

**Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Medicina**

Amanda Gomes Pereira

Influência da suplementação de tiamina na mortalidade de pacientes com choque séptico

Tese apresentada à Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para
obtenção do título de Doutora em Fisiopatologia
em Clínica Médica.

Orientadora: Profa. Dra. Bertha Furlan Polegato

**Botucatu
2022**

Amanda Gomes Pereira

INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO DE TIAMINA NA MORTALIDADE DE PACIENTES COM CHOQUE SÉPTICO

Tese apresentada à Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de
Doutora em Fisiopatologia em Clínica Médica.

Orientadora: Profa. Dra. Bertha Furlan Polegato

**Botucatu
2022**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Pereira, Amanda Gomes.

Influência da suplementação de tiamina na mortalidade de pacientes com choque séptico / Amanda Gomes Pereira. - Botucatu, 2022

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Bertha Furlan Polegato

Coorientador: Sérgio Alberto Rupp de Paiva

Coorientador: Marcos Ferreira Minicucci

Capes: 40101002

1. Tiamina. 2. Choque séptico. 3. Mortalidade. 4. Pacientes.

Palavras-chave: Choque séptico; Mortalidade; Tiamina.

Epígrafe

“Talvez essa seja a lição mais importante da ciência: que a Natureza nem sempre corresponde aos nossos anseios, e que precisamos encará-la com a humildade de quem sabe muito pouco”.

(Marcelo Gleiser)

Dedicatória

A todos os PACIENTES e seus FAMILIARES, que mesmo diante de um momento extremamente delicado e difícil, possibilitaram a condução desse estudo.

Agradecimentos Especiais

À minha orientadora, Professora Adjunta BERTHA FURLAN POLEGATO, por confiar a mim a execução desse trabalho tão importante. Seus ensinamentos, dedicação e competência tornaram-me a pesquisadora e pessoa que sou hoje. Agradeço, principalmente, por me mostrar que sou capaz. Com certeza, você sempre será a minha maior referência!

Ao meu coorientador, Professor Titular SÉRGIO PAIVA, a quem tenho profunda admiração, carinho e respeito. Agradeço pelos preciosos ensinamentos, especialmente sobre estatística. É nosso maior exemplo de como fazer ciência com ética e qualidade!

Ao meu coorientador, Professor Adjunto MARCOS FERREIRA MINICUCCI, por sempre me incentivar a ir mais longe e ter me envolvido em diversos projetos durante esses anos, que foram essenciais para o meu crescimento enquanto pesquisadora. Agradeço pelos conselhos, ensinamentos, parcerias e amizade!

A estes três professores, minha eterna gratidão.

Agradecimentos

Ao Professores Titulares LEONARDO ZORNOFF e MARINA OKOSHI, pela contribuição fundamental no Exame Geral de Qualificação e agora, pela participação na Banca de Defesa de Tese. Tenho muita admiração e respeito por vocês!

À professora NARA ALINE COSTA, que sempre foi uma inspiração profissional e pessoal para mim. Tive o privilégio de compartilhar com ela momentos de felicidade, medos, mudanças e muitas emoções! Hoje, tenho mais que uma amiga, tenho uma irmã!

A todos os professores do nosso grupo de pesquisa: SÉRGIO PAIVA, LEONARDO ZORNOFF, MARCOS MINICUCCI, PAULA GAIOLLA e BERTHA POLEGATO. Vocês são o nosso maior exemplo!

Aos meus colegas do laboratório RECAN: MARINA, ANA PAULA, MARIANA, SEIJI, MATHEUS, NAYANE, PAOLA, DANILO, NATALIA, CAROL, KAREN, GABRIELA e RONNY. Obrigada pela parceria, risadas e tantos momentos bons que tivemos. Por mais dias de bolo e café com vocês!

Às minhas amigas MARIANA BORDINHON e STÉFANIE AMANCIO, que me acompanham desde a Residência e se tornaram minha família em Botucatu. Eu amo muito vocês duas!!

Ao meu namorado, VICTOR COLETA, que sempre foi o maior incentivador e entusiasta do meu sucesso! Obrigada pelo companheirismo e compreensão durante esses anos. Eu amo você!

Aos meus pais DIONÍSIO e MARCIA, e ao meu irmão Fernando, por serem a base de quem eu sou hoje. Agradeço por ter uma família maravilhosa como a nossa!

À Professora LAURENCE GENTON GRAF e sua equipe de pesquisa do Hospital Universitário de Genebra, que foram tão gentis comigo durante o tempo em que estive com eles. Foram momentos de muito aprendizado profissional e pessoal que jamais esquecerei!

Aos FUNCIONÁRIOS DA UNIPEX e especialmente ao JOSÉ CARLOS GEORGETE, por ser extremamente prestativo em nos ajudar com qualquer problema!

Aos funcionários da Secretaria do Departamento de Clínica Médica BRUNO, ELISÂNGELA, LAURA, MÁRIO, RENATO e YASMIN, pela competência e carinho em nos atender.

Ao Escritório de Apoio à Pesquisa e especialmente à FERNANDA CHIUSO MINICUCCI, pela ajuda essencial na elaboração dos relatórios científicos e prestação de contas da FAPESP.

À UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”, à FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU e ao PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOPATOLOGIA EM CLÍNICA MÉDICA, pela oportunidade de realizar o curso de Doutorado.

À FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO - FAPESP, pelo apoio financeiro para realização desse trabalho por meio da concessão de bolsa de estudo (Processo FAPESP nº 2017/21554-5).

Minha gratidão a TODOS!

Sumário

Resumo	1
Abstract	3
Introdução	5
Objetivos	12
Casuística e Métodos	14
Resultados	18
Discussão	29
Conclusão	36
Referências	38
Produção Científica	45

Lista de Abreviações

APACHE II - Acute Physiology and Chronic Health Evaluation

ATP - Adenosina Trifosfato

CAT - Catalase

CLR - C-Type Lectin Receptors

DAMPs - Damage-Associated Molecular Patterns

DVA - Droga Vasoativa

ELISA - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

ERN - Espécie Reativa de Nitrogênio

EROs - Espécies Reativas de Oxigênio

ESICM - European Society of Critical Care Medicine

FiO₂ - Fração Inspirada de Oxigênio

GSH-Px - Glutathione Peroxidase

HPLC - Cromatografia Líquida De Alto Desempenho

HCO₃ - Bicarbonato de Sódio

ICAM-1 - Molécula de Adesão Intercelular 1

IL – Interleucina

ILAS - Instituto Latino-Americano de Sepsis

IC95% - Intervalo de Confiança 95%

iNOS - Óxido Nítrico-Sintase Induzível

LRA - Lesão Renal Aguda

JAKs - Janus Quinases

MAPKs - Mitogen Activated Protein Kinases

NADPH - Fosfato de Dinucleótido de Nicotinamida e Adenina

NF-κB - Fator Nuclear Kappa B

NLR - Nucleotide Binding Oligomerization Domain-Like Receptors

NO - Óxido Nítrico

PAMPs - Pathogen-Associated Molecular Patterns

PaO₂ - Pressão Parcial do Oxigênio

PCR - Proteína C-reativa

PCO₂ - Pressão Parcial do Gás Carbônico

ReBEC - Brazilian Registry of Clinical Trials

RLR - Retinoic Acid Inducible Gene 1-Like Receptors

RRP - Receptores De Reconhecimento Padrão

SCCM - Society of Critical Care Medicine

SIRS - Resposta Inflamatória Sistêmica
SOD - Superóxido Dismutase
SOFA - Sequential Organ Failure Assesmente
SPREAD - Sepsis Prevalence Assessment Database
STATs - Transdutores De Sinal E Ativadores De Transcrição
T0 - Tempo inicial
T1 - Tempo 1
TLR - Toll-Like Receptors
TNF - Fator de Necrose Tumoral
TPP - Tiamina pirofosfato
UTI - Unidade de Terapia Intensiva
VCAM-1 - Molécula de Adesão Celular Vascular 1
VM - Ventilação Mecânica

Introdução: O choque séptico é caracterizado por hipotensão e hipoperfusão tecidual, associadas a aumento do lactato, refratárias à expansão volêmica adequada, sendo necessário o uso de vasopressores para manter a estabilidade hemodinâmica. Por se tratar de condição com elevada mortalidade, terapias coadjuvantes têm sido propostas como forma de melhorar o prognóstico dos pacientes. Nesse sentido, estudos têm explorado o papel da tiamina como ressuscitador metabólico em pacientes com choque séptico. **Objetivo:** Avaliar a influência da suplementação de tiamina na mortalidade em pacientes com choque séptico. **Métodos:** Estudo prospectivo, controlado, duplo-cego e randomizado, que incluiu 115 pacientes consecutivos, maiores de 18 anos, com diagnóstico de choque séptico na admissão na Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Os pacientes foram alocados em dois grupos: suplementação de tiamina (200 mg de 12 em 12 horas, intravenosa, por 5 dias) e placebo (SF 0,9% em volume, frequência e período iguais a tiamina). Foram coletados dados clínicos, laboratoriais e amostras de sangue antes do início da suplementação e 48 horas após. **Resultados:** Dos pacientes, 57 pertenceram ao grupo tiamina e 58 ao grupo placebo. A média de idade foi de 63,3 $\pm$ 15,7 anos e 55,6% eram do sexo masculino. A mediana dos valores séricos de tiamina antes do tratamento foi de 35,4 ng/mL (24,7 - 51,9), sendo que apenas 8% dos pacientes (n=9) apresentaram deficiência (<16 ng/mL). Após 48 horas, a mediana das concentrações séricas de tiamina foram 51,5 (35,6 - 85,3) ng/mL e 33,7 (21,5 - 52,8) ng/mL (p= 0,003) nos grupos tiamina e placebo, respectivamente. A mediana do tempo de internação na UTI e hospitalar foi de 7 (4 - 16) dias e 16 (9 - 30) dias, respectivamente. A mortalidade em 28 dias foi de 58,2% (n = 67). Não houve diferença estatisticamente significativa na mortalidade entre os grupos (Tiamina: 32 [56,1%] vs. Placebo: 35[60,3%]), assim como no tempo de internação na UTI e hospitalar e no tempo livre de ventilação mecânica e de uso de vasopressor. **Conclusão:** A suplementação de tiamina na dose de 400 mg/dia por 5 dias não apresentou efeito na mortalidade em pacientes com choque séptico.

Palavras-chave: vitamina B1; mortalidade; choque séptico.

Abstract

Introduction: Septic shock is characterized by hypotension and tissue hypoperfusion, associated with increased lactate, refractory to appropriate volume expansion, and requiring the use of vasopressors to maintain hemodynamic stability. Due to its high mortality, supporting therapies have been explored to improve the prognosis of patients. In this sense, studies have explored the role of thiamine as a metabolic resuscitator in patients with septic shock. **Aims:** To evaluate the influence of thiamine supplementation on mortality in patients with septic shock. **Methods:** A prospective, controlled, double-blind, randomized study that included 115 consecutive patients, over 18 years old, diagnosed with septic shock on admission to the Intensive Care Unit (ICU). The patients were divided into two groups: thiamine supplementation (200 mg every 12 hours, intravenous, for 5 days) and placebo (saline solution 0.9% in volume, frequency, and period equal to thiamine). Clinical, laboratory data and blood samples were collected before the start of thiamine administration and 48 hours after. **Results:** 57 patients were in the thiamine group and 58 patients in the placebo group. The mean age was 63.3 ± 15.7 years and 55.6% were male. The median serum thiamine values before treatment were 35.4 ng/mL (24.7 - 51.9) and only 8% of patients ($n = 9$) having a deficiency (<16 ng/mL). After 48 hours, the median serum thiamine concentrations were 51.5 (35.6 - 85.3) ng/mL and 33.7 (21.5 - 52.8) ng/mL ($p = 0.003$) in the thiamine and placebo group, respectively. The median ICU and hospital length of stay were 7 (4 - 16) days and 16 (9 - 30) days, respectively. The 28-days mortality was 58.2% ($n = 67$). There was no statistically significant difference in mortality between the groups (Thiamine: 32 [56.1%] vs. Placebo: 35[60.3%]), as well as the length of ICU and hospital stay, and ventilator and vasopressor-free days. **Conclusion:** Thiamine administration of 400 mg for 5 days did not affect mortality in patients with septic shock.

