

## Análise do Metabolismo do Ferro na Cardiomiopatia Chagásica Crônica

### Analysis of Iron Metabolism in Chronic Chagasic Cardiomyopathy

Carla Paixão Miranda,<sup>1</sup> Fernando Antônio Botoni,<sup>1</sup> Maria do Carmo Pereira Nunes,<sup>2</sup> Manoel Otávio da Costa Rocha<sup>1</sup>

Universidade Federal de Minas Gerais,<sup>1</sup> Belo Horizonte, MG – Brasil

Hospital das Clínicas - Universidade Federal de Minas Gerais,<sup>2</sup> Belo Horizonte, MG – Brasil

### Resumo

A alteração do metabolismo do ferro na insuficiência cardíaca (IC) tem sido descrita como um importante marcador prognóstico.

Verificar se os marcadores da cinética do ferro guardam relação com a morbidade e a etiologia da cardiomiopatia chagásica.

Pacientes com cardiomiopatia chagásica crônica (CCC, n = 40), com a forma indeterminada (IND, n = 40), além de cardiomiopatia não chagásica (NCh, n = 40).

A idade média foi de  $50,98 \pm 5,88$  no CCC, 50% eram do sexo masculino,  $49,68 \pm 5,28$  no IND, 52,2% eram do sexo masculino e  $49,20 \pm 10,09$  no NCh, 12,5% eram do sexo masculino. Observaram-se níveis de ferro (FeSe) menores no grupo CCC ( $93,15 \pm 36,53$ ), quando comparados ao IND ( $125,30 \pm 22,79$ ) e NCh ( $114,77 \pm 18,90$ ) ( $p = 0,0004$ ), índice de saturação de transferrina (IST) menor no CCC ( $29,48 \pm 6,59$ ), quando comparado ao IND ( $30,95 \pm 7,06$ ) e no grupo NCh ( $39,70 \pm 7,54$ ) ( $p = 0,0001$ ), capacidade total de ligação do ferro CTLF menor no grupo CCC ( $297,30 \pm 36,46$ ), quando comparado ao grupo IND ( $196,52 \pm 56,95$ ) e ao grupo NCh ( $275,18 \pm 33,48$ ) ( $p = 0,0001$ ), ferritina menor no grupo CCC ( $134,55, 1,56-42,36$ ), quando comparada ao grupo IND ( $156,25, 1,72 - 42,20$ ) e ao grupo NCh ( $112,95, 2,88-42,66$ ) ( $p = 0,0004$ ). Verificou-se também que o FeSe (IC 95%  $1,00-1,04$ ;  $p = 0,0014$ ), o IST (IC 95%  $1,02-1,22$ ) ( $p = 0,0012$ ) e o sexo (IC 95%  $1,07-14,43$   $p = 0,0038$ ) associaram-se independentemente ao grau de disfunção ventricular na cardiomiopatia chagásica.

Os pacientes com CCC demonstraram maior alteração no metabolismo do ferro em relação a forma indeterminada e outras formas de miocardiopatias.

### Introdução

A deficiência funcional do ferro (Fe) pode ser definida como o desbalanço entre a quantidade necessária de Fe para a síntese de hemoglobina e o seu suprimento.<sup>1</sup> Ela ocorre na ausência

### Palavras-chave

Distúrbio do Metabolismo do Ferro; Insuficiência Cardíaca; Doença de Chagas; Cardiomiopatia Chagásica; Inflamação, Anemia.

Correspondência: Carla Paixão Miranda •

Avenida Alfredo Balena, 190, 4º Andar Sala 4070. CEP 30130-100, Santa Efigênia, Belo Horizonte, MG – Brasil

E-mail: carlanutribio@gmail.com

Artigo recebido em 20/03/2018, revisado em 13/08/2018, aceito em 05/09/2018

DOI: 10.5935/abc.20190006

de estoque de Fe, característica da anemia ferropênica (AF), e na presença de bloqueio da homeostasia do Fe, como na anemia da inflamação. Na AI, citocinas e células do sistema retículo-endotelial induzem alterações que interferem em diferentes vias da eritropoese levando à anemia.<sup>2</sup>

