 0,53; serotonina  $\chi^2 = 11$ , p = 0,15. \* denota interação entre biomarcador e sepse

pós-operatório em pacientes idosos.<sup>(12,27,28)</sup> Em contraste, também já foi descrita a atividade mais baixa de AChE em pacientes que desenvolveram *delirium* pós-operatório.<sup>(17,18)</sup> Logo, não existe um consenso se a acetilcolina está envolvida no desenvolvimento do *delirium*, ou se os biomarcadores séricos são indicativos de disfunção cerebral e da gravidade da doença.<sup>(5,17)</sup> Apesar do fato de que os níveis de AChE na admissão não puderam prever disfunção cerebral aguda em pacientes gravemente enfermos em geral, demonstramos que, para pacientes que desenvolveram *delirium*, a duração da disfunção cerebral aguda se correlacionou com a atividade de AChE. Assim, a acetilcolina pode ter um papel na manutenção da disfunção cerebral por interferir em mecanismos básicos da atenção e memória. Além disso, a sinalização colinérgica protege os neurônios do estriado, hipocampo e corticais contra a neurotoxicidade induzida pelos aminoácidos excitotóxicos, assim como contra outros insultos. Apesar desses mecanismos teóricos, os estudos clínicos não conseguiram demonstrar um efeito benéfico do uso de agonistas colinérgicos para tratamento do *delirium*.<sup>(29,30)</sup>

A via colinérgica age como um preditor da variação individual à resposta inflamatória sistêmica à infecção, modulando assim o sistema colinérgico inflamatório sistêmico e podendo indiretamente afetar a função cerebral.<sup>(31)</sup> Níveis mais baixos de atividade plasmática de AChE foram associados com níveis mais elevados de marcadores pró-inflamatórios durante a doença aguda,<sup>(32,33)</sup> e o metabolismo da acetilcolina pode ser alterado pela inflamação.<sup>(10,32,33)</sup> Além disso, similarmente à via colinérgica anti-inflamatória periférica, descreve-se que a acetilcolina e a nicotina<sup>(34)</sup> modulam a liberação do fator de necrose

tumoral induzido por lipopolissacarídeos a partir da micróglia, por meio de ativação do receptor de acetilcolina. Dessa forma, é possível que a diminuição dos neurônios colinérgicos, durante a inflamação sistêmica, diminua a disponibilidade de sinalização “anti-inflamatória” no cérebro. Embora seja plausível supor que a sepse poderia interferir no relacionamento entre acetilcolina e *delirium*, não pudemos demonstrar uma interação entre sepse, atividade de AChE e ocorrência de *delirium*.

Considera-se que a serotonina tem um papel no desenvolvimento do *delirium* em razão de seu relacionamento com o pensamento, percepção, nível de vigília, aprendizado e memória.<sup>(13-15)</sup> Contudo, o papel da serotonina no *delirium* que ocorre na UTI continua obscuro. Além da evidência de regulação da síntese de serotonina, há também sugestões de níveis mais elevados de serotonina durante o *delirium*.<sup>(14-16)</sup> A síndrome serotoninérgica apresenta sintomas similares ao *delirium*,<sup>(14-16)</sup> e os níveis de serotonina podem ser modificados por fármacos utilizados na UTI.<sup>(14,35,36)</sup> Além disso, em modelos experimentais, um aumento nos níveis de serotonina é relacionado à deficiência colinérgica.<sup>(37)</sup> Em pacientes mecanicamente ventilados, tanto níveis extremamente baixos quanto elevados de triptofano se associam com aumento do risco de *delirium*. Não obstante, não é claro se os sintomas de *delirium* se associam com a produção de metabólitos neurotóxicos do triptofano, flutuações dos níveis de serotonina ou melatonina, ou ambos.<sup>(16)</sup> Em oposição a esses achados, nossos resultados não dão suporte ao papel da serotonina na predição da evolução do *delirium*.