Keywords: vitamin B1; mortality, septic shock.

Introdução

Atualmente, a sepse é considerada a principal causa de morte em Unidades de Terapia Intensiva (UTI) e uma das principais causas de mortalidade hospitalar tardia. Estima-se que, anualmente, cerca de 15 a 19 milhões de pessoas desenvolvam sepse em todo o mundo, representando importante problema de saúde pública.^{1,2}

No Brasil, segundo o Instituto Latino-Americano de Sepse (ILAS), são registrados cerca de 600 mil casos de sepse ao ano, ocupando em torno de 25% dos leitos de UTI em nosso país.³ Dados do estudo SPREAD (*Sepsis Prevalence Assessment Database*) - maior estudo epidemiológico sobre sepse no Brasil - evidenciou alta taxa de mortalidade decorrente da sepse (50%) e de sua forma mais grave, o choque séptico (60%).¹ Em países desenvolvidos, como os da Europa e os Estados Unidos, a taxa de mortalidade é ligeiramente mais baixa, variando entre 30 a 50%.²

A mortalidade elevada pode estar relacionada tanto ao atraso no diagnóstico da sepse e/ou choque séptico, quanto ao tratamento inadequado. Estudos sugerem que, principalmente em hospitais públicos, os pacientes sépticos são reconhecidos mais tardiamente e a admissão na UTI ocorre quando já há comprometimento importante em relação à disfunção de órgãos.^{1,4,5} Além disso, a infraestrutura inadequada dos hospitais, recursos financeiros escassos, o envelhecimento da população e as infecções hospitalares também contribuem para o aumento da mortalidade.^{1,4}

Por se tratar de condição extremamente grave e com prognóstico muito ruim, o cuidado desse paciente exige equipamentos específicos, antibióticos, medicamentos e assistência intensiva e integral da equipe médica e multiprofissional, tornando-se assim a principal doença geradora de custos hospitalares. Em hospitais públicos, estima-se que o tratamento do choque séptico custe em torno de R\$38.000,00 por paciente, com variações conforme a gravidade da doença e o desfecho.⁶

Em 2016, a *Society of Critical Care Medicine* (SCCM) e a *European Society of Critical Care Medicine* (ESICM) publicaram as novas definições de sepse, conhecidas como Sepsis-3.² Neste novo consenso, o conceito de 'sepse grave', usado previamente, foi extinto e a presença da Síndrome da Resposta Inflamatória

Sistêmica (SIRS), antes necessária para o diagnóstico, foi considerada como resposta adaptativa à infecção.^{2,7} Dessa forma, a sepse passou a ser definida pela presença de disfunção orgânica ameaçadora à vida secundária à resposta desregulada do organismo à infecção.²

A disfunção orgânica de um paciente potencialmente séptico pode ser definida pela presença de pelo menos dois pontos no escore *Sequential Organ Failure Assessment* (SOFA), que avalia a disfunção de seis órgãos ou sistemas: respiratório (relação $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$), hematológico (plaquetas), hepático (bilirrubina), cardiovascular (pressão arterial média com ou sem uso de droga vasoativa), sistema nervoso central (escala de coma de Glasgow) e renal (creatinina e débito urinário).^{7,8}

O choque séptico é definido como um subgrupo da sepse, caracterizado por acentuadas anormalidades circulatórias, celulares e metabólicas, capazes de aumentar drasticamente a mortalidade em aproximadamente 40%.⁹ Os critérios clínicos para diagnóstico de choque séptico são hipotensão arterial não responsiva à reposição de volume e necessidade de introdução de drogas vasopressoras para manutenção da pressão arterial média acima de 65 mmHg, associada a concentração sérica de lactato acima de 2 mmol/L.²

A fisiopatologia da sepse é complexa e envolve diversos mecanismos que confluem a partir da exposição do organismo a algum patógeno ou às suas toxinas. Bactérias gram-positivas, como *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pneumoniae*, e gram-negativas, como *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*, estão associadas a maior predisposição ao quadro de sepse, além da infecção fúngica, responsável por cerca de 19% dos casos.^{9,10} Por sua vez, os principais focos de infecção são os pulmões (64%), abdômen (20%), corrente sanguínea (15%) e trato urinário (14%).⁹

A interação do patógeno com o hospedeiro promove ativação do sistema imune inato por meio do reconhecimento de substâncias microbianas denominadas *pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs) e *damage-associated molecular patterns* (DAMPs), moléculas endógenas liberadas durante a necrose tecidual.¹¹ As células do sistema imune inato, especialmente monócitos, macrófagos e neutrófilos, reconhecem estes PAMPs e DAMPs por meio de receptores

de reconhecimento padrão (RRP), que podem estar localizados na membrana plasmática ou no citoplasma dos fagócitos. Dentre os principais RRP, podemos destacar os *toll-like receptors* (TLR), *C-type lectin receptors* (CLR), *retinoic acid inducible gene 1-like receptors* (RLR) e *nucleotide binding oligomerization domain-like receptors* (NLR).^{11,12}

O reconhecimento de ligantes microbianos pelos RRP leva à ativação de diversas vias de sinalização, resultando na fosforilação de proteínas quinases (MAPKs), janus quinases (JAKs), transdutores de sinal e ativadores de transcrição (STATs) e, por fim, translocação do fator nuclear kappa B (NF-κB). Este complexo processo de sinalização culmina na produção de citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, TNF-α e TNF-β) e anti-inflamatórias (IL-4, IL-5, IL-10, IL-11 e IL-13), quimiocinas, como moléculas de adesão intercelular 1 (ICAM-1) e moléculas de adesão celular vascular 1 (VCAM-1), óxido nítrico, proteínas de fase aguda e enzimas envolvidas na resposta imunológica.^{9,11,12}

A intensidade da resposta à infecção é regulada por vários fatores. Dentre eles, podemos destacar a carga e virulência do patógeno, as vias de sinalização ativadas e os aspectos clínicos inerentes ao hospedeiro, como, por exemplo, características genéticas, idade e presença de comorbidades.⁹ Concomitantemente à desregulação imunológica, ocorrem profundas alterações metabólicas e hormonais, com consequente disfunção mitocondrial, endotelial e microvascular, ocasionando, invariavelmente, a disfunção de múltiplos órgãos.^{13,14}

Atualmente, a disfunção mitocondrial é um mecanismo que vem ganhando bastante destaque na fisiopatologia da sepse. A mitocôndria é essencial para a conversão de energia sob a forma de ATP, a partir de substratos provenientes da oxidação de glicose, gordura e aminoácidos.¹⁵ Estudos têm mostrado, consistentemente, evidências de disfunção mitocondrial em pacientes críticos e em modelos experimentais de sepse, porém, ainda não está claro se esta associação representa consequência da inflamação em resposta à infecção ou se as alterações mitocondriais são etiológicas no desenvolvimento da disfunção celular orgânica.¹⁶⁻¹⁸

Mediadores envolvidos na sepse e na resposta inflamatória sistêmica, como IL-1, IL-6 e o TNF-α, apresentam atividade citotóxica, inibindo a fosforilação

oxidativa por meio da citocromo c oxidase, prejudicando diretamente a função mitocondrial. Além disso, o TNF- α tem sido associado à maior produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) pela mitocôndria.¹⁹

O estresse oxidativo é um desequilíbrio entre a eficácia da defesa antioxidante e a velocidade da geração de espécies reativas, causando sobrecarga de oxidantes nas células. Os marcadores do estresse oxidativo na sepse incluem aumento das concentrações do grupamento carbonila, de hidroperóxido de lipídeo e de malonaldeído. A diminuição das concentrações de glutathione peroxidase (GSH-Px) e aumento da relação das enzimas superóxido dismutase (SOD)/catalase (CAT) também podem acompanhar o aumento do estresse oxidativo.²⁰

As espécies reativas podem atuar nas células endoteliais, promovendo lesão do endotélio e aumento da permeabilidade vascular, agravando a hipotensão e diminuindo a pressão coloidosmótica do plasma. Além disso, podem afetar o consumo de oxigênio pelas células, gerando hipóxia tecidual em diversos órgãos e sistemas. Assim, as espécies reativas desempenham papel importante na patogênese da falência múltipla de órgãos.^{15,16,21} Adicionalmente, durante a sepse, há aumento significativo na produção de óxido nítrico (NO) mediada, em parte, pelo aumento da atividade da óxido nítrico-sintase induzível (iNOS). O óxido nítrico pode interagir com o superóxido e formar peroxinitrito, espécie reativa de nitrogênio (ERN), que exerce papel importante na inibição da respiração celular durante o choque séptico.^{15,16}

Atualmente, o manejo inicial do choque séptico consiste na administração de antibióticos de amplo espectro para controlar o foco de infecção, ressuscitação volêmica e utilização de agentes vasoativos, quando necessário.^{12,22,23} Embora sejam notáveis os avanços no diagnóstico e tratamento do choque séptico nos últimos anos, a morbimortalidade associada à sepse continua bastante elevada. Assim, outras terapias têm sido propostas como forma de melhorar o prognóstico dos pacientes. Nesse sentido, diversos estudos têm explorado o papel da tiamina como um possível agente terapêutico adjuvante na fase inicial do choque séptico e outras doenças críticas.²⁴⁻²⁶

A tiamina, também denominada vitamina B1, é uma vitamina hidrossolúvel que desempenha papel essencial no metabolismo celular e na

condução dos impulsos nervosos.²⁷ A tiamina pirofosfato, principal derivado da tiamina, é essencial para a produção de energia a partir da glicose, pois participa da conversão do piruvato em acetilcoenzima A, para sua entrada no ciclo do ácido cítrico (ciclo de Krebs), estando intimamente envolvida no metabolismo dos carboidratos. Adicionalmente, atua como cofator da 2-oxoglutarato, essencial para a síntese mitocondrial de ATP^{24,28-30} e da transcetolase, enzima citosólica envolvida no ciclo da pentose-fosfato, que desempenha papel importante na manutenção do estado redox celular por meio da síntese de NADPH e glutathione.³¹

A deficiência de tiamina pode provocar manifestações clínicas amplamente conhecidas, como beribéri seco e úmido e a síndrome de Wernicke-Korsakoff. No entanto, as manifestações subclínicas da deficiência de vitamina B1 são pouco estudadas. Podem ocorrer em situações em que há aumento da demanda metabólica de tiamina, como em pacientes críticos. Nesses pacientes, além da demanda metabólica aumentada, a ingestão nutricional diminuída poderia, teoricamente, diminuir a concentração sérica de tiamina. Soma-se a isso o fato de a tiamina ser pouco armazenada no organismo, mesmo em situações fisiológicas, o que faz com que os estoques corporais sejam diminutos.³² Portanto, pacientes críticos seriam especialmente susceptíveis à deficiência dessa vitamina. De fato, diversos estudos mostraram que pacientes em sepse ou choque séptico apresentam entre 10 a 71,3% de prevalência de deficiência de tiamina.^{24,29,33,34}

