

VASCULOPATIA RELACIONADA À SOBRECARGA DE FERRO E OS RISCOS ASSOCIADOS

VINICIUS BERMOND MARQUES¹
MÔNICA GOLDNER¹
RENATA ANDRADE ÁVILA¹
SABRINA RODRIGUES BERTOLI²
LEONARDO DOS SANTOS¹

1. Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal do Espírito Santo.
2. Faculdade Novo Milênio.

Palavras-chave
Hemocromatose; Risco Cardiovascular; Disfunção Endotelial.

INTRODUÇÃO

O ferro é um elemento essencial para várias funções biológicas, incluindo eritropoiese, metabolismo oxidativo, síntese de DNA e resposta imunológica. Também é fundamental para o transporte de elétrons na respiração celular, sendo crucial para a produção de energia ATP e para o funcionamento adequado do sistema nervoso e muscular. Durante o desenvolvimento embrionário, o ferro é altamente requisitado para a formação de hemácias, células musculares e nervosas. No sistema nervoso, é importante para produção de ATP que suporta as reações nervosas, cofator da síntese de neurotransmissores, participa da formação da bainha de mielina e é fundamental para processos sinápticos, desenvolvimento cognitivo e motor. Nos músculos, associado à mioglobina, é responsável pelo aporte de oxigênio e energia e proteção contra a hipóxia (THIRUPATHI & CHANG, 2019).

A absorção do ferro ocorre principalmente no intestino delgado. De todo ferro contido na dieta, apenas 10% estão na forma heme (mais facilmente absorvível), enquanto os outros 90% são não-heme, que precisam ser convertidos de íons férricos (Fe^{3+}) para ferrosos (Fe^{2+}) pela enzima ferrireductase para serem absorvidos. A forma ferrosa é absorvida pelo enterócito pela ação do transportador de metal divalente (DMT-1), da proteína transportadora de metal (MTP1) e por transportadores da família ZIP, e no meio intracelular, se associa à proteína ferritina. O Fe^{2+} pode ser transportado para fora das células pela ferroportina, mas como circula no organismo ligado à transferrina (Tf), para isso deve ser novamente oxidado em Fe^{3+} pela enzima hefaestina. A Tf- Fe^{3+} então distribui o ferro às células que expressam seu receptor (TfR). Uma vez no citoplasma, o ferro pode ser complexado à ferritina, formar *clusters* Fe-S,

ser internalizado pela mitocôndria ou participar da composição estrutural de diversas proteínas, como catalase e DNA primase. Não são conhecidas estratégias ativas para regular a excreção de ferro, mas é sabido que em indivíduos saudáveis sua absorção e o estoque são rigorosamente regulados. Uma maneira de controle da absorção de ferro é conhecida como bloqueio da mucosa: uma dose de ferro reduz a capacidade de absorção de uma segunda dose. Outro mecanismo de regulação pós-transcricional da homeostase do ferro acontece através de elementos responsivos ao ferro (IREs), regiões do RNAm de proteínas relacionadas ao metabolismo do ferro que regulam a expressão delas. Contudo, a forma mais importante é a regulação hormonal dos níveis de ferro no organismo feita pela hepcidina. A hepcidina é um hormônio produzido pelos hepatócitos de forma induzida, em situações como inflamação, estresse do retículo endoplasmático e nos aumentos da quantidade de ferro circulante, quando há elevação da saturação da Tf. A hepcidina é capaz de se ligar à ferroportina dos enterócitos e de outros tipos celulares como eritrócitos e macrófagos, e o complexo formado por estas duas proteínas é internalizado, o que resulta em inibição do efluxo celular de ferro para a circulação.

Algumas condições podem provocar acúmulo desse metal, levando à sobrecarga de ferro com prejuízos para o funcionamento do organismo. Estas condições podem ter origem hereditária ou adquirida. A sobrecarga de ferro produzida nessas situações é caracterizada por níveis altos de ferro sérico, ferritina e saturação de transferrina aumentada, e pode levar a depósitos sistêmicos e teciduais, danificando vários órgãos.

Entre as condições hereditárias que causam sobrecarga de ferro, a principal é a hemocromatose, causada por mutações em genes que controlam a absorção de ferro. Entre estas mutações, a

mais comum é a mutação do gene HFE (especialmente C282Y e H63D), que codifica uma importante proteína mediadora da expressão de hepcidina. Isso resulta na absorção exagerada de ferro e seu acúmulo em órgãos como fígado, coração e pâncreas, predispondo ao desenvolvimento de complicações como cirrose, cardiomiopatia e diabetes. Já as causas adquiridas estão associadas a estados de eritropoiese ineficiente, uso excessivo de compostos de ferro e, principalmente, transfusões sanguíneas recorrentes, como no tratamento de anemias hemolíticas (por exemplo, talassemia ou anemia falciforme).

Há ainda a intoxicação por ferro, que consiste em uma sobrecarga aguda, comumente provocada pela ingestão acidental ou intencional de doses excessivas de compostos para suplementação de ferro. Em todos os casos, o acúmulo de ferro gera estresse oxidativo, levando a danos em órgãos vitais e aumento do risco de insuficiência cardíaca e doenças vasculares (SOUSA *et al.*, 2020).

Ainda que o conhecimento acerca da repercussão cardíaca da sobrecarga de ferro seja bem consolidado, os impactos sobre a vasculatura têm sido relativamente negligenciados. Assim, o objetivo desta revisão é reunir o conhecimento obtido a partir de estudos epidemiológicos, clínicos, modelos animais e sistemas celulares *in vitro* nas últimas décadas, destacando o papel mais prejudicial do que inocente do excesso de ferro para a homeostase vascular, o que sustenta a proposta de denominar essa condição de “vasculopatia da sobrecarga de ferro”.

MÉTODO

Trata-se de uma revisão integrativa realizada por meio de pesquisas nas bases de dados PubMed e Medline. Foram utilizados os descritores: "Iron overload" AND "vascular dysfunction", "Iron overload" AND "endothelial dysfunction", "Iron overload" AND "atherosclerosis", "Iron overload" AND "cardiovascular disease", "Iron overload" AND "animal models".