Nosso estudo teve algumas limitações. Primeiramente, ele pode ter falta de poder estatístico para detectar algumas associações clinicamente importantes. Como o tamanho de nossa amostra foi relativamente pequeno, apenas se pôde incorporar um pequeno número de covariáveis aos modelos de regressão; já com um tamanho de amostra de 38 pacientes para cada grupo é possível detectar uma diferença de 35% entre os grupos. Assim, apesar do fato de que os resultados negativos aqui demonstrados poderiam ser secundários a erros beta, cremos que uma diferença < 35% não tem significância biológica no desenvolvimento da doença. Em segundo lugar, só avaliamos os níveis basais da atividade basal de acetilcolinesterase e níveis séricos de serotonina, quando da admissão à UTI; os padrões temporais poderiam ter proporcionado informações adicionais. Igualmente, o uso do desfecho duração do *delirium* e dias livres de *delirium* pode ter causado um viés nos casos com períodos prolongados de coma, já que a avaliação de *delirium* não pode ser realizada em pacientes comatosos.<sup>(38)</sup> Finalmente, avaliamos os níveis de atividade

**Tabela 3** - Variáveis associadas com mortalidade

	Análise univariada			Análise multivariada	
	Sobreviventes N = 57 (74%)	Não sobreviventes N = 20 (26%)	Valor de p	OR (IC95%)	Valor de p
Idade (anos)	52 (30)	64 (29)	0,034*	0,96 (0,92 - 1,0)	0,058
Sexo masculino	41 (71,9)	12 (60)	0,402	-	-
APACHE II	17,5 (13,5)	22,5 (16,75)	0,307	-	-
Escore SOFA na admissão	7 (5,25)	9 (5,5)	0,042*	0,98 (0,01 - 1,19)	0,800
Pacientes de cirurgia de emergência	9 (15,8)	2 (10)			
Pacientes de cirurgia eletiva	9 (15,8)	5 (25)		-	-
Pacientes clínicos	39 (68,4)	13 (65)	0,587		
Ventilação mecânica (sim)	30 (56,6)	17 (89,5)	0,011*	7,2 (1,03 - 50,9)	0,047*
Uso de sedação	32 (57,1)	18 (94,7)	0,002*	-	-
Condição mental quando da inscrição					
Comatoso	25 (43,9)	6 (30)			
<i>Delirium</i>	2 (3,5)	0	0,335	-	-
Normal	30 (52,6)	14 (70)			
Motivos para admissão					
Cardiovascular	8 (14,3)	2 (10)			
Pós-operatório	9 (16,1)	4 (20)			
Neurológico	11 (19,6)	5 (25)			
Trauma	10 (17,9)	1 (5)			
Angústia respiratória (exceto sepse)	10 (17,9)	3 (15)	0,198	-	-
Sepse	1 (1,8)	2 (10)			
Choque (exceto sepse)	2 (3,6)	1 (5)			
Digestivo	4 (7,1)	0			
Renal/metabólico	1 (1,8)	0			
Outro	0	2 (10)			
Tempo de permanência no hospital (dias)	18,5 (19,5)	18 (13,5)	0,981	-	-
<i>Delirium</i> (dias)	1 (1)	1 (1)	0,535	-	-
Coma (dias)	2 (6)	5 (7,5)	0,003*	-	-
Sepse (sim)	21 (51,2)	14 (73,7)	0,159	-	-
Dias livres de <i>delirium</i> /coma	25 (6,25)	4 (17,25)	≤ 0,001*		
AChE (μmol AcSCh/h mg de proteína)	1,77 (1,24)	1,25 (1,56)	0,155	1,14 (0,66 - 1,96)	0,648
Serotonina (ng/mL)	3,06 (0,86)	2,98 (1,08)	0,959	1,54 (0,77 - 3,07)	0,225

OR - odds ratio; IC95% - intervalo de confiança de 95%; APACHE - *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*; SOFA - *Sequential Organ Failure Assessment*; AChE - enzima acetilcolinesterase. Análise univariada: dados apresentados usando mediana (IQR) ou número (percentagem). Análise multivariada: teste de *Hosmer and Lemeshow Goodness-of-Fit* -  $\chi^2 = 4,11$ ;  $p = 0,767$ . \* Diferenças estatisticamente significantes (valor de p para diferença significante ≤ 0,05).

