

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**FACULDADE DE MEDICINA**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**CARLA PAIXÃO MIRANDA**

**ANÁLISE DO METABOLISMO DO FERRO NA CARDIOPATIA CHÁGASICA  
CRÔNICA**

**BELO HORIZONTE**

**2016**

**CARLA PAIXÃO MIRANDA**

**ANÁLISE DO METABOLISMO DO FERRO NA CARDIOPATIA CHAGÁSICA  
CRÔNICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Infectologia e Medicina Tropical.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Antônio Botoni.

Co-orientador: Prof. Dr. Manoel Otávio da Costa Rocha.

**BELO HORIZONTE**

**2016**

Miranda, Carla Paixão  
M672a Análisedometabolismodoferronacardiomiopatiachagásicacrônica  
[manuscrito]. /CarlaPaixãoMiranda. --BeloHorizonte:2016.

106f.:il.

Orientador:Fernando Antônio Botoni.

Coorientador:Manoel Otávio da Costa Rocha

Área de concentração:Infectologia e MedicinaTropical.

Dissertação(mestrado):UniversidadeFederaldeMinasGerais,  
FaculdadedeMedicina.

1.Cardiomiopatia Chagásica/metabolismo.2.Distúrbios do  
Metabolismo do Ferro.3.Volume Sistólico.4.Ferro/uso terapêutico.5.  
Trypanosoma cruzi.6.Dissertações Acadêmicas.I.Botoni,Fernando  
Antônio.II.Rocha,Manoel Otávio da Costa.III.Universidade Federal de  
Minas Gerais,Faculdade de Medicina.IV.Título.

NLM:WC705

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE:  
INFECTOLOGIA E MEDICINA TROPICAL**

Reitor: **Prof. Jaime Arturo Ramírez**

Vice-Reitora: **Profa. Sandra Regina Goulart Almeida**

Pró-Reitora de Pós-Graduação: **Profa. Denise Maria Trombert de Oliveira**

Pró-Reitora de Pesquisa: **Profa. Adelina Martha dos Reis**

Diretor da Faculdade de Medicina: **Prof. Tarcizo Afonso Nunes**

Vice-Diretor da Faculdade de Medicina: **Prof. Humberto José Alves**

Coordenador do Centro de Pós-Graduação: **Prof. Luiz Armando Cunha de Marco**

Subcoordenador do Centro de Pós-Graduação: **Prof. Edson Samesima Tatsuo**

Chefe do Departamento de Clínica Médica: **Profa. Valéria Maria Augusto**

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical: **Prof. Eduardo Antônio Ferraz Coelho**

Sub-coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical: **Prof. Antônio Luiz Pinho Ribeiro**

Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical:

**Prof. Antônio Luiz Pinho Ribeiro**

**Profa. Denise Utsch Gonçalves**

**Prof. Eduardo Antônio Ferraz Coelho**

**Profa. Maria do Carmo Pereira Nunes**

**Prof. Unai Tupinambás**

**Prof. Vandack Alencar Nobre Jr**

**Pollyana Anício Magalhães Gontijo – Representante Discente**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por muitas vezes me carregar no colo nos momentos de dificuldades sinto suavemente sua presença e seu agir em minha vida. Não tenho palavras para descrever tamanho amor incondicional.

Aos meus pais, Sônia e Edmilson, pelos ensinamentos de honestidade, simplicidade e humildade levarei pelo resto de minha existência.

Minha irmã Leila, pela companhia fraternal que me acompanha em todas as etapas, sem seu amor, estímulo, conselhos, e suas orações as conquistas não teria razão.

As minhas lindas e graciosas sobrinhas, Jainy e Ludmila, alegria contagiante que adoça minha vida, e me dá ânimo para continuar a caminhada, a vocês o meu eterno amor.

A minha avó Maria, por sempre me colocar no colo e me conceder o melhor amor do mundo seus conselhos são uma chuva de ouro e prata à minha vida. Obrigada vó!

Sinto-me deveras lisonjeada por ter dito o Exmo. Sr. Professor Doutor Manoel Otávio da Costa Rocha como meu guia intelectual no mestrado devo-lhe minha eterna gratidão. Acompanhou-me na elaboração de um raciocínio lógico, reflexivo e coeso sobre *O Metabolismo do Ferro na Cardiomiopatia Chagásica Crônica*; por outro lado liga-me a ele uma profunda e sentida afeição.

Em especial ao Professor Dr. Fernando Antônio Botoni, o qual foi uma luz em meio caminho meu orientador por excelência e meu guia intelectual, que me deu a honra de conhecer pesquisadores de alta competência e gabarito. Sem a sua ajuda Professor Botoni eu nada seria! Minha eterna grandiosa gratidão pela paciência e pelas curtas palavras que me levavam a uma plena comunhão com a minha existência humana. Confesso que escolhi trabalhar com doença de Chagas pelos grandes pesquisadores

brasileiros que vem dedicando os melhores anos de sua existência a pensar este assunto, dentro destes nomes não posso deixar de pensar nos meus orientadores (Professor Dr. Fernando Antônio Botoni e Professor Dr. Manoel Otávio da Costa Rocha) e também a toda equipe que contribuíram para minha formação- a Profa. Dra. Maria do Carmo Pereira Nunes que há muito me presenteou com sua arte de cuidar e seu brilhantismo e inteligência ao ensinar minha eterna gratidão desde o início me encantei com a Professora Carminha competente ecocardiografista! O meu muito obrigada!

Antes de escolher o tema o qual apresento nesta dissertação o professor Botoni me propôs outros três temas me lembro como se fosse hoje - recebo uma mensagem do professor Botoni me dizendo que havia encontrado um tema importante para minha formação. Pois bem, quanto a esta responsabilidade que me foi dada a recebi como um presente e como uma oportunidade de mudança.

Ao Prof. Dr. Cristiano Araújo que nos ajudou na coleta dos pacientes o meu muito obrigada!

À Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais e ao Hospital das clínicas de Belo Horizonte (HC) por terem me proporcionado o convívio com profissionais de excelência, durante toda a minha formação acadêmica, o que vem me auxiliando na minha formação como profissional mais competente e qualificada.

Aos amigos e colegas do Ambulatório de Referência em Doenças Infecciosas e Parasitaria CTR-DIP Orestes Diniz, muito obrigada pelo convívio harmonioso e pelos ensinamentos de sempre minha eterna admiração a cada um de vocês uma família que levarei no coração.

## RESUMO

A doença de Chagas, causada pelo *Trypanosoma cruzi* (*T.cruzi*), foi descoberta e descrita pelo médico Brasileiro Carlos Chagas em 1909 (CHAGAS, 1909). Lamentavelmente, depois de já ter completado um século de sua descrição original, representa ainda um terrível impacto sobre a humanidade. A cardiopatia chagásica, e consequente insuficiência cardíaca, não parecem diferir das outras formas de miocardiopatias quanto a sua fisiopatologia. Acredita-se, portanto, que os resultados dos estudos que relacionam prognóstico e o metabolismo do ferro na insuficiência cardíaca podem ser extrapolados àqueles portadores de cardiomiopatia chagásica. Objetivou-se verificar se os marcadores da cinética do ferro guardam relação com a morbidade e a etiologia da cardiomiopatia chagásica em relação a miocardiopatia não chagásica. Neste estudo observacional e transversal no qual, foram selecionados consecutivamente 80 pacientes com doença de Chagas (dCh) - sendo 40 com Cardiomiopatia Chagásica Crônica (CCC), e 40 com a forma indeterminada (IND) além de 40 com miocardiopatia não chagásica (NCh). A seleção foi feita no Ambulatório de Referência em doença de Chagas do Hospital das Clínicas da (UFMG) e também no Ambulatório de Cardiologia do Ambulatório Bias Fortes. Utilizou-se como critério de seleção a presença de diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (VED) maior que 55 mm ou 2,7 cm/m<sup>2</sup> e pelo menos um dos seguintes: fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE) menor que 55% (Simpson modificado) e/ou déficit de função do ventrículo esquerdo segmentar para os grupos CCC e NCh. Além de sorologia positiva para *T.cruzi* nos grupos CCC e da IND. Este último de acordo com os critérios para classificação na forma indeterminada, ou seja eletrocardiograma normal, Rx tórax normal ou seja não ter alteração intestinal e assintomático do ponto de vista cardiovascular. Foram excluídos pacientes com quaisquer co-morbidades evitando assim, interferências nos resultados e análise dos dados. No grupo CCC 50 % era do sexo masculino, IND 52,2% e no NCh 12,5%. A idade média foi de 50,98 ± 5,88 no CCC, 49,68 ± 5,28 no IND e 49,20±10,09 no NCh. Clinicamente estavam funcionalmente distribuídos conforme a NYHA 30% na classe funcional I, 37,5% na II, 20% na III e 12,5% na IV no grupos CCC, 100% do grupo IND era I, e no NCh 80% na I, 15% na II, 2,5% na III e 2,5% na IV. Os marcadores da cinética do ferro correlacionaram-se negativamente com o diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo VED – índice de saturação de transferrina (IST) (r=-0.949, p=0.0035), Ferro sérico (FeSe) (r=-0.959, p=0.0041), ferritina (r=-0.974, p=0.0026) e positivamente com a capacidade total de ligação do ferro (CTLF) (r=0.965, p=0.0035). A relação E/e correlacionou negativamente com o IST (r=-0.970, p=0.0030) e o FeSe (r=-0.998, p=0.0002) e positivamente com a CTLF (r=0.949, p=0.0051), a FEVE também correlacionou positivamente com IST (r=0.894, p=0.0041), FeS (r=0.958, p=0.0042) e ferritina (r=0.949, p=0.0051) entretanto, a CTLF correlacionou negativamente (r=-0.894, p=0.00041) no grupo IND. Na análise de correlação os marcadores da cinética do ferro correlacionaram-se negativamente com o VED, (r=-0.950, p=0.0005), IST (r=-0.894, p=0.0004), CTLF (r=-0.983, p=0.00017) e a ferritina (r=-0.997, p=0.0003) no grupo CCC, a relação E/e correlacionou negativamente com o IST (r=-0.918, p=0.0010), e o FeSe (r=-0.990, p=0.00028), positivamente na CTLF (r=0.998, p=0.0002) e ferritina (r=0.975, p=0.0005) no grupo CCC. Na análise de correlação no NCh o VED correlacionou negativamente com IST (r=-0.895, p=0.0040), FeSe (r=-0.947, p=0.0015) e ferritina (r=-0.975, p=0.0005) e positivamente com a CTLF (r=0.893, p=0.0042), a relação E/e correlacionou negativamente com o IST (r=-0.949, p=0.0024) e ferritina sérica (r=-0.976, p=0.0024) e positivamente FeSe (r=0,962, p=0.009) e CTLF (r=0.962, p=0.0009), a FEVE

correlacionou negativamente com o FeSe ( $r=-0.953$ ,  $p=0.0047$ ) e ferritina ( $r=0.976$ ,  $p=0.0024$ ) e positivamente com a CTLF ( $r=0.960$ ,  $p=0.0047$ ) no mesmo grupo. (T.cruzi). Observou-se, diferença estatística (ANOVA-one Way) para FeSe entre os grupos CCC ( $93,15 \pm 36,53$ ), IND ( $125,30 \pm 22,79$ ) e NCh ( $114,77 \pm 18,90$ ) ( $p=0.0004$ ), índice de saturação de transferrina IST no CCC ( $29,48 \pm 6,59$ ), no IND ( $30,95 \pm 7,06$ ) e no NCh ( $39,70 \pm 7,54$ ) ( $p=0.0001$ ), capacidade total de ligação do ferro CTLF no CCC ( $297,30 \pm 36,46$ ), no IND ( $196,52 \pm 56,95$ ) e no NCh ( $275,18 \pm 33,48$ ) ( $p=0.0001$ ), ferritina no CCC ( $134,55$ ,  $1,56-42,36$ ), no IND ( $156,25$ ,  $1,72 - 42,20$ ) no 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 a partir do modelo de risco proporcional *Hard ration* (HR) multivariada. Conclui-se, portanto, que pacientes com CCC demonstraram maior alteração no metabolismo do ferro em relação a forma indeterminada e outras formas de miocardiopatias correlacionando-se com o grau de disfunção ventricular e remodelagem miocárdica.

Palavras-chave: Cardiomiopatia chagásica. Metabolismo do ferro. Fração de ejeção. Diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo.



## ABSTRACT

The Chagas disease, caused by *Trypanosoma cruzi* (*T.cruzi*), was discovered and described by the Brazilian doctor, Carlos Chagas, in 1909 (CHAGAS, 1909). Unfortunately, even after having completed a century since its original description, it continues to have a terrible impact on humanity. Chagas' heart disease and its consequent heart failure does not seem to differ from other forms of cardiomyopathies when looking at its pathophysiology. However, we believe that the results of studies related to the prognostics and iron metabolism in heart failure can be extrapolated to those patients diagnosed with Chagasic cardiomyopathy. In this cross-sectional observational study, 80 consecutive patients with Chagas disease (Chd) were selected, of which 40 had Chronic Chagasic Cardiomyopathy (CCC) and 40 had an undetermined form. Another 40 patients had a non-Chagastic cardiomyopathy (NCh). The objective was to verify if the iron kinetic indicators have a relationship with the morbidity and etiology of Chagasic cardiomyopathy compared with the non-Chagasic cardiomyopathy. The selection was done at the renowned Chagas treatment outpatient unit of the Hospital das Clinicas of the Federal University of Minas Gerais (UFMG) and for the reference patients, at the Bias Fortes Cardiology outpatient unit. The selection criteria used was the presence of a left ventricular diastolic diameter (LVD) greater than 55 mm or  $2.7 \text{ cm/m}^2$  and at least one of the following: left ventricular ejection fraction (LVEF) less than 55% (Simpson, modified) and/or a function deficit of the left ventricular segment in the CCC and NCh groups, along with a serology that showed positive for *T.cruzi* for the CCC and IND groups. This latter criteria was in accordance with the ones for the classification of the undetermined form. Patients with any other co-morbidity possibilities were excluded in order to avoid confusion in the analyses of the data. In group CCC, 50% were male, in the IND one, 52.2%, and in the NCh one, 12.5%. The average age was  $50.98 \pm 5.88$  for CCC,  $49.68 \pm 5.28$  for IND and  $49.20 \pm 10.09$  for NCh. Clinically, there were functionally distributed according to NYHA: 30% in functional class I, 37.5% in II, 20% in III, and 12.5% in IV for the CCC group; 100% of the IND group were in I, and 80% of the NCh were in I, while 15% were in II, 2.5% in III and 2.5% in IV. The iron kinetic indicators correlated negatively with the left ventricular diastolic diameter (LVD) – transferrin saturation index TSAT ( $r=-0.949$ ,  $p=0.0035$ ), FeSe ( $r=-0.959$ ,  $p=0.0041$ ), ferritin ( $r=-0.974$ ,  $p=0.0026$ ) and positively with the total iron bonding capacity TIBC ( $r=0.965$ ,  $p=0.0035$ ). The relationship E/e negatively correlated with TSAT ( $r=-0.970$ ,  $p=0.0030$ ) and FeSe ( $r=-0.998$ ,  $p=0.0002$ ) and positive with TIBC ( $r=0.949$ ,  $p=0.0051$ ). In addition, LVEF also positively correlated with TSA ( $r=0.894$ ,  $p=0.0041$ ), FeSe ( $r=0.958$ ,  $p=0.0042$ ) and ferritin ( $r=0.949$ ,  $p=0.0051$ ), while TIBC correlated negatively ( $r=-0.894$ ,  $p=0.0041$ ) in the IND group. In the correlation analysis, the iron kinetic indicators correlated negatively with LVD ( $r=-0.950$ ,  $p<0.05$ ), TSAT ( $r=-0.894$ ,  $p<0.004$ ), TIBC ( $r=-0.983$ ,  $p<0.0017$ ) and ferritin ( $r=-0.997$ ,  $p<0.003$ ) in the CCC group, while the E/e relationship correlated negatively with STI ( $r=-0.918$ ,  $p=0.0010$ ) and FeSe ( $r=-0.990$ ,  $p=0.0028$ ), positively in TIBC ( $r=0.998$ ,  $p=0.0020$ ) and ferritin ( $r=0.975$ ,  $p=0.0005$ ) in the CCC group. In the correlation analysis for the NCh group, the LVD correlated negatively with TSAT ( $r=-0.895$ ,  $p=0.0040$ ), FeSe ( $r=-0.947$ ,  $p=0.0015$ ) and ferritin ( $r=-0.975$ ,  $p=0.0005$ ), and positively with TIBC ( $r=0.893$ ,  $p=0.0042$ ), while the E/e relationship correlated negatively with TSAT ( $r=-0.949$ ,  $p=0.0024$ ) and serum ferritin ( $r=-0.976$ ,  $p=0.0024$ ), and positively with FeSe ( $r=0.962$ ,  $p=0.0009$ ) and TIBC ( $r=0.962$ ,  $p=0.0009$ ). In addition, LVEF correlated negatively with serum iron ( $r=-0.953$ ,  $p=0.0047$ ) and ferritin ( $r=0.976$ ,  $p=0.0024$ ) and positively with TIBC ( $r=0.960$ ,

p=**0.0047**) in the same group. (*T.cruzi*), 41 males (34%) with ages varying between 26 and 56 years of age (average of  $49.95 \pm 7.42$ ) grouped together as non-Chagasic cardiomyopathy (CCC). The NCh group included 40 patients between the ages of 39 and 59.23 (average of  $49.20 \pm 10.09$ ), a majority of whom were in the functional classes I and II of the New York Heart Association (NYHA). Consecutive selection was done among patients attended at the renowned Chagas treatment outpatient unit of the Hospital das Clínicas of the Federal University of Minas Gerais (UFMG) and for the reference patients, at the Bias Fortes Cardiology outpatient unit. The selection criteria used was the presence of a left ventricular diastolic diameter (LVD) greater than 55 mm or  $2.7 \text{ cm/m}^2$ . Patients with any other co-morbidity possibilities were excluded in order to avoid confusion in the analyses of the data. The primary objective was to verify if the iron kinetic indicators have a relationship with the morbidity and etiology of Chagasic cardiomyopathy compared with the non-Chagasic cardiomyopathy. As a secondary objective, we analyzed the FeSe levels, TIBC, TSAT and ferritin. We observed the statistical difference (ANOVA-one Way) for FeSe among the CCC ( $93.15 \pm 36.53$ ), IND ( $125.30 \pm 22.79$ ) and NCh ( $114.77 \pm 18.90$ ) groups, as well as the transferrin saturation index (STI) in the CCC ( $29.48 \pm 6.59$ ), IND ( $30.95 \pm 7.06$ ) and NCh ( $39.70 \pm 7.54$ ). Also analyzed was the total iron bonding capacity for iron (TIBC) in the CCC ( $297.30 \pm 36.46$ ), in the IND ( $196.52 \pm 56.95$ ) and in the NCh ( $275.18 \pm 33.48$ ) groups, together with the ferritin in the CCC (134.55, 1.56-42.36), in the IND (156.25, 1.72 – 42.20) and in the NCh (112.95, 2.88-42.66) groups. It was also verified that the FeSe (IC% 95% 1.00-1.04;  $p < 0.014$ ), TSAT (IC 95% 1.02-1.22;  $p < 0.012$ ) and gender (IC 95% 1.07-14.43  $p = 0.038$ ) associated independently of the degree of ventricular dysfunction in the Chagasic cardiomyopathy according the multivariable proportional risk model, *Hard ration* (HR). Therefore, it can be concluded that patients with CCC demonstrated to have a greater alteration in the iron metabolism compared to the undetermined form and other forms of cardiomyopathies correlated with the degree of ventricular dysfunction and cardiomyopathy remodeling.

**Keywords:** Chagasic cardiomyopathy, iron metabolism, ejection fraction, left ventricular diastolic diameter

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>FIGURA 1</b> - Mecanismos envolvidos na fisiopatologia da anemia na insuficiência cardíaca.....	28
<b>FIGURA 2</b> - Delineamento e estratégia do estudo .....	41
<b>FIGURA 3</b> - Correlação entre os marcadores da cinética do ferro com FEVE no grupo IND.....	54
<b>FIGURA 4</b> - Correlação entre os marcadores da cinética do ferro com FEVE no grupo CCC.....	56
<b>FIGURA 5</b> - Correlação entre os marcadores da cinética do ferro com VED no grupo CCC.....	57
<b>FIGURA 6</b> - Correlação entre os marcadores da cinética do ferro com FEVE no grupo NCh.....	58
<b>FIGURA 7</b> - Gráfico tipo box-plot representa a Classe Funcional NYHA entre os grupos: (IND, CCC e NCh), mediana e intervalos interquartis.....	59
<b>FIGURA 8</b> - Avaliação dos marcadores da cinética do ferro na cardiomiopatia chagásica e não .....	68
<b>FIGURA 9</b> - Curva ROC da relação entre os níveis séricos do FeSe e a FEVE .....	69
<b>FIGURA 10</b> - Curva ROC da relação entre IST e a FEVE. ....	70
<b>FIGURA 11</b> - Curva de sobrevida. ....	72
<b>QUADRO 1</b> - Critérios maiores e menores para diagnóstico de IC .....	44
<b>QUADRO 2</b> - Natureza, classificação e descrição das variáveis estudadas. ....	48

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Estudos de maior relevância sobre alteração do metabolismo do ferro e anemia na IC.....	25
<b>Tabela 2</b> - Características demográficas, clínicas, laboratoriais e ecocardiográficas dos grupos IND, CCC e NCh. ANOVA-One Way.....	50
<b>Tabela 3</b> - Análise descritiva, por sexo, dos marcadores da cinética do ferro.....	53
<b>Tabela 4</b> - Análise de correlação entre os marcadores da cinética do ferro e taxa de filtração glomerular. ....	53
<b>Tabela 5</b> - Correlação entre níveis séricos dos marcadores da cinética do ferro no grupo (IND). ....	55
<b>Tabela 6</b> - Correlação entre níveis séricos dos marcadores da cinética do ferro no grupo (CCC).....	57
<b>Tabela 7</b> - Correlação entre níveis séricos dos marcadores da cinética do ferro e morbidade (NCh).....	59
<b>Tabela 8</b> – Associação entre os grupos IND e CCC.....	60
<b>Tabela 9</b> – Análise entre os marcadores da cinética do ferro em relação ao grupo IND e NCh.....	62
<b>Tabela 10</b> - Análise entre os marcadores da cinética do ferro em relação aos grupos CCC e NCh.....	63
<b>Tabela 11</b> – Marcadores da cinética do ferro nos diferentes grupos .....	65
<b>Tabela 12</b> – Comparações múltiplas entre os marcadores da cinética do ferro nos diferentes grupos.....	66
<b>Tabela 13</b> - Variáveis dos marcadores da cinética do ferro associados independentemente com disfunção ventricular sistólica esquerda (modelo de risco proporcional Cox Hazard multivariado).....	71

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>ABNT</b>	Associação Brasileira de Normas Técnicas
<b>BNP</b>	Peptídeo natriurético tipo B
<b>CTLF</b>	Capacidade Total de Ligação do ferro
<b>CCC</b>	Cardiopatía chagásica crônica
<b>CHCM</b>	Concentração de hemoglobina corpuscular média
<b>CO</b>	Monóxido de carbono
<b>ELISA</b>	<i>Enzyme –linked immunoabsorbent assay</i>
<b>EPO</b>	Eritropoetina
<b>FPN</b>	Ferroportina
<b>FEVE</b>	Fração de ejeção ventricular esquerdo
<b>HR</b>	Hazard ration
<b>HO</b>	Heme oxygenase
<b>Hb</b>	Hemoglobina
<b>HCM</b>	Hemoglobina corpuscular média
<b>Hct</b>	Hematócrito
<b>HC/UFMG</b>	Hospital das clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais
<b>IC</b>	Insuficiência cardíaca
<b>IDI</b>	Miocardíopatía não chagásica
<b>IL</b>	Interleucina
<b>iSRAA</b>	Inibição do sistema renina angiotensina aldosterona
<b>IST</b>	Índice de saturação de transferrina