Além disso, elevadas concentrações séricas de lactato, acidose metabólica e hipotensão podem ocorrer tanto em situações de deficiência de tiamina quanto no choque séptico, sugerindo que a deficiência de tiamina poderia estar envolvida na fisiopatologia do choque séptico.^{27,35}

Como a tiamina exerce papel essencial no metabolismo da glicose, sua deficiência promove desvio do metabolismo para o anaeróbico, favorecendo a formação de ácido láctico, que está intimamente relacionado à morbimortalidade em pacientes sépticos. Dessa forma, alguns estudos exploraram esta relação, apresentando resultados controversos. Donnino *et al.*,³³ em estudo prospectivo e observacional, mostraram que não houve correlação entre a concentração sérica de tiamina e acidose láctica em pacientes críticos com choque séptico. Entretanto, neste mesmo estudo, quando se avaliou os pacientes sem alterações hepáticas

significativas, foi observada correlação negativa entre tiamina e acidose láctica. Adicionalmente, em um pequeno estudo prospectivo, randomizado e duplo-cego, mostrou-se que a suplementação de tiamina por 7 dias foi associada à redução da necessidade de vasopressor e diminuição da concentração de lactato em 24 horas.³⁶ Ademais, alguns estudos mostraram possível efeito na mortalidade em pacientes tratados com tiamina. Em estudo retrospectivo que analisou mais de mil pacientes, a administração precoce de tiamina foi associada à redução da mortalidade em 28 dias.³⁷ Donnino *et al.*, em estudo piloto controlado por placebo, mostraram que a suplementação de tiamina durante 7 dias foi associada à diminuição da mortalidade ao longo do tempo nos pacientes que apresentavam deficiência de tiamina na admissão da UTI.³⁵

Por outro lado, um estudo retrospectivo envolvendo mais de 68 mil pacientes japoneses com choque séptico não mostrou associação entre a suplementação precoce de tiamina e diminuição de mortalidade.²⁶

Mais recentemente, Marik *et al.*³⁸ sugeriram que a combinação de tiamina, vitamina C e hidrocortisona foi efetiva em diminuir mortalidade (8,5% no grupo que recebeu tratamento vs. 40,4% no grupo controle; $p < 0,001$), além de prevenir a disfunção de órgãos progressiva e reduzir, consideravelmente, o tempo de uso de vasopressores em pacientes com choque séptico. Entretanto, estudos subsequentes utilizando este mesmo esquema terapêutico foram incapazes de mostrar tais benefícios.³⁹⁻⁴²

De modo geral, as evidências para a suplementação de tiamina permanecem inconclusivas, sendo necessários mais estudos para determinar o papel deste micronutriente como adjunto na terapêutica do choque séptico.

Objetivos

Avaliar a influência da suplementação de tiamina na mortalidade em pacientes com choque séptico internados em unidade de terapia intensiva. Adicionalmente, como objetivos secundários, avaliamos a influência da tiamina no tempo de internação na UTI e hospitalar, tempo livre de ventilação mecânica e de uso de droga vasoativa e na evolução clínica de pacientes com choque séptico.

Casuística e Métodos

Delineamento

Trata-se de um estudo prospectivo, controlado, duplo-cego e randomizado, conduzido entre Maio de 2018 e Agosto de 2019. A pesquisa foi iniciada após aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa da nossa instituição sob o parecer nº 2.659.839 e cadastramento no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC nº RBR-9m6bny).

O tamanho amostral foi calculado com o programa GPower3, usando o teste de proporção para dois grupos independentes e considerando diferença de mortalidade entre os grupos de 25%, erro alfa de 5% e poder do teste de 90%, resultando em número mínimo de 116 pacientes.

Foram incluídos no estudo todos os indivíduos maiores de 18 anos, de ambos os sexos, que internaram com o diagnóstico de choque séptico no Serviço de Terapia Intensiva do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (HC/FMB) e que os familiares concordaram em participar do estudo por meio de assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Foram excluídos pacientes que tiveram atraso no diagnóstico de choque séptico (tempo superior a 24 horas), gestantes, dose de noradrenalina $> 2,0\mu\text{g/Kg/min}$, uso de drogas vasoativas por menos de 24 horas, pacientes com indicação clínica de suplementação de tiamina, pacientes com morte encefálica confirmada, pacientes em cuidados paliativos e associação com outros tipos de choque (cardiogênico, hemorrágico ou hipovolêmico).

O diagnóstico clínico de disfunção orgânica foi baseado na variação de dois ou mais pontos no escore *Sequential Organ Failure Assessment* (SOFA). Choque séptico foi definido, na presença de sepse, como a necessidade de vasopressor para manter a pressão arterial média acima de 65mmHg após a infusão adequada de fluidos e valor sérico de lactato acima de 2mmol/L.²

Os pacientes foram randomizados pelo coordenador do projeto (orientadora) e alocados em dois grupos: suplementação de tiamina e placebo. A tiamina foi administrada por via intravenosa, na dose de 200 mg de 12 em 12 horas, por 5 dias. O placebo (soro fisiológico 0,9%) foi administrado em volume equivalente pela mesma via e período descrito para a tiamina. A tiamina ou o

placebo foram disponibilizados pelo coordenador do projeto, como ampolas numeradas e o pesquisador principal, o paciente e o profissional que administrou a medicação não tinham conhecimento do conteúdo da ampola ou do grupo a que o paciente pertencia. A medicação e o placebo foram produzidos pela empresa Citopharma Manipulação de Medicamentos Especiais Ltda. (CNPJ: 01.640.262/0001 - 83; Belo Horizonte-MG).

Adicionalmente, foram coletados dados de exames laboratoriais que fazem parte da rotina para pacientes com choque séptico: sódio, potássio, ureia, creatinina, proteína C reativa e albumina (método e química seca - *Ortho Clinical Diagnostics VITROS 950®*, *Johnson & Johnson*); hemograma completo (método de automação em auto-analisador Coulter STKS); gasometria arterial e lactato (Roche OMNI® *S Blood Gas Analyzer*), além de dados clínicos para cálculo do escore de gravidade SOFA e APACHE II (*Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*).

Para análise das concentrações plasmáticas de tiamina, foram coletadas amostras de 20 mL de sangue nas primeiras 24 horas de admissão na UTI e após 48 horas da randomização do paciente. A suplementação de tiamina ou placebo foi iniciada imediatamente após a coleta da primeira amostra de sangue.

O desfecho primário avaliado foi a mortalidade em 28 dias. Como desfechos secundários, foram avaliados tempo de internação na UTI, tempo de internação hospitalar e tempo livre de ventilação mecânica e de droga vasoativa, que foi definido como os dias livres de suporte respiratório e de drogas vasoativas, respectivamente, a partir da randomização até o 28º dia.

Coleta do material biológico

As amostras de sangue coletadas na inclusão do paciente no estudo e após 48 horas do início da suplementação de tiamina ou placebo foram divididas em alíquotas, sendo 5 ml na forma de sangue total, 10 ml na forma de soro e 5 ml na forma de plasma. É importante ressaltar que, tanto os tubos de coleta de sangue, quanto os microtubos das alíquotas, foram protegidos da luz. Para obtenção do soro, a amostra foi centrifugada em temperatura ambiente a 3000g durante 15 minutos. Para obtenção do plasma, o sangue foi transferido para tubo com

anticoagulante EDTA e centrifugado a 3000g durante 15 minutos em centrífuga refrigerada a 4 °C. Todas as alíquotas foram identificadas e armazenadas a -80 °C até o momento das análises.

Determinação da concentração plasmática de tiamina

As análises foram feitas pelo método de cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC), em laboratório externo devidamente habilitado para este fim (Vitae Laboratório - CPNJ: 00.103.662/0001 - 97) utilizando-se o plasma colhido antes do início da suplementação e 48 horas após. Resumidamente, foi realizada hidrólise ácida com ácido percloroacético seguida de hidrólise enzimática com fosfatase ácida. As amostras foram aplicadas no aparelho utilizando método de coluna de fase reversa e detecção fluorimétrica. A coluna-padrão foi composta por solução de difosfato de tiamina. A área sob os picos cromatográficos foi detectada usando integrador eletrônico e a quantificação foi feita por comparação com a curva-padrão de calibração. O valor de referência adotado para deficiência de tiamina foi < 16 ng/mL, conforme protocolo do laboratório.

Análise estatística

As variáveis com distribuição normal foram apresentadas em média e desvio-padrão, as variáveis com distribuição não normal foram apresentadas em mediana e intervalos interquartis e as variáveis categóricas foram apresentadas na forma de frequência. A comparação entre os grupos foi feita por teste t (para variáveis de distribuição normal), Mann-Whitney (para variáveis de distribuição não normal) ou Chi-quadrado (para as variáveis categóricas). Para avaliação dos desfechos primário e secundários, foi realizada regressão logística e linear uni e multivariada. A sobrevida foi avaliada pela curva de Kaplan-Meier e os grupos foram comparados com o teste de Gehan-Breslow. Foi adotado nível de significância estatística de 5% para todas as análises.

Resultados

Foram avaliados prospectivamente 208 pacientes com diagnóstico de choque séptico admitidos na UTI. Destes, 86 foram excluídos, totalizando 122 pacientes incluídos no estudo. Após a randomização, 7 pacientes foram excluídos, sendo 4 do grupo tiamina e 3 do grupo placebo. Dessa maneira, foram avaliados e incluídos 115 pacientes no estudo, conforme descrito na Figura 1.

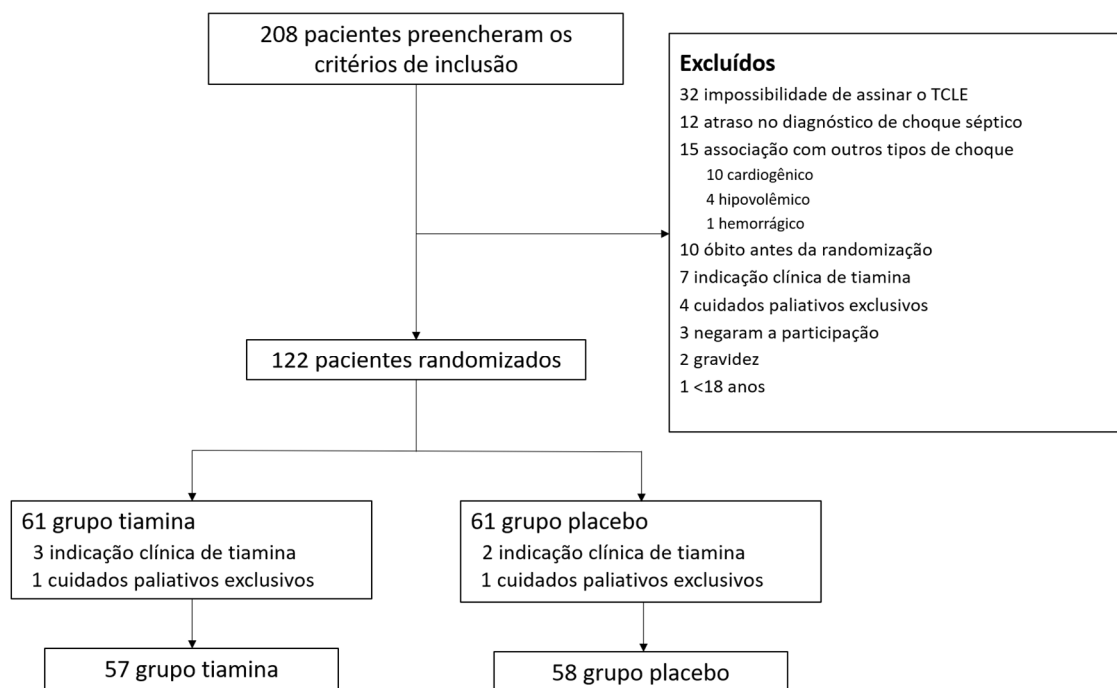


Figura 1. Número de pacientes incluídos no estudo

Dos 115 pacientes incluídos no estudo, 57 pacientes foram incluídos no grupo que recebeu tiamina e 58 pacientes no grupo que recebeu placebo. Os pacientes tiveram média de idade de $63,3 \pm 15,7$ anos e 55,6% eram do sexo masculino. Em relação à causa do choque séptico, 55% dos pacientes apresentaram infecção de foco pulmonar, 18% de foco abdominal, 15% de foco urinário, 10% de foco cutâneo e 2% de outros focos. Não houve diferença entre os grupos em relação ao tempo de randomização e apenas 8% dos pacientes ($n=9$) apresentaram deficiência de tiamina (<16 ng/mL) prévia à internação na UTI.

