

## Influência da Terapia com Espironolactona sobre Níveis Sangüíneos de Tiamina em Pacientes com Insuficiência Cardíaca

*Influence of Spironolactone Therapy on Thiamine Blood Levels in Patients with Heart Failure*

Ricardo Mourilhe Rocha<sup>1</sup>, Guilherme Vianna e Silva<sup>2</sup>, Denilson Campos de Albuquerque<sup>1</sup>, Bernardo Rangel Tura<sup>1</sup>, Francisco Manes Albanesi Filho<sup>1</sup>

Hospital Universitário Pedro Ernesto - Universidade do Estado do Rio de Janeiro<sup>1</sup>, Rio de Janeiro - Brasil; Texas Heart Institute - Baylor College of Medicine<sup>2</sup>, Texas - USA

### Resumo

**Fundamento:** Estudos do manejo não-farmacológico da insuficiência cardíaca (IC) têm sido muito escassos. A importância de micronutrientes como tiamina há muito é conhecida, uma vez que sua deficiência está associada com o desenvolvimento de IC de alto débito.

**Objetivo:** Nós estudamos a relação entre adicionar à inibição da ECA uma supressão adicional da aldosterona com espironolactona e níveis sangüíneos de tiamina (pmol/ml).

**Métodos:** Um total de 22 pacientes (pc) com IC (classes III/IV da NYHA) foi dividido em dois grupos [grupo I - espironolactona 25mg/dia (n=11) e grupo II - sem espironolactona (n=11)]. Determinamos os níveis de tiamina pelo uso da atividade da transcetolase eritrocitária. Os grupos foram comparados com relação à ingesta alimentar, demografia, doses de furosemida e níveis sangüíneos de tiamina, usando os testes de Mann-Whitney e t de Student. Analisamos as proporções com testes de qui-quadrado e de Kruskal-Wallis para associarmos a tiamina com fatores demográficos e usamos as doses de furosemida como variáveis dependentes.

**Resultados:** Os grupos I e II eram similares em relação à ingesta alimentar, doses diárias de furosemida (110,9±30,2 e 105,5±26,9 mg, respectivamente; p>0,05), demografia (etiologia, idade, hipertensão, diabetes, tabagismo, abuso de álcool, dislipidemia e tratamento adjuvante da IC com drogas). Os pacientes do grupo I mostraram níveis de tiamina significativamente superiores, comparados com aqueles do grupo II (277,2±89,8 e 154,7±35,7, respectivamente) (p<0,001). Nenhuma das variáveis dependentes citadas acima estava associada com a tiamina.

**Conclusão:** Em uma coorte de pacientes ambulatoriais com IC tratados com alta dose de diuréticos de alça, o uso de espironolactona está associado com níveis sangüíneos superiores de tiamina. A importância deste achado ainda deverá ser estabelecida por estudos futuros com desenho prospectivo e amostras maiores. (Arq Bras Cardiol 2008; 90(5): 355-359)

**Palavras-chave:** Espironolactona/uso terapêutico, tiamina/sangue, baixo débito cardíaco.

### Summary

**Background:** The nonpharmacological management of heart failure (HF) has been understudied. The importance of micronutrients such as thiamine has long been known since its deficiency is associated with the development of high-output HF.

**Objective:** We studied the relationship between adding to ACE inhibition further aldosterone suppression with spironolactone and thiamine blood levels (pmol/ml).

**Methods:** A total of 22 patients (pts) with HF (NYHA III/IV) were divided in two groups [group I-spironolactone 25mg/qd (n=11) and group II - no spironolactone (n=11)]. Thiamine levels were determined using the erythrocyte transketolase activity. The groups were compared regarding food intake, demographics, furosemide doses and thiamine blood levels using Mann-Whitney and student's T-test. The proportions were analyzed with Chi-square and Kruskal-Wallis tests to associate thiamine with demographics and furosemide doses as dependent variables.

**Results:** Group I and II were similar regarding food intake, daily furosemide doses (110.9±30.2 and 105.5±26.9 mg, respectively; p>0.05), demographics (etiology, age, hypertension, diabetes, smoking, alcohol abuse, dyslipidemia and adjuvant drug HF treatment). Pts in group I showed significantly higher thiamine levels when compared to pts in group II (277.2±89.8 and 154.7±35.7, respectively) (p<0.001). None of the dependent variables cited above were associated with thiamine.