Acredita-se que citocinas pró- e anti-inflamatórias, derivadas de macrófagos ou de células T, além de proteínas de fase aguda, estão envolvidas nos distúrbios da homeostase do Fe da AI. A demonstração da importância da IL-1 e do TNF- $\alpha$  na homeostase do Fe ocorreu a partir de experimentos com ratos, onde a administração destas citocinas era associada a hipoferrêmia e indução da síntese de ferritina pelo SRW. Hoje se sabe que a IL-1 e a IL-6 são capazes de modular a tradução de ferritina atuando na porção 5' não traduzida do RNA mensageiro da ferritina.<sup>3,4</sup>

A IL-6 parece ter papel fundamental no estímulo da transcrição do *HAMP*, embora a IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$  também tenham ação na transcrição deste gene. A IL-6 tem a capacidade de se ligar à membrana celular através de receptores específicos e ativar o transdutor de sinal e ativador da transcrição 3 (*Stat3*), da via de sinalização JAK/STAT, que atua na região promotora do gene estimulando a transcrição de hepcidina. Produção excessiva de hepcidina ocorre em indivíduos com doenças inflamatórias e infecciosas, em particular a doença de chagas, e é esse excesso que explica o sequestro de Fe nos macrófagos e a inibição da absorção intestinal de Fe, duas marcas características da AI.<sup>5</sup>

A expressão de ferroportina está diminuída nas células do SRE devido a inflamação; não se deve somente à internalização e degradação da ferroportina pela ação da hepcidina, mas também por uma regulação negativa da sua expressão. Alterações na diferenciação e proliferação dos precursores eritroides (BFU-E e CFU-E): observa-se um bloqueio devido ao efeito inibitório de diversas citocinas, em especial: interferon- $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ , fator de necrose tumoral- $\alpha$  TNF- $\alpha$  e interleucina 1 (IL-1). O mecanismo relacionado parece ser a indução de apoptose; entretanto, as citocinas também exercem um efeito tóxico direto nas células progenitoras por induzirem a formação de radicais livres.<sup>6</sup>

A cardiomiopatia chagásica crônica (CCC) é a manifestação mais grave da doença de chagas (dCh), na qual se observa intensa e extensa ação inflamatória e fibrótica sobre o miocárdio,<sup>1</sup> provocando alterações estruturais e autonômicas que afetam cerca de 20% a 30% dos infectados.<sup>7,8,9</sup> Além disso, a CCC apresenta, como substrato morfológico fundamental, uma miocardite crônica progressiva e fibrosante e, conseqüentemente, clínica, variando desde formas silenciosas até formas mais graves, como a insuficiência cardíaca (IC) refratária, arritmias complexas, aneurismas ventriculares e morte súbita.<sup>10</sup>

O comprometimento da função cardíaca, bem como a progressão dos mecanismos de compensação neuro-hormonal e inflamatórios, podem tanto alterar o metabolismo do ferro por simplesmente reduzir sua absorção intestinal, como modificar dinamicamente sua distribuição no sistema reticuloendotelial e hematopoiético.<sup>7,8,9,6,11,12</sup>

Sabidamente, a anemia é o último estágio compensatório quando ocorre comprometimento da biodisponibilidade do ferro para os processos eritropoiéticos em decorrência dos complexos mecanismos fisiopatológicos. Objetivou-se nesse estudo verificar se os marcadores da cinética do ferro guardam relação com o grau de disfunção ventricular da cardiomiopatia chagásica em relação à cardiomiopatia não chagásica (NCh).

## Métodos

### População do estudo

Foram selecionados consecutivamente, de acordo com os critérios de inclusão e exclusão, 40 pacientes com CCC, 40 pacientes chagásicos com a forma indeterminada (IND) e 40 pacientes com NCh. Os pacientes com CCC e com a forma indeterminada da doença de Chagas apresentaram sorologia confirmatória para *T. cruzi*. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG-COEP com número de identificação ETIC 359/04.

### Desenho do estudo e procedimento

No momento da inclusão, todos os pacientes foram submetidos a exame clínico, exame laboratorial, ECG de 12 derivações, A capacidade funcional foi avaliada pelas escalas da *New York Heart Association* (NYHA). A gravidade do envolvimento cardíaco foi determinada pelos índices ecocardiográficos (fração de ejeção [FE], e volume diastólico final do ventrículo esquerdo, VE).