Em relação ao protocolo de tratamento do choque séptico, 89% dos pacientes ($n=103$) receberam infusão de fluídos e antibióticos dentro da primeira hora de identificação do choque séptico, sendo o Cefepime (11,3%) e sua associação

com Azitromicina (14,7%) e Metronidazol (14,7%) os principais esquemas antibióticos prescritos, conforme disposto na Tabela 1.

Tabela 1. Características clínicas e demográficas dos pacientes no momento inicial

Características	Grupos		Valor de <i>p</i>
	Tiamina (n = 57)	Placebo (n = 58)	
Idade, anos	65 (51 – 72,5)	64 (57,7 – 74,2)	0,502
Homens, n (%)	27 (47)	36 (62)	0,163
IMC, kg/m ²	27,5 (24,2 – 32,2)	24,9 (20,7 – 28,0)	0,057
SOFA escore	9,5 ± 3,6	10 ± 3,4	0,523
APACHE II escore	21,4 ± 7,8	22,2 ± 9,0	0,586
Comorbidades, n (%)			
Hipertensão	36 (63,1)	37 (63,7)	0,902
Diabetes	21 (36,8)	20 (34,4)	0,945
Obesidade	20 (35)	14 (24,1)	0,279
Câncer	12 (21)	6 (10,3)	0,186
DRC	19 (33,3)	15 (25,8)	0,501
Insuficiência cardíaca	7 (12,2)	9 (15,5)	0,817
Etilismo	5 (8,7)	3 (5,1)	0,695
Tabagista	7 (12,2)	10 (17,2)	0,627
DPOC	4 (7)	8 (13,7)	0,377
Foco da infecção, n (%)			
Pulmonar	30 (52,6)	33 (56,8)	0,866
Abdominal	11 (19,2)	10 (17,2)	0,965
Trato urinário	9 (15,7)	9 (15,5)	0,829
Cutâneo	7 (12,2)	4 (6,8)	0,506
Outros	1 (1,7)	2 (3,4)	0,988
Tempo entre a admissão e randomização, dias	4 (1 – 9)	3 (1 – 5)	0,407
Deficiência de tiamina, n (%)	3 (5,4)	6 (10,9)	0,487
Tratamento precoce			
Antibioticoterapia, n (%)	54 (94,7)	54 (93,1)	0,981
Ressuscitação volêmica, n (%)	49 (85,9)	54 (93,1)	0,344

IMC: Índice de massa corporal; SOFA: *Sequential Organ Failure Assessment*; APACHE II: *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II*; DRC: Doença renal crônica; DPOC: Doença pulmonar obstrutiva crônica. Dados foram expressos como média ± desvio padrão, mediana (incluindo o menor e maior quartil) ou porcentagem. Os dados foram expressos como média ± desvio padrão, mediana (incluindo o menor e maior quartil) ou porcentagem. Foram utilizados os testes t de Student, Mann-Whitney, Chi-quadrado ou exato de Fisher e adotado valor de *p* < 0,05 como estatisticamente significativo.

As concentrações plasmáticas de tiamina antes (T0) e após 48 horas (T1) do início da suplementação foram avaliadas por HPLC. No T0, a mediana dos valores plasmáticos de tiamina foi de 35,4 (24,7 - 51,9) ng/mL. Os pacientes do grupo que recebeu tiamina apresentaram maiores concentrações plasmáticas de tiamina tanto no T0 quanto no T1 quando comparadas ao grupo controle.

Como forma de assegurar a confiabilidade dos nossos dados, foram realizadas novamente a análise das concentrações séricas de tiamina no T0, utilizando outro método, no caso, o método ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* - COD.LS-F67486-1-LS BIO). Os resultados por este método foram ligeiramente maiores que o método HPLC, sendo a média da concentração sérica de tiamina de $64,2 \pm 23,8$ ng/mL. Como o método de HPLC é mais utilizado para dosagem de tiamina que o método ELISA, optamos por apresentar e utilizar nas análises as dosagens realizadas por HPLC.

No T0, os pacientes do grupo tiamina apresentaram maiores concentrações séricas de creatinina e menores concentrações séricas de hematócrito e hemoglobina. Após a suplementação, o grupo tiamina apresentou menores concentrações de bicarbonato de sódio (HCO_3^-) e pressão parcial de gás carbônico (pCO_2), além de permanecer com menores valores de hematócrito e hemoglobina quando comparados com o grupo placebo. Os dados referentes aos exames laboratoriais estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Dados laboratoriais dos grupos tiamina e placebo.

Variável	Grupos		Valor de <i>p</i>
	Tiamina (n = 57)	Placebo (n = 58)	
Tiamina, T0 (ng/mL)	41,6 (30,8 – 59,7)	31,7 (20,3 – 42,9)	0,001
Tiamina, T1 (ng/mL)	51,5 (35,6 – 85,3)	33,7 (21,5 – 52,8)	0,003
Tiamina, variação (%)	117,0 (92,8 – 168,7)	113,6 (89,6 – 159,9)	0,667
Sódio, T0 (mmol/L)	141,2 ± 6,6	142,9 ± 8,1	0,236
Sódio, T1 (mmol/L)	140,0 (136,0 – 148)	143,5 (138,2 – 149)	0,065
Potássio, T0 (mmol/L)	4,4 (4,1 – 4,9)	4,5 (4,0 – 5,3)	0,773
Potássio, T1 (mmol/L)	4,1 (3,8 – 4,7)	4,3 (3,9 – 4,7)	0,590
Ureia, T0 (mg/dL)	122,5 (70,5 – 162,0)	102,0 (60,7 – 156,7)	0,250
Ureia, T1 (mg/dL)	115,5 (85,0 – 157,0)	115,0 (65,5 – 185,2)	0,925
Fósforo, T0 (mg/dL)	4,9 (3,4 – 5,9)	5,1 (2,8 – 7,6)	0,996
Fósforo, T1 (mg/dL)	3,7 (3,1 – 6,6)	3,9 (2,2 – 6,5)	0,931
Creatinina, T0 (mg/dL)	3,0 (1,1 – 4,3)	1,7 (0,8 – 3,3)	0,024
Creatinina, T1 (mg/dL)	2,1 (1,2 – 4)	1,7 (0,8 – 3,7)	0,257
PCR, T0 (mg/dL)	24,8 (8,4 – 34,1)	23,8 (8,7 – 30,5)	0,510
PCR, T1 (mg/dL)	19,1 (6,5 – 26,9)	11,7 (7 – 23,2)	0,502
Albumina, T0 (g/dL)	2,2 (2,0 – 2,62)	2,4 (2,1 – 2,8)	0,275
Albumina, T1 (g/dL)	2,3 (1,9 – 2,6)	2,6 (2,1 – 3,0)	0,073
Glicemia, T0 (mg/dL)	143,0 (107 – 168,0)	152,0 (107,7 – 183,7)	0,300
Glicemia, T1 (mg/dL)	147,0 (114,0 – 196)	134,5 (120,7 – 174,2)	0,662
Lactato, T0 (mmol/L)	1,9 (1,1 – 2,7)	1,9 (1,2 – 3,1)	0,444
Lactato, T1 (mmol/L)	1,2 (1,0 – 1,8)	1,5 (1,0 – 1,9)	0,274
HCO ₃ , T0 (mmol/L)	18,9 (16,6 – 24,7)	20,6 (16,6 – 27,8)	0,227
HCO ₃ , T1 (mmol/L)	20,8 ± 6,2	23,8 ± 6,3	0,026
pCO ₂ , T0 (mmHg)	35,3 (29,3 – 42,5)	37,5 (31,7 – 41,3)	0,671
pCO ₂ , T1 (mmHg)	34,3 (28,0 – 41,0)	40,3 (32,8 – 48,8)	0,019
Hematócrito, T0 (%)	29,7 (27,1 – 35,6)	32,1 (27,7 – 35,6)	0,046
Hematócrito, T1 (%)	28,5 (25,5 – 31,9)	32,0 (27,4 – 36,1)	0,012
Hemoglobina, T0 (g/dL)	9,6 (8,5 – 11,0)	10,3 (9,4 – 12,0)	0,036
Hemoglobina, T1 (g/dL)	9,2 (8,4 – 10,4)	10,2 (9,1 – 11,8)	0,020
Leucócitos, T0 (10 ³ /mm ³)	15,5 (11,1 – 22,5)	14,6 (8,8 – 21,5)	0,483
Leucócitos, T1 (10 ³ /mm ³)	12,8 (8,9 – 20,7)	13,4 (9,3 – 20,2)	0,632

PCR: proteína C-reativa; HCO₃: bicarbonato de sódio; pCO₂: pressão parcial de gás carbônico; T0: tempo zero (*baseline*); T1: tempo 1 (48 horas após a suplementação); variação: diferença entre as concentrações de tiamina no T0 e T1 x 100. Os dados foram expressos como média ± desvio padrão, mediana (incluindo o menor e maior quartil) ou porcentagem. Foram utilizados os testes t de Student, Mann-Whitney, Chi-quadrado ou exato de Fisher e adotado valor de *p* < 0,05 como estatisticamente significante.

A mediana do tempo de internação na UTI e hospitalar foi de 7 (4 - 16) dias e 16 (9 - 30) dias, respectivamente. A mortalidade hospitalar foi de 68,6% (n = 79) e a mortalidade em 28 dias foi de 58,2% (n = 67). Não houve diferença

estatisticamente significativa na mortalidade em 28 dias entre os pacientes que receberam a tiamina e os que receberam placebo. Outras variáveis como tempo de internação na UTI e hospitalar, tempo livre de ventilação mecânica e tempo livre de uso de droga vasoativa também foram semelhantes entre os grupos, como pode ser observado na Tabela 3.

Por outro lado, um achado inesperado do nosso trabalho mostrou que os pacientes que receberam tiamina apresentaram mais lesão renal aguda e, conseqüentemente, tiveram maior necessidade de terapia de substituição renal (hemodiálise) (Tabela 4).