<b>INF-<math>\gamma</math></b>	Interferon gama
<b>JAK2 STAT</b>	Signaling pathway
<b>LEAP-1</b>	Liver-expressed antimicrobial peptide
<b>LPS</b>	Lipopolissacarídeo
<b>MW</b>	Mann-Whitney
<b>NCh</b>	Miocardiopatia não chagásica
<b>NK</b>	Células natural killers
<b>NYHA</b>	New York Heart Association
<b>NO</b>	Óxido nítrico
<b>OMS</b>	Organização Mundial de Saúde
<b>PCP</b>	Proteína C reativa
<b>RATES</b>	<i>Regulated upon activation normal t cell expressed and secreted</i>
<b>SNS</b>	Sistema nervoso simpático
<b>TIBC</b>	Total iron binding capacity
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	Transforming growth factor
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Fator de necrose tumoral
<b>VED</b>	Diâmetro do ventrículo em diástole
<b>VES</b>	Diâmetro do ventrículo em sístole

## SUMÁRIO

<b>1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS .....</b>	<b>16</b>
<b>2 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>19</b>
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>22</b>
3.1 Metabolismo Do Ferro.....	22
3.1.1 Importância do ferro na manutenção da homeostase celular.....	22
3.2 Metabolismo do Ferro e Anemia na Insuficiência Cardíaca .....	22
3.3 Metabolismo do Ferro e Anemia nas Doenças Crônicas.....	28
3.3.1 Metabolismo do Ferro e Anemia nas Doenças Infecciosas .....	33
<b>4 HIPOTESE E OBJETIVO .....</b>	<b>38</b>
4.1 Hipóteses .....	38
4.2 Objetivo geral .....	38
4.3 Objetivos específicos.....	38
<b>5 POPULAÇÃO, MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>40</b>
5.1 Estudo da população .....	40
5.2 População.....	42
5.2.1 Critérios De Inclusão .....	42
5.2.2 Critérios De Exclusão.....	42
<b>5.3 MÉTODOS.....</b>	<b>43</b>
5.3.1 Avaliação Ecocardiográfica.....	44
5.3.2 Avaliação Hematológica.....	45
5.3.3 Ferritina – Transferrina.....	46
<b>5.4 FERRO SÉRICO .....</b>	<b>46</b>
5.4.1 Teste colorimétrico .....	46
<b>5.5 Análise Estatística (Cohen, 1988).....</b>	<b>47</b>
5.5.1 Normatização técnica e busca da bibliografia .....	48
<b>6 RESULTADOS .....</b>	<b>50</b>
6.1 Características demográficas, clínicas e laboratoriais da população estudada. ....	50
6.2 Correlação entre os marcadores da cinética do ferro e variáveis ecocardiográficas nos grupos IND, CCC e NCh. ....	54
6.4 Comparação dos marcadores da cinética do ferro entre o grupo controle IND e os grupos CCC e NCh através da Anova-one way .....	64
6.3 ANÁLISE DA CURVA ROC .....	68
6.3.2 Análise de sobrevida em relação a marcadores da cinética do ferro e disfunção ventricular esquerda.....	71
<b>7 DISCUSSÃO .....</b>	<b>74</b>
<b>8 CONCLUSÃO.....</b>	<b>82</b>
<b>9 PROPOSIÇÕES.....</b>	<b>84</b>
<b>10 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>86</b>
<b>11 APÊNDICES E ANEXOS.....</b>	<b>93</b>
Apêndice A .....	93
Apêndice B .....	99
Apêndice C .....	103

## 1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O projeto intitulado “Análise do Metabolismo do ferro na Cardiomiopatia Chagásica Crônica” foi desenvolvido na linha de pesquisa Determinantes de Morbidade e Prognóstico na Cardiomiopatia Chagásica Crônica, que desenvolve diferentes trabalhos paralelos a este. Os pacientes incluídos no estudo foram atendidos no Ambulatório de Referência em Doenças Infecciosas e Parasitárias (DIP) sob supervisão e coordenação do Prof. Dr. Manoel Otávio da Costa Rocha e no Ambulatório de Cardiologia do Hospital Bias Fortes sob supervisão e coordenação da Professora Dra. Maria do Carmo Pereira Nunes anexos ao Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais onde foi realizado o diagnóstico e a classificação clínica. A presente dissertação tem como objetivo apresentar os resultados obtidos durante o mestrado no qual objetivamos verificar se os parâmetros do metabolismo do ferro guardam relação com o grau de morbidade na cardiomiopatia chagásica crônica em relação a insuficiência cardíaca não chagásica. Para tanto foram avaliados os níveis dos marcadores do metabolismo do ferro, ferro sérico, Índice de saturação de transferrina (IST), capacidade total de ligação do ferro (CTLF) e ferritina para cada um dos grupos estudados. E estes foram correlacionados com parâmetros ecocardiográficos, clínicos e laboratoriais. Durante o desenvolvimento do estudo a discente Carla Paixão Miranda participou de todas as etapas do projeto. A dissertação foi estruturada em sete partes principais: i) Introdução ii) revisão da literatura; iii) Objetivos; iv) Métodos; v) Resultados, vi) Discussão; vii) Anexos, contendo o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), parecer do comitê de ética e pesquisa – UFMG e o artigo.



## **2 INTRODUÇÃO**

## 2 INTRODUÇÃO

A doença de Chagas (dCh), causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* (T.cruzi), foi descoberta e caracterizada pelo médico brasileiro Carlos Chagas em 1909 (CHAGAS, 1909). Constitui ainda um sério problema de saúde pública na América Latina. Estima-se que sete milhões a oito milhões de pessoas estejam infectadas em todo o mundo (WHO, 2014).

Segundo estimativas da OMS atualmente cerca de 6 a 8 milhões de pessoas estejam infectados pelo T. cruzi em todo o mundo. Apesar de ser uma doença negligenciada e com os maiores índices presentes nos países subdesenvolvidos nas últimas décadas, o perfil epidemiológico passou por modificações em decorrência do processo migratório, sendo possível encontrar indivíduos acometidos por essa doença em países da América do Norte, Europa e Ásia (SCHMUNIS, G.A, 2007; RIBEIRO et al, 2012).

Pesquisas em terapêutica para dCh - enfermidade responsável por incapacitar milhares de trabalhadores em fase produtiva de suas vidas, levando-os à aposentadoria precoce e a grande prejuízo socioeconômico – podem levar a resultados fundamentais no combate a essa enfermidade e suas consequências (WHO, 2014).

A cardiomiopatia chagásica crônica (CCC) é a manifestação mais grave da dCh, na qual se observa intensa e extensa ação inflamatória e fibrótica sobre o miocárdio (Bogliolo, 1909), provocando alterações estruturais e autonômicas que afetam cerca de 20% a 30% dos infectados (ROCHA, 2003). Além disso, a CCC apresenta, como substrato morfológico fundamental, uma miocardite crônica progressiva e fibrosante e, consequência, clínico, variando desde formas silenciosas até formas mais graves, como a insuficiência cardíaca (IC) refratária, arritmias complexas, aneurismas ventriculares e a morte súbita (GOLDWASSER, FELDMAN, GINEFRA, 1990).

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. Nesse contexto, a resposta imune exerce um papel central na sinalização e regulação da expressão do hormônio antimicrobiano produzido pelos hepatócitos chamado hepcidina. Este atua como regulador do metabolismo do ferro no organismo (MURPHY, McDONALD, 2007; GROTTTO, 2008; GIL, 2014).

A anemia é o último estágio compensatório quando ocorre comprometimento na biodisponibilidade do ferro para os processos eritropoiéticos em decorrência dos complexos mecanismos fisiopatológicos. Nesse contexto, a anemia pode ser uma das manifestações clínicas da IC e sua presença é um determinante de gravidade da doença, levando à redução

na capacidade de se exercitar, ao risco aumentado para internações hospitalares, além de maior mortalidade (MURPHY, McDONALD, 2007). Em suma, contextualmente, o metabolismo do ferro encontra-se alterado na insuficiência cardíaca aguda e crônica, apresentando relação entre a gravidade da doença e o grau de alteração do metabolismo do ferro. (JANKOWSKA et al., 2010; JANKOWSKA et al., 2011; JANKOWSKA et al., 2013; JANKOWSKA et al., 2014). Entretanto, pouco ainda se sabe em relação à diferença no comportamento da anemia, principalmente nas alterações funcionais do ferro e da hepcidina na cardiomiopatia chagásica.

A presença e gravidade do elemento parasitário – parasitos fragmentos de DNA – são consideradas por muitos autores como fatores determinantes da presença e intensidade da inflamação e fibrose no miocárdio na cardiomiopatia dilatada crônica (PEREIRA BARRETO et al., 1986; HIGUCHI., 1995; REIS et al., 2000).

É possível que a cardiomiopatia chagásica crônica, por ter, como substrato fibrogênico, importante presença do elemento parasitário, expresse a resposta imune pró-inflamatória diferentemente de outras cardiopatias.

Por sua vez, a resposta imune pró-inflamatória pode influenciar a produção de hepcidina pelo fígado, podendo determinar modificações no metabolismo do ferro, na cardiopatia chagásica crônica em comparação à miocardiopatia de natureza não infecciosa ativa.

Com base nessas considerações, o objetivo desta dissertação, foi verificar se os marcadores da cinética do ferro guardam relação com o grau de morbidade e com a etiologia da insuficiência cardíaca proveniente da cardiomiopatia chagásica em relação à cardiomiopatia não chagásica.

## **3 Revisão da Literatura**

### 3.1 Importância do ferro na manutenção da homeostase celular

O ferro é um dos minerais mais importantes para a homeostase celular, sendo essencial para o transporte de oxigênio, componente imprescindível para a síntese do DNA, bem como para o metabolismo energético (MURPHY, 2007; GROTTTO, 2008). Esse mineral atua como cofator enzimático para enzimas da cadeia respiratória mitocondrial e na fixação do nitrogênio, sendo também importante para a síntese da hemoglobina (Hb) nos eritroblastos, da mioglobina nos músculos e dos citocromos no fígado (MURPHY *et al.*, 2007). Estima-se que o organismo de um indivíduo adulto possua cerca de 4g a 5g de ferro e que, desse armazenamento, aproximadamente 2g encontrem-se na forma de Hb.

Apesar do pequeno aporte desse mineral necessário para o organismo, a sua falta ou excesso pode gerar repercussões clínicas negativas para o paciente (GROTTTO, 2008). A expressão clínica da deficiência do ferro acarreta como consequência a anemia. Por outro lado, o acúmulo ou excesso de ferro é também nocivo para os tecidos, já que, ao reagir com o oxigênio, produz espécies de radicais de oxigênio hidroxil e ânions superóxido, acarretando lesões celulares e teciduais (MURPHY *et al.*, 2007; GROTTTO, 2008).

### 3.2 Metabolismo do Ferro e Anemia na Insuficiência Cardíaca

Anemia é uma condição em que as hemácias encontram-se quantitativamente insuficientes para manterem as necessidades fisiológicas do organismo, que variam de acordo com a idade, sexo, fumo, gravidez e altitude (WHO, 2011). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) define-se anemia como uma concentração de hemoglobina (Hb) <13 g/dL, para os homens, e Hb<12 g/dL para as mulheres, embora nem todos os estudos utilizam os mesmo critérios (COHEN-SOLAL *et al.*, 2014). A deficiência de ferro é uma das

causas mais comuns de anemia, dentre outras condições como deficiência de folato, vitamina B12 e vitamina A, inflamação crônica, infecções parasitárias e distúrbios hereditários (WHO, 2011).

A anemia leva a um estado de debilidades físicas e funcionais que piora a qualidade de vida dos indivíduos que apresentam, como sintomas frequentes, fraqueza, tontura e sonolência (WHO, 2011).

A anemia pode desencadear mecanismos cardiovasculares compensatórios caracterizado por aumento no fluxo sanguíneo em repouso, o que resulta numa redução das reservas coronariana e redistribuição do fluxo sanguíneo da região subendocárdica para a região subepicárdica do miocárdio. A presença de anemia também constitui agravante ao estado de hipóxia periférica, com aumento do retorno venoso e do trabalho cardíaco, levando à hipertrofia do ventrículo esquerdo (KLUSTEIN ; TZIVONI, 2005; HORL; ERTL, 2005). Neste contexto, o estudo retrospectivo RENAISSANCE (*Randomized Etanercept North American Strategy to Study Antagonism of Cytokines*) mostrou que aumento de 1g/dL na Hb associava-se com redução de 4,1 g/m<sup>2</sup> na massa ventricular esquerda, mensurada pela ressonância magnética, em período de observação de 24 meses (KLUTSTEIN *et al.*, 2005; HORL and ERTL., 2005; ANAND *et al.*, 2004).

Redução acentuada nos níveis séricos da Hb (4-5g/dL) associa-se com retenção de sódio e água, com redução do fluxo sanguíneo renal e da taxa de filtração glomerular, além de evidências de ativação neuro-hormonal na ausência de doença cardíaca orgânica (ANAND *et al.*, 2004; TANG ; KATZ., 2006).

A anemia, em pacientes com doença arterial coronariana sem disfunção sistólica, associa-se a aumento nos níveis do peptídeo natriurético cerebral (BNP), o que pode corresponder a uma associação entre anemia e aumento na pressão ventricular e tensão do miocárdio, antes mesmo da manifestação clínica de disfunção ventricular (DESAI *et al.*, 2007).

Com base nessas premissas, compreende-se por insuficiência cardíaca (IC) uma complexa síndrome clínica de acometimento multissistêmico, na qual o coração torna-se incapacitado de bombear quantidades necessárias de sangue para as demandas metabólicas e teciduais. Em geral, essa condição decorre de doenças que acometem o miocárdio, o aparelho valvar, a perfusão tecidual, bem como o sistema de condução cardíaco ou o pericárdio. Como o ferro é um mineral vital para a homeostase celular, considera-se que sua deficiência responda pelo agravamento do processo de remodelamento miocárdio (JULIANO *et al.*, 2010).

A IC compreende a disfunção ventricular sistólica ou diastólica, resultando na inabilidade de se atingir as necessidades metabólicas teciduais (BARRETO; RAMIRES, 1998). Neste contexto, as fases finais das doenças cardíacas caracterizam-se por manifestações clínicas sintomáticas que representam uma piora significativa em seu estado fisiológico, evidenciada por falência circulatória, revelada por fadiga, aumento da frequência cardíaca, vasoconstrição arterial e venosa retenção hídrica e aumento da volemia. Na patogenia desses eventos encontra-se a ativação de diferentes sistemas, que atuam em conjunto, como o sistema neuro-hormonal mediada pelo aumento da atividade adrenérgica, do sistema renina angiotensina-aldosterona, da endotelina, das citocinas, dos fatores natriuréticos atrial e cerebral, bem como das prostaglandinas (NANAS *et al.*, 2006; WIVIOTT *et al.*, 2007).

Alterações no metabolismo do ferro, por mecanismos biológicos, parecem contribuir para a gênese da IC (LAPICE; MASULLI; VACARRO, 2013). Estudos experimentais e clínicos evidenciam associação entre a IC e alterações no metabolismo do ferro.

Jankowska *et al.*, (2010), em estudo observacional prospectivo, mostram que 40% dos pacientes com falência cardíaca crônica apresentavam deficiência do ferro. Estudo realizado por Nana *et al.* (2006), investigando pacientes com insuficiência cardíaca grave, com fração de ejeção ventricular <22%, e também análise de biopsia da medula óssea, demonstrou que 73% dos pacientes apresentaram deficiência do ferro. Outro estudo, realizado por Anand *et al.* (2004), com 912 pacientes com IC, mostrou que 20% deles apresentavam Hb  $\leq$  12,5g/dL, sendo que esta percentagem associou-se com a gravidade da doença, estimada pela classe funcional da New York Heart Association (NYHA). Pacientes em classe funcional NYHA II, III e IV apresentavam, respectivamente, 10%, 13% e 17% com níveis de Hb  $\leq$  12 g/dL.

Koo *et al.* (2014) mostraram que a saturação de transferrina (TSat)  $\leq$ 20% associou-se com alto risco de eventos cardiovasculares. A TSat  $\leq$  20% apresentou associação negativa com parâmetros ecocardiográficos, bioquímicos e imunológicos como hipertrofia ventricular esquerda (Odds ratio - OR=1,46), proteína C reativa > 3mg/dL (OR=2,09), BNP-terminal > 10000 pg/mL (OR= 2,4) e troponina T > 0,1 ng/mL (OR=2,02).

Níveis séricos de hepcidina vêm também sendo estudados, apresentando-se como importante marcador prognóstico de anemia (KOO *et al.*, 2014). Jankowska *et al.* (2014) mostraram que os níveis de hepcidina, aliados aos de transferrina, apresentaram valor prognóstico para anemia, neste estudo 165 pacientes apresentaram insuficiência cardíaca, dos quais 25% apresentaram preservado o status de ferro, confirmando a importância

prognóstica dos biomarcadores da cinética do ferro juntamente com a hepcidina para revelar o estado de hipoferremia na IC.

**Tabela 1** - Estudos de maior relevância sobre alteração do metabolismo do ferro e anemia na IC.

<b>ESTUDO</b>	<b>TIPO DE ESTUDO</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>ANO DO ESTUDO</b>
<b>Iron deficiency: Heart Failure Chronic</b> N=546	Observacional prospectivo	Pacientes com IC apresentam deficiência de ferro como forte preditor independente de pior prognóstico	Jankowska et al., (2010)
<b>Systolic Heart Failure Associated Iron deficiency (ID)</b> N=149	Observacional prospectivo	A deficiência de ferro é comum em pacientes com IC. Deficiência de ferro não está associada com biomarcadores cardiovasculares. A inflamação, e não a ativação neuro-hormonal, associa-se à deficiência de ferro.	Schou et al., (2015)
<b>Heart Failure Chronic :Iron deficiency (ID)</b> N= 1506	Coorte	A deficiência de ferro é comum em pacientes com IC crônica e associa-se à gravidade da doença. Constitui um forte preditor para a ocorrência de anemia.	Klip et al., (2013)



TABELA 1- Estudos de maior relevância sobre alteração do metabolismo do ferro na IC (Continuação)

<b>Chronic Heart Failure. Associated Iron deficiency N= 184</b>	Transversal	As concentrações séricas de hepcidina foram reguladas por estoque de ferro e eritropoiese e não por IL-6. Sugere-se que a anemia da inflamação pouco influência sob a anemia na IC crônica.	Opasich et al. (2005)
<b>Chronic Heart Failure With Anemia N=101</b>	Transversal	A hemodiluição parece associar-se a menores níveis de hemoglobina, embora com pouca influência na deficiência de ferro em pacientes com IC crônica.	Adlbrecht et al. (2008)
<b>Disordered Iron Homeostasis: Chronic Heart Failure N=157</b>	Prospectivo	A alteração do metabolismo do ferro em pacientes com IC relaciona-se com pior capacidade funcional e sobrevida. A alteração do metabolismo do ferro sugere ser um preditor de maior gravidade quando comparado a anemia.	Okonko et al. (2011)
<b>IRON- HF study: Heart Failure N=23</b>	Randomizado prospectivo	A anemia em pacientes com IC mostra-se um preditor para maior morbidade. No entanto, o estudo sugere que para a correção da anemia nos pacientes IC com a suplementação de ferro tanto intravenoso quanto oral apresenta um efeito similar na melhora da capacidade funcional dos pacientes.	Beck-da-Silva et al,(2013)

TABELA 1- Estudos de maior relevância sobre alteração do metabolismo do ferro na IC  
(Continuação)

<b>Heart Failure N=34</b>	Randomizado	A alteração no metabolismo do ferro associa-se com a ocorrência de anemia e piora prognóstica em pacientes com IC.	Maeder et al., (2011)
<b>Heart Failure Associated Iron Deficiency N=459</b>	Randomizado duplo cego	A deficiência de ferro é um preditor de pior capacidade funcional. Tratamento com carbosimaltose férrica intravenosa em pacientes com IC, com e sem anemia, melhora os sintomas, a capacidade funcional e a qualidade de vida.	Anker et al, (2009);



ferro intracitoplasmático (MURPHY *et al.*, 2007; GROTTTO, 2008).

Em relação ao excesso deste mineral, sabe-se que a redistribuição se dá a partir da borda em escova da célula para o citoplasma (GIL; FERREIRA, 2014). A presença de mecanismos regulatórios permite um equilíbrio entre o consumo dietético do heme antes mesmo que ele seja eliminado pelo movimento peristáltico do intestino, evitando a captação desnecessária e seu provável acúmulo. Outro fator relevante é a hipóxia, que também induz a síntese da HCP1, levando à captação da heme, dada a sua maior necessidade pelo organismo (MURPHY *et al.*, 2007; GROTTTO, 2008).

A reciclagem do ferro é importante, haja vista a quantidade diária necessária para a eritropoese. Como a vida média das hemácias é de aproximadamente 120 dias, sua senescência representa uma importante fonte de ferro ao organismo, cerca de 25 a 30 mg/dia. Essa quantidade diária de ferro reciclado é suficiente para manter a síntese da hemoglobina (MURPHY *et al.*, 2007).

Sob os aspectos bioquímicos responsáveis pela síntese de novos eritrócitos, observa-se a ocorrência de alteração na superfície da molécula das hemácias que acumula-se a medida que torna-se senescentes.

Estudo de Lutz *et al.* (1988), em linhagem de células senescentes, evidencia a presença de peroxidação de lipoproteína de membrana, com perda de ácido siálico e formação de neoantígenos bem como moléculas modificadas na banda 3. Essas alterações sinalizavam a presença de um corpo estranho para os macrófagos. A esta descoberta se deu o nome de eriptose ou morte programada caracterizada por “encolhimento” das células vermelhas com externalização de fosfa-tidil-serina, reconhecida pelo CD36, receptor da fosfa-tidil-serina no macrófago (LUTZ *et al.*, 1988).

O catabolismo do grupamento heme é feito por um complexo enzimático ancorado na membrana do retículo endoplasmático, compreendendo o NADPH-citocromo C-redutase, a heme-oxigenase 1(HO1) e a biliverdina redutase, CO, ferro e bilirrubina são os produtos da reação. A cadeia globínica é constituinte proteica da molécula de Hb (MURPHY *et al.*, 2007).

A ferroportina (FPN) é o único transportador responsável pelo fluxo de ferro para fora da célula. Quando a hepcidina se liga à ferroportina de uma célula, o complexo hepcidina-ferroportina é endocitado e é degradado, diminuindo o número de ferroportinas disponíveis na membrana plasmática da célula (NEMETH and GANZ, 2006).

Em seguida, o  $Fe^{2+}$  presente no macrófago, ao ser exportado pela (FPN), será posteriormente oxidado pela ceruloplasmina, e sintetizado nos hepatócitos. Finalmente, o

$\text{Fe}^{3+}$  será transportado pela transferrina para ser reutilizado, principalmente na medula óssea, dando início a um novo ciclo de hemoglobinizacão a novos eritrócitos (MURPHY *et al.*, 2007; GROTTTO, 2008).

No meio intracelular, o processo de liberaçao do ferro da protoporfirina ocorre via açao enzimática da heme-oxigenase (HO), e permite que ele se desloque para o *pool* de armazenamento ferro não heme, dependendo da demanda, podendo permanecer sequestrado nos enterócitos, pela ferritina, sendo eliminado pela descamaçao do epitélio intestinal. Se houver necessidade de ferro pelo organismo, ocorrerá sua liberaçao para o meio extracelular, sendo o mesmo transportado pela transferrina (MURPHY *et al.*, 2007; GROTTTO, 2008).

