

TEZĂ DE DOCTORAT

Patologia cardiacă și homeostazia fierului

Rezumat

Doctorand : Dr Mihai Lupu

Conducator stiintific : Prof Dr. Adriana Gabriela Filip

Cuprins

INTRODUCERE	15
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	17
1.Fiziologia fierului	19
1.1.Absorbția fierului	19
1.2.Absorbția celulară de fier	19
1.3.Reglementarea sistemică a disponibilității fierului	20
1.4.Reglarea fierului celular	21
1.5.Reglarea fierului cardiac	22
2.Patologia fierului în bolile cardiovasculare	25
2.1.Eventimente cardiovasculare acute	25
2.2.IC cronică și fierul	29
2.3.Echilibrul fierului în miocitele bolnave	30
3.Abordare terapeutică	33
3.1.Definirea deficitului și supraîncărcării cu fier	33

3.2.Suplimentarea	fierului	33
3.3.Chelare	fierului	34
CONTRIBUȚIE PERSONALĂ		39
1.Obiective	generale	41
2.Metodologie	generală	43
3.Studiul	1. Modele animale de stres cardiac cronic	47
3.1.Introducere		47
3.2.Material	și metode	47
3.3.Rezultate		49
3.4.Discuție		51
3.5.Concluzii		52
4.Studiul	2. Patologia cardiacă acută și chelarea fierului	53
4.1.Introducere		53
4.2.Materiale	și metode	54
4.3.Rezultate		56
4.4.Discuție		62
4.5.Concluzii		64
5.Studiul	3. Chelarea fierului într-un model de supraîncărcare a presiunii cardiace la șobolan	65
5.1.Introducere		65
5.2.Materiale	și metode	66
5.3.Rezultate		69
5.4.Discuție		77
5.5.Concluzii		80
6.Discuții	generale	81
7.Concluzii	generale	85
8.Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei		87
REFERINȚE		89

Cuvinte cheie

Insuficiență cardiacă, fier, chelare, inflamație.

STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

Introducere

Patologia cardiacă și homeostazia fierului sunt domenii interconectate de studiu cu implicări semnificative în domeniul sănătății cardiovasculare. Aceasta teză oferă o prezentare succintă a relației complexe dintre patologia cardiacă și metabolismul fierului, aducând în atenție mecanismele subiacente și implicațiile acestora pentru managementul clinic.

Homeostazia fierului în funcția cardiacă

Fierul joacă un rol crucial în menținerea funcției cardiace optime. În interiorul cardiomiocitelor, fierul este esențial pentru funcționarea adecvată a mitocondriilor, producția de energie și contractilitatea. Proteinele reglatoare ale fierului, precum proteinele de legare a elementelor sensibile la fier (IRPs) și receptorii de transferină, joacă roluri cheie în menținerea echilibrului fierului în aceste celule.

Metabolismul fierului este strâns reglementat la nivel sistemic și celular. La nivel sistemic, hormonul hepcidină este reglatorul principal al homeostaziei fierului. Hepcidina controlează absorbția fierului, reciclarea și eliberarea din depozitele de fier, menținând astfel echilibrul global al fierului în organism. Expresia hepcidinei este influențată de diferiți factori, inclusiv de hipoxie, inflamație și activitatea eritropoietică.

La nivel celular, captarea și utilizarea fierului sunt reglementate de proteine și transportatori specifici. Endocitoza mediată de receptorul de transferrină facilitează captarea fierului în celule, în timp ce proteinele de stocare a fierului intracelular, precum ferritina, sechestrează excesul de

fier. Transportatorii de fier, cum ar fi transportatorul metalului divalent 1 (DMT1) și ferroportina, reglementează mișcarea fierului prin membranele celulare. Dereglarea acestor mecanisme poate perturba homeostazia fierului și poate duce la consecințe patologice.

Abordări diagnostice pentru evaluarea statusului fierului

Evaluarea precisă a statusului de fier este esențială pentru diagnosticul și gestionarea patologiilor cardiace asociate cu dereglarea fierului. Parametrii tradiționali ai fierului seric, inclusiv fierul seric, saturarea transferinei și nivelurile de feritină, sunt utilizate în mod obișnuit, dar au limitări în reflectarea cu precizie a nivelurilor de fier tisular cardiac.