Também não houve diferença entre as curvas de sobrevivência de ambos os grupos (Figura 2).

Tabela 3. Principais desfechos dos grupos tiamina e placebo.

Variável	Grupos		Valor de <i>p</i>
	Tiamina (n = 57)	Placebo (n = 58)	
Óbito na UTI, n (%)	33 (57,8)	34 (58,6)	0,912
Óbito em 28 dias, n (%)	32 (56,1)	35 (60,3)	0,789
Óbito geral, n (%)	37 (64,2)	42 (72,4)	0,505
Tempo internação na UTI, dias	8 (4 – 17)	6 (3,7 – 15)	0,236
Tempo de internação hospitalar, dias	18 (9,5 – 37)	15 (7,7 – 27,5)	0,142
VM, dias	8 (4 – 16)	7 (4 – 13)	0,384
Tempo livre de VM em 28 dias	6 (11 – 11,5)	4,5 (0 – 13)	0,476
DVA, dias	7 (4 – 11)	7 (4 – 9)	0,584
Tempo livre de DVA em 28 dias	9 (1 – 18)	5 (0 – 16)	0,342

UTI: Unidade de Terapia Intensiva; LRA: Lesão renal aguda; VM: Ventilação mecânica; DVA: Droga vasoativa. Os dados foram expressos como média ± desvio padrão, mediana (incluindo o menor e maior quartil) ou porcentagem. Foram utilizados os testes t de Student, Mann-Whitney, Chi-quadrado ou exato de Fisher e adotado valor de $p < 0,05$ como estatisticamente significativo.

Tabela 4. Desfechos secundários dos grupos tiamina e placebo.

Variável	Grupos		Valor de <i>p</i>
	Tiamina (n = 57)	Placebo (n = 58)	
LRA, n (%)	48 (84)	37 (64)	0,023
Estágio I	8	3	
Estágio II	11	11	
Estágio III	29	23	
Hemodiálise, n (%)	32 (37,8)	19 (16,5)	0,020

LRA: Lesão renal aguda.

Análise de Sobrevivência

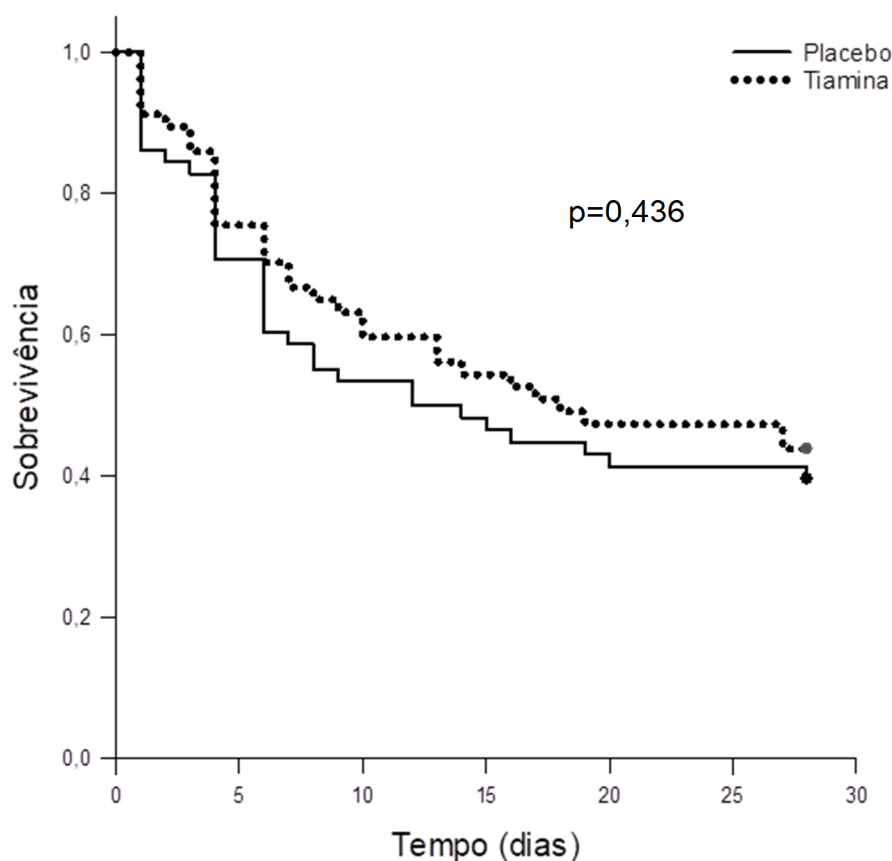


Figura 2. Curva de sobrevida de Kaplan Meier: Gehan-Breslow

Adicionalmente, o *status* dos pacientes no 28º dia foi avaliado utilizando escala ordinal, com níveis variando de 1 a 7, onde a pontuação maior indica pior condição clínica, conforme mostrado na Figura 3. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as categorias em relação aos grupos.

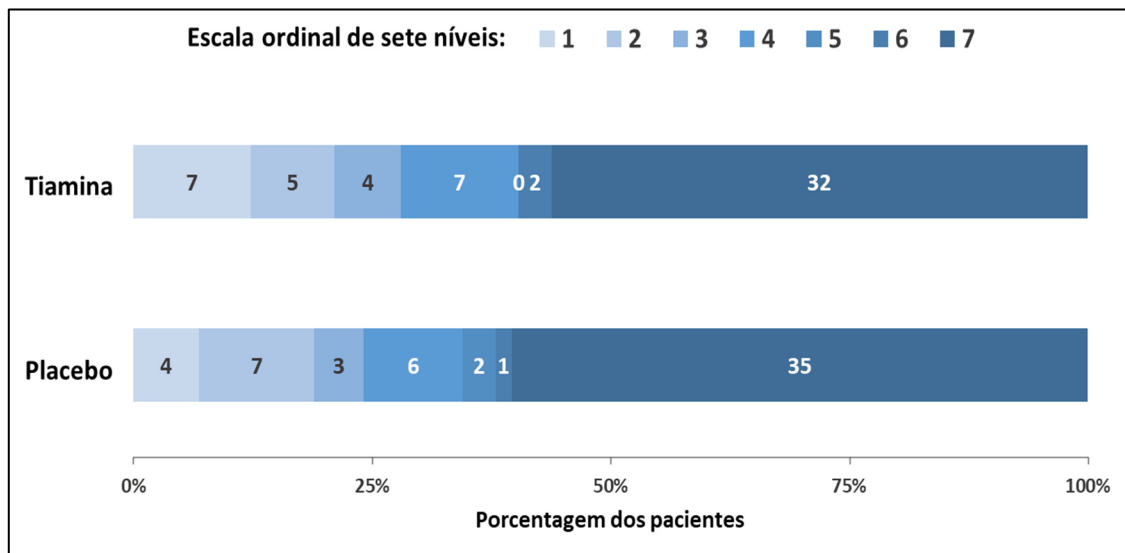


Figura 3. Status dos pacientes no 28º dia. A pontuação foi definida como: 1, paciente não hospitalizado e sem limitações físicas; 2, paciente não hospitalizado, mas com limitações físicas; 3, paciente hospitalizado e não recebendo oxigênio suplementar; 4, paciente hospitalizado e recebendo oxigênio suplementar; 5, paciente hospitalizado e recebendo oxigênio suplementar por meio de cânula nasal de alto fluxo ou ventilação mecânica não-invasiva; 6, paciente hospitalizado e recebendo ventilação mecânica; 7, morte. Foi utilizado o teste de Qui-quadrado para comparação entre as categorias e os grupos, não sendo observada diferença estatística ($p = 0,700$)

No modelo de regressão logística, não houve associação entre suplementação de tiamina e redução de mortalidade, mesmo quando ajustado por sexo, idade, foco de infecção pulmonar, APACHE II score, creatinina e hemoglobina (Figura 4).

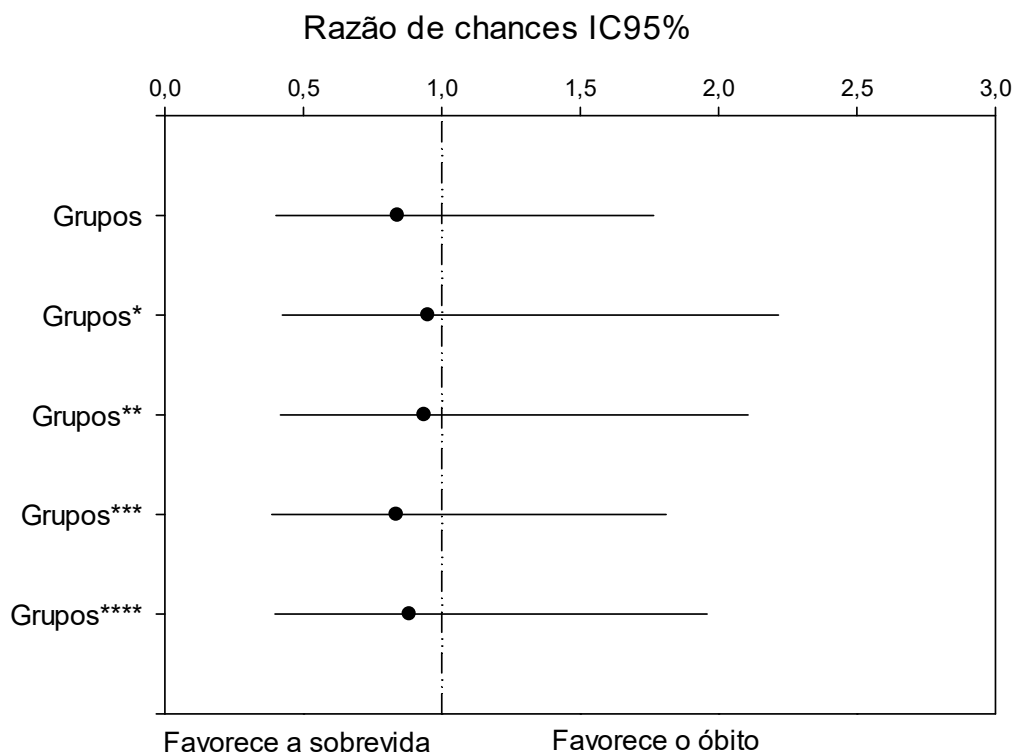


Figura 4. Regressão logística para predição de mortalidade em 115 pacientes com choque séptico. Grupos: controle e tratamento com tiamina; *ajustado para sexo e idade; **ajustado para sexo, idade e foco de infecção pulmonar; ***ajustado para APACHE II score; ****ajustado para creatinina e hemoglobina.

É importante destacar que, embora os pacientes tenham sido randomizados, o grupo que recebeu o tratamento apresentou maiores concentrações séricas de tiamina no T0 da admissão na UTI. A análise de regressão linear mostrou que os valores séricos de tiamina foram positivamente associados com a concentração de creatinina e negativamente associados com a concentração de hemoglobina, conforme mostrado na Tabela 4.

Tabela 5. Associação entre as concentrações séricas de creatinina e hemoglobina e concentrações séricas de tiamina no T0.

Variável	β	Erro padrão	Valor de p
Creatinina, mg/dL	0,13	0,02	<0,001
Hemoglobina, mg/dL	-0,05	0,02	0,010

Modelo de regressão linear simples considerando o Log_n das concentrações séricas de tiamina como variável dependente. Adotado valor de $p < 0,05$ como estatisticamente significativo.