Na deficiência de ferro por hipoxia ocorre aumento na síntese das proteínas transportadoras do ferro como: DMT-1 e ferroportina. Como a transferrina que apresenta grande afinidade pelo ferro na forma férrica, o  $\text{Fe}^{+2}$  será oxidado a  $\text{Fe}^{3+}$  após sua externalizaçao pela ferroportina (MURPHY *et al.*, 2007; GROTTTO, 2008).

O transporte do Fe plasmático para a célula é realizado pela transferrina, esse transporte é realizado para o meio intracelular por meio de um receptor específico (TfR) presente na maioria das células (MURPHY *et al.*, 2007). Em condições normais, a transferrina é capaz de transportar até 12mg de ferro; em geral, essa capacidade dificilmente é utilizada. Cerca de 3 mg de ferro circulam ligados à TfR, sendo que aproximadamente 30% da TfR estarão saturados com o ferro (MURPHY *et al.*, 2007; GROTTTO, 2008). Quando a transferrina está totalmente saturada, o ferro pode circular livremente pelo soro; no entanto, a forma não ligada à TfR é facilmente internalizada pela célula dificultando sua biodisponibilidade para os processos eritropoieticos (MURPHY *et al.*, 2007; GROTTTO, 2008; PIETRANGELO, 2016).

A captaçao da molécula do ferro pela célula inicia-se quando da interaçao entre (transferrina-TfR) e a molécula de ferro em pH extracelular de 7,4. O complexo Tf-TfR-HFE passará por endocitose. No interior do endossoma, a participaçao da bomba de prótons dependente de ATP é encarregada de reduzir o pH, liberando o ferro da Tf, o qual permanece ligado ao seu receptor complexo apo Tf-TfR-HFE ao ser reciclado volta à superfície celular (CHUNG, WESSLING-RESNICK, 2003). Assim, o ferro que permanecesse no meio endossomal atravessará a membrana da vesícula, alcançando o citoplasma. O fluxo do ferro do endossoma para o meio citoplasmático ocorre a partir da proteína DMT-1 (MURPHY *et al.*, 2007). A liberaçao do ferro ao endossoma pela Tf está em sua forma férrica ( $\text{Fe}^{+3}$ ). Na seqüência, o ferro é incorporado ao anel de protoporfirina formando o grupamento heme que, quando em combinaçao com as cadeias de globinas, formará a molécula de hemoglobina

(MURPHY *et al.*, 2007; DOMENICO, 2008).

Quando o ferro está em excesso no meio intracelular, ocorre formação do complexo IRE-IRP e aumento na síntese da TfR. Há evidências de que, na anemia ferropriva, as concentrações de sTfR estejam aumentadas (DOMENICO, WARD and KAPLAN 2008).

Na hemocromatose hereditária, observa-se uma mutação na TfR2, membro da família das TfR. O TfR2 expressa-se em maior quantidade no fígado e também em algumas linhagens de células, como a K562 (eritroleucemia) e HepG2 (hepatoblastoma). Embora o TfR2 apresente atividade de captação do ferro TfR tem afinidade muito baixa pela Tf diférrica (DOMENICO, WARD and KAPLAN 2008).

O metabolismo do ferro na mitocôndria ainda está pouco esclarecido. Sabe-se, no entanto, que a síntese do heme, e também a biossíntese do Fe-S, realiza-se no compartimento mitocondrial, a liberação do ferro para outras células é conhecida como kissandrun (entre as duas organelas) (MURPHY *et al.*, 2007; CAMASCHELLA and SILVESTRI, 2008).

O ferro, ao ser transportado pela proteína frataxina – presente tanto na membrana interna quanto na matriz mitocondrial, destina o ferro para síntese do heme, com base nas premissas que norteiam as funções da frataxina vale ressaltar sua importante função na prevenção de possíveis danos oxidativos (ALCINDOR , BRIDGES , 2012; NAIRZ, WEISS, 2016; LILL *et al.*, 2012; HAMEL and SCHRETLEN, 2002).

A cadeia respiratória mitocondrial é o local onde ocorre a reação de oxirredução e a conversão do ferro férrico a ferroso, a partir da enzima ferroquelatase, para síntese do heme (MURPHY *et al.*, 2007).

A ferritina é a principal proteína envolvida no armazenamento do ferro, sendo encontrada no meio intracelular e também como constituinte normal do plasma. Esta proteína representa um indicador satisfatório das reservas deste elemento no organismo humano (THEIL, 2003; LIU *et al.*, 2006). A ferritina existe principalmente em alguns órgãos como fígado, baço, medula óssea e rim, constituindo a reserva principal do ferro disponível principalmente à eritropoiese (EMERIT *et al.*, 2001; RAMAKRISHNAN *et al.*, 2002).

A dosagem de ferritina sérica tem sido amplamente estudada, dada sua relevância no diagnóstico clínico tanto da deficiência como do excesso de ferro, como também na avaliação das condições e tratamentos ameaçadores de seu equilíbrio (FLEMING *et al.*, 2001).

A dosagem de ferritina é de grande valia no diagnóstico da anemia por deficiência de ferro, podendo indicar o desaparecimento das reservas de ferro antes do início dos sintomas (WOLFF *et al.*, 2004). Além disso, ela é importante na triagem de portadores de

hemocromatose e outras formas de desequilíbrio do ferro (BEARD; TOBIN, 2000).

Neste contexto, embora o esgotamento dessas reservas pareça ser a única condição associada à verificação da concentração sérica de ferritina, a observação de seu aumento não está relacionada apenas ao acréscimo de ferro armazenado, mas também a várias condições fisiopatológicas, incluindo distúrbios hepáticos, condições inflamatórias, leucemias, doenças autoimunes, doença de Hodgkin e outras neoplasias (FELKER *et al.*, 2004; BEYAN *et al.*, 2003).

Condições inflamatórias também podem aumentar os níveis séricos da ferritina, ao mesmo tempo em que diminuem a concentração sérica do ferro, por estimulação da produção de ferritina nas células do retículo endotelial, utilizando o ferro que, de outra forma, seria liberado para as proteínas transportadoras do plasma (EMERIT *et al.*, 2001; HENTZE *et al.*, 2004).

Do exposto, depreende-se a importância da determinação sérica dos parâmetros da cinética do ferro e o monitoramento, de forma não invasiva, do esgotamento progressivo das reservas do ferro em diversas condições patológicas humanas e, em especial, na IC.

Existe uma complexidade de mecanismos fisiopatológicos pelos quais a IC pode contribuir para o desenvolvimento da anemia, como a ferropenia e outras deficiências hematínicas, sangramento, desnutrição, hemodiluição, doença renal crônica e aumento na expressão de citocinas pró-inflamatórias, levando à depressão na produção medular de eritrócitos, com resistência à ação da eritropoietina (EPO) (KLUTSTEIN ; TZIVONI, 2005; LEWIS *et al.*, 2005, FELKER *et al.*, 2004; MURPHY *et al.*, 2007). Esses mecanismos parecem atuar concomitantemente, sendo provável que a anemia nos pacientes com IC seja o resultado de uma complexa interação entre o funcionamento cardíaco, ativação neuro-hormonal e inflamatória, função renal e resposta da medula óssea (FELKER *et al.*, 2004).

Neste contexto os mecanismos adaptativos na IC em geral leva a um estado de ativação inflamatória persistente, encontrando-se níveis aumentados de citocinas pró-inflamatórias e esses valores associam-se a uma maior gravidade da doença cardíaca e conseqüentemente a piores desfechos (FELKER *et al.*, 2004). Desai *et al.*, (2007), demonstraram uma correlação inversa entre os marcadores inflamatórios (proteína c reativa e citocinas pró-inflamatórias) e os níveis séricos de Hb.

As citocinas pró-inflamatórias fator de necrose tumoral alfa (TNF)- $\alpha$ , interleucina (IL)-1 e (IL)-6 diminui a secreção renal EPO, ao suprimir a atividade desta sobre os precursores eritróides na medula óssea reduzindo a biodisponibilidade do ferro para a síntese de Hb. As citocinas também promovem aumento nos níveis do peptídeo hormonal hepcidina

que por sua vez interagem com as proteínas transportadoras do ferro no enterócito inibindo a absorção de ferro (HORL, 2005; TANG, KATZ, 2006).

Estudo em humanos tem demonstrado resultados controversos em relação aos níveis de produção da hepcina em pacientes com IC associados à anemia ou não. Adlbrecht *et al.*, (2008) relacionaram pacientes com IC anêmicos e não anêmicos e não encontraram diferença na dosagem de pró-hepcidina entre os grupos. A deficiência do ferro também não correlacionou com as dosagens de pró-hepcidina (ADLBRECHT *et al.*, 2008). Entretanto, estudos ao avaliar os níveis de hepcidina sérica em 61 pacientes com IC hospitalizados. Encontraram que os pacientes com anemia (n=36) apresentam níveis de hepcidina inferior aos dos pacientes sem anemia e aos do grupo controle sadios ( $p < 0,05$ ), neste estudo não foi encontrado evidências de correlação entre os níveis séricos de IL-6 com os de hepcidina (MATSUMOTO *et al.*, 2010).

Opasich *et al.*, (2005) investigaram um grupo de 148 pacientes com IC sistólica e diastólica e anemia encontrando uma prevalência de 57% de anemia de doença crônica, sendo que desses pacientes 63% apresentaram níveis elevados nos receptores solúvel da transferrina (sTfR) e/ou saturação de transferrina sugerindo deficiência nos processos eritropoieticos e conseqüentemente deficiência de ferro associada (OPASICH *et al.*, 2005).

### 3.3.1 Metabolismo do Ferro e Anemia nas Doenças Infecciosas

Uma resposta infecciosa generalizada acompanha-se de intensa resposta imune, permitindo o controle do agente infeccioso, e conduzindo à intensa infiltração de células mononucleares nos tecidos atingidos, produção local e sistêmica de citocinas, quimiocinas e outros mediadores inflamatórios, tais como o óxido nítrico (NO) (SCOTT, 2005).

Na fase aguda de uma infecção ocorre uma forte ativação dos componentes celulares do sistema imune mediada por macrófagos, voltada para a eliminação dos agentes infecciosos, assemelhando-se com o perfil de resposta do tipo Th1, com produção de citocinas tais como IL-12, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  (SCOTT, 2005). A regulação da produção dessas citocinas passa pela resposta do tipo Th2 que, por sua vez, produz citocinas com perfil anti-inflamatório como a IL-4, IL-10, IL-13 e TGF- $\beta$  que modulam a resposta dos macrófagos, protegendo os tecidos contra a agressão da resposta imune mas prejudicando a eliminação do agente infeccioso (SCOTT, 2005). Especula-se que a patogênese das infecções esteja associada com marcadores imunológicos de mudanças na homeostase da hepcidina,



responsável em regular o metabolismo do ferro.

Nemeth *et al.*(2009), em estudo transversal de 321 pacientes com IC crônica, mostraram que à medida que a IC se agravava, declinavam os níveis circulantes de hepcidina (NEMETH *et al.*,2004), achado confirmado por Hentze *et al.* (2010) e por Jankowska *et al.* (2013).

Pacientes nos estágios iniciais da IC apresentam aumento nos níveis circulantes de citocinas pró-inflamatórias, que poderia estar relacionado a maior estímulo para produção de hepcidina (OKONKO *et al.*,2011).

O desequilíbrio na homeostase do ferro em pacientes com IC e os baixos níveis circulantes de hepcidina associam-se com pior capacidade funcional, estimada pelo teste de caminhada de 6-minutos, e menor na sobrevida (JANKOWSKA *et al.*,2011).

Semelhantemente, Jankowska *et al* (2011) relataram que a deficiência de ferro em pacientes com IC apresentaram baixos níveis séricos de hepcidina e a longo prazo estes níveis associavam-se com pior qualidade de vida.

Não se estudou, até o presente momento, o comportamento dos níveis circulantes de hepcidina em pacientes com cardiomiopatia chagásica crônica. Em estudo observacional transversal em que foram avaliados os níveis séricos de hepcidina em 70 pacientes com infarto agudo do miocárdio e 30 controles, observou-se que a hepcidina não se mostrou um marcador de necrose miocárdica na fase aguda da doença (ALTIN *et al.*,2014).

Revisão da literatura visando estimar as possíveis alterações no metabolismo do ferro em pacientes com cardiopatia chagásica crônica, esbarra com dificuldades tendo em vista que os resultados acerca do tema passam por questionamentos muitas vezes antagônicos (BOTONI *et al.*,2007; MIRANDA *et al.*,2015). Contudo, sabe-se que o mecanismo fisiopatológico da alteração do metabolismo do ferro em pacientes com insuficiência cardíaca crônica passa por uma complexa resposta imunológica.

A resposta à hipoferremia nas doenças infecto parasitárias, em especial no que diz respeito à doença de Chagas, deve constituir objeto de estudos. Até o presente momento, não se conhece ao certo a via de sinalização que regula a homeostase do ferro na cardiomiopatia chagásica crônica (ANDREWS , FLEMING , LEVY , 1999).

Sabe-se que, na malária, a anemia associa-se com baixos níveis séricos de ferro com aumento nas concentrações de hepcidina e retenção do ferro no sistema reticulo endotelial (GAZZINELLI *et al.*, 2014; CHERIAN *et al.*,2008; ZHAO *et al.*,2013; AYRES , SCHNEIDER, 2012). Microrganismos intracelulares obrigatório apresenta vantagens quando ocorre estoque de ferro. Por outro lado, o hospedeiro encontra-se em desvantagem

tendo em vista que o estoque do ferro no meio intracelular promove deficiência funcional de ferro, impedindo a eritropoiese e a reciclagem do ferro (AYRES; SCHNEIDER 2012; IDJRADINA , WATKINS , POLLITT, 1994).

A maior concentração de hepcidina observada na inflamação pode aumentar a virulência de bactérias (p.ex. *Salmonella* e *Mycobacterium* spp) tendo em vista que o estoque do ferro no sistema mononuclear fagocítico pode influenciar o poder patogênico dos microrganismos. Neste contexto, frente a infecções por patógenos intracelulares obrigatórios, como a malária, não seria recomendável a suplementação de ferro a crianças nas áreas endêmicas, pois poderia resultar em proliferação do patógeno latente (HUANG *et al.*,2012).

Na infecção pelo *Helicobacter pylori*, há correlação direta entre concentrações de hepcidina e citocinas, demonstrada em crianças jovens, sugerindo que a inflamação induzida pelo agente infeccioso pode influenciar a dinâmica do ferro, por aumento dos níveis de hepcidina (VILLARROEL , BLANCI , ARREDONDO , 2012).

A hepcidina tem efeito imunometabólico. Sabe-se que sua regulação ocorre por via dependente do sistema imunológico ou por hipóxia e sabendo da estreita relação de estímulos inflamatórios nas doenças infecciosas, em particular na infecção pelo *T.cruzi*, é de se esperar que o metabolismo do ferro também esteja alterado na doença de chagas por apresentar um infecção ativa no hospedeiro e também por ser uma das miocardites mais infecciosas e mais fibrosantes em comparação às outras miocardiopatias.

Neste contexto, a sinalização hepática induzida pela resposta inflamatória na hipoferremia das doenças crônicas passa pela via JAK2/STAT3, em resposta a estímulos inflamatórios decorrentes do aumento nas concentrações de IL-6 que se liga a receptores, levando à ativação da JAK2 que, por sua vez, promove a fosforilação da STAT3, resultando no aumento da expressão da hepcidina. No que tange aos aspectos da anemia nas doenças crônicas, a autorregulação da FPN1 reduz o efluxo do ferro no sistema macrofagocítico, limitando sua presença na circulação e confinando sua viabilidade às atividades eritropoiéticas (CASALS-PASCUAL *et al.*,2012).

A indução da hipoferremia e o desvio do tráfego do ferro que ocorre nas condições inflamatórias agudas também apresentam efeitos positivos sobre patógenos extracelulares (CASALS-PASCUAL *et al.*,2012). O influxo do ferro do meio intracitoplasmático e subsequente estoque no sistema retículo endotelial reduz a disponibilidade deste nutriente essencial ao microrganismo e células tumorais, tornando-se uma estratégia de defesa eficaz para o controle do crescimento de patógenos.

As informações referentes a possível relação entre o padrão de comportamento dos

níveis séricos de hepcidina em pacientes com doença de Chagas aguda ou crônica e, especialmente, seu comportamento na CCC e sua relação com a morbidade e grau de IC associada.

Sabendo que a miocardiopatia chagásica é de natureza infecciosa, de caráter inflamatório e fibrosante, seria de se esperar expressões elevadas da hepcidina, em relação a cardiomiopatias de outras etiologias.

Deve-se considerar, no contexto desta análise, em ambas as situações, a hipoperfusão hepática, que diminui a produção de citocinas inflamatórias como o IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-1, relacionadas com maior expressão de hepcidina (VILLARROEL , BLANCI , ARREDONDO , 2012).

## **4 HIPOTESES E OBJETIVOS**

## **4 HIPOTESE E OBJETIVO**

### **4.1 Hipóteses**

- Os marcadores do metabolismo do ferro apresentam perfis distintos em pacientes com dCh, nas formas cardíacas e indeterminadas e em pacientes com cardiomiopatia não chagásica.
- Existe relação entre os marcadores da cinética do ferro e o grau de disfunção ventricular.

### **4.2 Objetivo geral**

Verificar o comportamento dos marcadores do metabolismo do ferro em pacientes com forma indeterminada e cardiomiopatia chagásica e cardiomiopatia não chagásica.

### **4.3 Objetivos específicos**

- Avaliar se marcadores de metabolismo do ferro: CTLF, IST, FeSe e Ferritina apresentam associação com a morbidade em pacientes com doença de Chagas.
- Avaliar se marcadores de metabolismo do ferro apresentam associação com o grau de comprometimento da função ventricular em pacientes com cardiomiopatia chagásica.
- Avaliar se marcadores de metabolismo do ferro apresentam diferença em suas concentrações séricas em pacientes com cardiomiopatias chagásica e não chagásica com graus semelhantes de comprometimento funcional do ventrículo esquerdo.

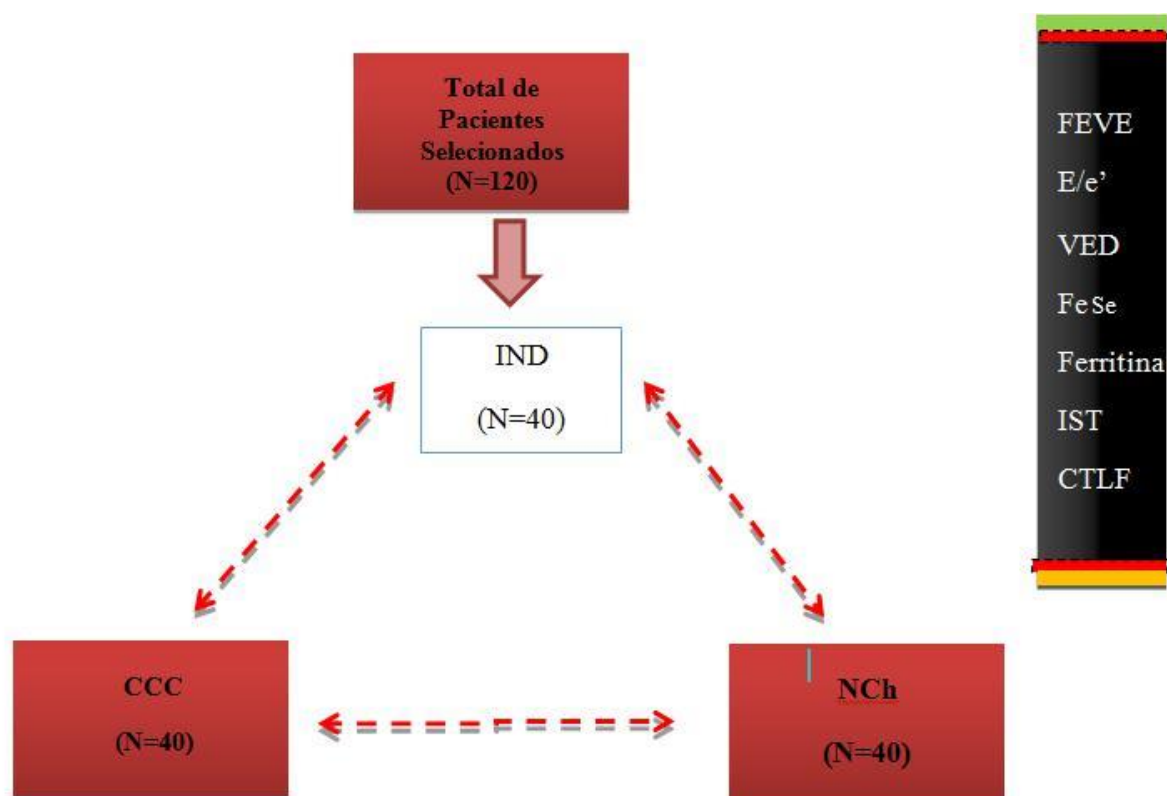
# **5 POPULAÇÃO, MATERIAIS E MÉTODOS**

## 5 POPULAÇÃO, MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1 População estudada

Foram selecionados consecutivamente, de acordo com os critérios de inclusão e exclusão, 40 pacientes com cardiomiopatia chagásica crônica (CCC), 40 pacientes chagásicos com a forma indeterminada (IND) e 40 pacientes com cardiomiopatia não chagásica (NCh) (FIGURA 1). Os pacientes foram selecionados e agrupados no ambulatório de Referência em Doenças Infecciosas e Parasitárias CTR-DIP da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais e no Ambulatório de Cardiologia do Serviço de Cardiologia e Cirurgia Cardiovascular do Hospital das Clínicas da UFMG. Os pacientes com cardiomiopatia chagásica crônica e com a forma indeterminada da doença de Chagas apresentaram sorologia confirmatória para *T. cruzi*. O cuidado clínico foi oferecido a todos, independentemente da aceitação ou não em participar do estudo. Na rotina de avaliação do comprometimento funcional cardíaco, os pacientes foram submetidos aos exames complementares de eletrocardiografia convencional, ecodopplercardiografia, teste ergométrico e eletrocardiografia dinâmica (Holter), de acordo com a rotina de atendimento do Serviço de Cardiologia e Cirurgia Cardiovascular do Hospital das Clínicas da UFMG. Para fins de definição do grau de comprometimento cardíaco dos pacientes chagásicos, adotou-se classificação habitual no Ambulatório de Referência em Doenças de Chagas descrita no QUADRO 1 (ROCHA *et al.*, 2003; 2007).

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG-COEP com número de identificação ETIC 359/04 (ANEXO B).

**FIGURA 2-** Delineamento e estratégia do estudo

**Figura 2** – Delineamento e estratégia do estudo: total de pacientes selecionados N=120, forma indeterminada da doença de Chagas (IND) N=40, miocardiopatia Chagásica (NCh) N=40, cardiomiopatia Chagásica crônica (CCC) N=40. Variáveis ecocardiográficas: fração de ejeção ventricular (Feve), relação (E /e'), diâmetro diastólico ventricular esquerdo (VED). Variáveis da cinética do ferro: ferro sérico (FeSe), Ferritina, índice de saturação de transferrina (IST), capacidade total de ligação do ferro (CTLF).



## 5.2 Critérios De Inclusão

- a) Pacientes com diagnóstico estabelecido de CCC e IC de outras bases etiológica;
- b) Pacientes com fração de ejeção ventricular esquerda (FEVE) menor ou igual a 55% (Simpson modificado) e diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (VED) maior que 55 mm;
- c) Pacientes acima de 18 anos de idade.

### 5.2.1 Critérios De Exclusão

- d) Pacientes com idade inferior a 18 anos;
- e) Pacientes diagnosticados com outras doenças que pudessem interferir na imunidade celular ou humoral, tais como: tuberculose, hanseníase, esquistossomose, leishmaniose;
- f) Pacientes com moléstias que pudessem impor fatores de confusão com relação ao metabolismo do ferro: diabetes, doença pulmonar obstrutiva crônica, asma brônquica, alcoolismo crônico, doença tireoidiana, doença do colágeno, insuficiência hepática (Congestão hepática – elevados níveis de VitB12) ou renal, anemia por outras causas e pacientes com a forma digestiva da dCh;
- g) Gestantes;
- h) Obesos.