**Conclusion:** In a cohort of ambulatory HF patients on high dose of loop diuretics, the use of spironolactone is associated with higher thiamine blood levels. The significance of this finding remains to be established by future studies with prospective design and larger sample sizes. (Arq Bras Cardiol 2008; 90(5): 324-328)

**Key words:** Spironolactone/therapeutic use; thiamine/blood; cardiac output, low.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Correspondência: Ricardo Mourilhe Rocha •

Avenida 28 de Setembro, 389 sala 604 - Vila Isabel - 20551-030, Rio de Janeiro, RJ - Brasil  
E-mail: rmourilhe@cardiol.br, rmourilhe@openlink.com.br

Artigo recebido em 11/10/07; revisado recebido em 22/10/07; aceito em 26/10/07.

## Introdução

A insuficiência cardíaca descompensada (ICD) é uma entidade altamente prevalente e uma causa importante de óbitos e hospitalizações em países industrializados<sup>1-3</sup>.

O papel adverso de níveis aumentados de aldosterona na fisiopatologia da ICD foi estabelecido de forma definitiva.

Além de suas propriedades mineralocorticóides clássicas, resultando em retenção hídrica e sódica, a aldosterona tem efeitos sobre a remodelagem vascular, disfunção da célula endotelial e barorreceptores, reduz a variabilidade da frequência cardíaca, inibe a captação da norepinefrina pelo miocárdio e induz fibrose cardíaca<sup>4-10</sup>.

Isso levou à estratégia de supressão neurohumoral no manejo da insuficiência cardíaca e a importância clínica de adicionar um antagonista de aldosterona (espironolactona) ao regime de droga para a ICD foi demonstrada no estudo *Randomized Aldactone Evaluation Study* (RALES), com uma redução de 30% na mortalidade<sup>11</sup>.

Entretanto, os estudos do manejo não-farmacológico de ICD têm sido insuficientes, e embora uma dieta rica em sódio seja considerada habitualmente como nociva, pouco sabemos sobre outros micronutrientes, como vitaminas. A tiamina (vitamina B1) é ligada tradicionalmente à doença cardiovascular, uma vez que sua deficiência leva a uma forma bem conhecida de insuficiência cardíaca de alto débito (beribéri), potencialmente reversível quando níveis sanguíneos de tiamina são restaurados.

O uso de altas doses de diuréticos de alça em pacientes com ICD está associado com espoliação das reservas de tiamina e tem sido relatado desde o fim da década de 70<sup>12-16</sup>. Em um desses estudos,<sup>14</sup> a reposição de tiamina causou um aumento médio de 13% na fração de ejeção ventricular esquerda.

Em um estudo anterior,<sup>17</sup> os investigadores observaram um possível efeito da espironolactona como poupadora da espoliação de tiamina induzida pela furosemida.

Portanto, o desenho deste estudo visa investigar a relação entre níveis sanguíneos de tiamina e o uso de espironolactona em pacientes com insuficiência cardíaca crônica de moderada a grave.

## Métodos

### Desenho do estudo

Este é um estudo observacional transversal com acompanhamento de vinte e dois pacientes de uma coorte ambulatorial de uma clínica de IC de um hospital universitário com atendimento terciário. A coleta de dados dos pacientes foi realizada entre julho de 2001 e setembro de 2001. Pacientes ambulatoriais de qualquer sexo, com idades entre 48 e 81 anos, apresentando sintomas e evidências objetivas de insuficiência cardíaca crônica (fração de ejeção ventricular esquerda <0,40 e congestão venosa pulmonar e/ou edema) eram elegíveis para ingresso no estudo. Todos os pacientes tinham insuficiência cardíaca em classe III ou IV (NYHA). Todos os pacientes usavam altas doses de furosemida (>80mg/dia) e inibidores da ECA; além disso, a maioria dos pacientes tomava betabloqueadores.