No modelo de regressão logística, as concentrações plasmáticas de tiamina no T0 não foram associadas à mortalidade, mesmo quando ajustada por sexo, idade, foco de infecção pulmonar, APACHE II score, creatinina e hemoglobina (Figura 5).

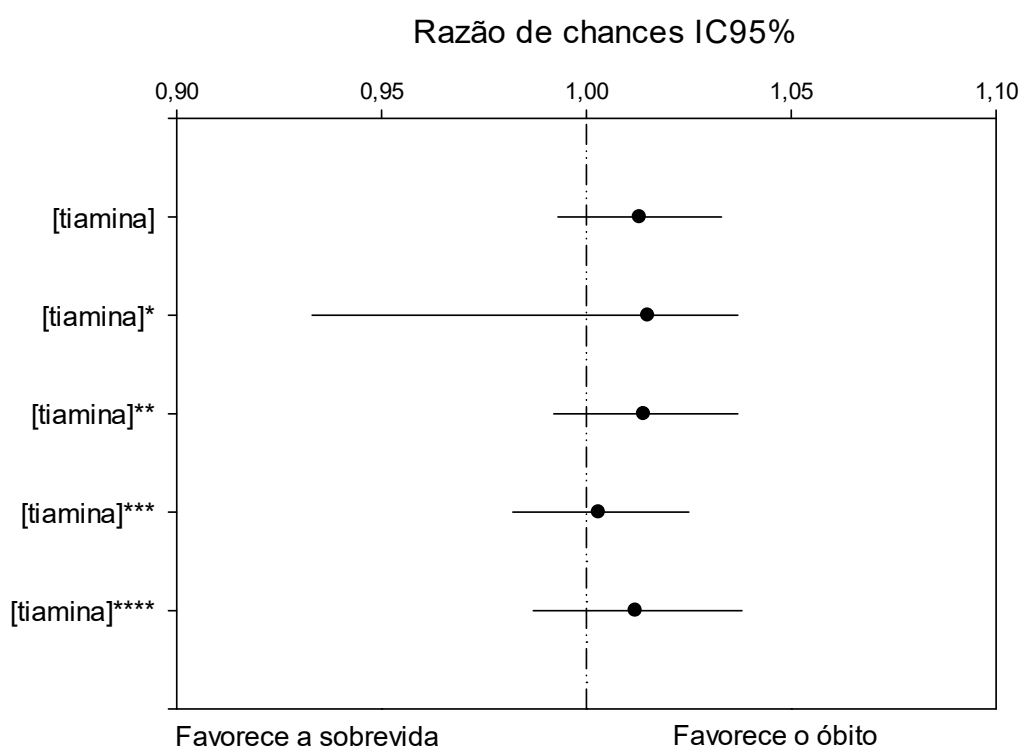


Figura 5. Modelo de regressão logística para a predição de mortalidade em 115 pacientes com choque séptico. [tiamina]: concentração plasmática de tiamina; * ajustado para sexo e idade; ** ajustado para sexo, idade e foco de infecção pulmonar; *** ajustado para APACHE II score; **** ajustado para creatinina e hemoglobina.

Como o grupo suplementado com tiamina apresentou maiores valores de creatinina e presença de LRA que o grupo placebo mesmo no T0, optamos por realizar regressão logística para avaliação da mortalidade na presença dessa complicação (Tabela 5). A presença de LRA isolada ou quando ajustada para sexo e idade explica a mortalidade desses pacientes, mas não quando ajustada pelo APACHE II.

Tabela 6. Regressão logística para predição de mortalidade em 115 pacientes com choque séptico

Variável	OR	IC 95%	Valor de p
LRA	2,750	1,169 - 6,468	0,020
LRA*	3,608	1,401 – 9,291	0,008
LRA**	2,416	0,879 – 6,641	0,087

* ajustado por sexo e idade

**ajustado por sexo, idade e APACHE II

Discussão

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da suplementação de tiamina na mortalidade em pacientes com choque séptico. A administração de 400mg/dia de tiamina por 5 dias não apresentou efeito na mortalidade ou em outros desfechos clínicos, como tempo de internação na UTI e hospitalar, tempo livre de ventilação mecânica e tempo livre de vasopressor.

O choque séptico é um subconjunto da sepse representado por graves anormalidades circulatórias e do metabolismo celular, aumentando substancialmente a mortalidade. No Brasil, estima-se que ocorram mais de 200 mil mortes por ano decorrente da sepse em UTIs.⁴³ Em nosso estudo, 58,2% dos pacientes com choque séptico evoluíram para óbito em 28 dias, enquanto a mortalidade geral foi ligeiramente mais alta, em torno de 68,6%. Estudos prévios do nosso grupo de pesquisa, realizados na mesma UTI e considerando a mesma população, observaram taxa de mortalidade semelhante à nossa, variando entre 54,3% e 66%.^{24,44}

Nos últimos anos, o uso de micronutrientes como potencial terapia adjuvante na doença crítica vem sendo alvo de estudos. Particularmente na sepse, a administração de tiamina ganhou destaque devido à sua deficiência possivelmente estar envolvida na fisiopatologia do choque séptico, pois ambas as condições compartilham sintomas clínicos semelhantes, como aumento das concentrações de lactato sérico, acidose metabólica e hipotensão.²⁷ Em nosso estudo, apenas 8% dos pacientes apresentaram deficiência de tiamina nas primeiras 24 horas da admissão na UTI, dado semelhante ao encontrado no estudo de Petsakul *et al.*³⁶ Entretanto, os poucos estudos clínicos disponíveis na literatura científica mostraram que a deficiência de tiamina é mais prevalente no choque séptico, podendo estar presente em até 71,3% dos pacientes.^{33,35,44} Essa divergência de resultados pode ser explicada pelos diferentes métodos de avaliação das concentrações de tiamina, valores de referência adotados, raça, status nutricional prévio e presença de fatores confundidores, como por exemplo, disfunção hepática e etilismo.^{29,32}

Em nosso estudo, curiosamente, o grupo alocado aleatoriamente para receber a suplementação apresentou no momento inicial concentração plasmática maior de tiamina e sérica de creatinina e menor concentração sérica de hemoglobina e hematócrito em comparação ao grupo placebo. De modo a entender

melhor a relação entre essas variáveis, construímos modelo de regressão linear considerando o valor plasmático de tiamina no T0. Observamos associação positiva entre as concentrações de tiamina e creatinina, ou seja, a cada unidade aumentada de creatinina, elevou-se 0,13 $\log_n$ de tiamina. Esse resultado pode ser explicado, possivelmente, pela menor capacidade de filtração glomerular, evidenciado pela alta concentração de creatinina, e consequentemente, menor excreção urinária de tiamina.

Adicionalmente, os valores séricos de hemoglobina se associaram negativamente à tiamina, ou seja, a cada unidade que diminui de hemoglobina, aumenta-se 0,05 $\log_n$ de tiamina. Apesar de extensa busca na literatura, não encontramos dados semelhantes ou que pudessem elucidar de forma consistente esse resultado. Entretanto, sabe-se que há relação entre tiamina e hemoglobina, uma vez que cerca de 80% do total de tiamina encontra-se nos eritrócitos, sendo 90% na forma de tiamina pirofosfato (TPP), a principal forma ativa dessa vitamina.^{32,45}

No estudo de Talwar *et al.*,⁴⁵ a concentração eritrocitária de TPP foi avaliada por HPLC e mostrou-se fortemente relacionada com a dosagem feita no sangue total quando esta foi corrigida pelo valor de hemoglobina. Em nosso estudo, avaliamos a concentração plasmática de tiamina por meio de HPLC, assim como em outros.^{35,36} Entretanto, apesar de ser um método de avaliação válido⁴⁶ e bastante utilizado, pode não ser o mais adequado, considerando que menos de 10% da tiamina total está presente no plasma.³²

A deficiência de tiamina e suas repercussões em pacientes críticos ganhou destaque na década de 1980 em trabalho pioneiro de Cruickshank *et al.*³⁴, no qual foi evidenciado pela primeira vez associação entre a baixa concentração de tiamina na admissão na UTI e aumento da mortalidade. Apesar do caráter retrospectivo e outras importantes limitações do estudo, esses resultados impulsionaram um novo campo de investigação no contexto da doença crítica.

Posteriormente, no clássico estudo randomizado e placebo-controlado de Donnino *et al.*,³⁵ a suplementação de 400 mg de tiamina por 7 dias em pacientes com choque séptico não foi efetiva em reduzir mortalidade ou esteve associada a melhora de parâmetros clínicos que seriam esperados, como diminuição de lactato

em 24 horas, tempo de reversão do choque ou gravidade da doença. Entretanto, os autores observaram tendência à diminuição da mortalidade no subgrupo que apresentou deficiência de tiamina e recebeu a suplementação. Apesar do resultado interessante, esse estudo apresenta algumas limitações, que estão relacionadas ao pequeno número amostral, presença de fatores confundidores e à estatística utilizada no trabalho.

Recentemente, outro estudo prospectivo, randomizado e placebo-controlado conduzido na Tailândia também não conseguiu evidenciar associação entre a administração precoce de 400 mg de tiamina por dia e redução de mortalidade em pacientes com choque séptico. Apesar disso, o estudo apresentou achados interessantes, como redução do índice de dependência do vasopressor e diminuição da concentração sérica de lactato em 24 horas após a suplementação inicial.³⁶ Por outro lado, os próprios autores pontuam esses resultados como questionáveis, uma vez que o estudo precisou ser interrompido precocemente devido à dificuldade de inclusão de pacientes.

Diversos estudos retrospectivos também exploraram a relação entre tiamina e mortalidade no choque séptico, apresentando resultados conflitantes entre eles. Woolum *et al.*³⁷ observaram redução da mortalidade em 28 dias e melhora no *clearance* de lactato em pacientes que receberam doses de tiamina entre 100 mg e 500 mg por via intravenosa nas primeiras 24 horas da admissão no hospital. A redução da mortalidade também foi observada em outro estudo⁴⁷, no qual pacientes etilistas e com choque séptico receberam suplementação de 100 mg de tiamina oral ou parenteral em até 9 horas da admissão no hospital. Em contrapartida, em grande estudo observacional, a suplementação intravenosa de tiamina entre 100 mg e 200 mg não foi associada à redução de mortalidade e melhora em desfechos clínicos, como redução de lactato e tempo de internação na UTI.²⁶

Em nosso estudo, não houve efeito da suplementação de tiamina na redução da mortalidade e nem nos desfechos secundários avaliados. No entanto, demonstramos que o grupo tiamina desenvolveu mais lesão renal aguda e, conseqüentemente, necessitou mais de terapia de substituição renal (hemodiálise), em comparação ao grupo placebo. Todavia, é importante considerar que,

inicialmente, este grupo apresentava concentrações maiores de creatinina já na admissão na UTI e, portanto, eram mais graves em relação à função renal.

Uma das principais complicações da sepse é o desenvolvimento de lesão renal aguda (LRA), que pode ocorrer em até 60% dos casos. Além de conferir pior prognóstico aos pacientes, a LRA está associada ao aumento do risco de desenvolvimento de doença renal crônica e eventos cardiovasculares aos que sobrevivem à sepse.⁴⁸ Tradicionalmente, o principal mecanismo atribuído à evolução da LRA na sepse é a isquemia renal decorrente da hipoperfusão sistêmica, resultando, em última instância, em necrose tubular aguda e falência renal. Porém, estudos mais recentes sugerem que a disfunção mitocondrial subsequente à sepse também pode ser um fator etiológico no desenvolvimento de LRA.^{49,50}

Considerando este contexto, Moskowitz *et al.*⁵¹ avaliaram o efeito da suplementação de tiamina na prevenção ou tratamento da LRA relacionada à sepse, uma vez que a tiamina desempenha papel essencial no metabolismo aeróbico. Nesta análise *post hoc*, os autores mostraram que os pacientes que receberam suplementação de 400 mg de tiamina por dia, apresentaram menores valores séricos de creatinina e, conseqüentemente, progrediram menos para terapia de substituição renal, sugerindo que a tiamina exerce efeito renal protetor, prevenindo a apoptose em células tubulares renais.