## 5.3 MÉTODOS

### 5.3.1 Avaliação Clínica

Todos os participantes foram submetidos a avaliação clínica (CHIZNER, 2002), por um único observador, constituída de anamnese e exame físico pormenorizados. Foram aplicados os critérios de Framingham (MCKEE *et al.*, 1971) visando aumentar a acurácia, reprodutibilidade e confiabilidade do diagnóstico da insuficiência cardíaca. Esses critérios são subdivididos em sinais maiores e menores, caracterizando o diagnóstico como definitivo, provável ou questionável. O diagnóstico definitivo foi marcado por dois sinais maiores ou um maior e dois menores durante a avaliação clínica. Considerava-se diagnóstico provável quando o médico examinador tivesse certeza do diagnóstico de IC, com listagem incompleta dos sinais, e questionável, se os sintomas e sinais encontrados puderem ser atribuídos a outras condições clínicas. Considera-se dessa escala o somatório maior ou igual a dois como diagnóstico definitivo de IC (QUADRO 1).

## Quadro 1

Critérios maiores e menores para diagnóstico de IC (MCKEE et al., 1971)

**Sinais Maiores**

Ortopnéia ou dispnéia paroxística noturna  
 Ingurgitamento jugular  
 Crepitações pulmonares  
 Cardiomegalia  
 Edema pulmonar agudo  
 Terceira bulha  
 Pressão venosa central maior que 16cm de água  
 Tempo de circulação maior ou igual a 25 segundos  
 Refluxo Hepatojugular

**Sinais Menores**

Edema de MMII  
 Tosse noturna  
 Dispnéia aos esforços  
 Hepatomegalia  
 Derrame pleural  
 Capacidade vital 1/3 abaixo da máxima prevista  
 Frequência cardíaca acima de 100 / minuto  
 Sinal Maior ou Menor  
 Perda de mais de 4,5kg em cinco dias ao tratamento para  
 ICC, sem outra explicação (considerar maior, caso contrário menor!)

**5.3.1 Avaliação Ecocardiográfica**

O estudo ecocardiográfico constituiu-se do emprego do modo-M, bidimensional, Doppler em cores, pulsado, contínuo e tecidual em aparelho ATL Philips HDI 5000, empregando transdutores de 2,5 e 3,0 MHz. Os estudos pelo modo M foram guiados pela imagem bidimensional. Todas as medidas foram realizadas conforme as recomendações da Sociedade Americana de Ecocardiografia (ASE) - (SAHN *et al.*, 1978). Foram obtidos cortes padronizados, paraesternal, longitudinal e transverso, além dos cortes apicais em duas, três, quatro e cinco câmaras. Os ventrículos foram analisados qualitativa e quantitativamente, conforme as recomendações da ASE (SCHILLER *et al.*, 1989). Foram descritas a morfologia das câmaras cardíacas, textura miocárdica, contratilidade das paredes e possíveis achados de trombos e aneurisma. A contratilidade segmentar foi avaliada através do espessamento endocárdico e motilidade das paredes, definindo-se as alterações conforme a observação de

hipocinesia, acinesia, discinesia ou aneurisma. A análise quantitativa baseou-se nas medidas dos volumes diastólicos e sistólicos finais do ventrículo esquerdo, obtidas pelos cortes apicais de quatro e duas câmaras. Devido ao frequente achado de alteração segmentar contrátil, notadamente da parede posterior, o cálculo da FEVE foi realizado empregando-se o método de Simpson modificado. Os exames foram realizados no Setor de Ecocardiografia do Serviço de Cardiologia e Cirurgia Cardiovascular do HC-UFG, pela Profa. Dra. Maria do Carmo Pereira Nunes. O custeio do transporte dos pacientes para realização do exame foi garantido pelo pesquisador.

### 5.3.2 Avaliação Hematológica

Todos os soros utilizados neste projeto procederam de pacientes avaliados no HC/UFG. Aqueles infectados pelo *T.cruzi* foram agrupados como forma indeterminada (IND) e cardiomiopatia chagásica crônica (CCC). Os com miocardiopatia não chagásica (NCh) apresentavam testes sorológicos negativos para infecção pelo *T.cruzi*. Quando obedecidos os critérios de inclusão, coletavam-se as amostras de sangue que eram armazenadas em tubos. O sangue venoso foi centrifugado para separação do soro, sendo em seguida armazenado a  $-70^{\circ}\text{C}$ , para futura análise do nível sérico da hepcidina e marcadores inflamatórios por ocasião do doutorado. 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).

### 5.3.3 Ferritina – Transferrina

#### Imunoturbidimetria

O kit utilizado foi o Bioclin®. O sistema ferritina é um ensaio quantitativo bastante sensível, envolvendo reações antígeno-anticorpo em que a aglutinação formada é medida por turbidimetria. As amostras foram conservadas entre 2-8<sup>0</sup>C. Para a dosagem no soro aquecia-se o reagente à temperatura de 37<sup>0</sup> C que foi ajustado o zero de absorbância do equipamento com água deionizada em 540 nm, o reagente de trabalho antes do uso foi homogeneizado. Depois de homogeneizado foi pipetado nas cubetas dos tubos de ensaio: o reagente de trabalho 1000 µL (padrão) e 1000 µL (teste) foram misturados e inseridos cubeta imediatamente na porta cubetas termostatizado a 37<sup>0</sup> em seguida foi acionado o cronômetro. E após 10 segundos, feito a leitura fotométrica (A<sub>1</sub>) do padrão e do teste a 540 nm.

## 5.4 FERRO SÉRICO

### 5.4.1 Teste colorimétrico

O kit utilizado foi o Bioclin®. Foram marcados três tubos de ensaio com as letras B (branco), P (padrão), A (amostras). Em seguida, acrescentou-se ao reagente n<sup>o</sup> 1 – 2 ml do branco – 2 ml padrão – 2 ml com 500 µL de água destilada – 500 µL de amostra – reagente n<sup>o</sup> 3 500 µL em seguida, foi homogeneizada suavemente e determinada à absorbância da amostra em 560 nm. (540 - 580 nm), acertado o zero com o branco. A absorbância A<sub>1</sub>. Em seguida foi adicionado ao

reagente nº 2, 1gota do branco – 1 gota do padrão e 1 gota da amostra foi homogeneizado suavemente e incubado em banho maria a 37<sup>0</sup> C, por 10 minutos. Foram determinadas as

absorbâncias da amostra padrão em (540 nm – 580 nm), acertando o zero com o branco. A absorbância da amostra foi calculada.

## **5.5 Análise Estatística (Cohen, 1988)**

Os dados obtidos foram submetidos à análise de normalidade de distribuição dos valores (Quadro 3). Nas amostras com distribuição normal, aplicou-se o teste *t* de Student. Para as amostras com distribuição anormal, aplicou-se o teste de Mann-Whitney. Análises de correlação entre as variáveis de distribuição paramétrica ou não-paramétrica foram realizadas pelos testes de Pearson e Spearman, respectivamente. O risco relativo foi utilizado para verificar associação entre os parâmetros da cinética do ferro - CTLF, ferro, IST e ferritina - com o desfecho de interesse. Para análise multivariada, utilizou-se o modelo de regressão de Cox, sendo avaliada a associação de variáveis que se relacionaram em óbito, hazard ratio (HR) e o IC95%. Testamos a confiabilidade do modelo de regressão logística multivariada, utilizando o teste Hosmer e Lemeshow. Encontrou-se um valor de *p* igual a 0,419, portanto >0,30 demonstrando que este modelo bem expressa o que se observa aos eventos do estudo para o desfecho. A curva de sobrevida para os dois grupos foi estimada pelo método de Kaplan-Meier e comparados pelo teste long-rank.

### **5.5.1 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 [±] 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 por selecionar 40 pacientes em cada grupo IND, CCCe NCh. As análises e armazenamento dos dados foram feitos em programa SPSS versão 19.

**Quadro 2** - Natureza, classificação e descrição das variáveis estudadas.

Natureza	Classificação	Descrição/ Escala
Idade	Quantitativa, contínua	Anos
Sexo	Catagórica, nominal	Masculino ou Feminino
Classificação clínica	Catagórica, ordinal	IND, CCC e NCh
VARIÁVEIS ECOCARDIOGRAFICAS		
FEVE (%)	Quantitativa, contínua	Percentual
VED (mm)	Quantitativa, contínua	Milímetros
Relação E/e	Quantitativa, contínua	Contagem
VARIÁVEIS LABORATÓRIAS		
FeSe	Quantitativa, contínua	Microgramas/decilitro
IST (%)	Quantitativa, contínua	Percentual
CTLF	Quantitativa, contínua	Microgramas/decilitro
Ferritina	Quantitativa, contínua	Nanogramas/Mililitro
Hb	Quantitativa, contínua	Microgramas/decilitro

**Quadro 2.** Variáveis estudadas: idade, sexo, fração de ejeção ventricular (feve), diâmetro diastólico ventricular (VED), relação E/e', ferro sérico (FeSe), índice de saturação de transferrina (IST), capacidade total de ligação do ferro (CTLF), ferritina, hemoglobina (Hb).

### 5.5.1 Normatização técnica e busca da bibliografia

Foram adotadas as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) na elaboração do texto, quadros, figuras, tabelas. Nas referências bibliográficas, tomou-se como base o PUBMED, preferindo-se os textos de mais representatividade e sem estabelecer limite de tempo nas buscas. As palavras-chave foram "insuficiência cardíaca", "doença de Chagas", "ferro e insuficiência cardíaca", "ferro e doenças infecciosas", "metabolismo do ferro e insuficiência cardíaca", "resposta inflamatória e metabolismo do ferro", "ferro" e "cinética do



ferro", em português e inglês. Os textos de Carlos Chagas foram consultados no endereço eletrônico <http://www.prossiga.br/chagas/>

## 6 RESULTADOS

“Cada grande artista elabora a arte à sua imagem”, como escreveu Victor Hugo (1802-1885). Imagem que, ao revelá-lo, nos provoca, pois “ultrapassa a vossa inteligência”; eles partem vosso coração; eles arrebatam vossa alma” (SAINT-SAENS, 1900, p.220). “É assim que nos revelamos ao outro, por meio do nosso trabalho, embora não tenhamos a consciência disso”.

Carlos Alberto Araújo Netto

Muito além da Partitura

## 6 RESULTADOS

### 6.1 Características demográficas, clínicas e laboratoriais da população estudada.

A média de idade dos pacientes NCh foi de  $49,20 \pm 10,09$  anos, dos quais 25 eram homens e 15 mulheres, cinco brancos, nove pardos e dezesseis negros. O grupo IND incluiu 40 pacientes assintomáticos, com idade média de  $49,68 \pm 5,28$ , sendo vinte e um homens e dezenove mulheres, dez brancos, dez pardos e vinte negros. O grupo CCC incluiu 40 pacientes, com idade média de  $50,98 \pm 5,88$ , sendo vinte homens e vinte mulheres, 8 brancos, 10 pardos e 22 negros. Os pacientes estavam funcionalmente distribuídos conforme a NYHA da seguinte forma: 30% na classe funcional I, 37,5% na II, 20% na III e 12,5% na IV no grupos CCC, 100% do grupo IND era I, e no NCh 80% na I, 15% na II, 2,5% na III e 2,5% na IV (TAB.1). Quando se iniciou o estudo, 50% dos 40 pacientes NCh estavam em uso de enalapril, 85% de carvedilol, 20% espironolactona e 7,5% de hidroclorotiazida (TAB.2). Dos 40 pacientes com CCC, 82,5% estavam em uso de enalapril, 90% de carvedilol, 30% de espironolactona e 5% de hidroclorotiazida (TAB.2).

**Tabela 2** - Características demográficas, clínicas, laboratoriais e ecocardiográficas dos grupos IND, CCC e NCh. ANOVA-One Way.

Variáveis	IND (n=40)	CCC (n=40)	NCh (n=40)	ANOVA
<b>Clínicas e Laboratoriais</b>				
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
Feminino [n (%)]	19/40(47,5%)	20/40(50%)	15/40(37,5)	0.883
Etnia				
Brancos	10 (25%)	8 (20%)	5 (12,5%)	0.676
Pardos	10 (25%)	10 (25%)	14 (35%)	0.805

	IND	CCC	NCh	ANOVA
Negros	20 (50%)	22 (55%)	21 (52,5%)	0.554
IMC, Kg/m <sup>2</sup> *	27,45±3,25	18,75±2,24	21,07±5,51	0.093
NYHA functional class				
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%)	1/ 40(2,5%)	0.312
IV	-	5/ 40(12,5%)	1/ 40(2,5%)	0.112
Fumante (passado/presente)	23(57,5%)	14(35%)	18(45%)	0.754
Pressão sanguínea, mmHg				
Sistólica	120 (9,0)	110 (18,7)	111(13,0)	0.175
Diastólica	75,7 (11)	71,3 (11)	73,2(10)	0.632
Creatinina (mg/dL)	1,33(0,6-1,40)	1,35(0,7-1,45)	1.20(0,8-1,50)	0.832
TFG (mL/min/1.73m)	86,19 ±11,11	73,97 ±19,79	74,17±14,89	0.582
<b>FeSe (µg/dL)*</b>	125,30 ± 22,79	93,15 ±36,53	114,77±18,90	<b>0.004</b>
<b>Hb (g/dL) *</b>	14,84±1,56	13,62±1,23	14,02±1,25	<b>0.010</b>
<b>IST (%)*</b>	30,95± 7,06	29,48 ±6,59	39,70±8,54	<b>0.001</b>
<b>CTLF (µg/dl) *</b>	196,52±56,95	297,30±36,46	275,18 ±33,48	<b>0.001</b>
<b>FERRITINA (ng/mL)**</b>	156,25 (1,72-42,20)	134,55 (1,56-42,36)	112, 95 (2,88-42,66)	<b>0.004</b>
Vit B12 (pg/ml) *	473,48±132,58	393,9±83,63	408,75±130,18	0.695
Ácido fólico (g/dl) *	7,44±0,98	5,87±1,60	6,87 ±1,89	0.739
Proteína Totais (g/dl) *	7,82 ±1,11	7,42 ± 1,034	7,32 ±0,99	0.079
Albumina (g/dL) *	3,74±0,63	4,10±0,67	4,10± 1,15	0.655
Globulina (g/dL)*	5,60±1,42	3,92±0,916	4,20 ±0,56	0.268

Anemia	-	2/ 40 (5%)	1/40 (2,5%)	0.556
Hematocrito (%)*	43,68±5,02	41,95± 4,29	42,82± 4,37	0.242
VCM ( fl )**	89,80±5,24	91,00± 5,50	91,42±5,70	0.396
HCM (pg)*	31,21 ±2,84	30,47±2,51	59,92 ±12,75	0.416
<b>VED (mm)*</b>	46.38± 7.34	65,43±7,70	46,38±7,34	<b>0.002</b>
<b>E/e' ratio*</b>	6,6 ± 2,82	14,9 ±4.58	12,15±12,06	<b>0.001</b>
<b>FEVE*</b>	65,85±5,79	35,92±8,59	34,95 ± 8,12	<b>0.001</b>
<b>Tratamento</b>				
Enalapril	-	33/40(82,5%)	20/ 40(50%)	-
β-Blocker	-	36/40(90%)	34/40(85%)	-
Aldosterona antagonista	-	12/40 (30%)	8/40(20%)	-
Hidroclorotiazida	-	2/40(5%)	3/40(7,5%)	-
Varfarina	-	4/40(10%)	8/40(20%)	-
Amiodarona	-	22/40(55%)	-	-

**Tabela 2** – Características demográficas clínicas, laboratoriais e ecocardiográficas dos grupos IND, CCC, NCh. ANOVA-One Way.  
**Variável paramétrica/\*\* Variável não paramétrica (Feminino Hb<12g/dl) - (Masculino Hb<13 g/dl).**

Como algumas mulheres selecionadas para este estudo encontravam-se em idade fértil, analisamos se haveria diferença nos marcadores da cinética do ferro por sexo e grupos. Observou-se não haver diferença significativa nesses marcadores quando analisados por sexo entre os grupos estudados. (TAB.3)

**Tabela 3** - Análise descritiva, por sexo, dos marcadores da cinética do ferro.

VARIÁVEIS	IND			CCC			NCh		
	HOMEM	MULHER	<i>P</i>	HOMEM	MULHER	<i>P</i>	HOMEM	MULHER	<i>P</i>
<b>FERRITINA</b>	153,90±17,85	159,66±17,3	0.284	132,33±50,83	135,38± 68,19	0.310	112,81±6,8	136,87±46,00	0.972
<b>FeSe</b>	124,45±22,27	126,33±24,0	0.790	89,31±30,44	96,61±41,74	0.761	116,52±13,90	111,89±35,60	0.429
<b>IST</b>	44,45±7,71	42,55±6,18	0.404	29,00 ± 7,32	29,90 ±6,01	0.404	37,88± 8,50	37,42±8,87	0.54
<b>CTLF</b>	211,95±61,18	179,47±47,9	0.071	292,95 ± 36,51	301,65±36,82	0.458	280,21± 36,9	266,81 ±27,5	0.226

**Tabela 3.** Análise descritiva, por sexo, dos marcadores da cinética do ferro: Ferritina, ferro sérico FeSe, índice de saturação de transferrina IST, capacidade total de ligação do ferro CTLF.

Adicionalmente, tendo em vista que com frequência pacientes com IC desenvolve algum grau de insuficiência renal e que está por sua vez, pode ser a causa de alterações do metabolismo do ferro. Analisou-se a correlação entre o ritmo de filtração glomerular e os marcadores do metabolismo do ferro. Observamos que no grupo analisado não houve correlação entre o ritmo de filtração glomerular e os marcadores do metabolismo do ferro.

**Tabela 4** - Análise de correlação entre os marcadores da cinética do ferro e taxa de filtração glomerular.

VARIÁVEIS	IND		CCC		NCh	
	TFG		TFG		TFG	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
<b>CTLF</b>	0.130	0.920	0.150	0.920	0.129	0.520
<b>IST</b>	0,203	0.400	0.200	0.560	0.145	0.500
<b>FeSe</b>	0.501	0.550	0.120	0.940	0.125	0.660
<b>FERRITINA</b>	0.135	0.560	0.230	0.660	0.201	0.570

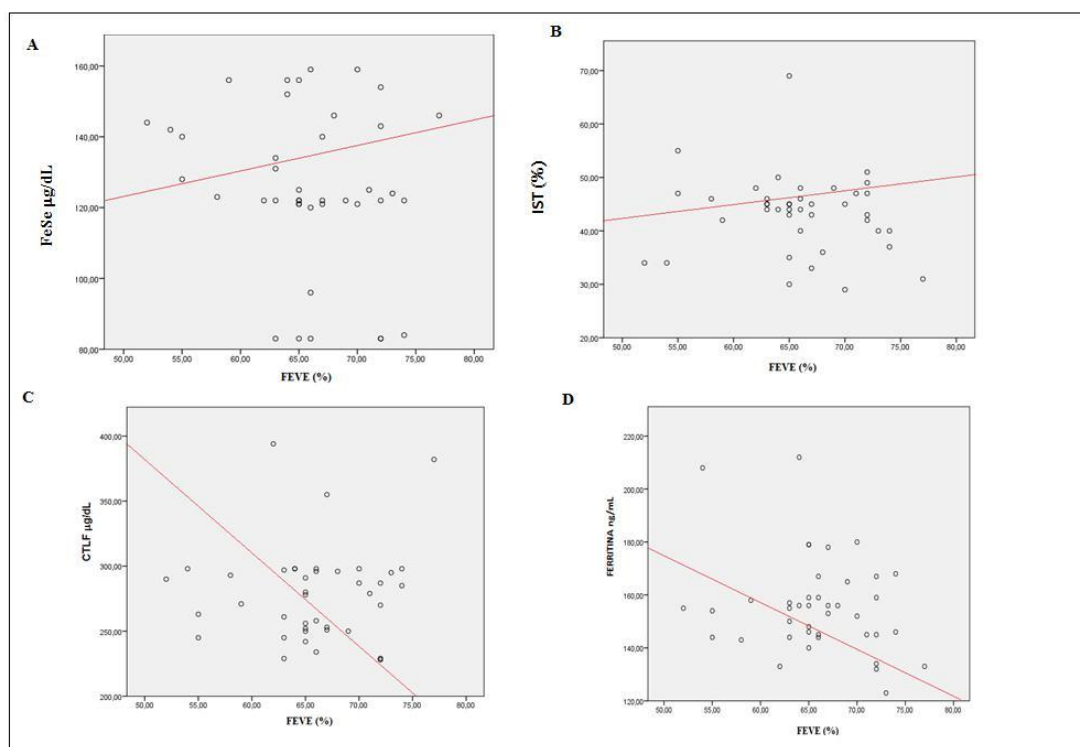
**Tabela 4.** Análise de correlação entre os marcadores da cinética do ferro e taxa de filtração glomerular. **FeSe**= ferro sérico, **IST**= índice de saturação de transferrina, **CTLF**= capacidade total de ligação do ferro.

## 6.2 Correlação entre os marcadores da cinética do ferro e variáveis ecocardiográficas nos grupos IND, CCC e NCh.

Realizou-se análise de correlação entre os marcadores da cinética do ferro (FeSe, CTLF, IST e ferritina) e o grau de disfunção ventricular sistólica esquerda (VED, FEVE) e diastólica (relação E/e'). Observou-se correlação significativa entre níveis de ferro sérico e o grau de disfunção ventricular cardíaca expressa por menor FEVE e maior VED, bem como a relação E/e' nos três grupos.

No grupo IND, a FEVE correlacionou-se positivamente com FeSe e IST. Negativamente com a CTLF e ferritina. Figuras 3A, B, C e D respectivamente. Além disso, Houve correlação positiva entre VED e CTLF e correlação negativa com IST FeSe e ferritina (TAB. 4). Adicionalmente, houve correlação positiva entre a relação E/e' e a CTLF e correlação negativa com o IST e níveis de FeSe e ferritina (TAB. 4).

**FIGURA 3** - Correlação entre os marcadores da cinética do ferro com FEVE no grupo IND.



**Figura 1.** Correlação entre os marcadores da cinética do ferro com FEVE no grupo IND. FeSe (A), CTLF (B), IST (C), Ferritina (D). Os dados acima foram apresentados usando coeficiente de correlação de *Spearman*.