A ingesta alimentar habitual foi avaliada pelo uso de um questionário semiquantitativo validado de frequência alimentar, mas não existem questionários validados para avaliação do consumo de tiamina. Os pacientes responderam sobre aproximadamente 60 itens alimentares. Nós usamos ilustrações de alimentos para a melhor identificação. Cada alimento apresentava uma porção correspondente, e cada porção apresentava o peso correspondente. A quantidade de alimentos consumidos foi quantificada pela multiplicação da frequência diária de consumo pelo número de porções consumidas e seus pesos correspondentes. Uma questão qualitativa (com respostas de “sim” ou “não”) foi usada para avaliarmos o consumo de suplementos vitamínicos. Os pacientes também responderam a um questionário envolvendo doenças concomitantes (espru celíaco, causas de má absorção intestinal, presença de diarreia crônica e outras doenças crônicas, por ex., neoplasia), abuso atual de álcool e cirurgias anteriores para evitar variáveis de confusão. Outros critérios de exclusão eram insuficiência renal (creatinina sérica > 2,5mg/dl) e pacientes caquéticos.

Todos os participantes assinaram o termo de consentimento informado para a participação no estudo, e o Comitê Local de Ética aprovou o protocolo de estudo, incluindo a coleta de sangue.

Nós registramos os fatores demográficos (etiologia da insuficiência cardíaca, sexo, hipertensão, diabetes melito, tabagismo e hipercolesterolemia), juntamente com terapia médica atual, por exemplo, a furosemida.

Os pacientes foram divididos em dois grupos, de acordo com o uso de espironolactona: 1) grupo I – com espironolactona (25 mg v.o. /dia) e 2) grupo II – sem espironolactona, sendo posteriormente comparados com relação à ingesta alimentar, fatores demográficos e níveis sanguíneos de tiamina. Além disso, os grupos foram pareados para idade, sexo e cor da pele.

### Avaliação bioquímica dos níveis sanguíneos de tiamina

Entre 8 e 10 horas da manhã, após jejum noturno, coletamos sangue venoso (6 ml) de cada paciente em tubos contendo EDTA. Após a coleta, as amostras sanguíneas foram colocadas imediatamente em uma caixa refrigerada escura, até chegarem ao laboratório. A concentração de hemoglobina foi determinada no período de 2-3 h após a coleta do sangue. Executamos a análise da hemoglobina com o método de cianometemoglobina (INACC 1985). O estado da tiamina foi determinado pela medição da atividade da transcetolase eritrocitária (ETK)<sup>18,19</sup>.

A atividade basal da ETK e sua atividade após o acréscimo de pirofosfato de tiamina (TPP) foram usadas para o cálculo do efeito de TPP, que é considerado um indicador do estado de tiamina. O coeficiente de variação para a atividade basal da ETK é de 5% para análises no mesmo dia ou em dias intermediários. Os valores correspondentes para a atividade de ETK são de 2 e 4%, respectivamente. Os níveis de TPP eritrocitária foram analisados através do conceito de recombinação de apoenzima e são exibidos em pmol/ml<sup>20</sup>.

### Análise estatística

Os dados são apresentados como média±DP.

Os grupos do estudo foram comparados com relação à ingestão alimentar, dados demográficos, doses de furosemida e níveis sanguíneos de tiamina, pelos testes *t* de Student, ou de Mann-Whitney. Analisamos as proporções com testes de qui-quadrado e de Kruskal-Wallis para associar os níveis de tiamina com fatores demográficos e as doses de furosemida como variáveis dependentes. Não incluímos uma análise multivariada porque esta não era necessária.

Considerando que os pacientes que usavam espironolactona (25mg v.o./dia) deveriam ter níveis de tiamina 25% superiores aos do outro grupo, precisávamos de 10 pacientes em cada grupo para termos 95% de intervalo de confiança ( $\alpha=0,05$ ) e 80% de poder estatístico ( $\beta=20\%$ ).

