



Universitat Autònoma de Barcelona

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  [http://cat.creativecommons.org/?page\\_id=184](http://cat.creativecommons.org/?page_id=184)

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

**WARNING.** The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

Aspectos emergentes en la fisiopatología del hierro  
en insuficiencia cardiaca crónica: implicaciones  
clínicas, pronósticas y asociación con la activación  
neurohormonal

Pedro Moliner Borja

TESIS DOCTORAL, 2019



Universitat Autònoma de Barcelona





**Universitat Autònoma de Barcelona**  
**Facultad de Medicina**  
**Departamento de Medicina**  
**Programa de Doctorado en Medicina**

Aspectos emergentes en la fisiopatología  
del hierro en insuficiencia cardiaca  
crónica: implicaciones clínicas,  
pronósticas y asociación con la  
activación neurohormonal

**Pedro Moliner Borja**

*Tesis doctoral*

*Directores:*

Josep Comín Colet  
Mercé Cladellas Capdevila

**Barcelona, 2019**



## Agradecimientos

Esta tesis doctoral es el producto de años de trabajo, y sin embargo, de ninguna manera la habría finalizado solo. Hay muchas personas que me han acompañado en este camino y que merecen todo mi agradecimiento, desde las que me han ayudado a formarme como cardiólogo e investigador en mi vida profesional hasta las que forman parte de mi vida personal y mi familia.

Quiero dar las gracias a todos los profesionales del Hospital de Bellvitge que se implicaron en mi formación como cardiólogo. Fueron cinco años de residencia en los que crecí como médico y como persona gracias a compañeros, muchos de los cuales fueron posteriormente amigos. No pensaba nombrarlos, me parecía injusto porque es imposible citar a todos, pero es obligado para mí remarcar a mis compañeros de residencia Ana Marcano y Andrea di Marco por tanto vivido juntos, a cardiólogos como Pilar Mañas, a Albert Ariza, o Jose Carlos Sánchez Salado, y a residentes, pequeños y mayores, que se han convertido después del viaje en grandes amigos como María Vila, Alberto Garay, Javi Berdejo o Joel Salazar.

Posteriormente tuve la suerte de continuar aprendiendo en dos grandes centros referentes en insuficiencia cardiaca crónica en Cataluña. En el Hospital del Mar, Josep Comín me dio mi primera oportunidad, quiero agradecerle el haber apostado por mí y por valorarme siempre, por la formación y por el apoyo, junto a Cristina Enjuanes me hicieron sentir como en casa, disfruté trabajando y aprendiendo, dijimos que volveríamos a trabajar juntos algún día y años después, efectivamente volvemos a formar equipo. Gracias a los compañeros del Hospital Germans Trias i Pujol, en especial a Josep Lupón, Bea González, Carmen Rivas, Marta de Antonio, Mar Domingo y Evelyn Santiago, por una etapa inolvidable, por hacer fácil el trabajo cada día, por vuestro apoyo y por vuestro cariño.

Quiero agradecer a mis directores de tesis, Mercè Cladellas y Josep Comín por todo el soporte que me han dado para desarrollar la tesis doctoral, porque han trabajado para que sea un proceso que me aporte, y no un mero trámite. La formación en estadística, el pensamiento crítico, la redacción de artículos científicos... todo ha sumado para que el trabajo haya valido la pena.

Gracias a mis padres, Juan y Marian y a mis hermanos María, Juan Pablo, Javier y Sara, que siempre han sido un orgullo para mí, que me dieron una infancia feliz, que me hicieron crecer en valores para intentar ser buen médico y buena persona. Y por último gracias a ti, Jeny, porque sé que este tiempo no ha sido fácil, pero lo superamos, por tu paciencia, por las noches que me esperabas en el sofá mientras escribía estas páginas en el comedor, porque el estar juntos, y ver crecer a Lucas y Daniel es mejor premio que cualquier tesis doctoral.

## Abreviaturas

|                 |  |
|-----------------|--|
| <b>ARM</b>      | Antagonistas del receptor mineralcorticoide                    |
| <b>ARNI</b>     | Antagonista de neprilisina y del receptor de angiotensina      |
| <b>DH</b>       | Déficit de hierro  |
| <b>DM</b>       | Diabetes mellitus  |
| <b>EIC</b>      | European Iron Consortium                                       |
| <b>EPO</b>      | Eritropoyetina   |
| <b>EPOC</b>     | Enfermedad pulmonar obstructiva crónica                        |
| <b>ESC</b>      | European Society of Cardiology                                 |
| <b>FA</b>       | Fibrilación auricular  |
| <b>FEVI</b>     | Fracción de eyección del ventrículo izquierdo                  |
| <b>HTA</b>      | Hipertensión arterial  |
| <b>IC</b>       | Insuficiencia cardiaca   |
| <b>ICFep</b>    | Insuficiencia cardiaca con fracción de eyección preservada     |
| <b>ICFerm</b>   | Insuficiencia cardiaca con fracción de eyección en rango medio |
| <b>ICFEr</b>    | Insuficiencia cardiaca con fracción de eyección reducida       |
| <b>IECA</b>     | Inhibidor del enzima convertidor de angiotensina               |
| <b>IIS</b>      | <i>Impaired Iron Storage</i>                                   |
| <b>iIS</b>      | <i>Isolated Impaired Iron Storage</i>                          |
| <b>INE</b>      | Instituto Nacional de Estadística                              |
| <b>IRC</b>      | Insuficiencia renal crónica                                    |
| <b>IST</b>      | Índice de saturación de la transferrina                        |
| <b>IIT</b>      | <i>Impaired Iron Transport</i>                                 |
| <b>iIT</b>      | <i>Isolated Impaired Iron Transport</i>                        |
| <b>MHDA</b>     | Medicación hospitalaria de dispensación ambulatoria            |
| <b>MLHFQ</b>    | <i>Minnesota Living with Heart Failure Questionnaire</i>       |
| <b>NA</b>       | Noradrenalina  |
| <b>NIS</b>      | <i>Normal Iron Status</i>                                      |
| <b>NTproBNP</b> | Propéptido natriurético cerebral N-terminal                    |
| <b>NYHA</b>     | New York Heart Association                                     |
| <b>OR</b>       | <i>Odds Ratio</i>  |
| <b>SNS</b>      | Sistema nervioso simpático                                     |
| <b>sTfR</b>     | <i>Soluble Transferrin Receptor</i>                            |
| <b>TSAT</b>     | <i>Transferrin saturation</i>                                  |