### Avaliação hematológica

Os soros para dosagens do ferro sérico (FeSe), índice de saturação de transferrina (IST), capacidade total de fixação do ferro (CTLF) e ferritina foram encaminhados ao Laboratório Central do Hospital das Clínicas. As quantificações dos mesmos foram feitas pelos seguintes métodos:

- ferro sérico (cinético de dois pontos)
- índice de saturação da transferrina, ferritina (imunoturbidimetria), foram quantificados pelo cálculo (ferro sérico – capacidade total de ligação do ferro).
- capacidade total de fixação de ferro (cinético enzimático).
- dosagem de transferrina (imunoturbidimetria).

### Cálculo do tamanho amostral

Tomou-se como base para o cálculo amostral o trabalho de Jankowska et al., (2012), no qual se estudaram pacientes com IC, classe funcional III e IV, verificando-se alteração no metabolismo do ferro e associação com o grau de disfunção ventricular sistólica e a morbidade. Calculou-se o tamanho amostral pelo *Software* BioStat 5.3, para o qual foi usada a

média e o desvio [ $\pm$ ] padrão de cada variável da cinética do ferro com poder de teste mínimo de 0,80, presumindo-se significância de 0,05% (>5%) e erro beta menor 20% (poder do teste); decidiu-se pela seleção de 40 pacientes em cada grupo IND, CCC e NCh.

### Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando-se o *Software* SPSS versão 22.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, Estados Unidos). Foi realizada análise descritiva de variáveis contínuas e categóricas. Para presença ou ausência de distribuição normal das variáveis realizou-se o teste de Shapiro-Wilk. Para análise multivariada apresentada na Tabela 2, utilizou-se o modelo de regressão de Cox, sendo avaliada a associação de variáveis que se relacionaram em óbito, hazard ratio (HR) e IC 95%, presumindo-se significância estatística de 0,05%.

### Critério de seleção aplicado ao modelo multivariado

Presença de disfunção ventricular sistólica esquerda (FEVE  $\leq$  35%). Diâmetro ventricular esquerdo (VED) < 55 mm. Ferro sérico FeSe < 31  $\mu$ g/dL. Quando o IST for menor que 20%. CTLF < 250  $\mu$ g/dL. Ferritina < 200 mg/dL.

## Resultados

Nas características demográficas, clínicas, laboratoriais e ecocardiográficas apresentados na Tabela 1 observa-se: predomínio do sexo masculino, e a maioria dos pacientes apresentou-se em classe funcional NYHA I, com FE média do ventrículo esquerdo (VE) abaixo de 45%.

Na análise univariada, encontrou-se que as variáveis que se associaram com a disfunção ventricular sistólica esquerda abaixo de 35% foram IST, (OR = 0,89, p = 0,05), ferro, (OR = 0,97, p = 0,02), ferritina (OR = 1,27, p = 0,017), sexo (OR = 0,26, p = 0,05), etiologia da IC (OR = 2,40, p = 0,011) e anemia (OR = 8,97, p = 0,04). Na análise multivariada, verificou-se associação independente entre a disfunção ventricular esquerda baixa de 35% e o IST (OR = 1,12, p = 0,012), FeSe (OR = 1,02, p = 0,014), sexo (OR = 3,94, p = 0,038) e a etiologia da IC (OR = 2,6, p = 0,036); foram identificados 35 indivíduos com disfunção ventricular esquerda (87,5%), que apresentaram o desfecho na amostra.

## Discussão

Verificou-se que os marcadores da cinética do ferro guardam relação com o grau de disfunção ventricular da cardiomiopatia chagásica em relação a NCh; alcançou-se como principais resultados as seguintes observações: (a) pacientes CCC, quando comparados com pacientes IND e NCh, apresentam menores níveis séricos de ferro, ferritina, IST e CTLF; (b) pacientes com CCC apresentam menores níveis séricos de ferro, IST, CTLF e ferritina em relação aos pacientes com cardiomiopatia chagásica e não Chagásica; (c) menores níveis séricos de ferro, IST, CTLF e ferritina associam-se com o grau de disfunção ventricular sistólica; (d) baixos níveis séricos de ferro, IST, CTLF e ferritina associam-se com o grau de morbidade cardíaca.