Os critérios de inclusão foram: artigos em língua inglesa e que abordavam efeitos da sobrecarga de ferro sobre vasos sanguíneos disponibilizados na íntegra. Os critérios de exclusão foram: artigos duplicados, disponibilizados apenas na forma de resumo, que não abordavam diretamente a proposta estudada e que não atendiam aos demais critérios de inclusão.

Após os critérios de seleção, os artigos foram submetidos à leitura minuciosa para a coleta de dados que estão apresentados de forma descritiva, divididos em categorias temáticas abordando: cardiotoxicidade do ferro e risco cardiovascular, sobrecarga de ferro, homeostase vascular, futuras direções e conclusões.

Após os critérios de seleção, os artigos foram submetidos à leitura minuciosa para a coleta de dados que estão apresentados de forma descritiva, divididos em categorias temáticas abordando: cardiotoxicidade do ferro e risco cardiovascular, sobrecarga de ferro, homeostase vascular, futuras direções e conclusões.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A cardiotoxicidade do ferro e risco cardiovascular

As primeiras complicações cardíacas causadas por sobrecarga de ferro foram descritas por Engle e colaboradores em 1964, em um artigo publicado na revista *Circulation*. O artigo descreve as complicações cardíacas em pacientes com anemia crônica, grave e refratária com hemocromatose, sendo as mais frequentes: arritmias atriais, pericardite e insuficiência cardíaca congestiva, esta última a principal causa de morte nestes pacientes. Já em relação a pacientes com anemias congênitas que necessitam de transfusões regulares, Leon e colaboradores descreveram, em 1979, o comprometimento da fração de ejeção esquerda comprometida durante o exercício físico, o que também já levantava suspeitas de uma cardiopatia relacionada à sobrecarga de ferro.

Atualmente, há fortes indícios de que ferro livre em elevadas concentrações é capaz de alterar o acoplamento excitação-contração do músculo cardíaco, competindo com o íon Ca^{2+} pelo influxo através da sarcolema ou pela indução da formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) que, em excesso, são capazes de reduzir a sensibilidade das miofibrilas ao cálcio e prejudicar a atividade da ATPase miosínica (ÁVILA *et al.*, 2016).

Embora a cardiomiopatia induzida por sobrecarga de ferro seja bem estabelecida, a influência do ferro em outras condições como hipertensão, aterosclerose e infarto do miocárdio, é mais complexa e ainda em debate. Vários estudos indicam que a sobrecarga de ferro promove aterosclerose, disfunção endotelial e inflamação, mediados por estresse oxidativo (SANTOS *et al.*, 2022). De fato, o ferro livre catalisa a formação de radicais livres, que podem danificar as células endoteliais e promovem a oxidação do LDL-colesterol, um passo crucial na formação da placa aterosclerótica. Além disso, a sobrecarga de ferro poderia contribuir para a hipertensão arterial por diversos mecanismos, incluindo disfunção endotelial, aumento da resistência vascular periférica e alterações no sistema renina-angiotensina-aldosterona (MARTI-AGUADO *et al.*, 2023). Assim, a sobrecarga de ferro pode apresentar efeitos sinérgicos com outros fatores de risco cardiovascular, como dislipidemia, hipertensão e diabetes, amplificando o risco de doenças cardiovasculares, especialmente por exacerbar o estresse oxidativo e a inflamação associados a essas condições (ROSENBLUM, 2023).

Embora essa "hipótese do ferro" na doença cardiovascular ainda seja debatida, as evidências disponíveis sugerem que a sobrecarga de ferro pode contribuir para o desenvolvimento e

a progressão de diversas condições cardiovasculares, para além da cardiomiopatia, como veremos a seguir.

A sobrecarga de ferro e a homeostase vascular

Em referência aos danos vasculares induzidos pelo ferro, incluindo seus efeitos ateroscleróticos, tem sido utilizado o termo "hipótese do ferro". Em 1981, Jerome Sullivan sugeriu que o ferro corporal aumentado desempenha um papel na patogênese das doenças cardiovasculares e sua depleção promove proteção (SULLIVAN, 1981). Essa proposta surgiu a partir da observação de que o risco cardiovascular em mulheres é menor do que em homens, mas se torna comparável ao deles após a menopausa. Assim, o risco cardiovascular reduzido poderia ser explicado, ao menos em parte, pelo efeito protetor da perda de ferro por meio do fluxo menstrual durante a menacme. Na verdade, a proposta de Sullivan despertava o interesse para investigações que iam além da cardiomiopatia da sobrecarga de ferro, pois muitas complicações cardíacas, como o infarto do miocárdio (IM), estariam intimamente relacionadas a disfunções na vasculatura. Assim, considerando a capacidade do excesso de ferro gerar estresse oxidativo vascular e inflamação, seria esperado que as consequências dessa condição incluíssem disfunção endotelial e formação de placa aterosclerótica. No entanto, ao mesmo tempo em que sua capacidade aterogênica fora defendida por muitos autores, foi questionada por outros que até demonstraram redução da aterosclerose.

De fato, curiosamente, alguns estudos clínicos apresentam resultados que refutam a "hipótese do ferro". Dados epidemiológicos sugerem que os níveis séricos de ferritina não se correlacionam com presença de aterosclerose nas artérias coronárias ou carótidas, nem foi encontrada

associação de risco entre os níveis de ferro circulante e eventos cardiovasculares como IM e acidente vascular cerebral (AVC). Em uma coorte prospectiva, a saturação de transferrina aumentada foi associada a risco reduzido de doença arterial coronariana (DAC), IM e mortalidade por doença cardiovascular (GILL *et al.*, 2017). Ademais, há estudos caso-controle que sugeriram que baixos níveis de ferro foram associados a um risco cardiovascular elevado e que a redução dos estoques corporais de ferro não parece ter impacto na mortalidade (SANTOS *et al.*, 2022). Tomados em conjunto, esses dados clínicos sugerem que o ferro poderia, na verdade, prevenir danos vasculares, em vez de mediá-los.