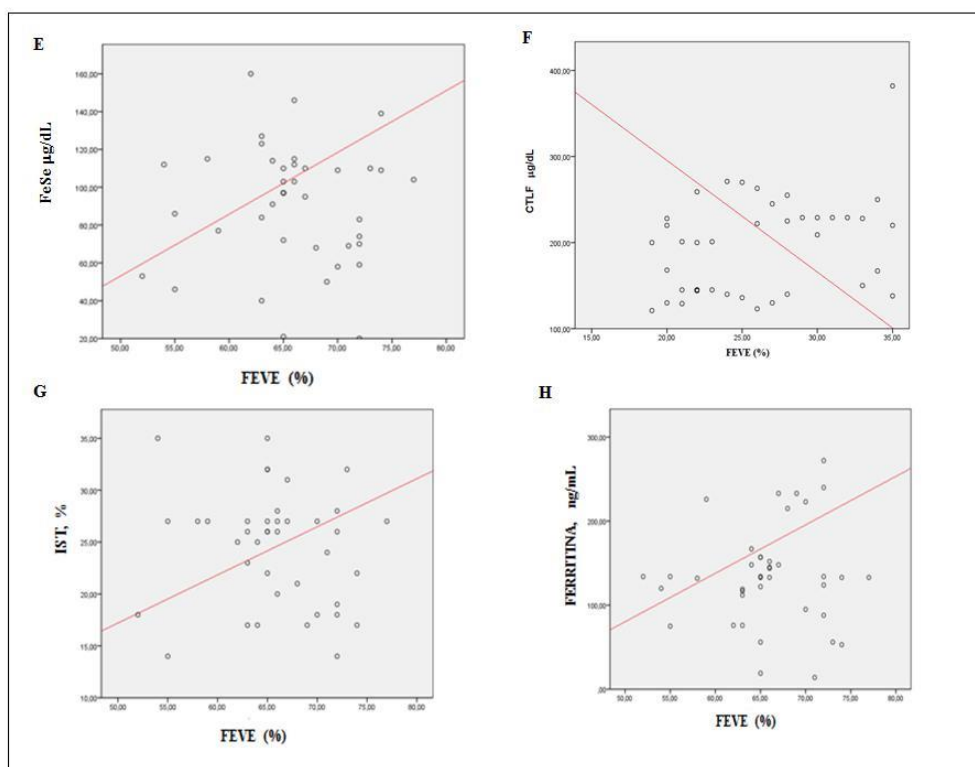


**Tabela 5** - Correlação entre níveis séricos dos marcadores da cinética do ferro no grupo (IND).

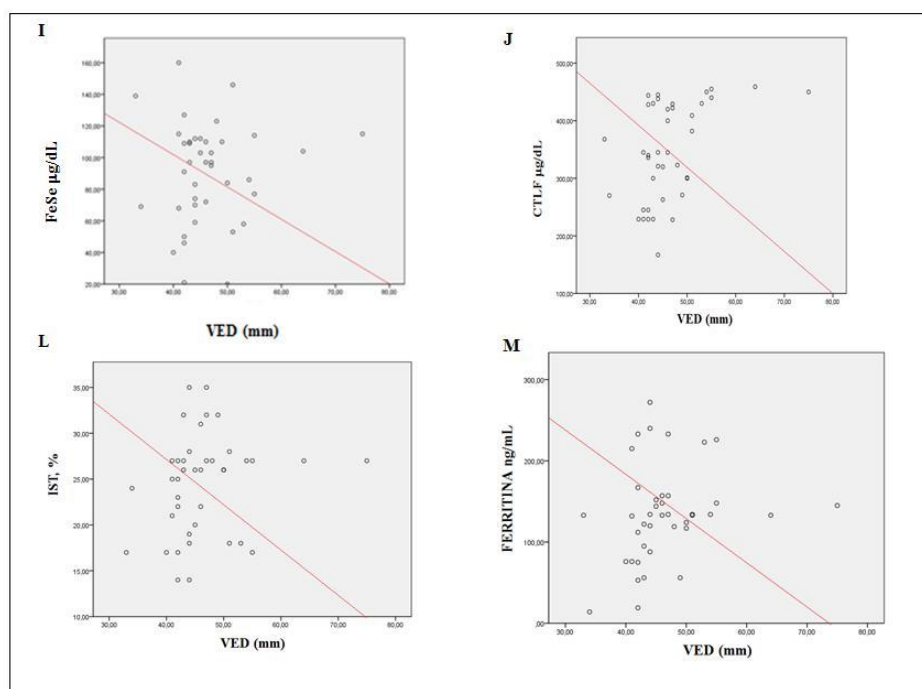
Variáveis	IND (n=40)					
	E/e'		FEVE		VED	
	r	Valor <i>p</i>	r	Valor <i>p</i>	r	Valor <i>p</i>
<b>CTLF</b>	<b>-0,949</b>	<b>0.0051</b>	<b>0,894</b>	<b>0.0041</b>	<b>-0,965</b>	<b>0.0035</b>
<b>IST</b>	<b>-0,970</b>	<b>0.0030</b>	<b>0,971</b>	<b>0.0029</b>	<b>-0,949</b>	<b>0.0051</b>
<b>FERRITINA</b>	<b>-0,997</b>	<b>0.004</b>	<b>0,949</b>	<b>0.0051</b>	<b>-0,974</b>	<b>0.0026</b>
<b>FeSe</b>	<b>-0,998</b>	<b>0.002</b>	<b>0,953</b>	<b>0.0042</b>	<b>-0,959</b>	<b>0.0041</b>

**Tabela 5.** Correlação entre os marcadores ecocardiográficos e da cinética do ferro com FEVE no grupo IND. FeSe (A), CTLF (B), IST (C), Ferritina (D). Os dados acima foram apresentados usando coeficiente de correlação de *Spearman*.

No grupo CCC, houve correlação positiva entre FEVE e FeSe correlação negativa na CTLF, IST e ferritina. Figuras 4E, F, G e H respectivamente. Observou-se correlação negativa entre VED e FeSe, CTLF, IST e ferritina. Figuras 5I, J, L e M respectivamente. Encontrou-se correlação inversa entre a relação E/e' com CTLF, IST, ferritina e FeSe (TAB. 5).

**FIGURA 4.** Correlação entre os marcadores da cinética do ferro com FEVE no grupo CCC.

**Figura 4.** Correlação entre os marcadores da cinética do ferro com FEVE no grupo CCC.  
\*Os dados acima foram apresentados usando coeficiente de correlação de *Spearman*.

**FIGURA 5** - Correlação entre os marcadores da cinética do ferro com VED no grupo CCC.

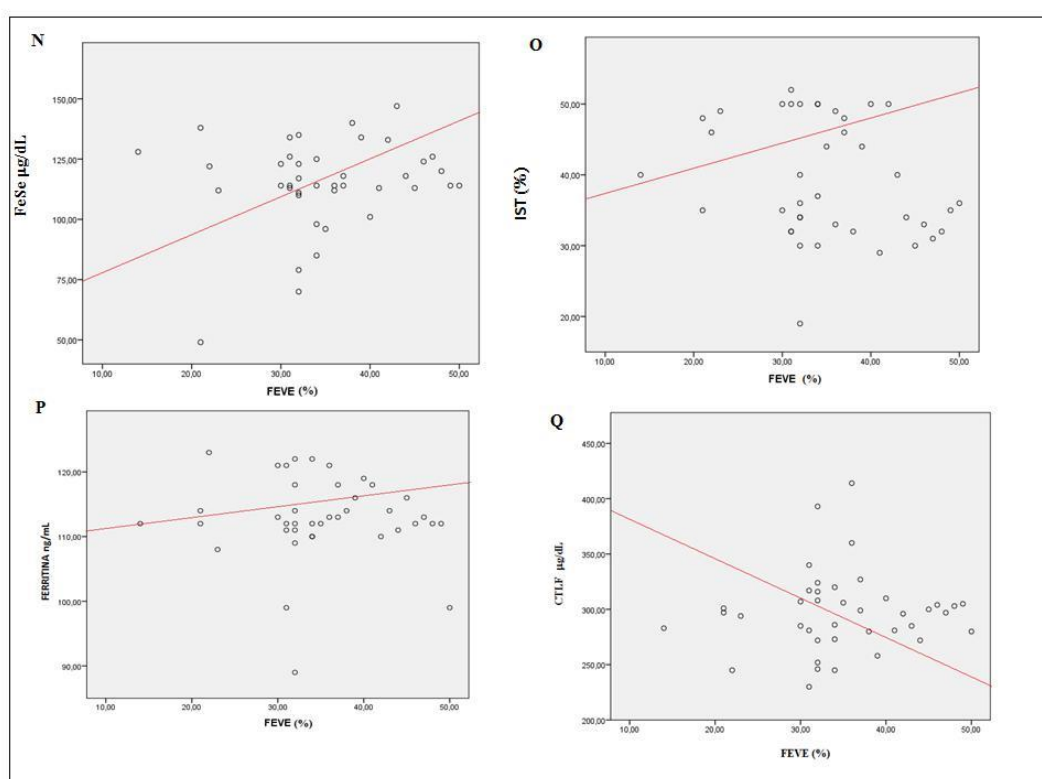
**Figura 5.** Correlação entre os marcadores da cinética do ferro com VED no grupo CCC.  
 \*Os dados acima foram apresentados usando coeficiente correlação de *Spearman*.

**Tabela 6** - Correlação entre níveis séricos dos marcadores da cinética do ferro no grupo (CCC).

Variáveis	E/e'		CCC (n=40)		VED	
	r	p	FEVE r	Valor p	r	Valor p
CTLF	-0,983	0.0002	0,989	0.00015	-0,947	0.0002
IST	-0,899	0.0002	0,918	0.00027	-0,999	0.0001
FERRITINA	-0,987	0.0005	-0,975	0.0009	-0,991	0.0003
FeSe	-0,950	0.0001	0,961	0.0003	-0,961	0.0005

Por outro lado, no grupo NCh, a FEVE correlacionou-se positivamente com níveis de FeSe, IST e ferritina e negativamente com a CTLF. Figuras 6N, O, P e Q respectivamente. Quanto ao VED, verificou-se correlação positiva com a CTLF e correlação negativa com o IST, FeSe e ferritina (TABELA 6). A relação E/e' correlacionou-se positivamente com a CTLF e negativamente com o IST, FeSe e a ferritina (TABELA 6).

**FIGURA 6** - Correlação entre os marcadores da cinética do ferro com FEVE no grupo NCh.

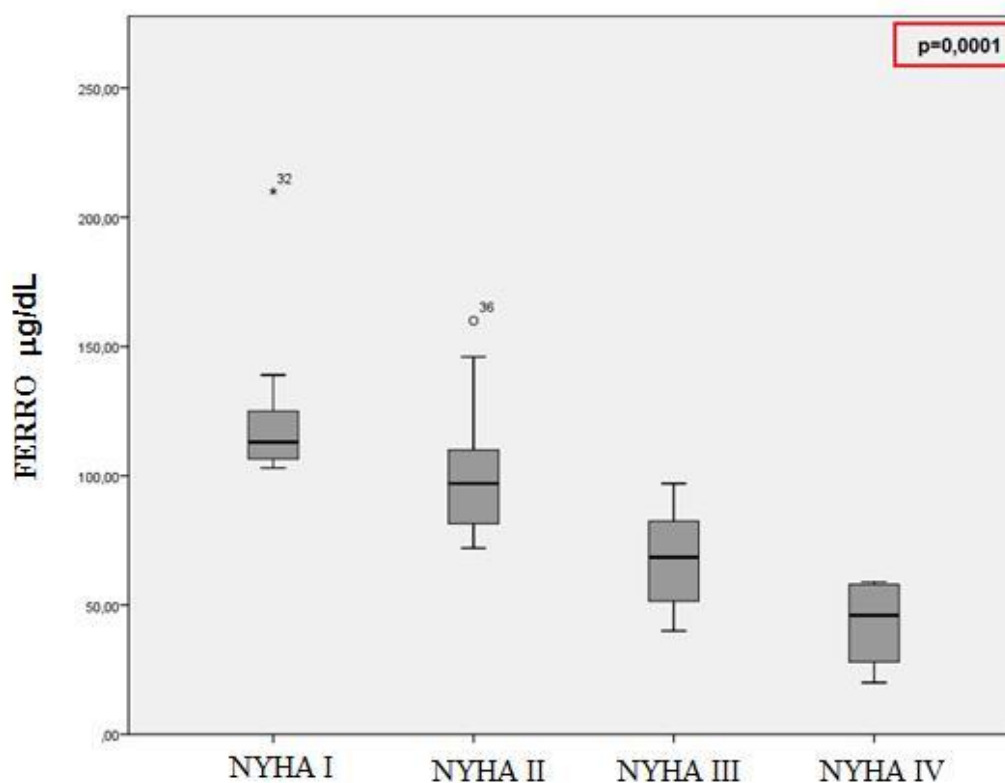


Os dados acima foram apresentados usando coeficiente de correlação de *Spearman*.

**Tabela 7** - Correlação entre níveis séricos dos marcadores da cinética do ferro e morbidade (NCh).

Variáveis	NCh (n=40)					
	E/e'	Valor	FEVE	Valor	VED	Valor
	r	p	r	p	r	p
CTLF	0,960	0.0009	0,893	0.00040	-0,947	0.0002
IST	0,895	0.00051	0,895	0.00050	-0,999	0.0001
FERRITINA	-0,976	0.00024	-0,975	0.00024	-0,991	0.0003
FeSe	-0,953	0.00015	-0,947	0.00047	-0,947	0.00015

**FIGURA 7** - Gráfico tipo box-plot representa a Classe Funcional NYHA entre os grupos: (IND, CCC e NCh), mediana e intervalos interquartis.



### 6.3. Associação entre os grupos IND e CCC com relação os marcadores da cinética do ferro

**Tabela 8** – Associação entre os grupos IND e CCC

<b>Variáveis</b>	<b>IND</b>	<b>CCC</b>	<b>(p Valor)</b>
<b>Clínicas e Laboratoriais</b>	<b>(n=40)</b>	<b>(n=40)</b>	
Idade*	49,68±5,28	50,98±5,88	0.302
Altura (cm)	1,69± 0,065	1,97±0,158	0.456
Peso (Kg)*	79,100 ± 8,58	73,75±10,15	0.463
Masculino [n (%)]	21/40(52,2%)	20/40(50%)	0.941
Feminino [n (%)]	19/40(47,5%)	20/40(50%)	0.918
IMC (Kg/m) <sup>2**</sup>	27,45±3,25	18,75±2,24	0.050
<b>FeSe (µg/dL *</b>	125,30 ± 22,70	93,15 ±36,53	<b>0.010</b>
<b>Hb (g/dL) *</b>	14,84±1,56	13,62±1,23	<b>0.020</b>
<b>IST (%)*</b>	30,95± 7,06	29,48 ±6,59	<b>0.003</b>
<b>CTLF (µg/dl)*</b>	196,52±56,95	297,30±36,46	<b>0.007</b>
<b>Ferritina (ng/mL)*</b>	156,25 (1,72-42,20)	134,55 (1,56-42,36)	<b>0.030</b>
Vit B12 (pg/ml)**	473,48±132,58	393,9±83,63	0.426
Ácido fólico (ng/mL)*	7,44±0,98	5,87±1,60	0.070
Proteína (g/dL) **	7,82 ±1,11	7,42 ± 1,034	0.288
Albumina (g/dL) **	3,74±0,63	4,10±0,67	0.374
Globulina (g/dL) **	5,60±1,42	3,92±0,916	0.116
Anemia	-	2/ 40 (5%)	-
Hematócrito (%)**	43,68±5,02	41,95± 4,29	0.101
VCM (fl)**	89,80±5,24	91,00± 5,50	0.324
HCM (pg)*	31,21 ±2,84	30,47±2,51	0.223

<b>VED (mm)*</b>	46.38± 7.34	65,43±7,70	<b>0.004</b>
<b>E/e' relação**</b>	6,6 ± 2,82	14,9 ±4.58	<b>0.002</b>
<b>FEVE (%)**</b>	65,85±5,79	35,92±8,59	<b>0.003</b>

### 6.3.1. Associação entre os grupos IND e CCC

Verificou-se que o FeSe apresentou diferença estatisticamente significativos entre IND e CCC respectivamente (125,30 ± 22,70; 93,15 ±36,53 p=**0.010**).

Na avaliação dos níveis séricos de Hb os resultados foram estatisticamente significativos entre IND e CCC respectivamente (14,84±1,56; 13,62±1,23 p=**0.020**). O IST observou-se diferença estatisticamente significativa entre IND e CCC respectivamente (30,95± 7,06; 29,48 ±6,59 p=**0.003**). Na análise por CTLF os resultados foram significativos entre IND e CCC respectivamente (196,52±56,95; 297,30±36,46 p=**0.007**). Os níveis séricos da ferritina também apresentou diferença estatística significativa entre IND e CCC respectivamente 156,25 (1,72-42,20); 134,55 (1,56-42,36) p=**0.030**. Verificou-se que os marcadores de morbidade apresentaram diferenças estatísticas entre os grupos IND e CCC respectivamente **VED** (46.38± 7.34 65,43±7,70 p=**0.004**), **E/e'** (6,6 ± 2,82; 14,9 ±4.58 p=**0.002**). **FEVE** (65,85±5,79; 35,92±8,59 p=**0.003**).

### 6.3.2. Associação entre IND e NCh

O grupo selecionado foi dividido entre pacientes IND e NCh. Verificou-se que o FeSer apresentou resultados estatisticamente significativos entre IND e NCh respectivamente (125,30 ± 22,70; 114,77±18,90 p=**0.0108**). Na avaliação dos níveis de Hb os resultados foram estatisticamente significativos entre IND e NCh respectivamente (14,84±1,56; 14,02±1,25 p=**0.012**). O IST observou-se diferença estatisticamente significativa entre IND e NCh respectivamente (30,95± 7,06; 38,70±8,54 p=**0.003**). Na análise por CTLF os resultados foram significativos entre IND e NCh respectivamente (196,52±56,95; 275,18

$\pm 33,48$   $p=0.007$ ). Os níveis séricos da ferritina também apresentou diferença estatística significativa entre IND e NCh respectivamente 156,25 (1,72-42,20); 112,95 (2,88-42,66)  $p=0.004$ . Verificou-se que os marcadores de morbidade apresentaram diferenças estatísticas entre os grupos IND e NCh respectivamente **VED** ( $46,38 \pm 7,34$ ;  $46,38 \pm 7,34$   $p=0.002$ ), **E/e'** ( $6,6 \pm 2,82$ ;  $12,15 \pm 12,06$   $p=0.005$ ), **FEVE** ( $65,85 \pm 5,79$ ;  $34,95 \pm 8,12$   $p=0.004$ ).

**Tabela 9** – Análise entre os marcadores da cinética do ferro em relação ao grupo IND e NCh.



<b>Variáveis Clínicas e Laboratoriais</b>	<b>IND (n=40)</b>	<b>NCh (n=40)</b>	<b>(p Valor)</b>
Idade **	49,68±5,28	49,20±10,09	0.793
Altura (cm)	1,97± 0,065	1,94 ± 0,123	0.725
Peso (Kg) *	79,100 ± 8,58	71,88±11,47	0.366
Masculino [n (%)]	21/40(52,2%)	25/40(62,5%)	0.866
Feminino [n (%)]	19/40(47,5%)	15/40(37,5)	0.120
<b>IMC (Kg/m)<sup>2</sup>**</b>	27,45±3,25	21,07±5,51	<b>0.001</b>
Creatinina (mg/dL)	1,33(0,6-1,40)	1.20(0,8-1,50)	0.871
TFG (mL/min/1.73m)	86,19 ±11,11	74,17±14,89	0.308
<b>FeSe (µg/dl) *</b>	125,30 ± 22,70	114,77±18,90	0.108
<b>Hb (g/dl) *</b>	14,84±1,56	14,02±1,25	<b>0.012</b>
<b>IST (%) *</b>	30,95± 7,06	38,70±8,54	<b>0.003</b>
<b>CTLF (µg/dl) *</b>	196,52±56,95	275,18 ±33,48	<b>0.007</b>
<b>Ferritina (ng/mL)*</b>	156,25 (1,72-42,20)	(2,88-42,66)	<b>0.004</b>
<b>Vit B12 (pg/ml)**</b>	473,48±132,58	408,75±130,18	<b>0.031</b>
Ácido fólico (ng/mL)*	7,44±0,98	6,87 ±1,89	0.795
Proteína (g/dL)**	7,82 ±1,11	7,32 ±0,99	0.643
Albumina (g/dL)**	3,74±0,63	4,10± 1,15	0.725
Globulina (g/dL)**	5,60±1,42	4,20 ±0,56	0.288
Anemia	-	1/40 (2,5%)	-
Hematócrito (%)**	43,68±5,02	42,82± 4,37	0.417
VCM, (fl)**	89,80±5,24	91,42±5,70	0.191

HCM,(pg)*	31,21 ±2,84	59,92 ±12,75	0.373
<b>VED, (mm)*</b>	46.38± 7.34	46,38±7,34	<b>0.002</b>
<b>E/e' *</b>	6,6 ± 2,82	12,15±12,06	<b>0.005</b>
<b>FEVE (%)**</b>	65,85±5,79	34,95 ± 8,12	<b>0.004</b>

**\*Variável paramétrica/\*\* Variável não paramétrica**

### 6.3.2. Associação entre CCC e NCh com relação os marcadores da cinética do ferro

O grupo selecionado foi dividido entre pacientes CCC e NCh. Verificou-se que o FeSe apresentou resultados estatisticamente significativos entre CCC e NCh respectivamente (93,15 ±36,53; 114,77±18,90 p=**0.002**). O IST observou-se diferença estatisticamente significativa entre CCC e NCh respectivamente (29,48 ±6,59; 38,70±8,54) p= **0.005**. Na análise por CTLF os resultados foram significativos entre CCC e NCh respectivamente (297,30±36,46; 275,18 ±33,48) p=**0.006**. Os níveis séricos da ferritina também apresentou diferença estatística significativa entre NCh e CCC respectivamente 134,55 (1,56-42,36); 112,95 (2,88-42,66) p=**0.023** Verificou-se que os marcadores de morbidade apresentaram diferenças estatísticas entre os grupos CCC e NCh respectivamente **VED** (65,43±7,70; 46,38±7,34 p=**0.023**). **FEVE** (35,92±8,59; 34,95 ± 8,12 p= **0.001**).

**Tabela 10** - Análise entre os marcadores da cinética do ferro em relação aos grupos CCC e NCh.

Variáveis Clínicas e Laboratoriais	CCC (n=40)	NCh (n=40)	(p Valor)
Idade **	50,98±5,88	49,20±10,09	0.340
Altura (cm)	1,97±0,158	1,94 ± 0,123	0.347
Peso (Kg)*	73,75±10,15	71,88±11,47	0.441
Masculino [n (%)]	20/40(50%)	25/40(62,5%)	0.704
Feminino [n (%)]	20/40(50%)	15/40(37,5)	0.639
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )**	18,75±2,24	21,07±5,51	0.389
Creatinina (mg/dL)	1,35(0,7-1,45)	1.20(0,8-1,50)	0.984
TFG (mL/min/1.73m)	73,97 ±19,79	74,17±14,89	0.959
<b>FeSe (µg/dL)*</b>	93,15 ±36,53	114,77±18,90	<b>0.002</b>

Hb (g/dL)*	13,62±1,23	14,02±1,25	0.157
<b>IST (%) *</b>	29,48 ±6,59	38,70±8,54	<b>0.005</b>
<b>CTLF (µg/dl) *</b>	297,30±36,46	275,18 ±33,48	<b>0.006</b>
<b>FERRITINA (ng/mL)*</b>	134,55 (1,56-42,36)	112,95 (2,88-42,66)	<b>0.023</b>
Vit B12 (pg/ml)**	393,9±83,63	408,75±130,18	0.546
Ácido fólico (ng/mL) *	5,87±1,60	6,87 ±1,89	0.288
Proteína (g/dL)**	7,42 ± 1,034	7,32 ±0,99	0.660
Albumina (g/dL)**	4,10±0,67	4,10± 1,15	0.389
Globulina (g/dL)**	3,92±0,916	4,20 ±0,56	0.060
Anemia	2/ 40 (5%)	1/40 (2,5%)	-
Hematocrito (%)**	41,95± 4,29	42,82± 4,37	0.369
VCM (fl)**	91,00± 5,50	91,42±5,70	0.735
HCM (pg)*	30,47±2,51	59,92 ±12,75	0.673
<b>VED (mm)*</b>	65,43±7,70	46,38±7,34	<b>0.023</b>
<b>E/e' **</b>	14,9 ±4.58	12,15±12,06	0.182
<b>FEVE (%)**</b>	35,92±8,59	34,95 ± 8,12	<b>0.001</b>

**\*Variável paramétrica/\*\* Variável não paramétrica**

#### **6.4 Comparação dos marcadores da cinética do ferro entre o grupo controle IND e os grupos CCC e NCh através da Anova-one way**

A expressão dos marcadores da cinética do ferro foi avaliada nos pacientes dos grupos IND, CCC e NCh. Foram observadas diferenças quanto ao FeSe ( $p = \mathbf{0.001}$ ), ferritina ( $p = \mathbf{0.0094}$ ), CTLF ( $p = \mathbf{0.0018}$ ) e IST ( $p = \mathbf{0.0013}$ ) (TAB. 7).