Dismetabolismul fierului și patologia cardiacă

Dezechilibrele de fier pot avea efecte profunde asupra structurii și funcției cardiace, contribuind la dezvoltarea diverselor patologii cardiace. Supraîncărcarea de fier, cunoscută și sub denumirea de hemocromatoză, poate rezulta din tulburări genetice precum hemocromatoza ereditară sau din condiții dobândite, cum ar fi suprasarcina de fier transfuzională. Excesul de fier promovează stresul oxidativ, disfuncția mitocondrială, inflamația și remodelarea cardiacă, contribuind la dezvoltarea miocardiopatiilor, insuficienței cardiace, aterosclerozei și leziunii de ischemie-reperfuzie.

Deficitul de fier, o deficiență nutrițională comună la nivel mondial, afectează funcția cardiacă prin afectarea respirației mitocondriale și a producției de energie. Nivelele inadecvate de fier compromit contractilitatea cardiomiocitelor, conducând la insuficiență cardiacă, aritmii și reducerea toleranței la efort. Anemia prin deficit de fier, caracterizată prin niveluri scăzute de hemoglobină datorate unui aport insuficient de fier, poate agrava și mai mult aceste manifestări cardiace.

Intervenții terapeutice

Gestionarea dismetabolismului fierului este crucială pentru atenuarea patologiei cardiace și menținerea funcției cardiace. Intervențiile terapeutice specifice depind de faptul dacă pacientul prezintă supraîncărcare sau deficit de fier.

Pentru pacienții cu supraîncărcare de fier, terapia de chelatare a fierului este modalitatea principală de tratament. Agonistii de chelatare, cum ar fi deferoxamina, deferiprona și

deferasiroxul, se leagă de excesul de fier și facilitează excreția acestuia din organism. Monitorizarea regulată a nivelurilor de fier cardiac utilizând rezonanța magnetică nucleară (RMN) ghidează momentul și dozajul adecvat al terapiei de chelatare a fierului.

În cazurile de deficit de fier, suplimentarea cu fier este pilonul principal al tratamentului. Preparatele de fier administrate oral sau intravenos reînnoiesc depozitele de fier, îmbunătățind funcția cardiacă și starea generală de bine. Optimizarea nivelurilor de fier la pacienții cu insuficiență cardiacă a demonstrat rezultate promițătoare în reducerea simptomelor, îmbunătățirea capacității de efort și îmbunătățirea calității vieții.

Perspectivă viitoare și provocări

Cu toate că s-au înregistrat progrese semnificative în înțelegerea relației complexe dintre patologia cardiacă și homeostazia fierului, rămân numeroase provocări și direcții pentru cercetarea viitoare. Complexitatea mecanismelor de reglare a fierului, influența factorilor genetici și interacțiunea dintre metabolismul fierului și alte căi biologice necesită studii cuprinzătoare.

Concluzie

În concluzie, interacțiunea complexă dintre patologia cardiacă și homeostazia fierului are implicații semnificative în domeniul sănătății cardiovasculare. Înțelegerea mecanismelor subiacente și a consecințelor dereglării fierului este crucială pentru îmbunătățirea tehnicilor de diagnostic, intervențiilor terapeutice și strategiilor de gestionare. Eforturile continue de cercetare, utilizând modalități avansate de diagnostic, colaborări multidisciplinare și analize de date masive, vor deschide calea pentru medicina personalizată și rezultate mai bune pentru pacienții cu patologii cardiace asociate cu dereglarea fierului.

CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

Introducere:

Bolile cardiovasculare (BCV) rămân o cauză principală de morbiditate și mortalitate la nivel mondial. Înțelegerea mecanismelor subiacente și identificarea strategiilor terapeutice eficiente sunt cruciale pentru combaterea acestei provocări globale de sănătate. Metabolismul fierului a devenit un factor semnificativ în fiziopatologia BCV, iar modelele animale oferă informații valoroase cu privire la interacțiunea complexă dintre homeostazia fierului și sănătatea cardiovasculară.

Studiile prezentate în această teză abordează necesitatea investigațiilor privind terapia de chelatare a fierului în afecțiunile cardiovasculare acute și cronice. Prin stabilirea modelelor animale care reflectă scenariile clinice și evaluarea eficacității chelatorului de fier DFP, aceste studii contribuie la înțelegerea beneficiilor potențiale ale redistribuirii intracelulare a fierului în boala cardiacă.