**Tabela 1 – Características demográficas, clínicas, laboratoriais e ecocardiográficas dos grupos IND, CCC e NCh**

Características	IND (n = 40)	CCC (n = 40)	NCh (n = 40)	p
Idade*	49,68 ± 5,28	50,98 ± 5,88	49,20 ± 10,09	0,929
Altura (cm)	1,69 ± 0,065	1,97 ± 0,158	1,94 ± 0,123	0,889
Peso (kg)*	79,100 ± 8,58	73,75 ± 10,15	71,88 ± 11,47	0,621
Masculino [n(%)]	21/40 (52,2%)	20/40 (50%)	5/40 (12,5%)	0,979
NYHA Classe funcional	-	-	-	-
I	40/40 (100%)	12/40 (30%)	32/40 (80%)	0,410
II	-	15/40 (37,5%)	6/40 (15%)	0,510
III	-	8/40 (2,5%)	0,312	
IV	-	5/40 (12,5%)	1/40(2,5%)	0,112
FeSe (µg/dL)*	125,30 ± 22,79	93,15 ± 36,53	114,77 ± 18,90	0,004
Hb (g/dL)*	14,84 ± 1,56	13,62 ± 1,23	14,02 ± 1,25	0,010
IST (%)*	30,95 ± 7,06	29,48 ± 6,59	39,70 ± 8,54	0,001
CTLF (µg/dL)*	196,52 ± 56,95	297,30 ± 36,46	275,18 ± 33,48	0,001
Ferritina (ng/mL)**	156,25 (1,7-42,20)	134,5 (1,56-42,36)	112,95 (2,8-42,66)	0,004
VED (mm)*	46,38 ± 7,34	65,43 ± 7,70	46,38 ± 7,34	0,002
E/e' ratio*	6,6 ± 2,82	14,9 ± 4,58	12,15 ± 12,06	0,001
FEVE**	65,85 ± 5,9	35,92 ± 8,59	34,95 ± 8,12	0,001

FEVE: fração de ejeção do ventrículo esquerdo; NYHA: Classe funcional New York Heart Association; FeSe: ferro sérico; Hb: hemoglobina; IST: índice de saturação de transferrina; CTLF: capacidade total de ligação do ferro; VED: diâmetro do ventrículo esquerdo em diástole; E/e': Velocidade diastólica.

**Tabela 2 – Variáveis dos marcadores da cinética do ferro associados independentemente com disfunção ventricular sistólica esquerda abaixo de 35% (modelo de risco proporcional Cox Hazard multivariado)**

Variáveis	Modelo Univariado				Modelo Multivariado			
	OR	IC 95%	X <sup>2</sup>	p	OR	IC 95%	X <sup>2</sup>	p
IST%	0,89	0,816-0,979	5,86	0,015	1,12	1,02-1,22	6,3	0,012
FeSe	0,97	0,95-0,99	5,34	0,021	1,23	1,00-1,04	5,9	0,014
Ferritina	1,27	1,044-1,56	5,65	0,017	-	-	-	-
Creatinina	1,01	7,54 ± 13,7	1,36	0,243	-	-	-	-
TFG, mL/min/1.73m	1,00	0,95-1,05	1,41	0,786	-	-	-	-
Hb	0,99	0,56-1,74	0,001	0,99	-	-	-	-
Anemia	8,97	1,01-7,90	3,90	0,04	1,22	0,126-11,83	0,030	0,862

Análise de regressão logística univariada e multivariada dos parâmetros laboratoriais. FeSe: ferro sérico; Hb: hemoglobina; IST: índice de saturação de transferrina; TFG: taxa de filtração glomerular.

Como demonstrado pelos resultados apresentados, observamos que pacientes com CCC, quando comparados com pacientes chagásicos na forma indeterminada (IND) e com aqueles com NCh, apresentam menores níveis séricos de ferro, CTLF, IST e ferritina. Nos estudos especificamente relacionados a CCC e o metabolismo do ferro são até então inexistentes; assim, basearemos nossas hipóteses fisiopatológicas em estudos realizados com outras causas de cardiomiopatia. Apesar das peculiaridades da CCC, parece-nos haver similaridade na gênese das alterações do metabolismo do ferro observada em outras patologias e a CCC. Como possíveis mecanismos fisiopatológicos às alterações do metabolismo do ferro na IC, algumas teorias vêm sendo descritas, como inflamação crônica, edema de

alças intestinais, hipoperfusão do trato gastrointestinal (TGI).<sup>5,6,7</sup> Estudo caso controle prospectivo acompanhando 499 pacientes com cardiomiopatia chagásica relatou a persistência do elemento parasitário (DNA) por meio de análise por PCR.<sup>7</sup> Houve associação entre a carga parasitária e a gravidade da doença medidas a partir dos parâmetros clínicos.<sup>7</sup>

Em relação às análises feitas dos marcadores da cinética do ferro e às variáveis ecocardiográficas verificamos que, quanto maior o grau de disfunção ventricular sistólica, menores os níveis séricos de FeSe, IST, CTLF e ferritina. Este achado é interessante, pois reforça nossa hipótese de que os baixos níveis dos marcadores da cinética do ferro guardam relação com o grau de disfunção ventricular.