# Índice

|  |     |
|--|-----|
| Resumen  | 9   |
| Abstract   | 13  |
| 1. Introducción  | 15  |
| 1.1 IC: impacto clínico y epidemiológico en nuestro medio                    | 17  |
| 1.2 Comorbilidades en insuficiencia cardiaca crónica                         | 21  |
| 1.3 Déficit de hierro en insuficiencia cardiaca                              | 29  |
| 1.4 Áreas de conocimiento pendientes de esclarecer en déficit de hierro e IC | 35  |
| Hipótesis  | 39  |
| Objetivos  | 41  |
| Objetivo principal   | 41  |
| Objetivos secundarios  | 41  |
| 2. Artículos originales  | 43  |
| 2.1 International Journal of Cardiology                                      | 45  |
| 2.2 Journal of the American Heart Association                                | 47  |
| 3. Resumen global de resultados  | 61  |
| 4. Resumen global de la discusión  | 69  |
| Limitaciones   | 73  |
| 5. Conclusiones  | 75  |
| Conclusión del objetivo principal  | 77  |
| Conclusión de objetivos secundarios  | 77  |
| 6. Aplicabilidad de los resultados y futuras líneas de investigación         | 81  |
| Bibliografía   | 85  |
| Anexos   | 103 |



## Resumen

### **Aspectos emergentes en la fisiopatología del hierro en insuficiencia cardiaca crónica: implicaciones clínicas, pronósticas y asociación con la activación neurohormonal**

El déficit de hierro comporta peor pronóstico en los pacientes con insuficiencia cardiaca crónica pero desconocemos los mecanismos por los cuales se presenta en estos pacientes. Los resultados en modelos celulares sugieren un papel de la activación simpática en el desarrollo del déficit de hierro, pero esta asociación no se ha evaluado hasta el momento en pacientes con insuficiencia cardiaca. Actualmente se define déficit de hierro en estos pacientes como ferritina sérica  $< 100 \mu\text{g/L}$  o ferritina  $100\text{-}300 \mu\text{g/L}$  en combinación con un índice de saturación de transferrina (IST)  $< 20\%$ . Sin embargo, esta definición combina la información de dos parámetros distintos, la ferritina como marcador de depósito y el IST como marcador de transporte del hierro, lo que conlleva que aquellos pacientes que cumplen criterios de déficit de hierro sean un grupo heterogéneo que no tienen que presentar necesariamente las mismas características basales ni el mismo pronóstico asociado a esta anomalía.

El objetivo de la tesis fue analizar el perfil clínico y el pronóstico de los pacientes con IC en función de la alteración de los parámetros de depósito del hierro frente a la alteración del transporte. Posteriormente, para explicar las posibles diferencias y estudiar la fisiopatología del déficit de hierro en insuficiencia cardiaca, buscamos analizar la asociación entre la activación simpática y distintos biomarcadores que aportan información sobre el estado del hierro.

Para ello, se realizó un registro prospectivo multicéntrico e internacional de 1821 pacientes con insuficiencia cardiaca crónica. Inicialmente se analizaron las características basales y la mortalidad de los pacientes en función de la

alteración de la ferritina en plasma, de la alteración del IST o de ambos comparado con los pacientes con perfil de hierro normal. Posteriormente, se analizó la cohorte española (742 pacientes), de la que disponemos de niveles de noradrenalina en plasma como biomarcador de actividad simpática, para estudiar su asociación con los distintos biomarcadores del metabolismo del hierro en pacientes con insuficiencia cardiaca.

En el análisis del estudio internacional multicéntrico, en los modelos ajustados encontramos que los pacientes con alteración combinada de depósito y transporte del hierro (ferritina sérica < 100 µg/L e IST < 20%) y los pacientes con alteración aislada del transporte (ferritina normal pero IST < 20%) presentaban peor perfil clínico como por ejemplo niveles más altos de NTproBNP (OR 2.2 [1.6–3.1] y OR 2.1 [1.5–2.9] respectivamente) o peor calidad de vida (OR 1.8 [1.2–2.7] y OR 1.7 [1.2–2.5] respectivamente) en comparación con aquellos con perfil del hierro normal. Los análisis multivariados de Cox mostraron que la alteración combinada y la alteración aislada del transporte del hierro se asociaban independientemente con mortalidad por todas las causas (OR 1.41 [1.06–1.86] y OR 1.47 [1.13–1.92] respectivamente). Sin embargo, los pacientes con alteración aislada de los depósitos del hierro (ferritina sérica < 100 µg/L con IST normal) no diferían de los pacientes con perfil de hierro normal en términos de gravedad ni en mortalidad.

Ya en el análisis de la cohorte española, en los modelos multivariados los niveles elevados de noradrenalina se asociaron con una alteración en el transporte de hierro (IST < 20%, OR = 2.28; IC 95% [1.19–4.35]; *p*-valor = 0,013), pero no con las alteraciones en el depósito (ferritina < 100 µg/L, OR = 1.25; IC 95% [0.73–2.16]; *p*-valor = 0,415). La noradrenalina fue un predictor significativo de aumento de la demanda de hierro (receptor de transferrina soluble, coeficiente  $\beta$  estandarizado = 0.12; *p* = 0,006) y bajo IST (coeficiente  $\beta$  estandarizado = -0.12; *p*-valor = 0,003). Sin embargo, los niveles de noradrenalina no se asociaron con la ferritina (*p* > 0,05). Finalmente, las medias marginales ajustadas de noradrenalina fueron significativamente mayores en pacientes con deterioro del estado del hierro en comparación con aquellos con un estado de hierro normal (528 pg/ml [505–551] versus 482 pg/ml [448–518], respectivamente; *p*-valor = 0,038).