Studiu 1: Modelul de stres cardiac cronic

Primul studiu și-a propus să stabilească un model cronic de stres cardiac susținut care să reflecte datele clinice privind BCV. Au fost evaluate diverse abordări, inclusiv inducția farmacologică și tehnici de suprasarcină cardiacă chirurgicală. Izoproterenolul (ISO), un stimulant beta-adrenergic non-selectiv, a fost utilizat pentru a simula ischemia miocardică acută, în timp ce ligatura aortică (AoC) a indus hipertrofię cardiacă. Obiectivul a fost dezvoltarea unui model coerent care să reproducă schimbările biochimice, funcționale și anatomice observate la pacienții umani cu BCV. Studiul a evidențiat importanța selectării unor modele animale adecvate pentru a reprezenta în mod exact fenotipurile clinice și pentru a facilita traducerea descoperirilor experimentale în aplicații umane.

Studiu 2: Deferiprona și stres miocardic acut

Al doilea studiu a investigat utilizarea deferipronei (DFP), un chelator oral de fier, într-un model de stres miocardic acut indus de ISO. ISO provoacă disfuncție cardiacă prin creșterea stresului oxidativ și a stresului fierului în miocitele cardiace. Studiul a evaluat efectele DFP asupra funcției cardiace, inflamației, stresului oxidativ și homeostaziei fierului în acest context. S-a constatat că DFP ameliorează disfuncția cardiacă, reducând nivelele de peroxidare lipidică și îmbunătățind contracția și relaxarea miocardului. În plus, DFP a redus inflamația și stresul oxidativ, având un efect protector asupra miocitelor cardiace. Aceste rezultate susțin utilizarea DFP ca terapie potențială în stresul miocardic acut și subliniază importanța reglării homeostaziei fierului în afecțiunile cardiovasculare.

Studiu 3: Deferipronă și hipertrofia cardiacă

Al treilea studiu a investigat efectele DFP asupra performanței ventriculare stângi și a parametrilor cardiac la șobolani cu hipertrofie cardiacă indusă prin constricție aortică abdominală. S-a evaluat funcția ventriculară, parametrii legați de fier, inflamația și stresul oxidativ. Tratamentul cu DFP a arătat îmbunătățiri semnificative ale fracției de scurtare ventriculară, reducerea hipertrofiei pereților ventriculari și scăderea nivelurilor de NT-proBNP. În plus, DFP a prezentat efecte antiinflamatorii, a atenuat depozitele de fier intramitocondrial și a ameliorat stresul oxidativ în modelul de hipertrofie cardiacă. Aceste constatări sugerează că DFP oferă perspective promițătoare ca intervenție terapeutică în hipertrofia cardiacă și complicațiile asociate.

Concluzie:

În ansamblu, aceste studii subliniază importanța homeostaziei fierului în patologia cardiacă și explorează posibilitatea utilizării terapiei de chelatare a fierului în afecțiunile cardiovasculare. Înțelegerea mecanismelor subiacente și evaluarea eficacității terapiilor specifice sunt esențiale pentru dezvoltarea de strategii de tratament inovatoare și pentru îmbunătățirea rezultatelor pentru pacienții cu afecțiuni cardiovasculare. Studiile prezentate aici aduc contribuții valoroase în acest domeniu și oferă o bază pentru cercetarea viitoare și dezvoltarea de terapii personalizate.

DOCTORAL THESIS

Cardiac Pathology and Iron Homeostasis

Summary

PhD Student: **Mihai Lupu**

Scientific supervisor: Prof. Dr. **Gabriela Adriana Filip**

Contents

INTRODUCTION	15
CURRENT STATE OF THE ART	17
1. Iron physiology	19
1.1. Iron absorption	19
1.2. Cellular iron uptake	19
1.3. Systemic regulation of iron availability	20
1.4. Cellular iron regulation	21
1.5. Cardiac iron regulation	22
2. Iron pathology in cardiovascular disease	25
2.1. Acute cardiovascular events	25
2.2. Chronic HF and iron	29
2.3. Iron equilibrium in the diseased myocyte	30
3. Therapeutic approach	33
3.1. Defining iron deficiency and overload	33
3.2. Supplementing iron	33
3.3. Decreasing iron	34
PERSONAL CONTRIBUTION	39