Na análise multivariada, encontraram-se baixos níveis de FeSe ( $p = 0,14$ ) e de IST ( $p = 0,12$ ), além de resultados estatisticamente significativos para sexo ( $p = 0,038$ ) como marcadores independentes para disfunção ventricular sistólica esquerda. A queda de dez unidades de ferro associa-se com 23% maior chance de ocorrência de disfunção ventricular sistólica. Queda de 10 unidades no IST associa-se com 12% mais chance de ocorrência de disfunção ventricular sistólica.

## Conclusão

Na população estudada, as análises do metabolismo do ferro nos pacientes com CCC evidenciaram que há associação com o grau de comprometimento miocárdico, sendo que quanto menores os níveis séricos de ferro, capacidade total de ligação do ferro, IST e ferritina, maior o grau de disfunção ventricular. Conclui-se que na cardiopatia chagásica há alteração no metabolismo do ferro e esta encontra-se mais pronunciada do que nas cardiopatias não chagásicas evidenciando, portanto, a sua natureza infecciosa.

## Referências

1. Thomas C, Kirschbaum, A, Boehm, D, Thomas L. The diagnostic plot :a concept for identifying different states of iron deficiency and monitoring the response to epoetin therapy. *Med Oncol.* 2006;23(1):23-36.
2. Kluststein MW, Tzivoni D. Anaemia and heart failure: aetiology and treatment. *Nephrol Dial Transplant.* 2005;20(Suppl):7-10.
3. Ludwig H, Osteerborg A. Pathogenesis and treatment of anemia. In: Berenson J (ed.). *Biology and management of multiple myeloma.* New York: Human Press; 2004. P:303-18.
4. Koike K, Matsuda K. Recent advances in the pathogenesis and management of juvenile myelomonocytic leukaemia. *Br J Haematol.* 2008;141(5):567-75.
5. Andrews N C. Forging a field: the golden age of iron biology." *Blood.* 2008;112(2):219-30.
6. Deicher R., Hörl WH. New insights into the regulation of iron homeostasis." *Eur J Clin Invest.* 2006;36(5):301-9.
7. Nunes MC, Dones W, Morillo CA, Encina JJ, Ribeiro AL; Council on Chagas Disease of the Interamerican Society of Cardiology. Chagas disease: an overview of clinical and epidemiological aspects. *J Am Coll Cardiol.* 2013;62(9):767-76.
8. Rocha MO, Ribeiro AL, Teixeira MM. Clinical management of chronic Chagas cardiomyopathy. *Front Biosci.* 2003 Jan 1;8:e44-54.
9. Horta AL, Leite AL, Costa P G, Figueiredo VP, Talvani A. Potential role of carvedilol in the cardiac immune response induced by experimental infection with *Trypanosoma cruzi*. *Biomed Res Int.* 2017;2017:ID 9205062.
10. Botoni FA, Ribeiro AL, Marinho CC, Lima MM, Nunes M C, Rocha MO. Treatment of Chagas Cardiomyopathy. *Biomed Res Int.* 2013;2013:ID849504.
11. Anand IS. Anemia and chronic heart failure implications and treatment options. *J Am Coll Cardiol.* 2008;52(7):501-11.
12. Higuchi ML. Endomyocardial biopsy in Chagas' heart disease: pathogenetic contributions. *Sao Paulo Med J.* 1995;113(2):821-5.

## Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa, análise e interpretação dos dados, análise estatística, redação do manuscrito e revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Miranda CP, Botoni FA, Nunes MCP, Rocha MOC; obtenção de dados: Miranda CP, Botoni FA, Rocha MOC; obtenção de financiamento: Miranda CP.

## 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 dissertação de Mestrado de Carla Paixão Miranda pela Universidade Federal de Minas Gerais.