de acetilcolinesterase e serotonina apenas no soro, e não no líquido cefalorraquidiano ou tecido cerebral, impedindo que se obtivesse uma confirmação definitiva de um efeito específico para o cérebro. Entretanto, demonstrou-se que os níveis sanguíneos de serotonina são marcadores confiáveis dos níveis cerebrais de serotonina.<sup>(39)</sup> Além disto, em um modelo animal, a atividade sérica de acetilcolinesterase foi envolvida na recuperação cognitiva após isquemia, e utilizada para avaliar a recuperação cognitiva em demência

vascular, sugerindo que a atividade sérica de acetilcolinesterase reflete os níveis cerebrais de acetilcolina.<sup>(40)</sup>

## CONCLUSÕES

A atividade de acetilcolinesterase no soro e os níveis séricos de serotonina não se associaram com a ocorrência de *delirium* ou disfunção cerebral aguda em pacientes gravemente enfermos, e sepse não modificou o relacionamento entre esses biomarcadores e a ocorrência de *delirium*.

## AGRADECIMENTOS

Este trabalho recebeu apoio de: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande

do Sul (FAPERGS) PqG 2010 (1008860), projeto NENASC (programa PRONEX do CNPq/FAPESC), Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia Translacional em Medicina (INCT-TM) e Universidade do Extremo Sul Catarinense.

## ABSTRACT

**Objective:** The aim of this study was to investigate whether plasma serotonin levels or acetylcholinesterase activities determined upon intensive care unit admission could predict the occurrence of acute brain dysfunction in intensive care unit patients.

**Methods:** A prospective cohort study was conducted with a sample of 77 non-consecutive patients observed between May 2009 and September 2010. Delirium was determined using the Confusion Assessment Method for the Intensive Care Unit tool, and the acetylcholinesterase and serotonin measurements were determined from blood samples collected up to a maximum of 24 h after the admission of the patient to the intensive care unit.

**Results:** In the present study, 38 (49.6%) patients developed delirium during their intensive care unit stays. Neither serum acetylcholinesterase activity nor serotonin level

was independently associated with delirium. No significant correlations of acetylcholinesterase activity or serotonin level with delirium/coma-free days were observed, but in the patients who developed delirium, there was a strong negative correlation between the acetylcholinesterase level and the number of delirium/coma-free days, indicating that higher acetylcholinesterase levels are associated with fewer days alive without delirium or coma. No associations were found between the biomarkers and mortality.

**Conclusions:** Neither serum acetylcholinesterase activity nor serotonin level was associated with delirium or acute brain dysfunction in critically ill patients. Sepsis did not modify these relationships.