En conclusión, la alteración del transporte del hierro aislada o en combinación con la alteración en los depósitos de hierro se asocia con un peor perfil clínico y con un mayor riesgo de mortalidad en pacientes con insuficiencia

cardiaca crónica. Los pacientes con alteración aislada de los depósitos del hierro presentan un perfil clínico y pronóstico más benigno, similar a los pacientes con perfil de hierro normal. Para ayudar a explicar estos resultados, hemos observado que el aumento de la activación simpática estimado con niveles de noradrenalina se asocia con la alteración del estado del hierro en pacientes con insuficiencia cardiaca, y particularmente, con aquellos estados del hierro que previamente se asociaron a peor pronóstico. Estos resultados respaldan la hipótesis de que la deficiencia de hierro podría no solo ser una comorbilidad, sino también un elemento clave en la secuencia fisiopatológica que promueve la progresión de la insuficiencia cardiaca crónica.



## Abstract

### **Emerging factors in iron pathophysiology in chronic heart failure: clinical and prognostic implications, and association with neurohormonal activation**

Iron deficiency is associated with worse prognosis in patients with chronic heart failure, however, the mechanisms by which it develops in these patients are unsettled. Previous studies in cellular models suggest a role of sympathetic activation in the development of iron deficiency but this association has not been evaluated in patients with heart failure so far. Iron deficiency in chronic heart failure is currently defined as serum ferritin  $<100\ \mu\text{g/L}$  or ferritin  $100\text{--}300\ \mu\text{g/L}$  in combination with transferrin saturation (TSAT)  $<20\%$ . However, this definition combines the information of two different parameters, ferritin (iron storage biomarker) and TSAT (iron transport biomarker), thus, patients who meet iron deficiency criteria are a heterogeneous group.

The aim of our study was to analyze the clinical profile and prognosis of patients with CHF and impaired iron storage (IIS) vs impaired iron transport (IIT) compared with normal iron status patients. Subsequently, we analyze the association between different iron biomarkers and sympathetic activation to explain possible differences between groups and to study the pathophysiology of iron deficiency in chronic heart failure.

A multicenter and international prospective registry of 1821 patients with chronic heart failure was carried out. Baseline characteristics and mortality were analyzed in patients with IIS, IIT or both compared with patients with normal iron profile. Afterwards, we analyzed the Spanish cohort (742 patients), where norepinephrine levels were available, to study the association between norepinephrine (as a biomarker of sympathetic activation) and the different iron biomarkers in patients with chronic heart failure.



In the international multicenter analysis, adjusted models showed that patients with IIS + IIT and patients with isolated IIT had higher NT-proBNP levels (OR 2.2 [1.6–3.1] and OR 2.1 [1.5–2.9] respectively) and worse quality of life (OR 1.8 [1.2–2.7] and OR 1.7 [1.2–2.5] respectively) compared with normal iron status. Multivariate Cox analyses showed that IIS+IIT and isolated IIT were independently associated with all-cause mortality (OR 1.41 [1.06–1.86] and OR 1.47 [1.13–1.92] respectively). However, patients with isolated IIS did not differ from normal iron status patients in terms of severity or outcomes.

In multivariate models of the Spanish cohort analysis, greater norepinephrine levels were associated with impaired iron transport (TSAT < 20%, OR=2.28; 95% CI [1.19–4.35];  $p$ -value=0.013), but not with impaired iron storage (ferritin <100 µg/L, OR=1.25; 95% CI [0.73–2.16];  $p$ -value=0.415). Norepinephrine was a significant predictor of increased iron demand (soluble transferrin receptor, standardized  $\beta$ -coefficient=0.12;  $p$ -value=0.006) and low TSAT (standardized  $\beta$ -coefficient=-0.12;  $p$ -value=0.003). However, norepinephrine levels were not associated with ferritin levels ( $p$ -value >0.05). Finally, adjusted norepinephrine marginal means were significantly higher in patients with impaired iron status compared with those with normal iron status (528 pg/mL [505–551] versus 482 pg/mL [448–518], respectively;  $p$ -value=0.038).

In conclusion, isolated impaired iron transport or in combination with impaired iron storage is associated with a worse clinical profile and a higher risk of mortality in patients with chronic heart failure. Patients with isolated impaired iron storage have a better clinical profile and prognosis, similar to patients with normal iron profile. Increased sympathetic activation estimated with norepinephrine levels is associated with alteration of iron status in patients with chronic heart failure, and particularly, with those iron states that were previously associated with a worse prognosis. These results may support the hypothesis that iron deficiency might not just be a comorbidity, but could also be a key element in the pathophysiological sequence leading to the progression of chronic heart failure.

# Introducción



# 1.1

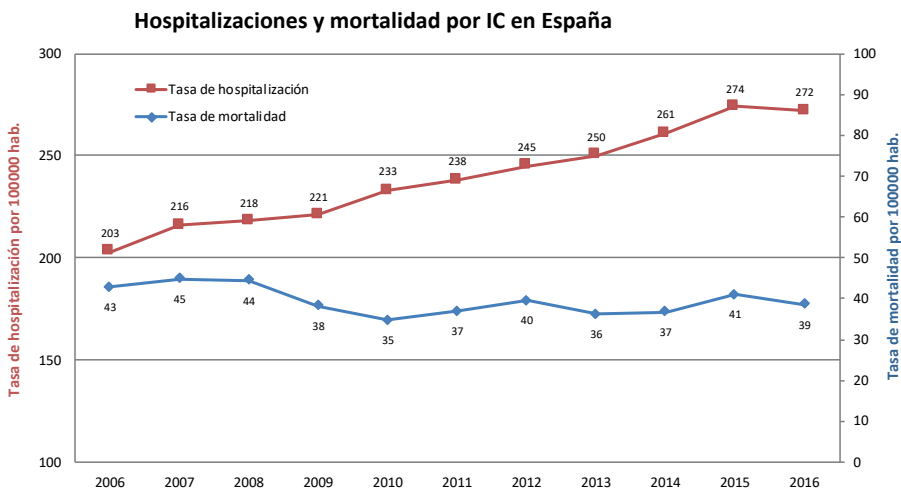
## Introducción

### **IC: impacto clínico y epidemiológico en nuestro medio**

La insuficiencia cardiaca (IC) se ha convertido en uno de los principales problemas sanitarios en los países desarrollados.<sup>1-6</sup> El hecho de que se trate de una enfermedad crónica con elevada prevalencia y mortalidad, y que conlleve múltiples ingresos hospitalarios reúne los ingredientes necesarios para que comporte no solamente un mal pronóstico desde un punto de vista clínico, sino también un gran consumo de recursos sanitarios.<sup>7,8</sup>