1. General objectives	41
2. General methodology	43
3. Study 1. Animal models of chronic cardiac stress	47
3.1. Introduction	47
3.2. Material and methods	47
3.3. Results	49
3.4. Discussion	51
3.5. Conclusion	52
4. Study 2. Acute heart pathology and iron chelation	53
4.1. Introduction	53
4.2. Materials and Methods	54
4.3. Results	56
4.4. Discussion	62
4.5. Conclusion	64
5. Study 3. Iron chelation in a rat model of cardiac pressure overload	65
5.1. Introduction	65
5.2. Materials and Methods	66
5.3. Results	69
5.4. Discussion	77
5.5. Conclusions	80
6. General discussions	81
7. General conclusions	85
8. Originality and innovative contributions of the thesis	87
REFERENCES	89

Key words

Heart failure, iron, chelation, inflammation

STATE OF THE ART

Introduction

Cardiac pathology and iron homeostasis are interconnected fields of study with significant implications for cardiovascular health. This paper provides a concise overview of the complex relationship between cardiac pathology and iron metabolism, shedding light on the underlying mechanisms and their implications for clinical management.

Iron Homeostasis in Cardiac Function

Iron plays a crucial role in maintaining optimal cardiac function. Within cardiomyocytes, iron is essential for proper mitochondrial function, energy production, and contractility. Iron regulatory proteins, such as iron-responsive element-binding proteins (IRPs) and transferrin receptors, play key roles in maintaining iron balance within these cells.

Iron metabolism is tightly regulated at both systemic and cellular levels. At the systemic level, the hormone hepcidin is the master regulator of iron homeostasis. Hepcidin controls iron absorption, recycling, and release from iron stores, thus maintaining the overall iron balance in the body. Hepcidin expression is influenced by various factors, including hypoxia, inflammation, and erythropoietic activity.

At the cellular level, iron uptake and utilization are regulated by specific proteins and transporters. Transferrin receptor-mediated endocytosis facilitates iron uptake into cells, while intracellular iron storage proteins like ferritin sequester excess iron. Iron transporters, such as divalent metal transporter 1 (DMT1) and ferroportin, regulate the movement of iron across cellular membranes. Dysregulation of these mechanisms can disrupt iron homeostasis and lead to pathological consequences.

Diagnostic Approaches for Assessing Iron Status

Accurate assessment of iron status is essential for diagnosing and managing cardiac pathologies associated with iron dysregulation. Traditional serum iron parameters, including serum iron,

transferrin saturation, and ferritin levels, are commonly used but have limitations in reflecting cardiac tissue iron levels accurately.

Iron Dysregulation and Cardiac Pathology

Iron imbalances can have profound effects on cardiac structure and function, leading to the development of various cardiac pathologies. Both iron overload and deficiency have detrimental effects on cardiomyocytes and cardiovascular health.

Iron overload, also known as hemochromatosis, can result from genetic disorders such as hereditary hemochromatosis or acquired conditions like transfusional iron overload. Excess iron promotes oxidative stress, mitochondrial dysfunction, inflammation, and cardiac remodeling, contributing to the development of cardiomyopathies, heart failure, atherosclerosis, and ischemia-reperfusion injury.

Iron deficiency, a common nutritional deficiency worldwide, affects cardiac function by impairing mitochondrial respiration and energy production. Inadequate iron levels compromise cardiomyocyte contractility, leading to heart failure, arrhythmias, and reduced exercise tolerance. Iron deficiency anemia, characterized by low hemoglobin levels due to insufficient iron, can further exacerbate these cardiac manifestations.

Therapeutic Interventions and Management Strategies

Managing iron dysregulation is crucial for mitigating cardiac pathology and preserving cardiac function. The specific therapeutic interventions depend on whether the patient presents with iron overload or deficiency.

For patients with iron overload, iron chelation therapy is the primary treatment modality. Chelating agents, such as deferoxamine, deferiprone, and deferasirox, bind to excess iron and facilitate its excretion from the body. Regular monitoring of cardiac iron levels using MRI guides the appropriate timing and dosage of iron chelation therapy.

In cases of iron deficiency, iron supplementation is the mainstay of treatment. Oral or intravenous iron preparations replenish iron stores, improving cardiac function and overall well-being. Optimization of iron levels in patients with heart failure has shown promising results in reducing symptoms, enhancing exercise capacity, and improving quality of life.