Em contrapartida, os estudos epidemiológicos, clínicos e experimentais, em sua grande maioria, reforçam a associação entre sobrecarga de ferro, vasculopatia e aterosclerose. Além disso, trazem evidências de como diferentes estratégias terapêuticas podem ajudar a prevenir esses danos. Na verdade, essa disparidade entre os resultados dos estudos supracitados pode ser justificada por diversas variáveis, como idade dos participantes, presença de comorbidades não controladas, tempo de evolução da sobrecarga de ferro e uso de terapias farmacológicas. Outra possível explicação para esses achados negativos sobre a ligação entre reservas de ferro e aterosclerose pode ter sido o uso recorrente da ferritina sérica como marcador do nível de ferro, que é conhecido por não refletir com precisão a carga de ferro em diferentes tecidos e até mesmo nos vasos sanguíneos. São fatores reconhecidamente causadores de elevação dos níveis de ferritina, independente dos níveis de ferro: doenças hepáticas, alcoolismo, infecções virais, doenças inflamatórias, artrite reumatoide e alguns tipos de neoplasias, tais como leucemia e linfoma. Por fim, a busca pela associação en-

tre níveis de ferro no organismo e o desenvolvimento de aterosclerose muitas vezes negligenciou que a presença/ausência de sobrecarga poderia ser decisiva. De fato, a aterosclerose estava sendo pouco estudada em pacientes diagnosticados com distúrbio de sobrecarga de ferro.

Estudos epidemiológicos e modelos animais

As pesquisas envolvendo ferro e o sistema cardiovascular costumavam dar maior ênfase para a cardiomiopatia, e apenas nas últimas duas décadas uma maior atenção foi dada ao estudo da vasculatura. Estudos clínicos em pacientes com sobrecarga de ferro primária ou secundária têm mostrado evidências de prejuízo na vasodilatação tanto dependente (GAENZER *et al.*, 2002; HAHALIS *et al.*, 2008) como independente do endotélio (HAHALIS *et al.*, 2008), sugerindo que as células endoteliais e as musculares lisas são prejudicadas pela exposição crônica ao aumento dos níveis de ferro. Outros estudos demonstram, mesmo em pacientes saudáveis, que a infusão de ferro na dose terapêutica atualmente usada para suplementação intravenosa pode induzir disfunção endotelial aguda e geração de EROs (ROOYAKKERS *et al.*, 2002); e, em pacientes com DAC também sem sobrecarga de ferro, a quelação de ferro melhorou a vasodilatação dependente do óxido nítrico (NO), o principal vasodilatador derivado do endotélio (DUFFY *et al.*, 2001). Além do prejuízo na função endotelial, alguns estudos em pacientes com talassemia e aumento nos níveis de ferro demonstram a presença de rigidez e hipertensão arterial (SANTOS *et al.*, 2022), sugerindo que a sobrecarga de ferro pode mediar o remodelamento da parede vascular.

Com o cenário de disfunção vascular descrito acima, seria compreensível que níveis elevados de ferro pudessem aumentar a incidência de eventos cardiovasculares e mortalidade por

essas condições. De fato, coortes prospectivas demonstraram um aumento no risco cardiovascular, alta incidência de IM e mortes relacionadas ao sistema cardiovascular em associação com sobrecarga de ferro documentada, tal como aponta uma recente revisão (SANTOS *et al.*, 2022), o que mostra a necessidade da investigação da fisiopatologia vascular ferro-induzida a fim de prevenir ou tratar essas condições. Assim, para melhor compreensão de como o excesso de ferro é prejudicial para a vasculatura, pesquisas básicas e translacionais têm sido conduzidas. É notável que os estudos experimentais aproveitam a possibilidade de avaliar os efeitos da sobrecarga de ferro em níveis e tempos de evolução controlados, em contextos genéticos padronizados, permitindo assim uma definição mais robusta dos mecanismos subjacentes e possíveis alvos terapêuticos na sobrecarga de ferro.

A busca sobre modelos animais com sobrecarga de ferro na literatura recente identificou estudos que demonstram prejuízo na modulação endotelial sobre o controle do tônus vascular em diferentes artérias (BERTOLI *et al.*, 2018; MARQUES *et al.*, 2015; RIBEIRO JÚNIOR *et al.*, 2017). Essa disfunção tem sido associada ao desbalanço entre importantes fatores dilatadores e constritores derivados do endotélio. Nesse contexto, os estudos sugerem uma estreita relação entre hiperativação local do sistema renina-angiotensina (SRA)/receptor AT₁, a via da ciclooxigenase (COX), o aumento na produção de EROs e uma significativa redução da biodisponibilidade do NO caracterizando esta vasculopatia da sobrecarga de ferro. Além do prejuízo no controle do tônus vascular, um estudo recente realizado em células endoteliais de pacientes com hemocromatose demonstrou aumento de marcadores inflamatórios e apoptóticos (VINCHI *et al.*, 2019).

Considerando os efeitos da sobrecarga de ferro na promoção do estresse oxidativo, disfunção endotelial e inflamação, seria plausível considerá-la um importante fator de risco para formação de placa aterosclerótica. De fato, depósitos aumentados de ferro se correlacionam com os níveis de colesterol em lesões ateroscleróticas humanas, e o conteúdo de ferro dentro das placas ateromatosas também foi associado ao estresse oxidativo local. Além disso, há relatos clínicos que mostram marcadores precoces de aterosclerose em distúrbios de sobrecarga de ferro, como remodelamento vascular com espessamento das camadas íntima e média da carótida em pacientes com β -talassemia e hemocromatose. Por fim, recentes estudos em modelos experimentais de sobrecarga de ferro primária e secundária mostram que os níveis de ferro aumentado cursam com intensificação da formação de placa aterosclerótica (MARQUES *et al.*, 2019; VINCHI *et al.*, 2019), que pode ser atenuada com uso de quelantes ou privação dietética de ferro.