**Keywords:** Acetylcholinesterase/drug effects; Serotonin/drug effects; Delirium; Sepsis; Intensive care units

## REFERÊNCIAS

- Ely EW, Gautam S, Margolin R, Francis J, May L, Speroff T, et al. The impact of delirium in the intensive care unit on hospital length of stay. *Intensive Care Med.* 2001;27(12):1892-900.
- Ely EW, Shintani A, Truman B, Speroff T, Gordon SM, Harrell FE Jr, et al. Delirium as a predictor of mortality in mechanically ventilated patients in the intensive care unit. *JAMA.* 2004;291(14):1753-62.
- Ouimet S, Kavanagh BP, Gottfried SB, Skrobik Y. Incidence, risk factors and consequences of ICU delirium. *Intensive Care Med.* 2007;33(1):66-73.
- Fong TG, Tulebaev SR, Inouye SK. Delirium in elderly adults: diagnosis, prevention and treatment. *Nat Rev Neurol.* 2009;5(4):210-20.
- Gunther ML, Morandi A, Ely EW. Pathophysiology of delirium in the intensive care unit. *Crit Care Clin.* 2008;24(1):45-65, viii.
- MacLulich AM, Ferguson KJ, Miller T, de Rooij SE, Cunningham C. Unravelling the pathophysiology of delirium: a focus on the role of aberrant stress responses. *J Psychosom Res.* 2008;65(3):229-38.
- Dantzer R. Cytokine-induced sickness behaviour: a neuroimmune response to activation of innate immunity. *Eur J Pharmacol.* 2004;500(1-3):399-411.
- Sprung CL, Peduzzi PN, Shatney CH, Schein RM, Wilson MF, Sheagren JN, et al. Impact of encephalopathy on mortality in the sepsis syndrome. The Veterans Administration Systemic Sepsis Cooperative Study Group. *Crit Care Med.* 1990;18(8):801-6.
- Papadopoulos MC, Davies DC, Moss RF, Tighe D, Bennett ED. Pathophysiology of septic encephalopathy: a review. *Crit Care Med.* 2000;28(8):3019-24.
- Cerejeira J, Firmino H, Vaz-Serra A, Mukaetova-Ladinska EB. The neuroinflammatory hypothesis of delirium. *Acta Neuropathol.* 2010;119(6):737-54.
- Hshieh TT, Fong TG, Marcantonio ER, Inouye SK. Cholinergic deficiency hypothesis in delirium: a synthesis of current evidence. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2008;63(7):764-72.
- Han L, McCusker J, Cole M, Abrahamowicz M, Primeau F, Elie M. Use of medications with anticholinergic effect predicts clinical severity of delirium symptoms in older medical inpatients. *Arch Intern Med.* 2001;161(8):1099-105.
- Koponen HJ, Lepola U, Leinonen E. A long-term follow-up study of cerebrospinal fluid 5-hydroxyindoleacetic acid in delirium. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 1994;244(3):131-4.
- White S. The neuropathogenesis of delirium. *Rev Clin Gerontol.* 2002;12(1):62-7.
- van der Mast RC, Fekkes D, Moleman P, Peplinkhuizen L. Is postoperative delirium related to reduced plasma tryptophan? *Lancet.* 1991;338(8771):851-2.
- Pandharipande PP, Morandi A, Adams JR, Girard TD, Thompson JL, Shintani AK, et al. Plasma tryptophan and tyrosine levels are independent risk factors for delirium in critically ill patients. *Intensive Care Med.* 2009;35(11):1886-92.
- Cerejeira J, Batista P, Nogueira V, Firmino H, Vaz-Serra A, Mukaetova-Ladinska EB. Low preoperative plasma cholinesterase activity as a risk marker of postoperative delirium in elderly patients. *Age Ageing.* 2011;40(5):621-6.
- Cerejeira J, Nogueira V, Luis P, Vaz-Serra A, Mukaetova-Ladinska EB. The cholinergic system and inflammation: common pathways in delirium pathophysiology. *J Am Geriatr Soc.* 2012;60(4):669-75.
- Ely EW, Margolin R, Francis J, May L, Truman B, Dittus R, et al. Evaluation of delirium in critically ill patients: validation of the Confusion Assessment Method for the Intensive Care Unit (CAM-ICU). *Crit Care Med.* 2001;29(7):1370-9.