Future Perspectives and Challenges

While significant progress has been made in understanding the intricate relationship between cardiac pathology and iron homeostasis, several challenges and avenues for future research remain. The complexity of iron regulation mechanisms, the influence of genetic factors, and the interplay between iron metabolism and other biological pathways necessitate comprehensive studies.

Conclusion

In conclusion, the intricate interplay between cardiac pathology and iron homeostasis has significant implications for cardiovascular health. Understanding the underlying mechanisms and consequences of iron dysregulation is crucial for improving diagnostic techniques, therapeutic interventions, and management strategies. Continued research efforts, utilizing advanced diagnostic modalities, multidisciplinary collaborations, and big data analytics, will pave the way for personalized medicine and better outcomes for patients with cardiac pathologies associated with iron dysregulation.

PERSONAL CONTRIBUTION

Introduction:

Cardiovascular disease (CVD) remains a leading cause of morbidity and mortality worldwide. Understanding the underlying mechanisms and identifying effective therapeutic strategies are crucial for combating this global health challenge. Iron metabolism has emerged as a significant player in the pathophysiology of CVD, and animal models provide valuable insights into the complex interplay between iron homeostasis and cardiovascular health.

The studies presented in this thesis address the need for investigations into iron chelation therapy in acute and chronic cardiovascular conditions. By establishing animal models that reflect clinical scenarios and assessing the efficacy of the iron chelator DFP, these studies contribute to our understanding of the potential benefits of intracellular iron redistribution in cardiac disease.

Study 1: Chronic Cardiac Stress Model:

The first study aimed to establish a chronic model of sustained cardiac stress that mirrors clinical data on CVD. Various approaches, including pharmacological induction and surgical cardiac overload techniques, were evaluated. Isoproterenol (ISO), a non-selective beta-adrenergic stimulant, was used to simulate acute myocardial ischemia, while aortic banding (AoC) induced cardiac hypertrophy. The objective was to develop a coherent model that replicates biochemical, functional, and anatomical changes observed in human patients with CVD. The study highlighted the importance of selecting appropriate animal models to accurately represent clinical phenotypes and facilitate the translation of experimental findings to human applications.

Study 2: Deferiprone and Acute Myocardial Stress:

The second study focused on the effects of deferiprone (DFP), a specific iron chelator, in an acute myocardial stress model. The researchers examined inflammation, oxidative stress, iron-related parameters, and heart function in response to DFP treatment. The results demonstrated that DFP effectively reduced myocardial lipid peroxidation and oxidative stress, leading to improved cardiac function. Notably, DFP exhibited anti-inflammatory properties and reduced iron deposition and organellar disorganization induced by myocardial stress. These findings highlight the potential of DFP as a therapeutic agent for mitigating the detrimental effects of acute cardiac stress.

Study 3: Deferiprone and Cardiac Hypertrophy

The third study investigated the effects of DFP on left ventricular performance and parameters in rats with abdominal aortic constriction-induced cardiac hypertrophy. The researchers evaluated ventricular function, iron-related parameters, inflammation, and oxidative stress. DFP treatment showed significant improvements in ventricular shortening fraction, reduced hypertrophy of ventricular walls, and decreased NT-proBNP levels. Additionally, DFP exhibited anti-inflammatory effects, attenuated intramitochondrial iron deposits, and alleviated oxidative stress in the cardiac hypertrophy model. These findings suggest that DFP holds promise as a therapeutic intervention for cardiac hypertrophy and its associated complications.

General Conclusions

Collectively, the three studies shed light on the intricate relationship between iron metabolism and CVD. Iron overload and dysregulation contribute to various pathological processes, including inflammation, oxidative stress, fibrosis, and impaired cardiac function. The use of animal models provided valuable insights into these mechanisms and enabled researchers to explore potential therapeutic interventions.

Importantly, DFP emerged as a specific iron chelator that effectively targeted intracellular iron within organelles such as mitochondria. DFP exhibited potent anti-inflammatory properties, reduced iron deposition, and attenuated oxidative stress, leading to improved cardiac function in both acute myocardial stress and cardiac hypertrophy models. These findings highlight the potential of DFP as a therapeutic strategy for managing iron-related complications in CVD.

Furthermore, the studies emphasized the importance of selecting appropriate animal models to mimic clinical phenotypes and faithfully replicate the biochemical, functional, and anatomical changes observed in human patients. Such models provide a valuable platform for investigating the underlying mechanisms of CVD and evaluating potential therapeutic interventions.