Estresse oxidativo e disfunção endotelial

O ferro é um metal de transição que possui alta capacidade de doar e receber elétrons, participando de muitas reações que favorecem o estresse oxidativo. É conhecido que o ferro reage com outras espécies químicas e atua como catalisador em reações que geram radicais livres, como nas reações de Fenton e Haber-Weiss. Na verdade, sua habilidade de formação de EROs não se deve apenas às características inerentes ao próprio elemento químico, mas também aos seus efeitos sobre enzimas e vias bioquímicas de produção ou degradação dessas espécies lesivas. No organismo dos mamíferos, a sobrecarga de ferro regula positivamente a expressão/atividade de enzimas oxidantes na vasculatura, como a NADPH oxidase e da xantina

oxidase, assim como pode influenciar na atividade de enzimas antioxidantes.

Neste contexto, a ação pró-oxidante da sobrecarga de ferro representa alto risco cardiovascular, onde a disfunção endotelial é um importante fenótipo que tem sido recentemente estudado. Estudos clínicos realizados nas últimas décadas, mostram que a vasculopatia na hemocromatose e talassemia é sim caracterizada principalmente por disfunção endotelial e presença estresse oxidativo (GAENZER *et al.*, 2002; KUKONGVIRIYAPAN *et al.*, 2008). Assim, os estudos experimentais subsequentes buscaram esclarecer vias e mecanismos envolvidos nessa disfunção. Utilizando um modelo experimental em camundongos, Marques e colaboradores demonstraram que a sobrecarga crônica de ferro, ao aumentar a produção de EROs e diminuir a biodisponibilidade de NO, promove prejuízo da resposta vasodilatadora e na modulação endotelial da resposta vasoconstritora em aortas (MARQUES *et al.*, 2019). A diminuição do NO, principal vasodilatador em artérias de condutância, também foi observada em estudos com células endoteliais de camundongos e da veia umbilical humana expostas à sobrecarga de ferro, na qual o prejuízo endotelial foi associado a elevação de EROs (HE *et al.*, 2019). No mesmo estudo, a inibição da dimetilarginina assimétrica (ADMA) foi capaz de prevenir o prejuízo na via nitrérgica, destacando uma estratégia terapêutica promissora para a interrupção do ciclo vicioso de produção de EROs sobre a diminuição da biodisponibilidade de NO provocada pelo ferro.

Nossa busca na literatura identificou que esse prejuízo endotelial parece ocorrer tanto em vasos de condutância quanto em vasos de resistência: Em modelo animal de sobrecarga crônica de ferro, foi identificado aumentos da resposta vasoconstritora em artérias de resistência do leito mesentérico e pulmonar, igualmente

devido ao prejuízo da modulação nitrérgica associada ao aumento de ânion superóxido via NADPH oxidase e superativação da via da angiotensina II (Ang II) (BERTOLI *et al.*, 2018; RIBEIRO JÚNIOR *et al.*, 2017). Nesse sentido, um estudo experimental demonstrou que o uso de quelante de ferro foi capaz de atenuar a disfunção endotelial e o estresse oxidativo induzido pela infusão de Ang II (ISHIZAKA *et al.*, 2005), reforçando a estreita relação entre essas vias na vasculopatia induzida pelo excesso de ferro.

Outra importante via de sinalização celular envolvida com o estresse oxidativo e disfunção endotelial induzida pelo ferro parece ser a da COX. Um estudo experimental em camundongos ateroscleróticos com sobrecarga de ferro descreveu aumento nos níveis de metabólitos de prostanoídes derivados da COX (prostaciclina e tromboxano A₂), que sabidamente impactam no tônus vascular. Além disso, nesse mesmo estudo, constatou-se que a inibição na via COX e de EROs na aorta foi capaz de atenuar a reatividade alterada, reforçando a relação entre essas vias e a disfunção endotelial provocada pela sobrecarga de ferro (MARQUES *et al.*, 2019). Desse modo, sugere-se que o tromboxano A₂, com sua função de estimular agregação plaquetária e causar vasoconstrição, esteja associado com esse prejuízo endotelial, inclusive tornando-se um agravante para o desenvolvimento de doenças inflamatórias como a aterosclerose.

De fato, essa associação entre níveis aumentados de ferro, estresse oxidativo, marcadores de inflamação e disfunção endotelial foi relacionada à intensificação da aterosclerose em modelos experimentais de sobrecarga de ferro primária e secundária (MARQUES *et al.*, 2019; VINCHI *et al.*, 2019). O ferro livre circulante em excesso se deposita na lesão aterosclerótica, aumentando ativação de macrófagos, recrutamento de monócitos, aumento da proliferação e

migração de células musculares vasculares lisas, eventos que contribuem para progressão da placa de ateroma. Essa intensificação da aterosclerose foi prevenida com uso de quelante ou privação de ferro na dieta. Essas informações são relevantes para embasar estudos translacionais visando possíveis aplicações clínicas que vão além do uso de quelantes, como, por exemplo, privação do ferro na dieta, uso de antioxidantes e anti-inflamatórios em pacientes com presença ou risco aumentado para desenvolver sobrecarga de ferro.

Remodelamento arterial e rigidez vascular

Os dados atuais da literatura também sugerem que os efeitos do ferro aumentado sobre a vasculatura vão além dos prejuízos na disfunção endotelial sobre a regulação do tônus vascular e a progressão da aterosclerose. À sobrecarga de ferro, também é atribuída a capacidade de induzir alterações fenotípicas nas células musculares lisas vasculares e fibroblastos, como proliferação, apoptose, e calcificação e depósito de colágeno na matriz, que, tomados em conjunto, podem caracterizar remodelamento vascular e justificar rigidez arterial e perda da distensibilidade. Esse efeito potencial do ferro é descrito em estudos clínicos, básicos e translacionais reunidos a seguir.

Em pacientes com hemocromatose e β -talassemia, a rigidez arterial associada ao ferro tem sido identificada por meio da velocidade da onda de pulso (VOP) aumentada (CASH *et al.*, 2014; DETCHAPORN *et al.*, 2012). Em concordância, a terapia com quelante de ferro foi eficaz na redução da rigidez arterial de pacientes com β -talassemia (WOOD *et al.*, 2010), reforçando os efeitos nocivos do ferro sobre a distensibilidade arterial. Como a VOP aumentada é um preditor de risco cardiovascular, é um importante fenótipo a ser avaliado nos pacientes

com presença ou risco para níveis aumentados de ferro.