### Resultados

O número total de pacientes (pc) inscritos foi de 22, com idades variando dos 48 aos 81 anos ( $62,6\pm 8,6$  anos). As características dos pacientes na linha-base eram as seguintes: 15 pas (68,2%) eram homens, 13 (59,1%) tinham hipertensão, 8 (36,4%) tinham diabetes melito, 7 (31,8%) eram tabagistas, nenhum (0%) admitiu abuso de álcool e 6 (27,3%) tinham hipercolesterolemia. Os pacientes estavam de moderada a gravemente sintomáticos [classe NYHA: III, 14 pacientes (63,6%); IV, 8 pacientes (36,4%)]. A doença cardíaca isquêmica era a causa mais comum de IC (11 pc – 50,0%), seguida por etiologias como hipertensão (7 pc – 31,8%), idiopática (2 pc – 9,1%) e álcool (2 pc – 9,1%). Drogas adjuvantes para a IC na época da inscrição no estudo incluíam inibidores da ECA (22 pc – 100%), betabloqueadores (19 pc – 86,3%), diuréticos (22 pc – 100%), digitalis (7 pc – 31,8%), amiodarona (2 pc – 9%) e nitratos (11 pc – 50%).

O grupo I compreendia 11 pacientes (50,0%) e o grupo II, 11 pacientes (50,0%). Ao compararmos os grupos I e II usando as variáveis citadas acima, não encontramos diferença estatística, incluindo doses diárias de furosemida (mg) ( $110,9\pm 30,2$ mg e  $105,5\pm 26,9$ mg, respectivamente;  $p=0,66$ ) (figura 1), doses de inibidores da ECA (mg) (captopril; grupo I –  $97,7\pm 68,9$ mg e grupo II –  $86,4\pm 49,2$ mg;  $p> 0,05$ ), outro tratamento adjuvante com droga para IC ou consumo de tiamina na dieta. As características mais importantes de ambos os grupos são descritas na tabela 1.

Os pacientes em terapia com espironolactona (grupo I) mostraram níveis sanguíneos de tiamina significativamente superiores, comparados com aqueles do grupo II ( $277,2\pm 89,8$  pmol/ml e  $154,7\pm 35,7$ , pmol/ml, respectivamente) ( $p<0,001$ ) (figura 2).

### Discussão

A importância da nutrição adequada na doença cardíaca crônica e seu valor prognóstico há muito são reconhecidos<sup>21-22</sup>.

Dentre os diferentes nutrientes, as vitaminas, como um grupo, há muito são estudadas e apresentam diferentes contribuições para a doença cardiovascular<sup>16</sup>.

A tiamina é uma vitamina do complexo B, solúvel em água;

Tabela 1 - Características demográficas por grupo

Características	Grupo I – com espironolactona (n=11)	Grupo II – sem espironolactona (n=11)	p
% por gênero (n)			
Masculino	72,7 (8)	63,6 (7)	1,0
Feminino	27,3 (3)	36,4 (4)	
% de cor da pele (n)			
Branca	81,8 (9)	45,5 (5)	0,183
Não-branca	18,2 (3)	54,5 (6)	
% por Classe Funcional (CF) da NYHA (n)			
CF III	54,5 (6)	72,7 (8)	0,659
CF IV	45,5 (5)	27,3 (3)	
% com hipertensão (n)	72,7 (8)	45,5 (5)	0,387
% com Diabetes Melito (n)	36,4 (4)	36,4 (4)	1,0
% com doses de furosemida > 120mg/dia (n)	45,5 (5)	45,5 (5)	1,0
% com uso de betabloqueador (n)	81,8 (9)	90,9 (10)	1,0
% com uso de IECA (n)	100 (11)	100 (11)	1,0

quando fosforilada para difosfato de tiamina (ThDP), a tiamina funciona como um co-fator para enzimas que catalisam  $\alpha$ -cetoácido descarboxilase ou para a formação e clivagem de  $\alpha$ -hidróxi-cetonas<sup>23</sup>.

A tiamina exerce um importante papel na contração do miócito, como demonstrado em modelos animais experimentais<sup>13</sup>. Sua deficiência pode ser resultado de desnutrição ou abuso de álcool, levando a prejuízo no metabolismo de oxidação e à insuficiência cardíaca de alto débito (beribéri), devido ao acúmulo de piruvato e lactato que leva à intensa vasodilatação<sup>15</sup>. A resposta à restauração dos depósitos orgânicos de tiamina com frequência é a plena recuperação e baixos níveis sanguíneos totais têm sido relatados em pacientes com uso crônico de diuréticos de alça<sup>12,14</sup>.