La IC se define como un síndrome clínico caracterizado por síntomas típicos, que pueden ir acompañados de signos, causados por una anomalía cardíaca, lo que resulta en un gasto cardíaco reducido y/o presiones intracardiacas elevadas en reposo o durante el estrés.<sup>9</sup> En los países desarrollados, aproximadamente un 2% de la población adulta padece IC, una prevalencia que aumenta exponencialmente con la edad, pues es inferior al 1% antes de los 50 años y posteriormente se duplica con cada década hasta superar el 8% entre los mayores de 75 años.<sup>1,10</sup>

El tratamiento de la insuficiencia cardiaca ha presentado grandes progresos en los últimos años gracias a las mejoras implementadas en el tratamiento farmacológico, en los dispositivos y en la formación de programas especializados de insuficiencia cardiaca dirigidos al seguimiento y manejo de esta patología crónica.<sup>9-13</sup> A pesar de la gravedad de la enfermedad, estos avances han permitido una mejoría en el pronóstico de los pacientes con IC y una reducción de la mortalidad cardiovascular.<sup>14,15</sup> Además, en los últimos años se ha optimizado el control de factores que predisponen y facilitan el desarrollo de la IC como son la HTA o la DM y se han llevado a cabo intervenciones que repercuten en el desarrollo de la enfermedad



**Figura 1.** Evolución de la tasa de hospitalización y de mortalidad por IC en España en el periodo 2006-2016. Fuente: INE (Instituto Nacional de Estadística).<sup>18</sup>

como la atención rápida del infarto agudo de miocardio, algo de especial importancia por ser la etiología isquémica una de las principales en la IC.<sup>16</sup> Todas estas medidas han conseguido controlar la incidencia de la IC.<sup>11,12</sup>

Sin embargo, el envejecimiento de la población y la propia mejoría en el pronóstico de estos pacientes han provocado que pese a conseguir una estabilización en la aparición de nuevos casos, la prevalencia de la insuficiencia cardíaca esté en continuo ascenso.<sup>1,17</sup> Este aumento progresivo del número de pacientes con insuficiencia cardíaca crónica se ve reflejado en las hospitalizaciones por IC que presentan un incremento progresivo e ininterrumpido en las últimas décadas tal y como se muestra en la figura 1.<sup>18</sup>

Este hecho se refleja claramente en un trabajo recientemente publicado por Méndez-Bailón *et al.*, que describe la evolución de los ingresos por insuficiencia cardíaca en los últimos 15 años en España. Se analizaron más de 3 400 000 informes de alta desde 2001 hasta 2015 y se observó un incremento progresivo y muy significativo en los ingresos de pacientes con IC, tanto en aquellos casos en que la insuficiencia cardíaca aparecía como primer diagnóstico como en el análisis que incluía la insuficiencia cardíaca como diagnóstico secundario.<sup>17</sup>

Si ponemos atención a la situación en Cataluña, los datos son igualmente relevantes. Durante el año 2017 se diagnosticaron 30 706 nuevos casos, sumando una prevalencia al finalizar el año de 185 348 casos y durante este

**Tabla1.** Módulos para el seguimiento de indicadores de calidad CatSalut.  
Fuente: MSIQ.<sup>19</sup>

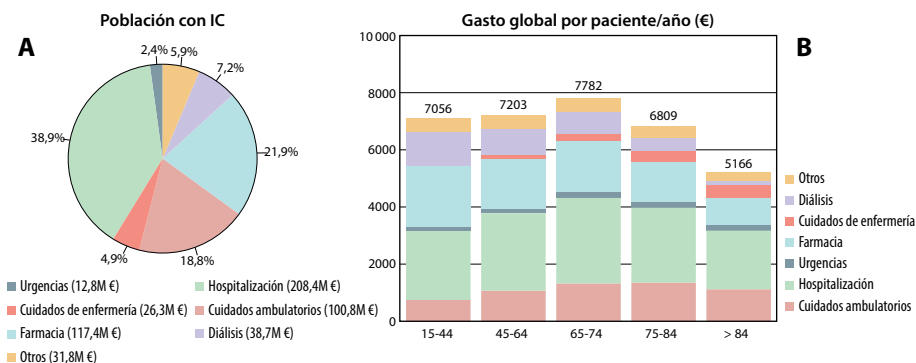
| <b>Indicadores sociodemográficos</b>                              |             |           |
|---|-------------|-----------|
|   | n           | Indicador |
| Población con diagnóstico de IC durante 2017                      | 210 697     | --        |
| Mujeres (%)   | 120 723     | 57,3      |
| Edad media (años)   | --          | 75,4      |
| Mayores de 64 años (%)  | 170 317     | 80,8      |
| <b>Indicadores de morbi-mortalidad</b>                            |             |           |
| Mortalidad (por 1000 enfermos)                                    | 25 349      | 120,3     |
| Tasa de prevalencia por 100 000 hab. (a 31 de diciembre 2017)     | 185 348     | 2451,1    |
| Tasa de incidencia por 100 000h (diagnósticos durante 2017)       | 30 706      | 410,9     |
| <b>Indicadores de consumo de recursos</b>                         |             |           |
| <b>Indicadores de hospitalización agudos</b>                      |             |           |
| Hospitalizaciones en hospital de agudos (por 100 enfermos)        | 148 618     | 70,5      |
| Estancias hospitalarias (camas anuales ocupadas por 100 000 hab.) | 2804        | 36,8      |
| Urgencias (por 100 enfermos)                                      | 278 481     | 132,2     |
| Consultas externas (por 100 enfermos)                             | 1 019 843   | 484,0     |
| <b>Indicadores de atención primaria</b>                           |             |           |
| Media de contactos de AP (por paciente)                           | 4 405 752   | 20,9      |
| <b>Indicadores de farmacia</b>                                    |             |           |
| Gasto en en recetas (en euros por paciente)                       | 202 666 924 | 961,9     |
| Gasto en MHDA (en euros por paciente)                             | 74 272 153  | 352,5     |