Diferentes modelos animais de sobrecarga de ferro também mostraram remodelamento coronário, hipertrofia concêntrica e rigidez das artérias de resistência, aumento da fibrose da parede vascular, redução da distensibilidade e aumento da VOP na aorta, tal como apontado em uma recente revisão (SANTOS *et al.*, 2022). Um estudo realizado em roedores, reforça que a sobrecarga de ferro pode enrijecer as artérias, independentemente, ou ao menos precocemente, das mudanças no tônus vascular ou na função endotelial (FIDELIS *et al.*, 2020).

A complacência arterial depende não apenas da geometria e do tônus muscular, mas principalmente do equilíbrio entre componentes intersticiais que influenciam na distensibilidade. É sabido que o aumento de elementos como colágeno e a calcificação tornam os vasos menos distensíveis, o que pode estar contribuindo para rigidez aumentada em pacientes e em modelos de roedores com sobrecarga de ferro. É sugerido que o ferro, por meio da inflamação e estresse oxidativo, seria capaz de estimular a calcificação de células endoteliais e do músculo liso vascular (SANTOS *et al.*, 2022). Além disso, a administração de ferro por via parenteral em ratos aumentou o colágeno intersticial e a rigidez na aorta e em mesentéricas de resistência, com importante participação do SRA, via da COX e produção de EROs aumentada (FIDELIS *et al.*, 2020; RIBEIRO JÚNIOR *et al.*, 2017).

Já é bem estabelecido na literatura e na prática clínica que a inibição da ação do SRA atenua o remodelamento vascular e melhora a complacência arterial devido à modulação das ações tróficas, pró-oxidantes e pró-inflamatórias da Ang II. Nesse contexto, existem evidências experimentais de que o SRA está associado também às alterações estruturais e funcionais

em diferentes artérias expostas ao ferro. Em um modelo animal de infusão de Ang II, foi descrita uma relação entre fibrose perivascular e depósitos de ferro. Em concordância, o bloqueio farmacológico *in vivo* do receptor AT₁ com losartana foi capaz de prevenir as alterações nos parâmetros de rigidez arterial, VOP e o aumento do colágeno em aortas de ratos com sobrecarga de ferro, sugerindo assim que esses efeitos se devem, ao menos em parte, à hiperativação do SRA.

Como a redução da distensibilidade aórtica é associada ao aumento da pressão arterial e a pressão pulsátil, a rigidez desse vaso coloca tecidos vulneráveis em risco de dano microvascular ao reduzir a proliferação capilar e aumentar a trombose, a aterosclerose e a disfunção vasomotora. Assim, a rigidez arterial aumentada na sobrecarga de ferro oferece risco significativo para os pacientes acometidos. Por esta razão, são importantes métodos para rastreamento e rápido diagnóstico de rigidez aórtica provocada por níveis aumentados de ferro, possibilitando o direcionamento terapias e construção de medidas de saúde pública para tratamento precoce.

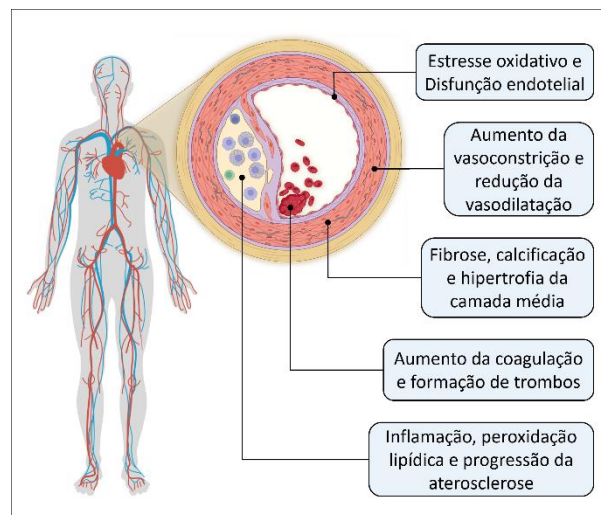
Podemos então concluir que a sobrecarga de ferro provoca prejuízos tanto funcionais quanto estruturais aos vasos arteriais. Assim, como ilustrado na **Figura 24.1**, dados atualmente disponíveis a partir de estudos em humanos e em culturas celulares e modelos animais de sobrecarga de ferro indicam alterações estruturais e funcionais na parede vascular, incluindo uma variedade de vias e mecanismos de lesão e remodelamento que caracterizariam a vasculopatia da sobrecarga de ferro.

Potenciais impactos sobre leitos vasculares específicos

Um fato importante derivado da caracterização deste reconhecimento acerca da vasculopa-

tia é que, a depender do sítio acometido, as consequências secundárias são diversas e significativas.

Figura 24.1 Diferentes elementos da estrutura e função vascular alterados pela sobrecarga de ferro



Além dos impactos sobre a aorta, atualmente há indicações de que a sobrecarga de ferro induz vasculopatia caracterizada por disfunção endotelial, que afeta ao menos três leitos vasculares importantes: o coronariano, o pulmonar e o cerebral. Dessa forma, podem contribuir para elevada morbimortalidade associada a eventos cardiovasculares bastante específicos e impactantes, incluindo IM, hipertensão arterial pulmonar (HAP) e AVC, respectivamente (FRAIDENBURG & MACHADO, 2016; SALONEN *et al.*, 1992; TAHER *et al.*, 2006).

A relação entre níveis elevados de ferro corporal e o desenvolvimento de DAC foi inicialmente observada em um estudo clínico na década de 1980, que identificou um risco aumentado de IM em homens com ferritina sérica elevada (SALONEN *et al.*, 1992). Na hemocromatose, altos estoques de ferro também foram associados a uma maior incidência de eventos cardiovasculares, incluindo IM agudo (GAENZER *et al.*, 2002). Dados epidemiológicos reforçam esses achados, indicando menor risco de

IM entre doadores frequentes de sangue em comparação com não doadores (MEYERS *et al.*, 1997). De fato, a doação de sangue contribuiu para redução dos níveis de ferro circulante, logo, poderia ter contribuído para o menor risco coronariano para IM. Desta forma, níveis elevados de ferro parecem favorecer o desenvolvimento de doenças coronarianas, independentemente da doença ou condição subjacente.