Um estudo realizado no Brasil mostrou que a deficiência de tiamina era observada em 33% dos pacientes com doença cardíaca, comparados com 10% dos indivíduos de controle ( $p=0,02$ )<sup>24</sup>.

Sua suplementação em pacientes com IC que consomem altas doses de diuréticos resultava na melhora da fração de ejeção ventricular esquerda e aumento na pressão sistólica<sup>25</sup>.

A estratégia de bloqueio da aldosterona por diferentes drogas ainda é um marco no tratamento da IC. Este estudo aborda a relação entre somar à inibição da ECA um antagonismo adicional à aldosterona com espironolactona e níveis sanguíneos de tiamina. No grupo que recebeu espironolactona, os níveis sanguíneos de tiamina foram significativamente maiores. Nenhuma das outras variáveis estudadas mostrou qualquer relação com níveis sanguíneos de tiamina. Isto levanta a questão de uma relação potencial

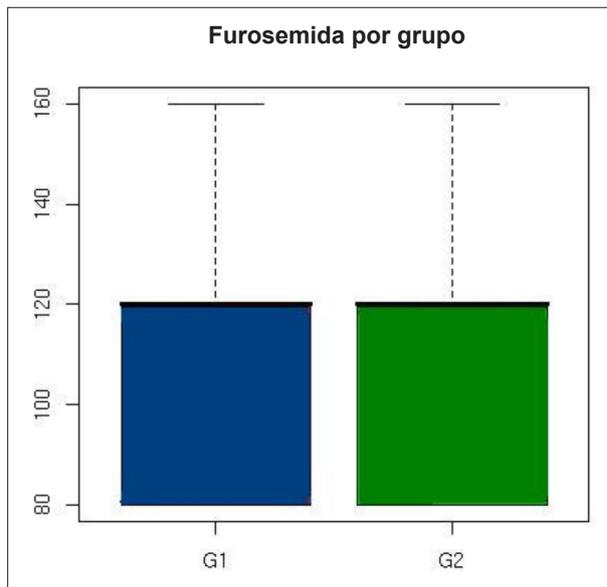


Fig. 1 - Doses de Furosemida por grupo ( $p=0,66$ ).

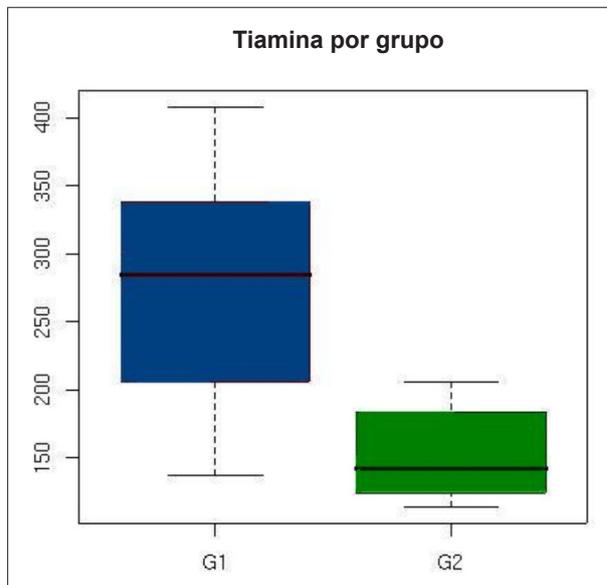


Fig. 2 - Níveis sanguíneos de tiamina por grupo (pmol/ml) ( $p<0,001$ ).

entre a supressão da aldosterona e maior absorção intestinal de tiamina e/ou excreção renal reduzida.

A tiamina no lúmen intestinal encontra-se na forma livre e em concentrações muito baixas. A entrada de tiamina no enterócito é completamente inibida por análogos de tiamina e reduzido pela administração de etanol. Gradientes de  $H^+$  orientados para fora melhoram o transporte da tiamina, cujo componente saturável é um processo eletroneuro ascendente independente de  $Na^+$  que usa energia fornecida pelo gradiente de  $H^+$  e envolve uma troca estequiométrica de 1:1 de tiamina/ $H^+$ . A saída de tiamina do enterócito, como determinada nas vesículas da membrana basolateral, é dependente de  $Na^+$ , diretamente acoplada à hidrólise de ATP

pela  $Na^+-K^+-ATPase$ . O transporte de tiamina pelas vesículas da membrana de borda em escova é similar ao transporte intestinal, na medida em que tanto a influência como a especificidade do gradiente de  $H^+$  estão envolvidos<sup>26</sup>.