Fuente: MSIQ: Módulos para el seguimiento de indicadores de calidad CatSalut

periodo se registraron más de 148 000 hospitalizaciones y más de 25 000 muertes por IC.<sup>19</sup>

Además de la relevancia clínica que tiene la insuficiencia cardiaca, es muy remarcable el enorme gasto de recursos sanitarios que conlleva esta patología. En un estudio publicado por nuestro grupo en 2016, analizamos a partir de los datos del CatSalut el gasto sanitario derivado de pacientes con IC durante un año en Cataluña. Se analizaron 88 195 pacientes con diagnóstico de IC, el gasto sanitario total durante un año fue de 536,2 millones de euros (7,1% del presupuesto sanitario total) lo que representa más de 6500 € de gasto por paciente al año.<sup>8</sup>

La principal fuente de gasto fue la hospitalización (39% del total) y esto se objetivó no solo en análisis global de la muestra sino también en cada uno de los grupos de edad. Por lo tanto, las hospitalizaciones en los pacientes con IC no conllevan únicamente un mal pronóstico desde el punto de vista clínico, también son un importante problema de consumo de recursos. La atención ambulatoria representó el 19% del gasto total y el gasto farmacológico fue del 22%. Una edad más joven, una mayor presencia de comorbilidades y una hospitalización reciente se asociaron de forma independiente con un mayor gasto sanitario.



**Figura 2. A:** Gasto sanitario de los pacientes con IC en Cataluña durante el año 2013.<sup>8</sup>

**B:** Gasto sanitario de los pacientes con IC en Cataluña durante el año 2013 en función de la edad.<sup>8</sup>

# 1.2

## Introducción

### **Comorbilidades en insuficiencia cardiaca crónica**

Consecuencia de la mejoría en el pronóstico de los pacientes cardiológicos, así como del envejecimiento de la población, la IC coexiste cada vez con más frecuencia con otras patologías crónicas.<sup>20-24</sup> La comorbilidad se define como la presencia de una o más enfermedades concomitantes en un mismo individuo además de la enfermedad primaria. A su vez, estas enfermedades adicionales pueden tener un impacto sobre la enfermedad de base como ocurre frecuentemente en el caso de la IC. Múltiples estudios han demostrado que las comorbilidades son frecuentes en los pacientes con IC y que lejos de ser un mero acompañante de la enfermedad, tienen un impacto negativo en calidad de vida y también en hospitalizaciones y mortalidad.<sup>20-24</sup>

Las guías europeas de práctica clínica clasifican los pacientes con IC en tres grupos diferentes en función de si la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) es menor del 40% (ICFEr, IC con FEVI reducida), entre el 40 y 49% (ICFE<sub>mr</sub>, IC con FEVI en rango medio) o igual o mayor del 50% (ICFE<sub>p</sub>, IC con FEVI preservada).<sup>9</sup> La evidencia disponible ha puesto de manifiesto que existen diferencias significativas entre estos tres grupos tanto en perfil clínico como en la respuesta al tratamiento farmacológico.<sup>25-28</sup>

Clásicamente se había prestado especial atención a las comorbilidades en los pacientes con ICFE<sub>p</sub> por ser un fenotipo de pacientes de más edad, con más patología extracardíaca asociada y en el que además el tratamiento farmacológico de la IC no ha mostrado hasta el momento un claro beneficio en reingreso o mortalidad.<sup>9,22</sup> Sin embargo, un estudio que incluyó más de 1400 pacientes con IC crónica y seguimiento a largo plazo ha mostrado que un mayor número de comorbilidades comporta un mayor riesgo de muerte



**Tabla 2.** Clasificación clínica de IC según FEVI.  
Adaptado de Guías IC ESC 2016.<sup>9</sup>

| Tipo de IC       | ICFEr             | ICFErm  | ICFEp   |
|------------------|-------------------|---|---|
| <b>CRITERIOS</b> |                   |   |   |
| 1                | Síntomas ± signos | Síntomas ± signos   | Síntomas ± signos   |
| 2                | FEVI < 40 %       | FEVI 40-49%   | FEVI ≥ 50%  |
| 3                |                   | - Péptidos<br>natriuréticos elevados<br>- Al menos un criterio<br>adicional:<br>· Cardiopatía<br>estructural<br>· Disfunción diastólica | - Péptidos<br>natriuréticos elevados<br>- Al menos un criterio<br>adicional:<br>· Cardiopatía<br>estructural<br>· Disfunción diastólica |

o de reingreso no solo en ICFEp, sino en todo el espectro de FEVI de los pacientes.<sup>29</sup>

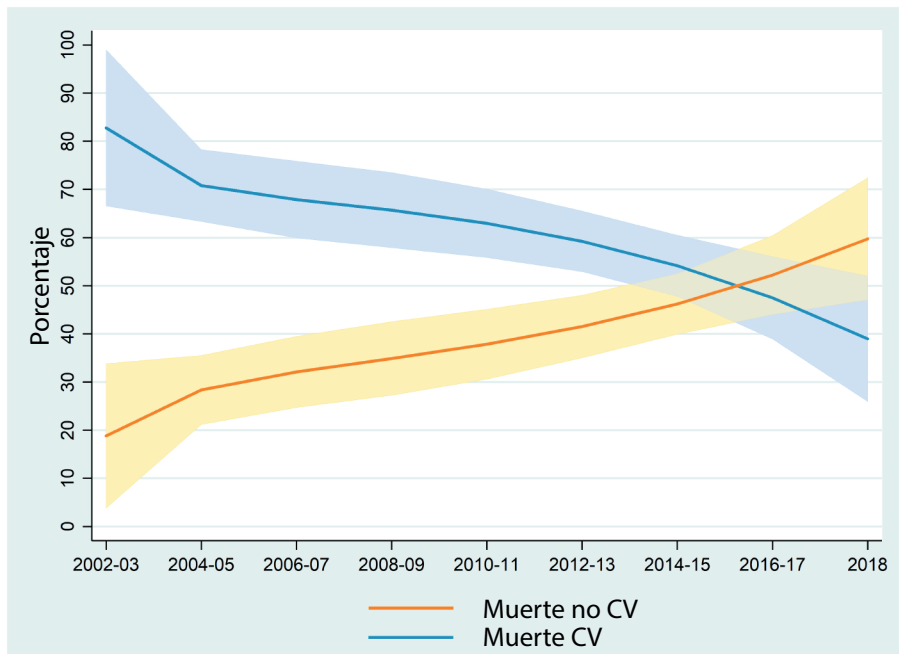
Además, en un estudio reciente se analizaron 1876 pacientes seguidos durante los últimos 17 años en una unidad de IC crónica multidisciplinar.<sup>30</sup> El análisis de la evolución de las causas de muerte en este tiempo en pacientes con FEVI < 50% ha mostrado una reducción progresiva de la mortalidad cardiovascular. Por el contrario, las causas no cardiovasculares como el cáncer, las infecciones, la patología respiratoria o el declive del anciano han aumentado progresivamente hasta ser incluso causa más frecuente de mortalidad que las propias enfermedades cardiovasculares. Este hecho nos distancia de la creencia establecida de que los pacientes con ICC, especialmente aquellos con disfunción ventricular, fallecían mayoritariamente de causas cardiovasculares y todavía pone más en valor la atención de la patología extracardiológica en el paciente con IC.