Observamos incidência de 74% de LRA associada à sepse nos pacientes incluídos em nosso estudo e, inquestionavelmente, esse foi um dos fatores associados à mortalidade, conforme mostrado nos dados de regressão logística ajustados por sexo e idade. Em nosso estudo, apesar dos pacientes do grupo tiamina apresentarem maior comprometimento da função renal desde o momento de admissão na UTI, isso não se traduziu em maior mortalidade nesse grupo, o que poderia sugerir que a suplementação de tiamina teve efeito protetor renal. Porém, é importante ressaltar que o presente trabalho não foi delineado com o objetivo de avaliar o efeito da tiamina na LRA e, sendo assim, fatores confundidores poderiam estar envolvidos na interpretação desses resultados.

É bem descrito na literatura o papel da disfunção mitocondrial na fisiopatologia da sepse e sua associação com piores desfechos clínicos.^{52,53} Durante a resposta inflamatória exacerbada, fatores como perfusão inadequada, aumento

de citocinas pró-inflamatórias e alterações hormonais comprometem a fosforilação oxidativa mitocondrial, resultando na produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs). Estas, por sua vez, lesionam a membrana mitocondrial, desencadeando uma série de prejuízos a nível celular e tecidual, como comprometimento da produção aeróbica de ATP, apoptose de células imunológicas, disfunção múltipla de órgãos e morte.^{52,54} Adicionalmente, as EROs podem interagir diretamente com as células endoteliais, aumentando a permeabilidade vascular e, conseqüentemente, agravando a hipotensão e diminuindo a pressão coloidosmótica do plasma, o que potencialmente prejudica a perfusão e entrega de oxigênio aos órgãos.²⁰

Nesse sentido, considerando o papel essencial da tiamina no metabolismo energético e na diminuição do estresse oxidativo, as bases fisiológicas e os raciais bioquímicos para sua reposição no choque séptico são pertinentes. Infelizmente, os estudos clínicos disponíveis até o momento, incluindo o nosso, não validam essa hipótese.

Por essa razão, mais recentemente, o conceito da administração de um ‘coquetel’ de micronutrientes - combinação de vitaminas, minerais e/ou oligoelementos - tem ganhado destaque em oposição à suplementação de um micronutriente isoladamente. Essa hipótese considera a interação fisiológica entre os micronutrientes e sua complexa interdependência metabólica como uma potencial terapia adjuvante na doença crítica, capaz de modular a função mitocondrial e o estresse oxidativo.^{55,56}

Da mesma forma que ocorre com a tiamina, os estudos que administraram os “coquetéis” apresentam resultados conflitantes. Até o momento, um único estudo mostrou benefício na suplementação conjunta de vitamina C, hidrocortisona e tiamina.³⁸ Neste trabalho, os pacientes com choque séptico receberam por via intravenosa combinação de tiamina (200 mg, 12h/12h), vitamina C (1,5 g, 6h/6h) e hidrocortisona (50 mg, 6h/6h) durante 4 dias. Supreendentemente, o grupo que recebeu o tratamento apresentou expressiva redução de mortalidade (8,5% vs. 40,4%; $p < 0,001$), além melhores desfechos clínicos, como menor progressão à disfunção de órgãos e redução no tempo de uso de vasopressor. Entretanto, importantes limitações envolveram este trabalho,

como o pequeno número amostral ($n = 47$), ausência de randomização e cegamento dos pesquisadores, além de incluir pacientes de um único centro. Posteriormente, o estudo multicêntrico VITAMINS⁴² avaliou a eficácia deste mesmo protocolo em pacientes com choque séptico, apresentando resultados nulos em relação à administração do coquetel, assim como observado em outros estudos subsequentes.^{39,57}

Por fim, como limitações do estudo, podemos destacar a inclusão de pacientes em um único centro e a diferença dos valores iniciais de creatinina entre os grupos, a despeito da randomização. Apesar do resultado nulo em relação à suplementação de tiamina em pacientes com choque séptico, este estudo destaca-se por ter incluído número amostral maior que os outros dois estudos clínicos prévios e ter realizado avaliações seriadas das concentrações plasmáticas de tiamina, assegurando que os pacientes alocados no grupo suplementação de fato receberam a droga.

Conclusão

A suplementação de tiamina na dose de 400mg/dia por 5 dias não apresentou efeito na mortalidade em pacientes com choque séptico.

Referências

1. Machado FR, Cavalcanti AB, Bozza FA, et al. The epidemiology of sepsis in Brazilian intensive care units (the Sepsis PREvalence Assessment Database, SPREAD): an observational study. *Lancet Infect Dis*. 2017;17(11):1180-1189. doi:10.1016/S1473-3099(17)30322-5
2. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016;315(8):801-810. doi:10.1001/jama.2016.0287
3. Notícias - ILAS - Instituto Latino-Americano de Sese. Accessed January 18, 2021. <https://ilas.org.br/interacao/>
4. Conde KAP, Silva E, Silva CO, et al. Differences in sepsis treatment and outcomes between public and private hospitals in Brazil: a multicenter observational study. *PloS One*. 2013;8(6):e64790. doi:10.1371/journal.pone.0064790
5. Cardoso LTQ, Grion CMC, Matsuo T, et al. Impact of delayed admission to intensive care units on mortality of critically ill patients: a cohort study. *Crit Care Lond Engl*. 2011;15(1):R28. doi:10.1186/cc9975
6. Barreto MFC, Dellarozza MSG, Kerbaux G, Grion CMC. Sepsis in a university hospital: a prospective study for the cost analysis of patients' hospitalization. *Rev Esc Enferm USP*. 2016;50:0302-0308. doi:10.1590/S0080-623420160000200017
7. Taeb AM, Hooper MH, Marik PE. Sepsis: Current Definition, Pathophysiology, Diagnosis, and Management. *Nutr Clin Pract Off Publ Am Soc Parenter Enter Nutr*. 2017;32(3):296-308. doi:10.1177/0884533617695243
8. Angus DC, van der Poll T. Severe Sepsis and Septic Shock. *N Engl J Med*. 2013;369(9):840-851. doi:10.1056/NEJMr1208623
9. Font MD, Thyagarajan B, Khanna AK. Sepsis and Septic Shock - Basics of diagnosis, pathophysiology and clinical decision making. *Med Clin North Am*. 2020;104(4):573-585. doi:10.1016/j.mcna.2020.02.011
10. Cecconi M, Evans L, Levy M, Rhodes A. Sepsis and septic shock. *The Lancet*. 2018;392(10141):75-87. doi:10.1016/S0140-6736(18)30696-2

11. Hotchkiss RS, Moldawer LL, Opal SM, Reinhart K, Turnbull IR, Vincent JL. Sepsis and septic shock. *Nat Rev Dis Primer*. 2016;2(1):1-21. doi:10.1038/nrdp.2016.45
12. Lelubre C, Vincent JL. Mechanisms and treatment of organ failure in sepsis. *Nat Rev Nephrol*. 2018;14(7):417-427. doi:10.1038/s41581-018-0005-7
13. Armstrong BA, Betzold RD, May AK. Sepsis and Septic Shock Strategies. *Surg Clin North Am*. 2017;97(6):1339-1379. doi:10.1016/j.suc.2017.07.003
14. Russell JA, Rush B, Boyd J. Pathophysiology of Septic Shock. *Crit Care Clin*. 2018;34(1):43-61. doi:10.1016/j.ccc.2017.08.005
15. Harrois A, Huet O, Duranteau J. Alterations of mitochondrial function in sepsis and critical illness. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2009;22(2):143-149. doi:10.1097/ACO.0b013e328328d1cc
16. Arulkumaran N, Deutschman CS, Pinsky MR, et al. Mitochondrial Function in Sepsis. *Shock Augusta Ga*. 2016;45(3):271-281. doi:10.1097/SHK.0000000000000463
17. Carré JE, Orban JC, Re L, et al. Survival in critical illness is associated with early activation of mitochondrial biogenesis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010;182(6):745-751. doi:10.1164/rccm.201003-0326OC
18. Brealey D, Brand M, Hargreaves I, et al. Association between mitochondrial dysfunction and severity and outcome of septic shock. *Lancet Lond Engl*. 2002;360(9328):219-223. doi:10.1016/S0140-6736(02)09459-X
19. Corda S, Laplace C, Vicaut E, Duranteau J. Rapid reactive oxygen species production by mitochondria in endothelial cells exposed to tumor necrosis factor-alpha is mediated by ceramide. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2001;24(6):762-768. doi:10.1165/ajrcmb.24.6.4228
20. Prauchner CA. Oxidative stress in sepsis: Pathophysiological implications justifying antioxidant co-therapy. *Burns J Int Soc Burn Inj*. 2017;43(3):471-485. doi:10.1016/j.burns.2016.09.023
21. Pool R, Gomez H, Kellum JA. Mechanisms of Organ Dysfunction in Sepsis. *Crit Care Clin*. 2018;34(1):63-80. doi:10.1016/j.ccc.2017.08.003

22. Levy MM, Evans LE, Rhodes A. The Surviving Sepsis Campaign Bundle: 2018 update. *Intensive Care Med.* 2018;44(6):925-928. doi:10.1007/s00134-018-5085-0
23. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Crit Care Med.* 2017;45(3):486-552. doi:10.1097/CCM.0000000000002255
24. Costa NA, Gut AL, de Souza Dorna M, et al. Serum thiamine concentration and oxidative stress as predictors of mortality in patients with septic shock. *J Crit Care.* 2014;29(2):249-252. doi:10.1016/j.jcrc.2013.12.004
25. Moskowitz A, Donnino MW. Thiamine (vitamin B1) in septic shock: a targeted therapy. *J Thorac Dis.* 2020;12(Suppl 1):S78-S83. doi:10.21037/jtd.2019.12.82
26. Miyamoto Y, Aso S, Iwagami M, et al. Association Between IV Thiamine and Mortality in Patients With Septic Shock: A Nationwide Observational Study. *Crit Care Med.* 2020;Publish Ahead of Print:1. doi:10.1097/CCM.0000000000004394
27. Costa NA, Azevedo PS, Polegato BF, Zornoff LAM, Paiva SAR, Minicucci MF. Thiamine as a metabolic resuscitator in septic shock: one size does not fit all. *J Thorac Dis.* 2016;8(6):E471-472. doi:10.21037/jtd.2016.04.29
28. Wooley J. Characteristics of Thiamin and Its Relevance to the Management of Heart Failure. *Nutr Clin Pract Off Publ Am Soc Parenter Enter Nutr.* 2008;23:487-493. doi:10.1177/0884533608323430
29. Polegato BF, Pereira AG, Azevedo PS, et al. Role of Thiamin in Health and Disease. *Nutr Clin Pract Off Publ Am Soc Parenter Enter Nutr.* 2019;34(4):558-564. doi:10.1002/ncp.10234
30. Manzanares W, Hardy G. Thiamine supplementation in the critically ill. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2011;14(6):610-617. doi:10.1097/MCO.0b013e32834b8911
31. Depeint F, Bruce WR, Shangari N, Mehta R, O'Brien PJ. Mitochondrial function and toxicity: role of the B vitamin family on mitochondrial energy metabolism. *Chem Biol Interact.* 2006;163(1-2):94-112. doi:10.1016/j.cbi.2006.04.014