Existem fortes evidências da presença de um antiporte de tiamina/ $H^+$  nas vesículas da membrana de borda em escova de ratos, com uma razão estequiométrica de 1:1<sup>27</sup>.

Os efeitos da aldosterona parecem ser mediados, em parte, pelo controle do transporte de íon através de proteínas da membrana celular, como antiportador  $Na^+/H^+$  e regulação transcricional de síntese de  $Na^+/K^+-ATPase$ <sup>28-30</sup>.

É presumível, portanto, uma possível ligação entre a supressão dos efeitos da aldosterona e espoliação reduzida de tiamina em pacientes com IC que usam altas doses de diuréticos de alça.

A reposição de tiamina resultou em melhora na fração de ejeção ventricular esquerda e aumento na pressão sistólica<sup>25</sup>. Podemos, portanto, aventar a possibilidade de que sua reposição sistemática poderia contribuir para um desempenho melhor do miocárdio em pacientes que tomam diuréticos por longo tempo e que o uso de espironolactona pode melhorar esses resultados.

Com base nesses dados, nós desenvolvemos um novo estudo prospectivo, randomizado e controlado com um tamanho de amostra maior dividido em três grupos (espironolactona mais furosemida, placebo mais furosemida e nenhum uso de diuréticos) para confirmarmos nossa hipótese e concluímos, assim, a análise final.

#### Limitações do estudo

A principal limitação do presente estudo deriva-se de seu pequeno tamanho de amostra, juntamente com seu desenho observacional trans-seccional. Por essas razões, nossos resultados devem ser considerados como geradores de hipóteses, não como conclusivos.

#### Conclusões

Em uma coorte de pacientes ambulatoriais com IC tratados com alta dose de diuréticos de alça, o uso de espironolactona está associado com níveis sanguíneos superiores de tiamina. A importância deste achado ainda deverá ser estabelecida por estudos futuros com desenho prospectivo e amostras maiores.

#### Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

#### Fontes de Financiamento

O presente estudo não teve fontes de financiamento externas.

#### Vinculação Acadêmica

Este artigo é parte de tese de doutorado de Ricardo Mourilhe Rocha pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