Como hemos destacado, las implicaciones pronósticas de las comorbilidades en los pacientes con IC han llevado a una especial preocupación por el diagnóstico y el tratamiento de las patologías crónicas que coexisten, y a alejarnos del manejo estrictamente cardiológico de estos pacientes más propio de épocas pasadas.<sup>9</sup> A continuación destacamos algunas de las principales comorbilidades presentes en los pacientes con IC:

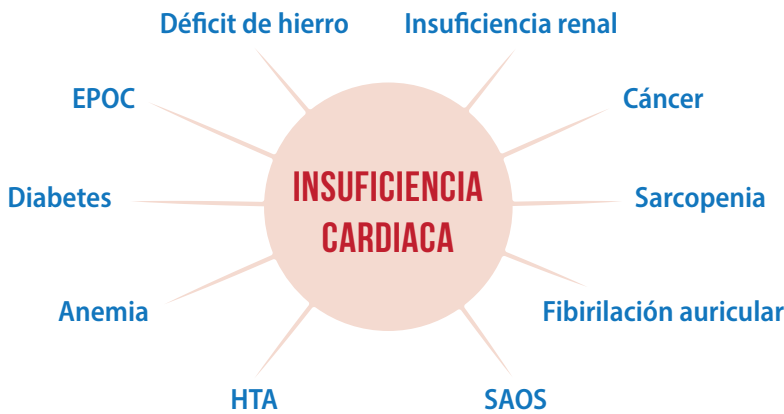
**La fibrilación auricular (FA)** no solo es una comorbilidad común en pacientes con IC, sino que tiene implicaciones sustanciales para el tratamiento y el pronóstico.<sup>31-32</sup>

Al igual que la IC, la FA puede ser el punto final de varios procesos fisiopatológicos diferentes, además, ambas afecciones comparten factores de riesgo como son la hipertensión, la enfermedad coronaria, la diabetes, la enfermedad renal crónica o obesidad.<sup>32,33</sup> Además de compartir factores predisponentes, existe una relación bidireccional entre ambas lo que conlleva que con frecuencia coexistan en nuestros pacientes. En los pacientes que presentan IC, el desarrollo de FA se ve favorecido por la activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona, las altas presiones auriculares y el desarrollo de fibrosis auricular, mientras que en pacientes con FA preexistente aumenta el riesgo de desarrollar IC por la propia patología auricular (consecuencia de la pérdida de sístole auricular, la dilatación y la fibrosis) así como por el empeoramiento de función sistólica y diastólica (por ejemplo en el caso de las taquimiocardiopatías).<sup>32,34-37</sup>

La transición desde ritmo sinusal a FA en los pacientes con IC desencadena en muchas ocasiones empeoramiento de la clase funcional y además está asociada con empeoramiento del pronóstico. Por ejemplo, en el Registro



**Figura 3.** Evolución temporal de la causa de la muerte en pacientes con IC.<sup>30</sup>



**Figura 4.** Insuficiencia cardiaca: Comorbilidades más relevantes.

a largo plazo de IC de la Sociedad Europea de Cardiología, el riesgo de mortalidad fue un 45% mayor en pacientes con FA;<sup>38</sup> en el estudio SOLVD la FA se asoció con un aumento de la mortalidad por todas las causas y con el *endpoint* combinado de muerte u hospitalización por IC;<sup>39</sup> y en un metanálisis sobre el tratamiento con betabloqueantes en IC se observó que en pacientes con IC y FA la tasas de mortalidad a 1,5 años fue del 21% (comparado con el 16% de los pacientes en ritmo sinusal) y que estos pacientes tenían ingresos hospitalarios más frecuentes y más prolongados.<sup>40</sup>

**La diabetes mellitus** (DM) y la IC coexisten con frecuencia incluso se ha sugerido que la IC predispone al desarrollo de DM.<sup>41,42</sup> La prevalencia de DM en poblaciones de IC se consideraba entre 12% y 30%, aunque más recientemente se ha descrito una prevalencia más alta en pacientes hospitalizados cuya tasa parece estar aumentando (desde el 38,9% en el año 2000 al 41,9% en el 2010).<sup>41,43,44</sup>

Como ya es conocido, el paciente con DM tiene un riesgo mayor de presentar un infarto agudo de miocardio que pudiera desencadenar por ejemplo ICFEr, sin embargo, se han demostrado anomalías en la perfusión miocárdica de pacientes con DM en ausencia de enfermedad de las arterias coronarias epicárdicas, consecuencia de alteraciones en la microcirculación,<sup>44-46</sup> lo que podría explicar que presenten mayor grado de fibrosis e hipertrofia miocárdica que aquellos pacientes sin DM y junto a la neuropatía autónoma cardiaca favorezcan la aparición de IC con FEVI preservada.<sup>44,47,48</sup>

La presencia de DM en IC se asocia con peor evolución en todo el espectro de FEVI.<sup>9</sup> El perfil clínico del paciente con IC y DM es el de un paciente de más edad, peor función renal, que presenta con mayor frecuencia HTA y enfermedad coronaria e ingresos por IC.<sup>9</sup> En el estudio GISSI-HF, los pacientes con DM tenían un riesgo 1,5 veces mayor de muerte por todas las causas en comparación con los pacientes sin DM independientemente de la etiología de la IC.<sup>49</sup> En nuestro medio, recientemente se ha publicado un estudio de los ingresos por IC en paciente con DM en España y explica cómo la presencia de DM aumenta por cinco el riesgo de ingreso de ingreso por descompensación.<sup>50</sup>