20. Gusmao-Flores D, Salluh JI, Dal-Pizzol F, Ritter C, Tomasi CD, Lima MA, et al. The validity and reliability of the Portuguese versions of three tools used to diagnose delirium in critically ill patients. *Clinics (Sao Paulo)*. 2011;66(11):1917-22.
21. Sessler CN, Gosnell M, Grap MJ, Brophy GM, O'Neal PV, Keane KA, et al. The Richmond Agitation-Sedation Scale: validity and reliability in adult intensive care patients. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;166(10):1338-44.
22. Pandharipande PP, Sanders RD, Girard TD, McGrane S, Thompson JL, Shintani AK, Herr DL, Maze M, Ely EW; MENDS investigators. Effect of dexmedetomidine versus lorazepam on outcome in patients with sepsis: an a priori-designed analysis of the MENDS randomized controlled trial. *Crit Care*. 2010;14(2):R38. Erratum in: *Crit Care*. 2011;15(1):402.
23. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G; International Sepsis Definitions Conference. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Intensive Care Med*. 2003;29(4):530-8.
24. Ellman GL, Courtney KD, Andres V Jr, Feather-Stone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol*. 1961;7:88-95.
25. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951;193(1):265-75.
26. Pavlov VA, Parrish WR, Rosas-Ballina M, Ochani M, Puerta M, Ochani K, et al. Brain acetylcholinesterase activity controls systemic cytokine levels through the cholinergic anti-inflammatory pathway. *Brain Behav Immun*. 2009;23(1):41-5.
27. Flacker JM, Lipsitz LA. Serum anticholinergic activity changes with acute illness in elderly medical patients. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 1999;54(1):M12-6.
28. Mussi C, Ferrari R, Ascari S, Salvioli G. Importance of serum anticholinergic activity in the assessment of elderly patients with delirium. *J Geriatr Psychiatry Neurol*. 1999;12(2):82-6.
29. Van Eijk MM, Roes KC, Honing ML, Kuiper MA, Karakus A, van der Jagt M, et al. Effect of rivastigmine as an adjunct to usual care with haloperidol on duration of delirium and mortality in critically ill patients: a multicentre, double-blind, placebo-controlled randomised trial. *Lancet*. 2010;376(9755):1829-37.
30. Marcantonio ER, Palihnich K, Appleton P, Davis RB. Pilot randomized trial of donepezil hydrochloride for delirium after hip fracture. *J Am Geriatr Soc*. 2011;59 Suppl 2:S282-8.
31. Ofek K, Krabbe KS, Evron T, Debecco M, Nielsen AR, Brunnsaad H, et al. Cholinergic status modulations in human volunteers under acute inflammation. *J Mol Med (Berl)*. 2007;85(11):1239-51.
32. Abou-Hatab K, Nixon LS, O'Mahony MS, Newsway V, Patel S, Shale DJ, et al. Plasma esterases in cystic fibrosis: the impact of a respiratory exacerbation and its treatment. *Eur J Clin Pharmacol*. 1999;54(12):937-41.
33. Hubbard RE, O'Mahony MS, Calver BL, Woodhouse KW. Plasma esterases and inflammation in ageing and frailty. *Eur J Clin Pharmacol*. 2008;64(9):895-900.
34. Thomsen MS, Mikkelsen JD. The  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor ligands methyllycaconitine, NS6740 and GTS-21 reduce lipopolysaccharide-induced TNF- $\alpha$  release from microglia. *J Neuroimmunol*. 2012;251(1-2):65-72.
35. Del Angel-Meza AR, Dávalos-Marín AJ, Ontiveros-Martínez LL, Ortiz GG, Beas-Zarate C, Chaparro-Huerta V, et al. Protective effects of tryptophan on neuro-inflammation in rats after administering lipopolysaccharide. *Biomed Pharmacother*. 2011;65(3):215-9.
36. Sanders RD, Hussell T, Maze M. Sedation & immunomodulation. *Crit Care Clin*. 2009;25(3):551-70, ix.
37. Hirano H, Day J, Fibiger HC. Serotonergic regulation of acetylcholine release in rat frontal cortex. *J Neurochem*. 1995;65(3):1139-45.
38. Adams Wilson JR, Morandi A, Girard TD, Thompson JL, Boomershine CS, Shintani AK, et al. The association of the kynurenine pathway of tryptophan metabolism with acute brain dysfunction during critical illness. *Crit Care Med*. 2012;40(3):835-41.
39. Collins CM, Kloek J, Elliott JM. Parallel changes in serotonin levels in brain and blood following acute administration of MDMA. *J Psychopharmacol*. 2013;27(1):109-12.
40. Xiao Y, Guan ZZ, Wu CX, Li Y, Kuang SX, Pei JJ. Correlations between cholinesterase activity and cognitive scores in post-ischemic rats and patients with vascular dementia. *Cell Mol Neurobiol*. 2012;32(3):399-407.