## Referências

1. Cowie MR, Mosterd A, Wood DA, Deckers JW, Poole-Wilson PA, Sutton GC, et al. The epidemiology of heart failure. *Eur Heart J*. 1997; 18 (2): 208-25.
2. Braunwald E. Shattuck lecture--cardiovascular medicine at the turn of the millennium: triumphs, concerns and opportunities. *N Engl J Med*. 1997;337(19):1360-9.
3. Brown AM, Cleland JG. Influence of concomitant disease on patterns of hospitalizations in patients with heart failure from Scottish hospitals in 1995. *Eur Heart J*. 1998; 19 (7): 1063-9.
4. Barr CS, Lang CC, Hanson J, Arnott M, Kennedy N, Struthers AD. Effects of adding spironolactone to an angiotensin-converting enzyme inhibitor in chronic congestive heart failure secondary to coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 1995; 76 (17): 1259-65.
5. Farquharson CA, Struthers AD. Spironolactone increases nitric oxide bioactivity, improves endothelial vasodilator dysfunction, and suppresses vascular angiotensin I/angiotensin II conversion in patients with chronic heart failure. *Circulation*. 2000; 101 (6): 594-7.
6. Zucker IH, Wang W, Brandle M, Schultz HD, Patel KP. Neural regulation of sympathetic nerve activity in heart failure. *Prog Cardiovasc Dis*. 1995; 37 (6): 397-414.
7. Young M, Head G, Funder J. Determinants of cardiac fibrosis in experimental hypermineralocorticoid states. *Am J Physiol*. 1995; 269 (4 Pt 1): E657-62.
8. Young M, Fullerton M, Dille R, Funder J. Mineralocorticoids, hypertension, and cardiac fibrosis. *J Clin Invest*. 1994; 93 (6): 2578-83.
9. Weber KT. Angiotensin II and connective tissue: homeostasis and reciprocal regulation. *Regul Pept*. 1999; 82 (1-3): 1-17.
10. Weber KT. Extracellular matrix remodeling in heart failure: a role for de novo angiotensin II generation. *Circulation*. 1997; 96 (11): 4065-82.
11. Pitt B, Zannad F, Remme WJ, Cody R, Castaigne A, Perez A, et al. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med*. 1999; 341 (10): 709-17.
12. Yui Y, Itokawa Y, Kawai C. Furosemide induced thiamine deficiency. *Cardiovasc Res*. 1980; 14 (9): 537-40.
13. Capelli V, Bottinelli R, Polla B, Reggiani C. Altered contractile properties of rat cardiac muscle during experimental thiamine deficiency and food deprivation. *J Mol Cell Cardiol*. 1990; 22 (10): 1095-106.
14. Seligmann H, Halkin H, Rauchfleisch S, Kaufmann N, Motro M, Vered Z, et al. Thiamine deficiency in patients with congestive heart failure receiving long-term furosemide therapy: a pilot study. *Am J Med*. 1991; 91 (2): 151-5.
15. Lip GY, Gibbs CR, Beevers DG. ABC of heart failure: aetiology. *BMJ*. 2000; 320 (7227): 104-7.
16. Witte KK, Clark AL, Cleland JG. Chronic heart failure and micronutrients. *J Am Coll Cardiol*. 2001; 37 (7): 1765-74.
17. Cunha S, Albanesi F<sup>o</sup> FM. Espoliação por tiamina com o uso de diuréticos na cardiomiopatia dilatada. *Arq Bras Cardiol*. 2000; 74 (supl. 1): 80.
18. Brin M. Functional evaluation of nutritional status: thiamin. In: Albanesi AA, ed. *Newer methods of nutritional biochemistry*. New York: Academic Press; 1967. p. 407-45.
19. Schouten H, Statiusvaneps LW, Struykerboudier AM. Transketolase in blood. *Clin Chim Acta*. 1964; 10: 474-6.
20. Fidanza F. Vitamin nutritive methodology. In: *Nutritional status assessment: a manual for population studies*. London: Chapman & Hall; 1991. p. 228-43.
21. Katz AM, Katz PB. Diseases of the heart in works of Hippocrates. *Br Heart J*. 1962; 24: 257-64.
22. Anker S, Ponikowski P, Varney S, Chua TP, Clark AL, Webb-Peploe KM, et al. Wasting as an independent risk factor for mortality in chronic heart failure. *Lancet*. 1997; 349 (9058): 1050-3.
23. Voet D, Voet JG. *Biochemistry*. New York: John Wiley & Sons; 1990.
24. Cunha S, Albanesi Filho FM, Bastos VLF, Antelo DS, Souza MM. Thiamin, selenium, and copper levels in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy taking diuretics. *Arq Bras Cardiol*. 2002; 79 (5): 460-5.
25. Shimon I, Almog S, Vered Z, Seligmann H, Shefi M, Peleg E, et al. Improved left ventricular function after thiamine supplementation in patients with congestive heart failure receiving long-term furosemide therapy. *Am J Med*. 1995; 98 (5): 485-90.
26. Rindi G, Laforenza U. Thiamine intestinal transport and related issues: recent aspects. *Proc Soc Exp Biol Med*. 2000; 224 (4): 246-55.
27. Gastaldi G, Cova E, Verri A, Laforenza U, Faelli A, Rindi G. Transport of thiamin in rat renal brush border membrane vesicles. *Kidney Int*. 2000; 57 (5): 2043-54.
28. Horisberger JD, Rossier BC. Aldosterone regulation of gene transcription leading to control of ion transport. *Hypertension*. 1992; 19 (3): 221-7.
29. Christ M, Douwes K, Eisen C, Bechtner G, Theisen K, Wehling M. Rapid effects of aldosterone on sodium transport in vascular smooth muscle cells. *Hypertension*. 1995; 25 (1): 117-23.
30. Wang W, McClain JM, Zucker IH. Aldosterone reduces baroreceptor discharge in the dog. *Hypertension*. 1992; 19 (3): 270-7.