Apesar do descrito acima, algumas pesquisas subsequentes não confirmaram uma associação consistente entre ferritina sérica e aterosclerose, mantendo o tema em debate. Nesse sentido, estudos caso-controle e observacionais têm buscado biomarcadores mais precisos do estado de ferro que possam se correlacionar com o risco coronariano (ZHOU *et al.*, 2014). Contudo, a inflamação, que está presente no processo patológico da aterogênese, pode influenciar os parâmetros séricos do ferro, introduzindo um viés na associação entre os parâmetros séricos do “status de ferro” e a DAC. Apesar de Sullivan (1981) ter proposto uma relação entre ferro e DAC desde a década de 1980, ainda faltam estudos experimentais com modelos de sobrecarga de ferro que definam o impacto do excesso desse metal na função coronariana, sendo importantes para elucidar os mecanismos envolvidos e potenciais alvos terapêuticos.

A sobrecarga de ferro também parece afetar a vasculatura pulmonar, causando enrijecimento arterial e disfunção do endotélio, o que pode aumentar a resistência vascular nesse território. Embora o papel da hemocromatose seja incerto, estudos clínicos das últimas duas décadas mostram alta incidência de HAP em pacientes com sobrecarga de ferro secundária, com ou sem transfusões (FRAIDENBURG & MACHADO, 2016). Contudo, o surgimento da HAP nessas condições pode envolver múltiplos

mecanismos, como hemólise crônica, inflamação e hipercoagulabilidade, o que reforça a necessidade de esclarecer o impacto isolado da sobrecarga de ferro na circulação pulmonar.

Nesse sentido, estudos em modelos animais indicam que a sobrecarga de ferro pode estar diretamente relacionada ao remodelamento vascular pulmonar, evento associado à HAP. A administração de quelantes de ferro reduz a HAP induzida por hipóxia crônica e inibe a proliferação celular das artérias pulmonares (WONG *et al.*, 2012). Bertoli *et al.* (2018) constataram que a administração crônica de ferro induziu disfunção endotelial, hipertrofia e fibrose na artéria pulmonar, além de sobrecarga e hipertrofia do ventrículo direito, devido ao aumento da resistência vascular pulmonar (BERTOLI *et al.*, 2018). Nesse modelo de sobrecarga de ferro, os autores também identificaram aumento na produção de EROs e redução da biodisponibilidade de NO, provavelmente mediada pela hiperatividade do SRA local. A disfunção endotelial resultante parece contribuir para alterações estruturais na parede vascular e desequilíbrios na resistência vascular pulmonar, comprometendo, assim, a hemodinâmica da pequena circulação e a hematose nos alvéolos.

Em relação ao leito vascular cerebral, é sabido que pacientes com hemoglobinopatias são mais propensos a eventos tromboembólicos, incluindo eventos cerebrovasculares (TAHER *et al.*, 2006). No entanto, os estoques de ferro e os genótipos HFE não parecem estar relacionados ao aumento do risco de AVC isquêmico (EKBLUM *et al.*, 2007), sendo importante o desenvolvimento de estudos que avaliem os efeitos do ferro, *per se*, sobre os eventos cerebrovasculares, independente da doença de base. Nesse contexto, é descrito que o ferro aumentado na área isquêmica e/ou hemorrágica nas lesões por AVC agrava a lesão cerebral por uma via distinta de morte celular denominada ferroptose

(GUO *et al.*, 2023), e que é atenuada por quelantes do ferro ou inibidores da via de morte celular. Assim, além de um agravante na fisiopatologia do AVC, seria compreensível que a sobrecarga de ferro, ao promover disfunção endotelial, estresse oxidativo e inflamação em diferentes leitos arteriais, também possa promover danos diretos sobre a vasculatura de artérias do leito cerebral e aumentar o risco para eventos cerebrovasculares. Entretanto, até o momento, não foram recuperados estudos experimentais com esse tipo de vaso.

Principais lacunas e perspectivas da área

Como revisado neste capítulo, há uma disparidade entre os resultados de estudos clínicos e epidemiológicos que envolvem a “hipótese do ferro”, possivelmente devido à presença de múltiplas variáveis de confusão. Dessa forma, estudos clínicos randomizados com maior controle dessas variáveis são necessários para esclarecer a relação causal entre a sobrecarga de ferro e as doenças vasculares.

Além disso, testes em modelos animais devem contribuir para estas investigações, pois permitem simular a sobrecarga de ferro com maior controle, favorecendo a compreensão mais precisa dos mecanismos subjacentes à vasculopatia induzida pelo ferro. Nos estudos com animais, é essencial reduzir o viés e manter as características fisiopatológicas e fenotípicas próximas ao cenário clínico, para assegurar resultados representativos e inferências confiáveis. A maioria dos estudos utiliza modelos não genéticos de roedores com injeções ferro, o que permite doses controladas e evita o bloqueio da absorção pela mucosa entérica observado em sobrecargas orais. Por conseguinte, essa administração parenteral de ferro gera em roedores um fenótipo semelhante ao dos pacientes com

sobrecarga, seja de origem primária ou secundária, caracterizado pelo aumento de ferro circulante e depósitos teciduais.

Embora alguns relatos de casos e pequenos ensaios clínicos indiquem anormalidades vasculares em pacientes com hemocromatose, faltam estudos translacionais em modelos transgênicos de roedores da sobrecarga primária para investigar os mecanismos moleculares e vias alteradas na vasculopatia. Considerando as poucas opções terapêuticas para pacientes com hemocromatose, a identificação de novos alvos terapêuticos é crucial para o tratamento das complicações cardiovasculares.