**La EPOC** se presenta con frecuencia en los pacientes con IC (alrededor del 10-40% de los pacientes con IC tienen EPOC intercurrente)<sup>52-54</sup> e influye negativamente en síntomas, procesos de diagnóstico y terapéuticos, y también en el pronóstico.<sup>9,51</sup> Sabemos que, al igual que la IC, la prevalencia de EPOC aumenta de manera progresiva con la edad y que es más frecuente en pacientes con ICFEp que en pacientes con ICFEr.<sup>55,56</sup> Se han postulado diferentes mecanismos patogénicos de la asociación entre ambas patologías entre las que se encuentra el aumento de presión intratorácica que lleva a reducción del llenado ventricular, la hipertensión pulmonar y su asociación con la disfunción ventricular derecha y la inflamación sistémica. En general, corazón y pulmones forman un *contínium* cardiopulmonar, cuyos componentes interactúan y experimentan un continuo cambio estructural y de remodelado.<sup>51,57-61</sup>

El diagnóstico diferencial entre ambas patologías puede llegar a ser un reto diagnóstico. Algunos de los factores que dificultan el discernir si un paciente presenta una de las dos patologías o ambas son los siguientes:

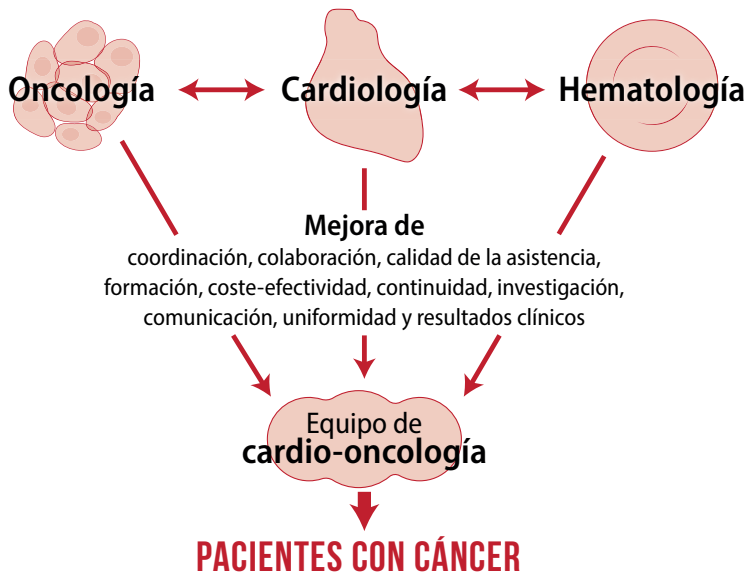
- La disnea es el síntoma cardinal de ambas patologías.
- Otros signos y síntomas son también comunes como la intolerancia al ejercicio, sibilancias, molestia torácica opresiva, fatiga, debilidad muscular o pérdida de peso.
- Ningún instrumento diagnóstico único ha demostrado especificidad suficiente para diferenciar entre IC y EPOC.
- Los péptidos natriuréticos aumentan también en el paciente con EPOC cuando se presenta hipertensión pulmonar o insuficiencia ventricular derecha aumentando los falsos positivos y reduciendo así la especificidad y el valor predictivo positivo para el diagnóstico de IC.

- El diagnóstico final de EPOC requiere confirmación espirométrica pero en caso de descompensación de IC el edema bronquial intersticial y submucoso puede sobrestimar el diagnóstico o la gravedad de EPOC.

La presencia de EPOC es un factor pronóstico negativo en la insuficiencia cardíaca, y se ha descrito como predictor independiente de hospitalización por IC, hospitalización no cardiovascular, muerte no cardiovascular y mortalidad por todas las causas.<sup>9,51</sup>

**El cáncer** y la enfermedad cardiovascular (especialmente la IC) son las dos principales causas de muerte en todo el mundo.<sup>62</sup> Sabemos que los supervivientes de cáncer pueden desarrollar IC como resultado de la cardiotoxicidad de la quimioterapia, la radioterapia o la inmunoterapia, a menudo usadas en combinación. Como resultado, se recomienda el control de los factores asociados a la cardiotoxicidad previo al inicio de tratamiento y la monitorización durante y después de tratamientos antitumorales potencialmente cardiotoxicos siendo agresivos en el inicio de terapia con IECA o betabloqueantes ante la detección de fases incipientes de cardiotoxicidad.<sup>63,64</sup>

Por otra parte, se ha observado que la incidencia de cáncer en pacientes con IC es mayor que en la población general<sup>65</sup> y que el cáncer como causa de muerte en los pacientes con IC ha aumentado de manera dramática en



**Figura 5.** Organización de las Unidades de Cardio-Oncología. Adaptado de Nhola *et al.*<sup>69</sup>

los últimos 20 años.<sup>30</sup> Es cierto que existen múltiples factores de riesgo comunes,<sup>68</sup> pero además, estudios recientes muestran que factores circulantes relacionados con la IC crónica promueven el crecimiento y el desarrollo de tumores en modelos murinos, lo que sugiere que existe una relación causal para este aumento de incidencia y mortalidad por cáncer en los pacientes con IC.<sup>66,67</sup>

Debido a la complejidad de manejo de estos pacientes se recomienda la formación de unidades multidisciplinarias de Cardio-Oncología para el diagnóstico y tratamiento de su patología cardiovascular.<sup>63,64,69</sup>

**La insuficiencia renal crónica (IRC)** es otra de las comorbilidades más prevalentes en pacientes con IC.<sup>9,70</sup> En un metanálisis que incluyó más de un millón de pacientes con IC, la insuficiencia renal crónica (IRC) definida como tasa de filtración glomerular estimada menor de 60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, estaba presente en el 42% de los pacientes con IC crónica, y hasta el 53% en pacientes con IC aguda.<sup>71</sup> Sabemos que el riñón desempeña un papel central en la fisiopatología de la IC ya que, entre otros aspectos, es el efector de la respuesta desadaptativa de retención de agua y sodio tras la activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona. La IC puede conducir a un empeoramiento de la función renal así como la propia insuficiencia renal también predispone a la IC, esta interrelación es conocida como síndrome cardiorrenal<sup>72</sup> y están implicados varios factores como la reducción de perfusión renal, la activación neurohormonal, la congestión venosa por hipovolemia, la inflamación o la disfunción endotelial.<sup>72,73</sup>