FeSe, observou-se diferença entre os grupos IND ( $121,87 \pm 20,11$ , IC 118,01-132,59), no CCC ( $93,15 \pm 36,53$ , IC 81,46-104,84) e NCh ( $114,77 \pm 18,90$ , IC 108,73-120,82) ( $p = 0.001$ ). A diferença foi apontada entre os grupos IND e CCC ( $p = \mathbf{0.010}$ ) e IND e NCh ( $p = 0.108$ ). Quanto à ferritina sérica, no grupo IND ( $156,25 \pm 18,03$  IC 150,48-162,02), no CCC ( $59,38 \pm 9,39$  IC 115,56-153,54) e no NCh ( $112,95 \pm 6,49$  IC 110,87-115,03) ( $p = \mathbf{0.009}$ ). Essa diferença foi apontada entre os grupos IND e CCC ( $p = \mathbf{0.030}$ ) e IND e NCh

( $p=0.004$ ). IST, no grupo IND ( $43,60 \pm 7,04$  IC 41,35-45,85), no CCC ( $29,48 \pm 6,59$  IC 27,36-31,59) e no NCh ( $39,38 \pm 8,38$  IC 36,69-42,06). Essa diferença foi apontada entre os grupos IND e CCC ( $p=0.003$ ) e IND e NCh ( $p=0.003$ ). Com relação ao CTLF, no grupo IND ( $275,18 \pm 33,48$ , IC 264,46-285,89), no CCC ( $196,53 \pm 56,95$ , IC 178,31-214,74) e no NCh ( $297,30 \pm 36,46$ , IC 285,64-308,96) ( $p=0.002$ ). Essa diferença foi apontada entre os grupos IND e CCC ( $p=0.007$ ) e IND e NCh ( $p=0.004$ ) Figuras 8B, A, C respectivamente, tabela 7.

**Tabela 11** – Marcadores da cinética do ferro nos diferentes grupos

Variáveis	IND (n=40)	CCC (n=40)	NCh (n=40)	P (Valor)
Ferritina, ng/mL	156,25(1,72-42,20)	134,55(1,56-42,36)	112,95(2,88-42,66)	<b>0.009</b>
FeSe, µg/dL *	125,30±22,70	93,15±36,53	114,77±18,90	<b>0.001</b>
IST,%	43,35±6,99	29,40±6,49	38,70±8,54	<b>0.001</b>
CTL µg/dl**	275,18±33,48	297,30±36,46	297,70±36,35	<b>0.002</b>

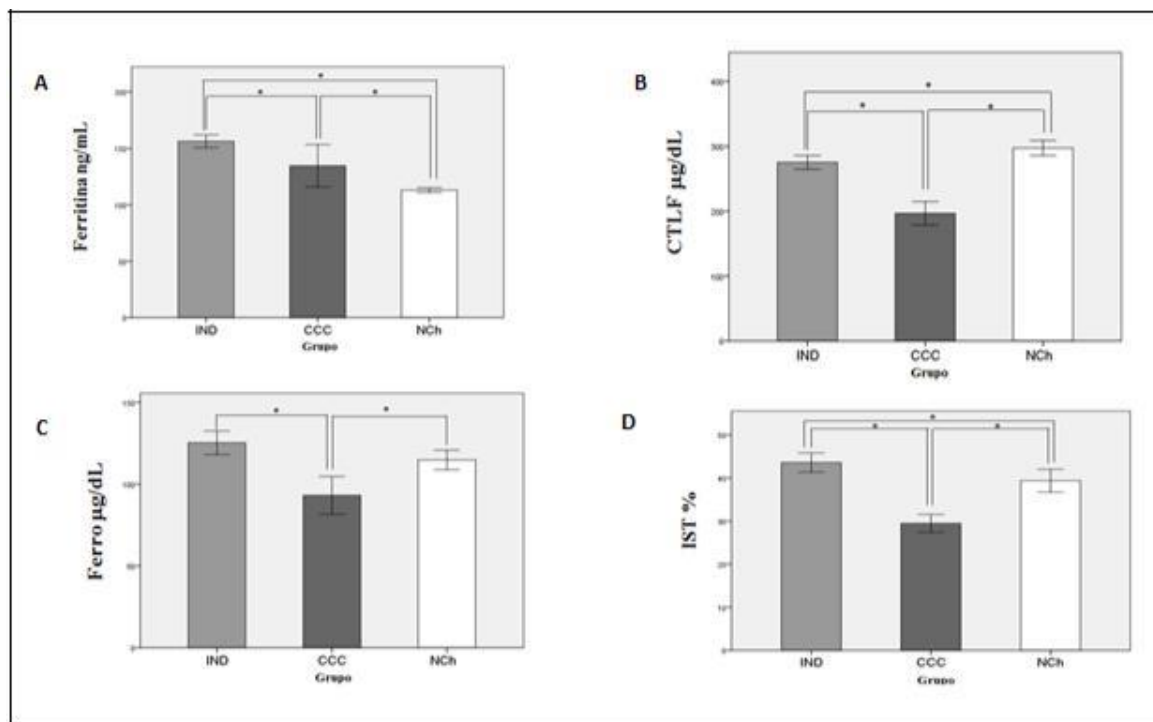
**Abreviaturas:** IST, índice de saturação de transferrina, CTL, capacidade total de ligação do ferro.

**Tabela 12** – Comparações múltiplas entre os marcadores da cinética do ferro nos diferentes grupos

Variável dependente	(I) Grupo	(J) Grupo	Diferença média (I-J)	Erro Padrão	P (Valor)	Intervalo de Confiança 95%	
						Limite inferior	Limite superior
<b>FeSe</b>	CCC	IND	-32,150 <sup>*</sup>	6,072	<b>0.002</b>	-46,56	-17,74
		NCh	-21,625 <sup>*</sup>	6,072	<b>0.002</b>	-36,04	-7,21
	IND	CCC	32,150 <sup>*</sup>	6,072	<b>0.002</b>	17,74	46,56
		NCh	10,525	6,072	0.197	-3,89	24,94
	NCh	CCC	21,625 <sup>*</sup>	6,072	<b>0.002</b>	7,21	36,04
		IND	-10,525	6,072	0.197	-24,94	3,89
<b>Ferritina</b>	CCC	IND	-21,700 <sup>*</sup>	8,056	<b>0.022</b>	-40,82	-2,58
		NCh	21,600 <sup>*</sup>	8,056	<b>0.023</b>	2,48	40,72
	IND	CCC	21,700 <sup>*</sup>	8,056	<b>0.022</b>	2,58	40,82
		NCh	43,300 <sup>*</sup>	8,056	<b>0.001</b>	24,18	62,42
	NCh	CCC	-21,600 <sup>*</sup>	8,056	<b>0.023</b>	-40,72	-2,48
		IND	-43,300 <sup>*</sup>	8,056	<b>0.001</b>	-62,42	-24,18
<b>IST</b>	CCC	IND	-14,125 <sup>*</sup>	1,651	<b>0.005</b>	-18,04	-10,21
		NCh	-9,900 <sup>*</sup>	1,651	<b>0.007</b>	-13,82	-5,98
	IND	CCC	14,125 <sup>*</sup>	1,651	<b>0.005</b>	10,21	18,04
		NCh	4,225 <sup>*</sup>	1,651	<b>0.031</b>	,31	8,14
	NCh	CCC	9,900 <sup>*</sup>	1,651	<b>0.007</b>	5,98	13,82
		IND	-4,225 <sup>*</sup>	1,651	<b>0.031</b>	-8,14	-,31
<b>CTLF</b>	CCC	IND	-78,650 <sup>*</sup>	9,743	<b>0.005</b>	-101,78	-55,52
		NCh	-100,775 <sup>*</sup>	9,743	<b>0.005</b>	-123,90	-77,65
	IND	CCC	78,650 <sup>*</sup>	9,743	<b>0.005</b>	55,52	101,78
		NCh	-22,125	9,743	0.064	-45,25	1,00
	NCh	CCC	100,775 <sup>*</sup>	9,743	<b>0.005</b>	77,65	123,90

		IND	22,125	9,743	0.064	-1,00	45,25
<b>*. A diferença média é significativa no nível 0.05.</b>							

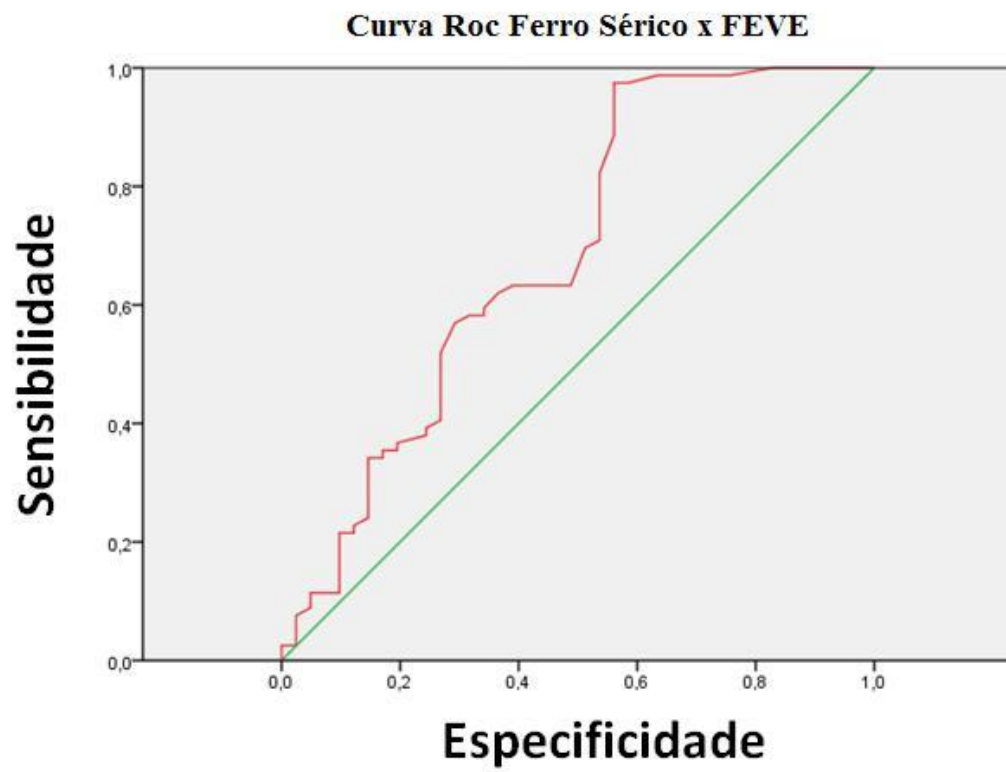
**FIGURA 8** - Avaliação dos marcadores da cinética do ferro na cardiomiopatia chagásica e não



Os dados acima foram apresentados como média +/- SEM e analisados por OneWay ANOVA (*Tukeytest*).

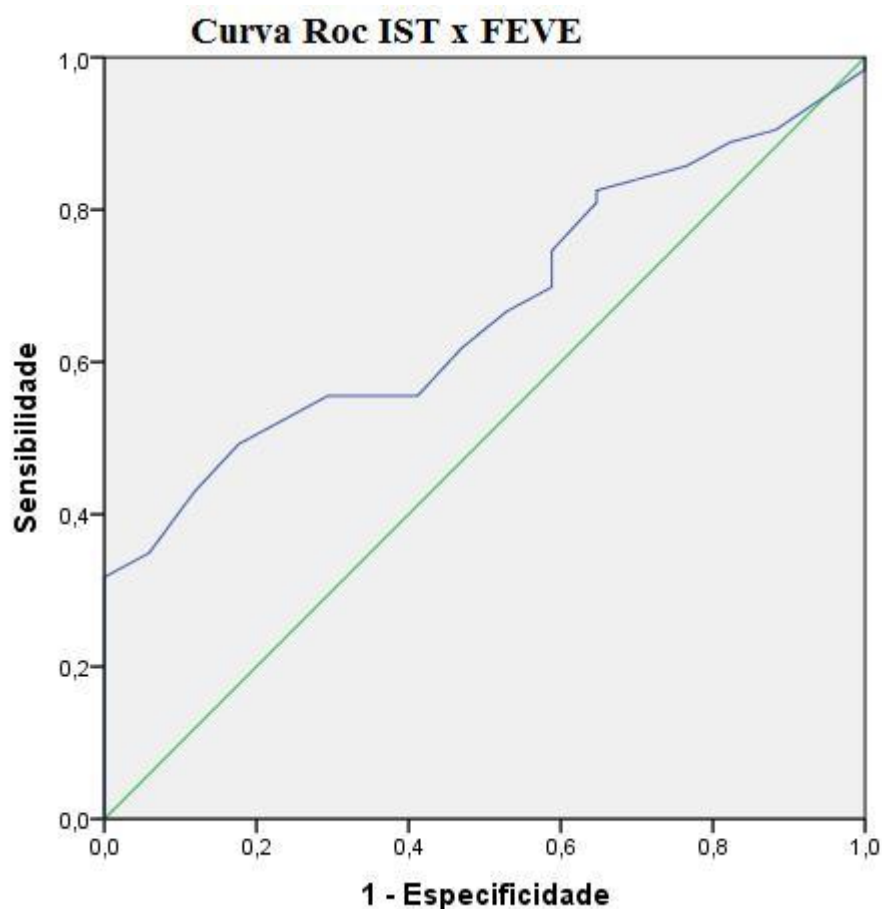
### 6.3 ANÁLISE DA CURVA ROC

A análise da curva ROC demonstrou que o ponto de corte para detectar a presença de disfunção ventricular sistólica esquerda (FEVE  $\leq 35$  foi  $< 31 \mu\text{g/dL}$  de FeSe, com área sob a curva de  $0,70 \pm 0,055$  ( $p=0.001$ ), sensibilidade de 98%, especificidade 75%, valor preditivo positivo 56,7% e negativo 87,5% (GRÁF 9). Quando o IST foi menor que 20 %, a sensibilidade foi de 90%, a especificidade 88%. O valor preditivo positivo de 63% e o negativo 68% para o diagnóstico da disfunção ventricular sistólica esquerda (FEVE  $\leq 35$ ). A área sob a curva ROC foi  $0,67 \pm 0,063$  ( $p= 0.033$ ) (GRÁF 10).

**FIGURA 9** - Curva ROC da relação entre os níveis séricos do FeSe e a FEVE



**FIGURA 10** - Curva ROC da relação entre IST e a FEVE.



### 6.3.1 ANÁLISES UNIVARIADA E MULTIVARIADA

Na análise univariada, encontrou-se que as variáveis que se associaram com a disfunção ventricular sistólica esquerda 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 a anemia (OR = 8.97,  $p=0.04$ ). Na análise multivariada, verificou-se associação independente entre a disfunção ventricular esquerda 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,  $p=0.036$ ).

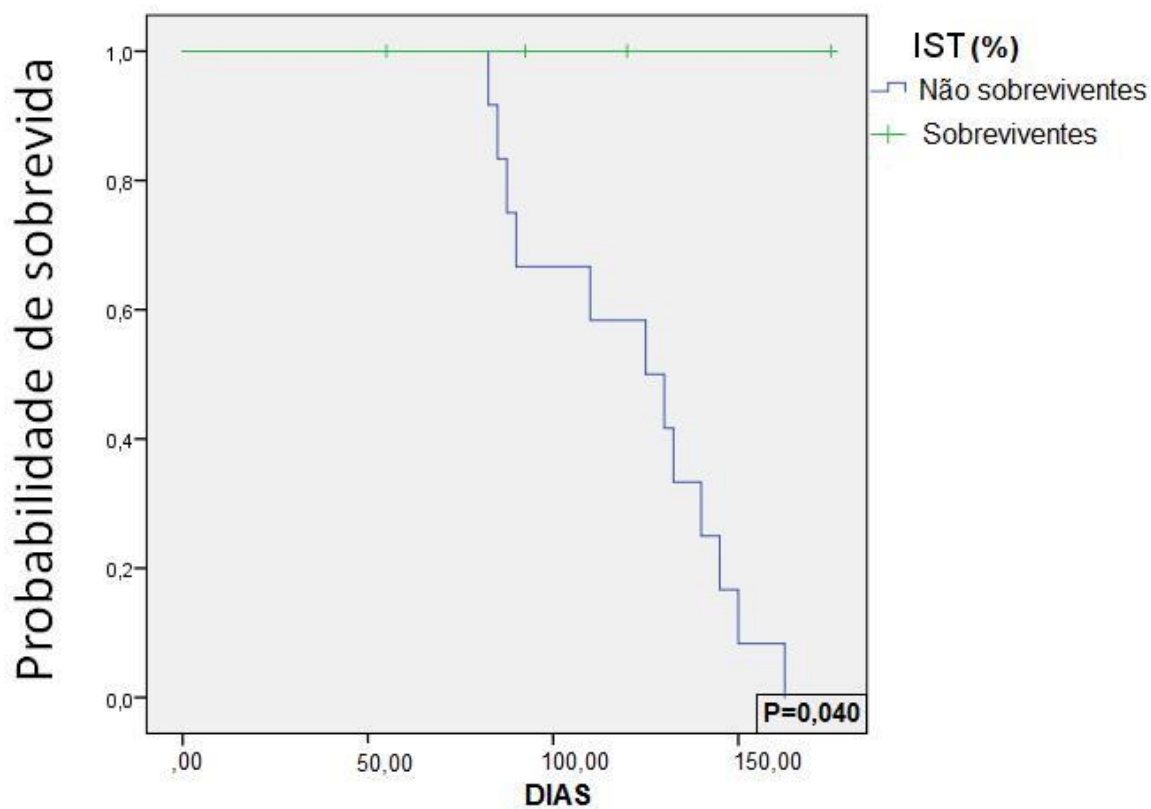
**Tabela 13-** Variáveis dos marcadores da cinética do ferro associados independentemente com disfunção ventricular sistólica esquerda (modelo de risco proporcional Cox Hazard multivariado)

VARIÁVEIS	Modelo univariado				Modelo multivariado			
	OR	IC 95%	$X^2$	<i>P</i>	OR	IC 95%	$X^2$	<i>P</i>
<b>IST %</b>	0.89	0.816-0.979	5.86	<b>0.015</b>	1.12	1.02-1.22	6.3	<b>0.012</b>
<b>FeSe</b>	0.97	0.95 – 0.99	5.34	<b>0.021</b>	1.23	1.00-1.04	5.9	<b>0.014</b>
<b>FERRITINA</b>	1.27	1.044 – 1.56	5.65	<b>0.017</b>	-	-	-	-
<b>Creatinina</b>	1.01	7.54-13.7	1.36	0.243	-	-	-	-
<b>TFG, mL/min/1.73 m</b>	1.00	0.95-1.05	1.41	0.786	-	-	-	-
<b>Hemoglobina</b>	0.99	0.56-1.74	0.001	0.99	-	-	-	-
<b>Anemia</b>	8.97	1.01-7,90	3.90	<b>0.04</b>	1.22	0.126-11.83	0.030	0.862
<b>SEXO</b>	0.26	0.065-1.05	3.56	<b>0.059</b>	3.94	1.07-14.43	4.28	<b>0.038</b>
<b>Etiologia (CCC)</b>	2.40	1.24-4,63		<b>0.011</b>	2.6	1.06-6.43		<b>0.036</b>

### 6.3.2 Análise de sobrevida em relação a marcadores da cinética do ferro e disfunção ventricular esquerda.

Apesar da característica transversal do estudo, durante o seguimento ambulatorial dos pacientes nos deparamos com o óbito de um número significativo dos selecionados. Essa observação nos levou à averiguação particular destes óbitos e conseqüentemente à análise da sobrevida em associação com alguns marcadores da cinética do ferro. Durante o estudo observamos que no período de 30 dias a 200 dias ocorreram seis óbitos no grupo CCC e nenhum nos grupos IND e NCh.

**FIGURA 11** - Curva de sobrevida.



Curva Kaplan Meier: taxa de sobrevivência cumulativa de 200 dias na população estudada, divididos entre aqueles com IST (quartil inferior a  $\leq 30$   $\mu\text{g/dL}$ ).

# 7 DISCUSSÃO

“Quem não pode falar de modo simples e claro deve calar-se e continuar trabalhando até que possa fazê-lo”.

Karl Popper

## 7 DISCUSSÃO

Objetivamos neste estudo verificar se os marcadores da cinética do ferro guardam relação com a morbidade e a etiologia da cardiomiopatia chagásica em relação a miocardiopatia não chagásica, 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 (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.

Realizou-se análise dos marcadores da cinética do ferro em relação ao sexo por haver mulheres em idade fértil entre os selecionados, o que poderia introduzir um fator de confusão às análises. Entretanto, observou-se não haver diferença nos marcadores da cinética do ferro quando os grupos foram analisados por sexo. Esse resultado nos deu maior segurança na análise dos resultados subsequentes. Além disso, é sabido que a função renal está comprometida frequentemente em pacientes com IC, e que a insuficiência renal é causa de alteração do metabolismo do ferro (SILVERBERG, D., *et al.* 2003). Analisamos a associação entre o ritmo de filtração glomerular com os marcadores do metabolismo do ferro e observamos que nos grupos estudados não houve diferença estatística entre eles.

Como demonstrado pelos resultados apresentados, observamos que pacientes com CCC, quando comparados com pacientes chagásicos na forma indeterminada (IND) e com aqueles com cardiomiopatia não chagásica (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 basearemos nossas hipóteses fisiopatológicas em estudos realizados com outras causas de miocardiopatia. Apesar das peculiaridades da CCC (BOGLIOLO, 1909) parece-nos haver similaridade na gênese das alterações do metabolismo do ferro observada em outras patologias e a CCC. Como possíveis mecanismos fisiopatológicos à alterações do metabolismo do ferro na IC algumas teorias vêm sendo descritas como, inflamação crônica, edema de alças intestinais, hipoperfusão do trato gastrointestinal (TGI). Sabino *et al.* (2015) em seu estudo caso controle prospectivo acompanhando 499 pacientes com cardiomiopatia chagásica relataram a persistência do elemento parasitário (DNA), através, da análise por PCR. Houve associação entre a carga parasitaria e a gravidade da doença medido a partir dos parâmetros clínicos.

Em estudos já consagrados para análise do metabolismo do ferro em pacientes com IC Janwska *et al.*,(2013), demonstraram que uma maior expressão de IL-6 estimula a produção de hepcidina, conseqüentemente reduzindo a absorção de ferro condição denominada carência real de ferro. A hepcidina ao reduzir a liberação do ferro dos estoques de macrófagos e hepatócitos, corrobora, também, para redução do ferro sérico, nesse caso observa-se carência funcional do ferro, pois esse está impossibilitado de participar dos processos eritropoieticos (JANKONSKA *et al.*, 2013).

No mesmo sentido Raja *et al.*, (2004) comprovaram que pacientes com IC apresentaram alterações estruturais do TGI com anormalidades da mucosa gástrica, ectasia vascular antral, espessamento mucoso com áreas de telangiectasia, explicado pelo autor como possíveis causas de má absorção dos nutrientes. Na análise de Sandek *et al.*, (2007) demonstraram que pacientes com IC apresentam com maior frequência edema de alças intestinais com retenção hídrica importante, a espessura da parede sigmoide parece ter implicações clínicas devido associação com concentração de leucócitos e de Proteína C Reativa (PCR). Ressalta-se, que essas alterações intestinais tenham relevância na indução de inflamação sistêmica e conseqüentemente, piora da nutrição do enterócito e anormalidades da absorção intestinal.

Em relação as análises feitas dos marcadores da cinética do ferro e as variáveis ecocardiográficas verificamos que quanto maior o grau de disfunção ventricular sistólica menor 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.