32. Frank LL. Thiamin in Clinical Practice. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2015;39(5):503-520. doi:10.1177/0148607114565245
33. Donnino MW, Carney E, Cocchi MN, et al. Thiamine deficiency in critically ill patients with sepsis. *J Crit Care.* 2010;25(4):576-581. doi:10.1016/j.jcrc.2010.03.003
34. Cruickshank AM, Telfer AB, Shenkin A. Thiamine deficiency in the critically ill. *Intensive Care Med.* 1988;14(4):384-387. doi:10.1007/BF00262893
35. Donnino MW, Andersen LW, Chase M, et al. Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial of Thiamine as a Metabolic Resuscitator in Septic Shock: A Pilot Study. *Crit Care Med.* 2016;44(2):360-367. doi:10.1097/CCM.0000000000001572
36. Petsakul S, Morakul S, Tangsujaritvijit V, Kunawut P, Singhatas P, Sanguanwit P. Effects of thiamine on vasopressor requirements in patients with septic shock: a prospective randomized controlled trial. *BMC Anesthesiol.* 2020;20(1):280. doi:10.1186/s12871-020-01195-4
37. Woolum JA, Abner EL, Kelly A, Thompson Bastin ML, Morris PE, Flannery AH. Effect of Thiamine Administration on Lactate Clearance and Mortality in Patients With Septic Shock*. *Crit Care Med.* 2018;46(11):1747-1752. doi:10.1097/CCM.00000000000003311
38. Marik PE, Khangoora V, Rivera R, Hooper MH, Catravas J. Hydrocortisone, Vitamin C, and Thiamine for the Treatment of Severe Sepsis and Septic Shock: A Retrospective Before-After Study. *Chest.* 2017;151(6):1229-1238. doi:10.1016/j.chest.2016.11.036
39. Moskowitz A, Huang DT, Hou PC, et al. Effect of Ascorbic Acid, Corticosteroids, and Thiamine on Organ Injury in Septic Shock: The ACTS Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2020;324(7):642-650. doi:10.1001/jama.2020.11946
40. Vail EA, Wunsch H, Pinto R, et al. Use of Hydrocortisone, Ascorbic Acid, and Thiamine in Adults with Septic Shock. *Am J Respir Crit Care Med.* 2020;202(11):1531-1539. doi:10.1164/rccm.202005-1829OC
41. Iglesias J, Vassallo AV, Patel VV, Sullivan JB, Cavanaugh J, Elbaga Y. Outcomes of Metabolic Resuscitation Using Ascorbic Acid, Thiamine, and Glucocorticoids

- in the Early Treatment of Sepsis: The ORANGES Trial. *Chest*. 2020;158(1):164-173. doi:10.1016/j.chest.2020.02.049
42. Fujii T, Luethi N, Young PJ, et al. Effect of Vitamin C, Hydrocortisone, and Thiamine vs Hydrocortisone Alone on Time Alive and Free of Vasopressor Support Among Patients With Septic Shock: The VITAMINS Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2020;323(5):423-431. doi:10.1001/jama.2019.22176
 43. Machado FR, Cavalcanti AB, Bozza FA, et al. The epidemiology of sepsis in Brazilian intensive care units (the Sepsis PREvalence Assessment Database, SPREAD): an observational study. *Lancet Infect Dis*. 2017;17(11):1180-1189. doi:10.1016/S1473-3099(17)30322-5
 44. Costa NA, Gut AL, de Souza Dorna M, et al. Serum thiamine concentration and oxidative stress as predictors of mortality in patients with septic shock. *J Crit Care*. 2014;29(2):249-252. doi:10.1016/j.jcrc.2013.12.004
 45. Talwar D, Davidson H, Cooney J, St JO'Reilly D. Vitamin B(1) status assessed by direct measurement of thiamin pyrophosphate in erythrocytes or whole blood by HPLC: comparison with erythrocyte transketolase activation assay. *Clin Chem*. 2000;46(5):704-710.
 46. Mascher HJ, Kikuta C. [10] High-performance liquid chromatography determination of total thiamin in human plasma. In: *Methods in Enzymology*. Vol 279. Vitamins and Coenzymes Part I. Academic Press; 1997:83-90. doi:10.1016/S0076-6879(97)79012-8
 47. Holmberg MJ, Moskowitz A, Patel PV, et al. Thiamine in septic shock patients with alcohol use disorders: An observational pilot study. *J Crit Care*. 2018;43:61-64. doi:10.1016/j.jcrc.2017.08.022
 48. He J, Lin J, Duan M. Application of Machine Learning to Predict Acute Kidney Disease in Patients With Sepsis Associated Acute Kidney Injury. *Front Med*. 2021;8:2407. doi:10.3389/fmed.2021.792974
 49. Fink MP. Cytopathic hypoxia. Mitochondrial dysfunction as mechanism contributing to organ dysfunction in sepsis. *Crit Care Clin*. 2001;17(1):219-237. doi:10.1016/s0749-0704(05)70161-5

50. Fan H, Le JW, Sun M, Zhu JH. Sirtuin 3 deficiency promotes acute kidney injury induced by sepsis via mitochondrial dysfunction and apoptosis. *Iran J Basic Med Sci.* 2021;24(5):675-681. doi:10.22038/ijbms.2021.54905.12312
51. Moskowitz A, Andersen LW, Cocchi MN, Karlsson M, Patel PV, Donnino MW. Thiamine as a Renal Protective Agent in Septic Shock. A Secondary Analysis of a Randomized, Double-Blind, Placebo-controlled Trial. *Ann Am Thorac Soc.* 2017;14(5):737-741. doi:10.1513/AnnalsATS.201608-656BC
52. Zhang H, Feng Y wen, Yao Y ming. Potential therapy strategy: targeting mitochondrial dysfunction in sepsis. *Mil Med Res.* 2018;5(1):41. doi:10.1186/s40779-018-0187-0
53. Preau S, Vodovar D, Jung B, et al. Energetic dysfunction in sepsis: a narrative review. *Ann Intensive Care.* 2021;11(1):104. doi:10.1186/s13613-021-00893-7
54. Liu D, Ke Z, Luo J. Thiamine Deficiency and Neurodegeneration: The Interplay among Oxidative Stress, Endoplasmic Reticulum Stress and Autophagy. *Mol Neurobiol.* 2017;54(7):5440-5448. doi:10.1007/s12035-016-0079-9
55. Berger MM, Manzanares W. Micronutrients early in critical illness, selective or generous, enteral or intravenous? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2021;24(2):165-175. doi:10.1097/MCO.0000000000000724
56. Wald EL, Badke CM, Hintz LK, Spewak M, Sanchez-Pinto LN. Vitamin therapy in sepsis. *Pediatr Res.* Published online July 31, 2021:1-9. doi:10.1038/s41390-021-01673-6
57. Sevransky JE, Rothman RE, Hager DN, et al. Effect of Vitamin C, Thiamine, and Hydrocortisone on Ventilator- and Vasopressor-Free Days in Patients With Sepsis: The VICTAS Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2021;325(8):742-750. doi:10.1001/jama.2020.24505

Produção Científica

1. Costa NA, **Pereira AG**, Sugizaki C, Vieira NM, et al. Insights into thiamine supplementation in patients with septic shock. *Front Med*, 2022.
2. de Souza Ramos JTG, Ferrari FS, Andrade MF, de Melo CS, Boas PJFV, Costa NA, **Pereira AG**, et al. Association between frailty and C-terminal agrin fragment with 3-month mortality following ST-elevation myocardial infarction. *Exp Gerontol*. 158:111658, 2022.
3. Costa NA, Minicucci MF, **Pereira AG**, et al. Current perspectives on defining and mitigating frailty in relation to critical illness. *Clinical Nutrition* 5430 - 5437, 2021.
4. Pereira RF, Tessarin GWL, **Pereira AG**, Chiba FY, et al. Apical periodontitis promotes insulin resistance and alters adaptive immunity markers in rats. *Saudi Dent J*. 2021.
5. Costa N, **Pereira AG**, Dorna MS, et al. Meal timing and frequency implications in the development and prognosis of chronic kidney disease. *Nutrition*. 91 - 92, 2021.
6. Ribeiro APD, **Pereira AG**, Todo MC, Fujimori ASS, et al. 'Pera' orange (*Citrus sinensis*) and 'Moro' orange juice (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) attenuates left ventricular dysfunction and oxidative stress and improves myocardial energy metabolism in acute doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Nutriton* 91-92, 2021.
7. **Pereira AG**, Costa NA, Gut AL, Azevedo PS, Tanni SE, Mamede Zornoff LA, Rupp de Paiva SA, Polegato BF, Minicucci MF. Urea to albumin ratio is a predictor of mortality in patients with septic shock. *Clin Nutr ESPEN*. 42:361-365, 2021.
8. **Pereira AG**, Costa NA, Vulcano DSB et al. Association between GLIM criteria for diagnosis of malnutrition and hospital mortality in patients receiving parenteral nutrition. *Nutrire* 46, 9, 2021.
9. **Pereira AG**, Garzesi AM, Paiva SAR, Polegato BF. Pre-Clinical Meta-Analysis: Another Brick in the Wall. *Arq. Bras. Cardiol.*, v. 115, n. 5, p. 894-895, 2020.

10. Costa NA, Polegato BF, **Pereira AG**, et al. Evaluation of peptidylarginine deiminase 4 and PADI4 polymorphisms in sepsis-induced acute kidney injury. *Rev. Assoc. Med. Bras.* 66 (11) 2020.
11. Polegato BF, **Pereira AG**, Azevedo PS, Costa NA, Zornoff LAM, Paiva SAR, Minicucci MF. Role of thiamine in health and disease. *Nutr Clin Pract.*, v. 00, p. 1, 2019.
12. Cooper-Capetini V, **Pereira AG**, Lins BB, Silva-Junior JS, et al. A Utilização de Vídeos no Ensino: Uma experiência prática com alunos de graduação. *Revista de Graduação USP*, v. 2, p. 107-113, 2017.
13. **Pereira AG**, Chiba FY, de Lima Coutinho Mattera MS, Pereira RF, Nunes RCA, Tsosura TVS, Okamoto R, Sumida DH. Effects of fluoride on insulin signaling and bone metabolism in ovariectomized rats. *J Trace Elem Med Biol.*, v. 39, p. 140-146, 2017.
14. Nunes RCA, Chiba FY, **Pereira AG**, Pereira RF, Ervolino E, Louzada MJ, Buzalaf MA, Silva CA, Sumida DH. Effect of sodium fluoride on bone biomechanical and histomorphometric parameters and on insulin signaling and insulin sensitivity in ovariectomized rats. *Biol Trace Elem Res.*, v. 1, p. 1, 2016.
15. Ferreira GS, Pinto MK, Neto MG, Ponsano EHG, Gonçalves CA, Bossolani ILC, **Pereira AG**. Accurate adjustment of energy level in broiler chickens diet for controlling the performance and the lipid composition of meat. *Ciência Rural (UFSC. Impresso)*, v. 45, p. 104-110, 2015.