Apesar da maior incidência de eventos cerebrovasculares e coronarianos em pacientes com condições clínicas associadas à sobrecarga de ferro, pudemos concluir que a literatura ainda carece de estudos funcionais sobre os efeitos do ferro, *per se*, sobre a função das artérias da circulação cerebral e coronariana. A investigação das vias e mecanismos potencialmente alterados nestes vasos é crucial para identificar possíveis oportunidades de tratamento e/ou prevenção destas complicações em indivíduos com risco de sobrecarga ou níveis já aumentados de ferro.

Ao longo deste capítulo, também foram reunidos estudos em modelos animais de sobrecarga crônica de ferro que indicam a participação das vias da COX e do SRA local tanto nas alterações vasculares quanto na geração de EROs em tecidos vasculares. Dada essa relação, ainda são necessários estudos translacionais para avaliar se terapias farmacológicas *in vivo* que bloqueiam essas vias poderiam beneficiar como abordagem adjuvante à quelação em pacientes. Além disso, o uso de terapia antioxidante farmacológica ou natural por meio do consumo de alimentos ricos em nutrientes com essa característica também deve ser conside-

rado em estudos translacionais como terapia adjuvante na prevenção de danos vasculares na sobrecarga de ferro em vista do potencial de muitas substâncias antioxidantes na prevenção da vasculopatia originada por outras condições clínicas.

A identificação precisa do perfil de ferro corporal (circulante tecidual) é fundamental, dada sua relação com o dano. Como pacientes tendem a permanecer assintomáticos nos estágios iniciais, o diagnóstico clínico ocorre, em geral, apenas quando há disfunções orgânicas evidentes. Dessa forma, embora exames de sangue sejam amplamente utilizados, acessíveis e de baixo custo, os marcadores de ferro circulante atualmente utilizados não refletem necessariamente o acúmulo tecidual. Isto reforça que apenas níveis elevados de ferritina não são considerados critérios confiáveis para inclusão em protocolos de tratamento, devido à baixa sensibilidade e especificidade dessa medida em casos de hemocromatose, hepatopatias e condições não associadas à sobrecarga de ferro, como doenças hepáticas, inflamatórias, infecciosas e neoplasias. Métodos não invasivos de imagem, como a tomografia computadorizada e a ressonância magnética, substituem, em alguns casos, a biópsia padrão-ouro na avaliação diagnóstica, mas são demorados e substancialmente onerosos, limitando seu uso na rotina. Em busca de alternativas viáveis, Leal *et al.* (2020) propuseram a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) para tentar diferenciar, com máxima acurácia, amostras séricas de ratos com intoxicação por ferro de amostras de indivíduos saudáveis (LEAL *et al.*, 2021).

Porém, apesar dos resultados promissores, recomenda-se que estudos futuros incluam amostras maiores e avaliem a segurança e a reprodutibilidade do FTIR em condições diversas

de sobrecarga de ferro em modelos experimentais e estudos clínicos, visando seu estabelecimento como ferramenta diagnóstica em tempo real, econômica e sem necessidade de reagentes. Ademais, a utilização dessa técnica pode ser especialmente aplicável, em se provando eficácia na estimativa do conteúdo tissular de ferro a partir de amostras sanguíneas, o que poderia reduzir a necessidade de biópsias teciduais ou uso de técnicas onerosas como a ressonância nuclear magnética T2*.

CONCLUSÕES

Embora seja inegável a importância do ferro para o organismo, seu excesso pode ter consequências deletérias para o sistema cardiovascular. Neste capítulo, reunimos um conjunto de estudos da literatura que demonstram que a sobrecarga de ferro, além de afetar o miocárdio, induz alterações patológicas em diversos leitos vasculares, incluindo artérias de condutância com aorta, e pequenos vasos de resistência. Dessa forma, esse corpo crescente de evidências nos sustenta à proposição do reconhecimento dessa entidade patológica, a vasculopatia da sobrecarga de ferro, e ressalta a importância do médico assistente em considerar o sistema vascular como importante alvo nessas condições.