Análise feita com 545 pacientes com insuficiência cardíaca crônica apresentou diferença estatística dada associação na função ventricular sistólica (média FEVE 26+/- 7%) em relação aos baixos níveis séricos de ferro, IST , ferritina e à classe funcional IV ( $p=0.04$ ) (JANKOWSKA *et al.*, 2010). Jankowska *et al.* (2011) observaram, em estudo prospectivo acompanhando 443 pacientes com insuficiência cardíaca crônica, que baixos níveis séricos de ferro, IST e ferritina associaram-se com pior capacidade funcional, avaliada pelo pico de  $Vo_2$ . Níveis de hemoglobina baixa em pacientes com função ventricular sistólica diminuída, pode aumentar o esforço cardíaco bem como a atividade do sistema nervoso simpático do SRAA e, conseqüentemente, levar ao maior remodelamento do miocárdio (GIL *et al.*, 2005; OKONKO *et al.*,2005).

No estudo Jankowska and Ponikowski (2010) relataram que a deficiência de ferro, além de dificultar a eritropoiese, pode induzir alterações cardíacas, uma vez que está associada à ativação do sistema nervoso simpático, dilatação ventricular, alterações mitocondriais cardíacas e trombocitose.

A deficiência de ferro em pacientes com IC sugere alterações funcionais e estruturais do trato gastrointestinal. As consequências clínicas descritas na literatura incluem piora do estado nutricional, ativação inflamatória sistêmica e anemia. Essas condições isoladas ou em combinação, induzem alterações cardíacas e piora da disfunção ventricular (ROMEIRO *et al.*, 2012).

Certamente a intensidade da resposta inflamatória parece apresentar relação na dinâmica dos marcadores do metabolismo do ferro e, conseqüentemente, com pior prognóstico na insuficiência cardíaca (JANKOWSKA *et al.*, 2013). Apesar das semelhanças fisiopatológicas, hemodinâmicas, inflamatórias e neuro-hormonais evidenciadas na insuficiência cardíaca consequente às cardiomiopatias de origens diversas, incluindo a chagásica, (DEC e FUSTER, 1994; BESTETTI; MUCCILLO, 1997; HIGUCHI *et al.*, 2003), sabe-se que a forma cardíaca da doença de Chagas apresenta peculiaridades que a diferenciam das demais cardiomiopatias, de natureza não infecciosa. Bogliolo (1976) afirma que a cardiopatia chagásica crônica apresenta um caráter inflamatório progressivo, fibrosante e debilitante, levando a evolutivo prejuízo sobre o estado de modulação autonômica ao miocárdio desdobrando-se com formas variadas de bloqueio átrio-ventricular e intraventricular. A ativação pelo *T. cruzi* dos componentes celulares do sistema imune parece ser em grande parte responsável pelo dano tecidual e destruição neuronal no coração, conforme observado na fase aguda da doença, repercutindo até a fase crônica (MACHADO *et al.*, 1998).

Observou-se que pacientes com CCC apresentavam marcadores da cinética do ferro inferiores à aqueles observados em pacientes com IND e NCh possivelmente com a persistência do parasito, observa-se produção continuada de citocinas inflamatórias por células mononucleares, levando a níveis aumentados de TNF- $\alpha$  e INF- $\gamma$  no plasma (CUNHA-NETO *et al.*, 2009; FERREIRA *et al.*, 2003; ABEL *et al.*, 2001). Pacientes que desenvolvem a forma cardíaca da doença de Chagas parecem exibir maiores níveis de TNF- $\alpha$  e CCL2 quando comparados a pacientes com a forma indeterminada além de maior número de células T CD8+ e CD4+, em concomitância com baixa produção de células T regulatórias e produtoras de IL-10 (CUNHA-NETO *et al.*, 2009; ARAUJO *et al.*, 2007; GOMES *et al.*,

2003; ABEL *et al.*, 2001; SOUZA *et al.*, 2014). Entretanto, no desenvolvimento desta primeira etapa do estudo, não realizamos dosagem dos marcadores inflamatórios, essas análises serão realizadas futuramente contribuindo com resultados promissores sob os aspectos da metabologia do ferro na doença de Chagas e na IC de outras etiologias.

Quanto a análise de associação entre os marcadores da cinética do ferro em relação à etiologia da cardiomiopatia chagásica e não chagásica, não encontramos no presente estudo alterações no metabolismo do ferro no grupo IND, provavelmente nos estágios iniciais da IC não encontra-se evidências de anemia e atividade inflamatória diferentemente dos estágios mais avançados da doença. Nos estudos conduzidos por Sharma *et al.*, (2004) demonstraram que pacientes com IC em estágios avançados da IC apresentaram maior frequência de anemia, contribuindo como um importante preditor de mortalidade. Curiosamente, encontramos a expressão dos níveis séricos de ferro, CTLF, IST e ferritina significativamente mais baixa no grupo CCC, quando comparados ao grupo com cardiomiopatia não chagásica, podendo refletir a expressão de citocinas pró-inflamatórias que atua sobre o metabolismo da hepcidina, hipótese que deverá ser testada numa segunda etapa deste estudo. Esses achados estão de acordo com os estudos descritos por Sharma *et al.*, (2004) e Jankowska *et al.*, (2013) que demonstraram que as condições inflamatórias crônicas ditavam a gravidade da anemia na IC. Na seção seguinte analisaremos a acurácia dos métodos de avaliação dos marcadores da cinética do ferro através da análise da curva roc.

Após verificar associação entre os marcadores da cinética do ferro e o grau de disfunção ventricular nas diferentes etiologias da IC, realizamos avaliação dos testes diagnósticos para o metabolismo do ferro. Empregamos análises por curva Roc. Observamos sensibilidade de 88% no teste de IST para o diagnóstico da disfunção ventricular em pacientes com cardiomiopatia chagásica crônica. O IST correlacionou-se positivamente com a FEVE, exibindo sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo com boa acurácia para o diagnóstico da disfunção ventricular. Contudo, o diagnóstico da deficiência de ferro deve ser realizado com as diversas variáveis da cinética do ferro, em conjunto, desde que cada teste, individualmente, apresenta diferentes valores de sensibilidade e especificidade diagnóstica.

A relação ferro sérico / CTLF fornece o IST, normalmente entre 16% e 50%. Valores inferiores a 16% são indicativos de um déficit de suprimento de ferro para a hemoglobinação dos eritrócitos. Segundo Thomas *et al.* (2003) e Fishbane (2007) análises de soro de pacientes com doença renal crônica (DRC) mostraram que o IST possui



sensibilidade de 80% com demonstrado valor diagnóstico principalmente na identificação de anemia por deficiência absoluta de ferro. A especificidade do teste porém é limitada, porque tanto o ferro quanto a CTLF apresentam valores reduzidos na inflamação (WORWOOD, 2006, ELGHETANY, 2008). Ou seja, nossos resultados é a literatura demonstram que apesar da boa acurácia nos testes diagnósticos ainda assim existe limitações, haja vista, nossos pacientes apresentarem doença inflamatória crônica não tendo um grupo controle formado por pacientes saudáveis. Pretendemos futuramente acrescentar um grupo de pacientes saudáveis a nossas amostras.

Nesta seção buscamos verificar associação dependente ou independente entre as variáveis estudadas. A análise univariada é uma etapa anterior à análise de regressão logística multivariada. Por isso, realizou-se os testes de associação antes de ajustar o modelo de regressão logística multivariado propriamente dito. Na análise de regressão univariada, observou-se que pacientes anêmicos apresenta-se com 97% maior chance para disfunção ventricular. Entretanto, não houve persistência na análise de regressão logística multivariada. O que difere do observado por Ezekowitz *et al.*(2003), Tang e Katz (2006), Szachniewicz *et al.* (2003), Silverberg *et al.*(2008), Jankowska *et al.*(2010), que demonstraram que pacientes anêmicos apresentaram risco aumentado de mortalidade em presença de disfunção ventricular sistólica. A anemia é uma comorbidade frequente na IC e apresenta como consequência piora no prognóstica e também na capacidade funcional. Sabe-se que independentemente da presença de anemia a deficiência de ferro é um problema pouco investigado (GIL and FERREIRA, 2013) mas, poderá ter repercussões clínicas importantes à gravidade da IC (STEWART, MACLNTYRE, HOLE 2001)

Na análise multivariada, encontrou-se baixos níveis de FeSe ( $p= 0.014$ ) e de IST ( $p= 0.012$ ), além de resultados estatisticamente significativo para sexo ( $p= 0.038$ ) como marcadores independentes para disfunção ventricular sistólica esquerda. A queda de dez unidade 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. A variável sexo masculino também associou-se com a disfunção ventricular, sendo que, a cada 30 homens, 94% são as chances para ocorrência de disfunção ventricular. A alteração no metabolismo do ferro encontrada nos pacientes com cardiomiopatia chagásica crônica pode constituir um bom marcador prognóstico, por apresentar acentuadas sensibilidade e especificidade para detecção de fatores associados com

mau prognóstico em população de pacientes com IC e também por apresentar um caráter não invasivo.

Após a constatação dessas evidências observamos que no período transcorrido entre 30 dias a 200 dias ocorreram seis óbitos no grupo CCC e nenhum nos grupos IND e NCh. Essa observação chamou a atenção para a possibilidade de haver um marcador da cinética do ferro que pudesse alertar prognosticamente para uma maior chance de morte. Na análise da curva Kaplan-Meier ao estratificar o IST observamos, que valores  $<30\%$  (Lomk-rank,  $p=0.004$ ) notamos maior frequência de óbitos. Cabe ressaltar que, os valores de referência para o IST são (20%-50%). Esses achados podem sugerir um novo marcador prognostico de deficiência de ferro em pacientes com IC e também fortalece a importância do emprego de marcadores prognósticos nas fases iniciais da doença. Na análise da curva Kaplan-Meier ao estratificar os níveis de IST observamos, que valores  $<30\%$  (Lomk-rank,  $p=0.004$ ) notamos maior frequência de óbitos. Cabe ressaltar que, os valores de referência para o IST são (20%-50%). Esses achados podem sugerir um novo marcador prognostico precoce de deficiência de ferro em pacientes com IC e também fortalece a importância do emprego de marcadores prognósticos nas fases iniciais da doença. Nanas *et al.* (2006) observaram em três meses de acompanhamento uma frequência de 44,4% de alteração no metabolismo do ferro acompanhado de 46% na taxa de mortalidade na população total de doentes. Jankowska *et al.*(2014), ao realizar análise de sobrevivência em pacientes com IC categorizados como anemia e sem mostraram, que níveis de hepcidina  $\leq 31$  ng/mL associaram ao aumento na taxa de mortalidade de 41% quando comparados a marcadores do metabolismo do ferro separadamente. Ishani *et al.* (2005) encontraram que, para cada redução de 1g/dL na Hb, houve um aumento de 2,7% na mortalidade num período de 33 meses em pacientes com insuficiência cardíaca. Vários mecanismos patogênicos, como a reduzida absorção de ferro, perdas de sangue, hemodiluição, atividade inflamatória das citocinas, produção deprimida ou resistência à ação da eritropoetina, são fatores que devem ser levados em consideração na origem da deficiência de ferro nessa situação (GIL *et al.*, 2005; OKONKO *et al.*,2005).Diante disso parece que os marcadores da cinética do ferro apresentam importante preditor de mortalidade na IC. Deste modo com base nos nossos achados é possível que a cardiomiopatia chagásica crônica, por ter como substrato fibrogênico importante presença do elemento parasitário, expresse a resposta imune pró-inflamatória diferentemente de outras cardiopatias (HIGUCHI., 1995; REIS *et al.*, 2000; SABINO *et al.*,2015) sugerindo alterações sobre a dinâmica do ferro.

Por tanto, com base nessas informações apresentadas Apesar dos estudos evidenciarem participação das citocinas pró-inflamatórias ao estimular aumento na expressão da hepcidina prejudicando à dinâmica do ferro, sobretudo impossibilitando sua saída do sistema macrofagocítico para a eritropoiese acarretando deficiência funcional do ferro (JANKOWSKA *et al*, 2013; ANKER, 2009), não podemos deixar de discorrer sobre os mecanismos fisiopatológicos que antecedem a deficiência do ferro na IC e ao mesmo tempo contrapor as teorias basilar que atribui o fato da alteração do metabolismo do ferro está ligada unicamente a processos inflamatórios intrínsecos a IC, sobretudo é importante salientar que a resposta inflamatória não depende da etiologia da IC, sendo portanto uma via final comum ao portador de IC, independente da causa da doença (YNDESTAD *et al*, 2006), edema de alças intestinais, hipoperfusão do trato gastrointestinal (TGI) são teorias que poderá explicar a diminuição da absorção do ferro, consequentemente as alterações da barreira intestinal conforme sugerido por (RAJA *et al.*, 2004; SANDEK *et al.*, 2007).

Por tanto, diante de infinitas possibilidades fisiopatológicas e de múltiplos e distintos desmembramentos a partir dessas várias hipóteses aqui apontadas, a

### **Limitações do estudo**

O presente estudo tem algumas limitações. Não se usou como grupo controle pacientes saudáveis. Além disso, em relação à análise dos marcadores inflamatórios e da hepcidina não fizemos as dosagens. Novos estudos serão necessários para determinar os níveis dos marcadores inflamatórios e da hepcidina bem como, se existe associação destes em relação a etiologia da cardiomiopatia chagásica e não chagásica, sobretudo à gravidade da insuficiência cardíaca.

## 8 CONCLUSÃO

Ando devagar porque já tive pressa E levo esse  
sorriso porque já chorei demais Hoje me sinto  
mais forte, mais feliz quem sabe.  
Só levo a certeza de que muito pouco eu sei, que nada sei...  
Tocando em Frente  
Almir Sater

## 8 CONCLUSÃO

As análises do metabolismo do ferro nos pacientes com cardiomiopatia chagásica crônica evidenciaram que:

- Há associação entre o grau de comprometimento miocárdico, sendo que quanto menor os níveis séricos no ferro, capacidade total de ligação do ferro e índice de saturação de transferrina e ferritina, maior o grau de disfunção ventricular;
- O ferro e a ferritina encontram-se mais baixos na cardiomiopatia chagásica crônica, de acordo o grau de morbidade cardíaca e talvez refletindo sua natureza infecciosa.

# 9 PROPOSIÇÕES

## 9 PROPOSIÇÕES

- Reanalisar todos os resultados conhecidos até o momento em relação com os níveis de expressão de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatória.
- Analisar os resultados de dosagens de hepcidina nesses pacientes e relacioná-las com os marcadores da cinética do ferro.
- Analisar os resultados das dosagens de hepcidina e relacioná-las com a etiologia da IC chagásica ou não.

## **10 REFERÊNCIAS**



## 10 REFERÊNCIAS

ADLBRECHT C. *et al.* Chronic heart failure leads to an expanded plasma volume and pseudoanaemia, but does not lead to a reduction in the body's red cell volume. **Eur Heart J**.England,v.29:p. 2343-50.2008.

ALCINDOR T, BRIDGES KR. Sideroblastic anaemias. **Oxford**, New York, v.116: p. 733-43. 2012.

ALTIN B.*et al.*Assessment of serum hepcidin levels in patients with non- ST elevation myocardial infarction. Anadolu kardiyoloji dergisi : AKD = **the Anatolian journal of cardiology**.Boston, v. 14.p.515.2014.

ANAND I.*et al.* Anemia and its relationship to clinical outcome in heart failure. **Circulation**, Dallas, v.110: p.149.2004.

ANAND IS. Anemia and chronic heart failure implications and treatment options. **J Am Coll Cardiol**. Bethesda, v.52.p.501-11.2008.

ANKER SD, Comin Colet *et al.* Ferric Carboxymaltose in Patients with Heart Failure and Iron Deficiency. **N Eng J Med**.Boston, v.361: p.2436-48.2009.

ANDREWS NC, FLEMING MD, LEVY JE. Molecular insights into mechanisms of iron transport. **Current opinion in hematology**.New York, v. 6: p.61.1999.

AYRES JS, SCHNEIDER DS. Tolerance of Infections. **Annu Rev Immunol**, New York, v.30:p. 271-94.2012.

BARRETO P, RAMIRES F. Insuficiência cardíaca. **Arq. Bras. Cardiol**.71(4):635-42.1998.

BARROS FS, et al., Detection of Early Right Ventricular Dysfunction ins Chagas Disease Using Doppler Tissue Imaging. **J Am Soc Echocardiogr**, v.15: p. 1197-1201, 2002.

BECK-DA -SILVA L.*et al.* IRON- HF study: A randomized trial to assess the effects of iron in heart failure patients with anemia. **Int J Cardiol**, Sidney, v.168.p. 2013.

BOTONI FA.*et al.*A randomized trial of carvedilol after renin- angiotensin system inhibition in chronic Chagas cardiomyopathy. **Am. Heart J**, London, v.153:p.544.2007.

BUNCH TJ.*et al.* Effect of beta-blocker therapy on mortality rates and future myocardial infarction rates in patients with coronary artery disease but no history of myocardial infarction or congestive heart failure. **Am J Cardiol**, Bethesda, v. 95: p. 827-31.2005.

C C, L S. - New and old players in the hepcidin pathway. - **Haematol**, North America, v.2, 93(10): p.1441-4. 2008.

CASALS-PASCUAL C. *et al.* Newton CRJC, et al. Hpcidin demonstrates a biphasic association with anemia in acute Plasmodium falciparum malaria. **Haematologica**, Italia,v.97:p.1695.2012.

CHAGAS C. Nova tripanozomíase humana: estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homem. **Mem. Ins. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.1: p.159-218,1909.

CHERIAN S. *et al.* An Insight into the Relationships between Hepcidin, Anemia, Infections and Inflammatory Cytokines in Pediatric Refugees: A Cross- Sectional Study ( Hepcidin, Anemia and Infection). **PLoS ONE**, California, v.3: p.4030.2008.

CHUNG J, WESSLING-RESNICK M. Molecular mechanisms and regulation of iron transport. **Crit. Rev. Clin. Lab. Sci**, United States, v.2: p. 82-151. 2003.

COHEN-SOLAL A. *et al.* Diagnosis and treatment of iron deficiency in patients with heart failure: expert position paper from French cardiologists. **Arch Cardiovasc Dis**, France, v.107: p.563-71.2014.

COHN JN, JOHNSON G. Heart failure with normal ejection fraction the V- HeFT study. **Circulation**, Dallas, v.81; p.48-53.1990.

COLE TJ. Applied logistic regression. D.W. Hosmer and. Lemeshow, Wiley, New York, 1989.

DESAI AS. *et al.* Association between anaemia and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide (NT-proBNP): findings from the Heart and Soul Study. **Eur J Heart Fail**, London,v.9: p. 886-91.2007.

DONOVAN A, ROY CN, ANDREWS NC. The ins and outs of iron homeostasis. **Physiol**, Bethesda, v.21:p. 23-115.2006

DRAKESMITH H, PRENTICE A. Hepcidin and the Iron- Infection Axis. **Science**, Australia,v. 338: p. 768-772.2012.

Effect of Enalapril on Mortality and the Development of Heart Failure in Asymptomatic Patients with Reduced Left Ventricular Ejection Fractions. **N. Eng. J. Med**, Boston, v.327: p.685-91. 1992.

EZEKOWITZ., F.A. Mc Alister, and P.W. Arms . Trong, Anemia is Common in Heart Failure and is Associated with Poor Outcome: insight from a cohort of 12065 patients with new-onset heart failure. **Circulation**, v. 2: p. 223-5 2003.

FELKER GM. *et al.* Anemia as a risk factor and therapeutic target in heart failure. **J Am Coll Cardiol**, Bethesda,v.44: p.959-66.2004.

First Results of Phase 3 Trial of RTS, S/ AS01 Malaria Vaccine in African Children. **N Engl J Med**, Boston, v.20:p. 1863-1875. 2011.

GANZ T. Hepcidin and its role in regulating systemic iron metabolism. **Hematol**, Washington, v. 29-507.2006.

GAZZINELLI RT. *et al.* Innate sensing of malaria parasites.(**Report**). v.p. 14(11):744. 2014.

GIL VM, FERREIRA JS. Anemia and iron deficiency in heart failure. **Rev Port Cardiol**, Portugal, v.1:p.39-44.2014.

GIRELLI D. *et al.* Reduced serum hepcidin levels in patients with chronic hepatitis C. **Journal of Hepatology**, Barcelona, v.51: p.845-52.2009.

GROTTO HZW. Metabolismo do ferro: Uma revisão sobre os principais mecanismos envolvidos em sua homeostase. **Rev. Bras. Hematol. e Hemoter**, Brasil, v.5: p.370-390. 2008.

HENTZE MW. *et al.* Two to Tango: Regulation of Mammalian Iron Metabolism. **Cell**. Englend, v.142: p.24-38.2010.

HIGUCHI ML. Endomyocardial biopsy in Chagas' heart disease: pathogenetic contributions. **SP Medical J**, São Paulo, v.2: p.821-25. 1995.

HORL WH, Ertl G. Anaemia and the heart. **Eur J Clin Invest**, v.35, p.20-5. 2005.

HUGMAN A. Heparin: an important new regulator of iron homeostasis. **Oxford**, Oxford, v. 28, p. 75-83.2006.

HUANG Y-H. *et al.* Heparin protects against lipopolysaccharide- induced liver injury in a mouse model of obstructive jaundice. **Peptides**.Canada, v.35: p.212-7.2012.

IDD, D MW, J K. - Regulation of iron acquisition and storage: consequences for iron-linked. - **Nat Rev Mol Cell Biol**, New York, v.9(1): p.72-81 2008.

IDJRADINA P, WATKINS WE, POLLITT E. Adverse effect of iron supplementation on weight gain of iron- replete young children. **The Lancet**, London, v.343: p.1252-4.1994.

JANKOWSKA EA. *et al.* Iron deficiency: an ominous sign in patients with systolic chronic heart failure. **Eur. Heart. J**, London, v.31: p. 1872-80.2010.

JANKOWSKAEA, *et al.* Iron Deficiency Predicts Impaired Exercise Capacity in Patients With Systolic Chronic Heart Failure. **J. Cardiac Failure**. v.p. 17(11):899-906.2011.

JANKOWSKA EA, von Haehling S, Anker SD, Macdougall IC, Ponikowski P. Iron deficiency and heart failure: diagnostic dilemmas and therapeutic perspectives. **Eur Heart J**, England, v.34. p. 816-29.2013.

JANKOWSKA EA. *et al.* Iron deficiency defined as depleted iron stores accompanied by unmet cellular iron requirements identifies patients at the highest risk of death after an episode of acute heart failure. **Eur Heart J**, London. v.35: p.2468-76.2014.

JULIANO C. *et al.* Anemia nos pacientes com insuficiência cardíaca avançada Anemia en los pacientes con insuficiencia cardíaca avanzada Anemia in patients with advanced heart failure. **Arq. Bras. Cardiol**, 95(4):524-9.2010.

KATZ, S.D., *et al.*, Treatment of Anemia in Patients With Chronic Heart Failure. **J.Card Fail**, v.10: p.513-6 2004.

KLIP IT. *et al.* PREVALENCE, PREDICTORS AND PROGNOSIS OF IRON DEFICIENCY IN PATIENTS WITH CHRONIC HEART FAILURE: AN

INTERNATIONAL POOLED ANALYSIS OF 1,506 PATIENTS. **JACC**, New York, v.59: p.1045.2012.

KLUTSTEIN MW, TZIVONI D. Anaemia and heart failure: aetiology and treatment. **Nephrol Dial Transplant**, England, v. 20: p.7-20.2005.

KOO HM. *et al.* The relationship of initial transferrin saturation to cardiovascular parameters and outcomes in patients initiating dialysis. **PloS one**. v.9:p.872-31.2014.

KOSIBOROD, MD et al., The Prognostic Importance of Anemia in Patients With Heart Failure. **J. Am. Coll Cardiol**, v. 2: p.498-5, 2003.

KRHOFTE AD, *et al.* The predictive value of current haemoglobin levels for incident tuberculosis and/or mortality during long-term antiretroviral therapy in South Africa: a cohort study. **BMC medicine**. South Carolina, v.13:p.70.2015.

KRISHNAMURTHY P, XIE T, SCHUETZ JD. The role of transporters in cellular heme and porphyrin homeostasis. **Pharmacol Ther**, Great Britan, v.3:p.58-345, 2007.

LAPICE E, MASULLI M, VACCARO O. Iron Deficiency and Cardiovascular Disease: An Updated Review of the Evidence. **Current Atherosclerosis Reports**, v.15: p. 1-15.2013.

LEMOS AdR. *et al.* A hepcidina como parâmetro bioquímico na avaliação da anemia por deficiência de ferro. **Rev. Ass. Med. Bras**, 56(5):596-9.2010.

LEWIS BS. *et al.* Anaemia and heart failure: statement of the problem. **Nephrol Dial Transplant**. England, v.20. p.3-6. 2005.

LOO, V.G e LOLONDE, R.G . Role of Iron in Intracellular Growth of Trypanosoma cruzi. **Infect Immun** 45: 726-730.

LUTZ H. Naturally Occurring Anti- Band 3 Antibodies in Clearance of Senescent and Oxidatively Stressed Human Red Blood Cells. **Transfus Med Hemother**, United States, v.39: p. 321-7.2012.

MAEDER MT, KHAMMY O, dos Remedios C, KAYE DM. Myocardial and Systemic Iron Depletion in Heart Failure: Implications for Anemia Accompanying Heart Failure. **J Am Coll Cardiol**, New York, v.58: p.474-80.2011

MATANTZ PR. *et al.* The relationship between left ventricular systolic function and congestive heart failure diagnosed by clinical criteria. **Circulation**. Dallas, v.77: p.607.1988.

MATSUMOTO M, *et al.* Iron regulatory hormone hepcidin decreases in chronic heart failure patients with anemia. **Circulation**, Dallas, v. 74: p.301-6.2010.

MATTLEMAN SJ. *et al.* Reliability of bedside evaluation in determining left ventricular function: Correlation with left ventricular ejection fraction determined by radionuclide ventriculography. **J Am Cardiol**, v.327: p. 685-691.1983.

McDERMID JM. *et al.* Mortality in HIV infection is independently predicted by host iron status and SLC11A1 and HP genotypes, with new evidence of a gene-nutrient interaction. **Am. J. Clin. Nutr.** Rockville, v.90:p.225.2009.

- MEANS RT. Hepcidin and Cytokines in Anaemia. **Hematol**, 9(5-6):357-62.2004.
- MINCHELLA PA.*et al.* Elevated hepcidin at HIV diagnosis is associated with incident tuberculosis in a retrospective cohort study. **Int J Tuberc Lung Dis**,Africa,v.18:p.1337-9.2014.
- MIRANDA CP, *et al.* The metabogenic role of iron in chronic chagasic cardiac failure.**Mem.Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.110:p.154-5.2015.
- MURHY NF. *et al.* Improvement but no cure of left ventricular systolic dysfunction in treated heart failure patients. **Eur J Heart Fail**, United States,v.9: p.1196-204. 2007.
- NANAS JN.*et al.* Etiology of Anemia in Patients With Advanced Heart Failure.**Am J Cardiol**, Bethesda, v.48: p. 2485-2489.2006.
- NEMETH E.*et al.*Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin :and inducing its internalization. **Science**, New York, NY, v.306 p.2090.2004.
- OKONKO DO.*et al.* Disordered Iron Homeostasis in Chronic Heart Failure: Prevalence, Predictors, and Relation to Anemia, Exercise Capacity, and Survival: Prevalence, Predictors, and Relation to Anemia, Exercise Capacity, and Survival. **Am, Coll. Cardiol**, Bethesda, v.58. p. 1241-51.2011.
- OPASICH C, *et al.*Blunted erythropoietin production and defective iron supply for erythropoiesis as major causes of anemia in patients with chronic heart failure. **Am J Cardiol**.Bethesda, v.43:p. 217. 2004.
- PARKCH. *et al.* Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. **J.Biol. Chem**, Maryland, v.276: p.7806. 2001.
- PIETRANGELO A. Iron and the liver. **Liver Int**, New York, v.26: Supp 1, p.116-23.2016.
- RIBEIRO AL. *et al.* Diagnosis and management of Chagas disease and cardiomyopathy. **Nat Rev Cardiol**. v. 9:p.576-89.2012.
- RAJA K, KONCHHAR R, SETHY PY, DUTTA U, BALI HK, VARMA JS. Na endoscopic study of upper –GI mucosal changes in patients with congestive heart failure. **Gastrointest. Endosc.** v.6:p. 887. 2004.
- RUIVARD M.*et al.* Iron absorption in dysmetabolic iron overload syndrome is decreased and correlates with increased plasma hepcidin. **Journal of Hepatology**,Italia.v.50:p.1219-25.2009
- REIS MM. *et al.*, Fatores de crescimento presentes no miocárdio de pacientes com cardiomiopatia chagásica crônica. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop**, São Paulo, v.33: p.509-518. 2000.
- ROCHA MO, RIBEIRO AL, TEIXEIRA MM. Clinical management of chronic Chagas cardiomyopathy. **Front Biosci**, Landmark, v.8: p.44-54,2003.

SANDEK A, BAUDITZ J, SWIDSINSKI A, BUHNER S, WEBER-EIBEL J, VON HAEHLING S, et al., Altered intestinal function in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2007; 50 (16): 1561-9.

SCHMUNIS, G.A. Epidemiologia of Chagas disease in non endemic countries: the role of international migration. **Mem. Inst. Oswaldo cruz**, Rio de Janeiro, v. 1: p.75-85, 2007.

SCHOU M. et al. Iron deficiency: Prevalence and relation to cardiovascular biomarkers in heart failure outpatients. **Int J Cardiol**, Sidney, v.195:p.143-148. 2015.

SCOTT P. Immunologic memory in cutaneous leishmaniasis. **Oxford**, v.7: p. 1707-13.2005.

S L, E R. - The role of iron in mitochondrial function. - **Biochim Biophys Acta**, 1790(7):629-36 2009.

SZACHNIEWICZ., et al., Anaemia is an independent predictor of poor outcome of poor outcome in patients with chronic heart failure. **Inter J. Cardiol**, Sidney, v.2: p.303-8, 2003.

SILVERBERG, D., et al., The Cardio-Renal Anaemia Syndrome: does it exist ? **Nephrol Dial. Transplant**, v. 8: p.7-12 2003.

T A, KR B. - Sideroblastic anaemias. - **Br J Haematol**, 116(4):733-43. 2002.

TANG YD, KATZ SD. Anemia in chronic heart failure: prevalence, etiology, clinical correlates, and treatment options. **Circulation**, Dallas, v.113: p.2454-61. 2006.

THEURL I. *et al.* Autocrine formation of hepcidin induces iron retention in human monocytes. **Blood**, United States, v.56: p.596-599. 2008.

VAN SANTEN S. *et al.* Iron homeostasis in mother and child during placental malaria infection. **Am J Trop Med Hyg**. London, v. 84: p.148.2011.

VAULONT S, et al. Functional differences between hepcidin 1 and 2 in transgenic mice. **Blood**, United States. v.103: p.2816-2821. 2004.

VILLARROEL P, BLANCI S, ARREDONDO M. Interleukin- 6 and Lipopolysaccharide Modulate Hepcidin mRNA Expression by Hepg2 Cells. **Biol Trace Elem Res**, New York, v.150:p.496-501.2012.

WHO. **Global prevalence anaemia.** Available at: <http://www.who.int/tdr/dw/anaemia2011.htm>. Accessed July 20, 2016.

WISAKSANA R, *et al.* Inverse relationship of serum hepcidin levels with CD4 cell counts in HIV- infected patients selected from an Indonesian prospective cohort study. **PLoS ONE**, Californie, v.8:p.764.2013.

WIVIOTT SD. *et al.* Prasugrel versus Clopidogrel in Patients with Acute Coronary Syndromes. **N Engl J Med**, Boston, v.20: p. :2001-15. 2007.

ZHAO N *et al.* Iron regulation by hepcidin.(Science in medicine). **J Clin. Inve**, Bethesda, v.123:p.6.2013.

# **11 APÊNDICES E ANEXOS**

## **11 APÊNDICES E ANEXOS**

### **Apêndice A**

#### **TERMO DE CONSENTIMENTO**

#### **ANEXO A**

#### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

#### **Termo de Consentimento e Responsabilidade**

**“ANÁLISE DO METABOLISMO DO FERRO NA**

**CARDIOMIOPATIA CHAGÁSICA CRÔNICA”.**

#### **TERMO DE CONSENTIMENTO PARA PARTICIPAÇÃO EM ESTUDO DE PESQUISA CLÍNICA**

**INTRODUÇÃO:** antes de aceitar participar desta pesquisa, é necessário que você leia e compreenda as seguintes explicações sobre os procedimentos propostos. Esta declaração descreve o objetivo, procedimentos, benefícios, riscos, desconfortos e precauções deste estudo.

**OBJETIVO:** avaliar o metabolismo do ferro em pacientes chagásicos e não chagásicos



com cardiopatia dilatada coração crescido e insuficiência cardíaca coração fraco.

**RESUMO:** a doença de Chagas leva ao acometimento do coração e está entre as principais causas de problemas cardíacos em nosso país, com profundas consequências médicas, sociais e trabalhistas. Como ocorre, o problema cardíaco ainda não é completamente entendido, havendo a necessidade de novos estudos para melhor esclarecimento. Pacientes que apresentam insuficiência cardíaca crônica ou coração fraco, apresentam alterações no metabolismo do ferro um dos minerais mais importantes para o organismo das pessoas, que leva o oxigênio que alimenta os órgãos e as células. A alteração do seu metabolismo, ou seja, da quantidade de ferro no corpo da pessoa, leva à diminuição da capacidade física e piora no estado geral dos pacientes. O objetivo desta pesquisa é estudar o metabolismo do ferro em pacientes com coração crescido e fraco na busca de novas terapias alternativas que possam aumentar e melhorar a capacidade de funcionamento do coração em pacientes chagásicos.

**PROCEDIMENTO:** a sua participação nesta pesquisa necessita que você compareça ao Ambulatório de doença de Chagas para consulta, exame médico e retirado de sangue na

veia do braço, sempre que for solicitado. Além disso, deverá tomar todos os remédios conforme orientação do seu médico. Você deverá, ainda, comparecer ao Hospital das Clínicas para fazer ecocardiograma, exame bem conhecido e sem risco à sua saúde e que será feito por cardiologistas treinados, em ambiente equipado com todos os aparelhos de segurança. Deverá também comparecer ao Serviço de Radiologia para realização de radiografia simples do tórax em duas posições (de frente e de lado) e ao Laboratório Central do Hospital das Clínicas para colher sangue da veia do braço para exames de rotina, como glicose, função dos rins, do fígado, da tireóide, além de comparecer a Faculdade de Medicina para testes de caminhada de seis minutos. Nesse mesmo material (o sangue retirado), faremos exames de BNP, citocinas e quimiocinas, caso você concorde. Todos os resultados serão guardados e analisados com objetivos éticos e científicos e os resultados serão apresentados a você.

**DESCONFORTOS:** o exame ecocardiográfico causa muito pouco desconforto além do deslocamento até o local onde será realizado. A coleta do sangue será feita por punção de veia do braço com material descartável, realizado por pessoas treinadas no procedimento, oferecendo apenas o desconforto da fincada da agulha, podendo, no entanto, ocasionar pequeno hematoma local e um pouco de dor. O estudo radiológico é de baixo risco, com baixa exposição à radiação, estando contraindicado na gravidez. **BENEFÍCIOS:** a sua participação poderá contribuir para o conhecimento do metabolismo do ferro na doença de Chagas no coração, podendo melhorar o tratamento dessa enfermidade. Todos os resultados deste estudo lhe serão apresentados. **CONFIDENCIALIDADE:** os resultados de seus exames serão analisados em sigilo até onde for permitido por lei. Entretanto, o pesquisador, o orientador da pesquisa e, sob

certas circunstâncias, o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG poderão ter acesso aos dados confidenciais que o identificam pelo nome. Qualquer publicação dos dados não o identificará. Ao assinar este formulário de consentimento, você autoriza o pesquisador a fornecer seus registros ao orientador da pesquisa e ao Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG.

**DESLIGAMENTO:** a sua participação é voluntária e sua recusa em participar ou seu desligamento durante o estudo não acarretará penalidades ou perda de benefícios aos quais você tenha direito. Você poderá interromper sua participação a qualquer momento em que desejar ou necessitar, sem prejuízo para a continuidade de seu tratamento.

\*O participante da pesquisa deverá entrar em contato com o COEP em caso de dúvidas sobre os aspectos éticos.

\*O participante terá acesso à segunda via do TCLE

**CONTATO COM O PESQUISADOR:** poderá ser feito pelos telefones a seguir e para quaisquer dúvidas ou necessidades relacionadas ao estudo.

- Residência: (55) 31 38796211
- Celular: (55) 31 99842674
- Comitê de Ética em pesquisa da UFMG (0xx) 31 3248 9364)

ou pessoalmente no Ambulatório de Referência em Doença de Chagas às terças e sextas-feiras pela manhã. Além disso, caso você tenha alguma dúvida sobre seus direitos como paciente de pesquisa, você deverá procurar o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG.

**CONSENTIMENTO:** li e entendi as informações anteriores. Além disso, tive oportunidade de fazer perguntas objetivando esclarecer todas as minhas dúvidas, que

foram respondidas com toda clareza. Este formulário está sendo assinado voluntariamente por mim, indicando meu consentimento para que eu próprio participe do estudo, até que eu decida do contrário.

Belo Horizonte, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

Assinatura do paciente ou responsável: \_\_\_\_\_

Assinatura do pesquisador: \_\_\_\_\_

COEP da UFMG. Av. Antônio Carlos, 6627, Unidade Administrativa II, 2º andar

(2005), BH, MG. TelFax (31)3409-4592. E-mail: [coep@prpq.ufmg.br](mailto:coep@prpq.ufmg.br)

Pesquisadores:

Principal: Prof. Dr. Fernando Antônio Botoni (31)- 99842674 e (31) 3879 62 11

Prof. Dr. Manoel Otávio da Costa Rocha (31) 32236783

Carla Paixão Miranda – Orientanda (Mestrado) (38)- (91577923)

**Apêndice B****Fichas para coleta de Dados****FACULDADE DE MEDICINA DA UFMG****CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE: INFECTOLOGIA  
E MEDICINA TROPICAL  
BANCO DE DADOS EXAMES CLÍNICOS, ECOCARDIOGRÁFICOS E  
LABORATORIAL**

## DADOS PESSOAIS

ORDEM ### REGISTRO #####

DATANSC1 &lt;dd/mm/yyyy&gt; DATAEXA1 &lt;dd/mm/yyyy&gt; IDADE1 ##

SEXO #

COR # 1BRANCA 2PARDA 3NEGRA

NOME \_\_\_\_\_

## AVALIAÇÃO CLÍNICA ETAPA I

PESOKG1 ##,# ALTURA1 ###

## MEDICAÇÃO EM USO

DATAMED &lt;DD/MM/YYYY&gt;

ENALAPR1 # 0-0 1-5+0 2-5+5 3-10+0 4-10+10 5-0+10 6-20+0 7-0+20 8-  
10+20 9-20+20

FUROSEM1 # 0-0 1-10+0 2-10+10 3-20+20 4-40+0 5-40+20 6-40+40 7-80+40

8-80+00 9-80+80

10-160+160

ESPIRON1 # 0-0 1-12,5 2-25 3-50

DIGOXIN1 # 0-0 1-0,125 2-0,25

AMIODAR1 # 0-0 1-100 2-200 3-300 4-400 5-

600 WARFARI1 # 0-0 1-2,5 2-5 3-7,5 4-10 5-15

CARVEDI1 # 0-0 1-3,125+0 2-3,125+3,125 3-3,125+6,25 4-6,25+6,25

5-6,25+12,5 6-12,5+12,5 7-12,5+25 8-25+25

LOSARTA1 # 0-0 1-50+0 1-50+50

CAPTOPR1 # 0-0 1-6,25+0 1-6,25+0 3-6,25+6,25+6,25 4-12,5+0+0 5-

12,5+0+12,5 6-12,5+12,5+12,5 7-25+0+0 8-25+0+25 9-25+25+25 10-50+0+50

11-50+50+50

HCTZ1 # 0-0 1-12,5 1-25 3-50

OUTROS1

## AVALIAÇÃO LABORATÓRIAL

DATA LAB1 <DD/MM/YYYY>

FERRO##,#

IST##

CTLF ###,#

FERRITINA ###,##

HB1 ##,#

HCM ##,#

VCM ##,#

RDW ##,#

CHCM ##,#

ÁCIDO FÓLICO ##,#

VITAMINA B12 ###

TSH1 #,##

T4L1 ##.##

CREAT1 ##,##

UR1 ###

NA+1 #####

K+1 #,##

MG2+1 #,##

CA2+1 ##,##

GLICJEJ1 #####

POSDEX1 #####

TGO1 ###

TGP1 ###

FA1 ###

URICO1 #,#

## AVALIAÇÃO ECOCARDIOGRÁFICA

DATAECO <DD/MM/YYYY>

DATAECO1 <DD/MM/YYYY>

ASC1 #.###

AO1 ###

AE1 ###

VD1 ###

VED1 #####

VEDASC1 ##,##



VES1 ####

SIVD1 ###

PPD1 ###

## Apêndice C

### Artigo 1

**Elaborado durante a revisão da literatura e publicado na  
Revista Portuguesa de Cardiologia**

**Iron metabolism in heart failure: Mechanisms and therapeutic  
approaches. REPC 691 1---2Rev Port Cardiol. 2015.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.repc.2015.03.020>**

**Artigo 2**

***Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro: 1-2, 2015***

**The metabogenic role of iron in chronic chagasic cardiac failure**

**Carla Paixão Miranda<sup>1/+</sup>,**

**Fernando Antônio Botoni<sup>2</sup>,**

**Maria do Carmo Pereira Nunes<sup>2</sup>,**

**Manoel Otávio da Costa Rocha<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Infectologia e Medicina Tropical

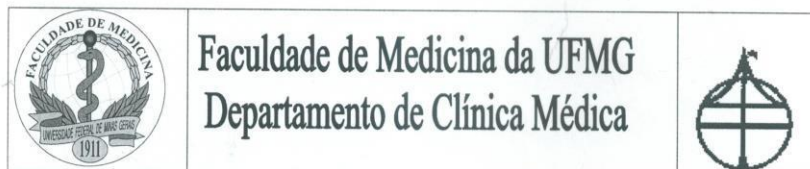
<sup>2</sup>Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina,

Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil

**Artigo 3**

**Iron metabolism in chronic Chagas cardiomyopathy**

Carla Paixão Miranda<sup>1</sup>, Fernando Antônio Botoni<sup>2</sup>, Manoel Otávio Costa Rocha<sup>3</sup>




PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE: INFECTOLOGIA E  
MEDICINA TROPICAL  
PROJETO MESTRADO

ALUNA: Carla Paixão Miranda  
ORIENTADOR: Prof. Fernando Antônio Botoni

O projeto "*Análise do Metabolismo do Ferro na Cardiopatia Chagásica Crônica*" foi aprovado pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: infectologia e Medicina Tropical, conforme parecer anexo, datado de 03/09/2014. Assim fica ratificada sua aprovação pelo Departamento de Clínica Médica para encaminhamento ao COEP/UFMG.

Belo Horizonte, 23 de outubro de 2014.

Profa. Maria Mônica Freitas Ribeiro  
Subchefe do Departamento de Clínica Médica  
Insc. UFMG: 111333 SIAPE: 323399-8

  
p/ Prof. Unai Tupinambás  
chefe do Departamento de Clínica Médica

Parecer conforme solicitado pelo MEMORANDO CPG.IMT 088/2014.

I – Interesse: professores Manoel Otávio da Costa Rocha, Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical; e Fernando Antônio Botoni, orientador e Carla Paixão Miranda, mestrand; conforme MEMORANDO CPG.IMT 088/2014, enviado pela secretária Jussara Magalhães; em 18 de agosto de 2014.

II – Objetivo: parecer sobre o projeto de pesquisa “Análise do Metabolismo do Ferro na Cardiopatia Chagásica Crônica”.

III – Histórico: a insuficiência cardíaca associa-se com comprometimento do estado nutricional, resultado do catabolismo e de intensa produção de citocinas pró-inflamatórias, com comprometimento do metabolismo de micronutrientes, especialmente o ferro, elemento de extrema importância na constituição de citocromos e, conseqüentemente, da oxigenação celular, e da homeostasia. Diante dessa possibilidade, busca-se, neste trabalho, entender como a alteração do metabolismo do ferro, poderá contribuir para agravar as já intensas e significativas repercussões da miocardite chagásica, como mais uma alternativa terapêutica de suporte na proteção da função miocárdica e prevenção do desenvolvimento de alterações que determinem a morte prematura. A anemia das doenças crônicas parece associar-se com alterações na eritropoiese, diminuição da sobrevivência das hemácias com alteração da resposta da medula óssea à hemólise. Pode significar susceptibilidade ou resistência às infecções e deve ser avaliada diante de entidades nosológicas em que o potencial terapêutico específico ainda é muito restrito como é o caso da doença de Chagas. As alterações da concentração de ferro, transferrina séricas podem estar relacionadas com a reatividade do hospedeiro às infecções e sinalizar sobre sua capacidade de resposta inflamatória. É provável que a redução do ferro plasmático contribua para reduzir sua disponibilidade para a síntese de citocromos pelos microrganismos patogênicos e com sua determinar uma defesa nutricional ou imunidade nutricional que é pouco entendida apesar dos esforços para o entendimento do papel dos nutrientes em relação às defesas corpóreas. O objetivo geral do trabalho é o de analisar em pacientes com cardiopatia chagásica crônica: o metabolismo do ferro; partir dos níveis de ferro, ferritina, vitamina B12, ácido fólico, ácido metilmalônico, siderofilina, e transferrina; as características de fator de necrose tumoral alfa, interferon gama, MIP1 alfa, MCP1, RANTES, interleucinas (1,6, 8, 10); além das características nutricionais subjetivas, qualidade de vida e classe funcional. Os pacientes serão selecionados em estudo observacional e transversal dentre os matriculados no Ambulatório Orestes Diniz da UFMG. Possui critérios de inclusão e de exclusão; termo de consentimento livre e esclarecido; análise estatística adequada; e os exames realizados no Laboratório central do Hospital das Clínicas. Possui referências bibliográficas adequadas, orientação competente e participação de equipe de pesquisadores envolvidos com a investigação na área específica de trabalho. As questões ainda por serem resolvidas incluem: autorização do trabalho pelo Serviço de



FACULDADE DE MEDICINA  
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO

Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 533  
Belo Horizonte - MG - CEP 30.130-100  
Fone: (031) 3409.9640  
ppgmt@medicina.ufmg.br



Doenças Infecciosas e Parasitárias, financiamento do projeto, participação do Laboratório Central e do Serviço de Cardiologia, controle de qualidade e confiabilidade dos exames de rotina do Laboratório Central.

IV – Mérito: O projeto tem relevância, poderá contribuir para o entendimento da infecção chagásica e o metabolismo de ferro e estabelecer novos parâmetros para o controle da cardiopatia associada.

V – Parecer: considero, s.m.j, que, deve ser aprovado, e que sejam avaliadas as sugestões apresentadas.

Enio Pietra  
03/09/2014

*Aprovo-lo,  
continue parecer.*

*X*  
Prof. Antônio Luiz Pinho Ribeiro  
Subcoordenador do PPG Ciências da Saúde  
Infectologia e Medicina Tropical  
Faculdade de Medicina - UFMG

















































