Ainda que modelos animais tenham se mostrado promissores para elucidar os mecanismos subjacentes à vasculopatia induzida pela sobrecarga de ferro, este capítulo evidencia a necessidade de estudos translacionais que aprofundem a investigação sobre os mecanismos e alvos terapêuticos adjuvantes à quelação, assim como potenciais biomarcadores para diagnósticos mais precisos e menos invasivos, o que é fundamental para o diagnóstico precoce e o acompanhamento desses pacientes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ÁVILA, R.A. *et al.* Mechanisms involved in the in vitro contractile dysfunction induced by different concentrations of ferrous iron in the rat myocardium. *Toxicology in Vitro*, v. 36, p. 38, 2016. doi: 10.1016/j.tiv.2016.07.003.
- BERTOLI, S.R. *et al.* Chronic iron overload induces vascular dysfunction in resistance pulmonary arteries associated with right ventricular remodeling in rats. *Toxicology Letters*, v. 295, p. 296, 2018. doi: 10.1016/j.toxlet.2018.07.010.
- CASH, W.J. *et al.* Disordered vascular compliance in haemochromatosis. *Irish Journal of Medical Science*, v. 183, p. 303, 2014. doi: 10.1007/s11845-013-1010-2.
- DETCAPORN, P. *et al.* Altered vascular function, arterial stiffness, and antioxidant gene responses in pediatric thalassemia patients. *Pediatric Cardiology*, v. 33, p. 1054, 2012. doi: 10.1007/s00246-012-0225-8.
- DUFFY, S.J. *et al.* Iron chelation improves endothelial function in patients with coronary artery disease. *Circulation*, v. 103, p. 2799, 2001. doi: 10.1161/01.cir.103.23.2799.
- EKBLOM, K. *et al.* Iron stores and HFE genotypes are not related to increased risk of ischemic stroke: a prospective nested case-referent study. *Cerebrovascular Diseases*, v. 24, p. 405, 2007. doi: 10.1159/000108429.
- FIDELIS, H.G. *et al.* Blockade of angiotensin AT₁ receptors prevents arterial remodelling and stiffening in iron-overloaded rats. *British Journal of Pharmacology*, v. 177, p. 111, 2020. doi: 10.1111/bph.14904.
- FRAIDENBURG, D.R. & MACHADO, R.F. Pulmonary hypertension associated with thalassemia syndromes. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1368, p. 127, 2016. doi: 10.1111/nyas.13037.
- GAENZER, H. *et al.* Association between increased iron stores and impaired endothelial function in patients with hereditary hemochromatosis. *Journal of the American College of Cardiology*, v. 40, p. 2189, 2002. doi: 10.1016/s0735-1097(02)02611-6.
- GILL, D. *et al.* The effect of iron status on risk of coronary artery disease: a mendelian randomization study-brief report. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, v. 37, p. 1788, 2017. doi: 10.1161/ATVBAHA.117.309757.
- GUO, J. *et al.* Iron, ferroptosis, and ischemic stroke. *Journal of Neurochemistry*, v. 165, p. 487, 2023. doi: 10.1111/jnc.15807.
- HAHALIS, G. *et al.* Global vasomotor dysfunction and accelerated vascular aging in β -thalassemia major. *Atherosclerosis*, v. 198, p. 448, 2008. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2007.09.030.
- HE, H. *et al.* Iron overload damages the endothelial mitochondria via the ROS/ADMA/DDAHII/eNOS/NO pathway. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2019, 2019. doi: 10.1155/2019/2340392
- ISHIZAKA, N. *et al.* Iron chelation suppresses ferritin upregulation and attenuates vascular dysfunction in the aorta of angiotensin II-infused rats. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, v. 25, 2005. doi: 10.1161/01.ATV.0000181763.57495.2b.
- KUKONGVIRIYAPAN, V. *et al.* Endothelial dysfunction and oxidant status in pediatric patients with hemoglobin E- β thalassemia. *Pediatric Cardiology*, v. 29, p. 130, 2008. doi: 10.1007/s00246-007-9107-x.
- LEAL, L.B. *et al.* diagnosis of systemic diseases using infrared spectroscopy: detection of iron overload in plasma: preliminary study. *Biological Trace Element Research*, v. 199, p. 3737, 2021. doi: 10.1007/s12011-020-02510-3.
- MARQUES, V.B. *et al.* Chronic iron overload in rats increases vascular reactivity by increasing oxidative stress and reducing nitric oxide bioavailability. *Life Sciences*, v. 143, p. 89, 2015. doi: 10.1016/j.lfs.2015.10.034.
- MARQUES, V.B. *et al.* Chronic iron overload intensifies atherosclerosis in apolipoprotein E deficient mice: Role of oxidative stress and endothelial dysfunction. *Life Sciences*, 2019. doi: 10.1016/j.lfs.2019.116702.
- MARTI-AGUADO, D. *et al.* Pancreatic steatosis and iron overload increases cardiovascular risk in non-alcoholic fatty liver disease. *Frontiers in Endocrinology*, v. 14, 2023. doi: 10.3389/fendo.2023.1213441.
- MEYERS, D.G. *et al.* Possible association of a reduction in cardiovascular events with blood donation. *Heart*, v. 78, p. 188, 1997.
- ODUIT, G.Y. *et al.* Role of L-type Ca²⁺ channels in iron transport and iron-overload cardiomyopathy. *Journal of Molecular Medicine*, v. 84, p. 349, 2006. doi: 10.1007/s00109-005-0029-x.
- RIBEIRO JÚNIOR, R.F. *et al.* Chronic iron overload induces functional and structural vascular changes in small resistance arteries via NADPH oxidase-dependent O₂[rad]⁻ production. *Toxicology Letters*, v. 279, p. 43, 2017. doi: 10.1016/j.toxlet.2017.07.497.
- ROOYAKKERS, T.M. *et al.* Ferric saccharate induces oxygen radical stress and endothelial dysfunction in vivo. *European Journal of Clinical Investigation*, v. 32, p. 9, 2002.

- ROSENBLUM, S.L. Inflammation, dysregulated iron metabolism, and cardiovascular disease. *Frontiers in Aging*, v. 4, 2023. doi: 10.3389/fragi.2023.1124178.
- SALONEN, J.T. *et al.* High stored iron levels are associated with excess risk of myocardial infarction in eastern finnish men. *Circulation*, 1992.
- SANTOS, L. *et al.* Iron overload, oxidative stress and vascular dysfunction: evidences from clinical studies and animal models. *Biochimica et Biophysica Acta General Subjects*, v. 1866, p. 130172, 2022. doi: 10.1016/j.bbagen.2022.130172.
- SOUSA, L. *et al.* Iron overload: effects on cellular biochemistry. *Clinica Chimica Acta*, v. 504, p. 180, 2020.
- SULLIVAN, J.L. Iron and the sex difference in heart disease risk. *The Lancet*, 1981. doi: 10.1016/s0140-6736(81)92463-6.
- TAHER, A. *et al.* Prevalence of thromboembolic events among 8,860 patients with thalassaemia major and intermedia in the Mediterranean area and Iran. *Thrombosis and Haemostasis*, v. 96, p. 488, 2006.
- THIRUPATHI, A. & CHANG, Y.Z. Brain iron metabolism and CNS diseases. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. v. 1173, 2019. doi: 10.1007/978-981-13-9589-5_1.
- VINCHI, F. *et al.* Atherosclerosis is aggravated by iron overload and ameliorated by dietary and pharmacological iron restriction. *European Heart Journal*, v. 41, p. 2681, 2019. doi: 10.1093/eurheartj/ehz112/5416182.
- WONG, C.M. *et al.* Iron chelation inhibits the development of pulmonary vascular remodeling. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 53, p. 1738, 2012. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2012.08.576.
- WOOD, J.C. *et al.* The effect of deferasirox on cardiac iron in thalassemia major: impact of total body iron stores. *Blood*, v. 116, p. 537, 2010. doi: 10.1182/blood-2009-11-250308.
- ZHOU, Y. *et al.* Association of better iron status biomarkers and coronary artery disease risk. *Internal Medicine Journal*, v. 44, p. 846, 2014. doi: 10.1111/imj.12508.