El estadio de la insuficiencia renal es especialmente importante en el paciente con IC ya que los grados más avanzados limitan algunas terapias que han demostrado mejorar el pronóstico de los pacientes con IC como los IECAS, ARM o los inhibidores de neprilisina y receptor de angiotensina (ARNI).<sup>9,70</sup> Globalmente, la presencia de IRC comporta mayor mortalidad y riesgo de ingreso por descompensación. A destacar que entre los factores asociados a la IRC se encuentra una insuficiencia en la producción de EPO, lo que puede conducir a anemia y aumentar aún más la morbilidad y la mortalidad en pacientes con IC.<sup>70</sup>

**La anemia** es una comorbilidad crucial en IC. La definición más comúnmente utilizada para el diagnóstico es a partir de los criterios de la Organización Mundial de la Salud (Hb < 13 g/dL en hombres y <12 g/dL en mujeres).<sup>9</sup> Su prevalencia aumenta con la gravedad de la IC y con el número de enfermedades crónicas concomitantes, en la mayoría de

metanálisis y grandes registros oscila entre el 20% y el 40% de los pacientes con IC. Sabemos que es más frecuente a mayor edad, sexo femenino y en aquellos con disfunción renal, diabetes o mayor grado de inflamación.<sup>74-76</sup>

En pacientes con IC, la anemia se acompaña de remodelación ventricular izquierda adversa, niveles elevados de péptidos natriuréticos circulantes, pero clase funcional y calidad de vida, y se asocia a mayor reingreso un aumento de mortalidad tanto cardiovascular como por todas las causas.<sup>77,78</sup>

En un metanálisis de 34 estudios que incluyeron a más de 150 000 pacientes IC, la presencia de anemia casi duplicó el riesgo de muerte en pacientes con IC, incluyendo pacientes con ICFEr e ICFEp.<sup>78</sup> Algunos estudios preliminares habían sugerido que los agentes estimulantes de la eritropoyesis podrían aportar beneficio clínico en pacientes con IC. Por este motivo se desarrolló el estudio RED-HF que incluyó 2278 pacientes con ICFEr y anemia leve a moderada (hemoglobina 9-12 g/dL) que fueron asignados aleatoriamente a recibir darbepoetina alfa o placebo.<sup>79</sup> Sin embargo la darbepoetina alfa no mejoró el *endpoint* combinado de muerte por todas las causas u hospitalización por IC, además de presentar más eventos tromboembólicos adversos en el brazo de tratamiento activo. Por este motivo las actuales Guías ESC no recomiendan el uso de agentes estimulantes de la eritropoyesis para la corrección de la anemia en pacientes con insuficiencia cardíaca.<sup>9</sup>

El déficit de hierro en el paciente con IC, independientemente de la presencia o no de anemia, requiere mención especial.

# 1.3

## Introducción

### Déficit de hierro en insuficiencia cardiaca

La deficiencia de hierro (DH) es muy prevalente en pacientes con IC crónica, incluso sin la presencia de anemia.<sup>80,81</sup> En un estudio europeo que incluyó 1506 pacientes con IC crónica, la prevalencia de DH fue del 50%, mientras que solo el 28% de los sujetos cumplían criterios diagnósticos de anemia.<sup>81</sup> En este estudio, el sexo femenino, una clase funcional NYHA más avanzada, valores más altos de NTproBNP en plasma y la propia presencia de anemia fueron predictores independientes de DH.

**El hierro** es un micronutriente esencial directamente involucrado en el transporte de oxígeno (contenido de hemoglobina); su almacenamiento (contenido de mioglobina); en el metabolismo del músculo cardíaco y esquelético (componente de enzimas oxidativas y proteínas mitocondriales de la cadena respiratoria); y en la síntesis y degradación de proteínas, lípidos y ácidos ribonucleicos.<sup>82-89</sup>

Por lo tanto, lejos de la idea preconcebida de que el papel de hierro se limita a la hematopoyesis, este es indispensable en múltiples tejidos y células, especialmente aquellas con altas demandas de energía (como los cardiomiocitos y los miocitos esqueléticos) que son particularmente sensibles a las limitaciones en la disponibilidad del hierro. En estos tejidos, la reducción del hierro intracelular produce disfunción mitocondrial, lo que impide su correcto funcionamiento, y conduce a cardiomiopatía y a miopatía esquelética, respectivamente, con consecuencias negativas clínicas y pronósticas.<sup>90</sup>



Aunque el estudio de aspirado de médula ósea es el *gold standard* para evaluar el estado del hierro en los pacientes, esta es una prueba invasiva y poco práctica en la práctica clínica diaria por lo que la evaluación del estado del hierro se basa generalmente en la cuantificación de marcadores circulantes en sangre que reflejan el estado del hierro de manera indirecta<sup>85,91</sup>:

- La apoferritina es una proteína globular hueca compuesta de 24 subunidades, capaz de acumular gran cantidad de hierro en su interior. Una vez la apoferritina se une al hierro pasa a denominarse **ferritina**. Se encuentra presente en grandes concentraciones en el hígado, el bazo, la médula ósea y en el músculo esquelético, y además existe una estrecha relación entre los depósitos de hierro corporales y la concentración de ferritina en el plasma lo que permite que esta sea un buen biomarcador para conocer los depósitos de hierro del organismo.<sup>74</sup>
- La **transferrina** es una  $\beta$ -1 globulina, formada por una cadena simple de polipéptidos que tiene dos espacios activos de unión para el hierro. Es sintetizada en el sistema retículo endotelial, principalmente en el hígado, y se libera a la sangre para que las glicoproteínas de transferrina se unan al hierro de manera reversible presentando una tasa alta de recambio (25 mg/24h) y transporten el hierro hasta las células efectoras. De esta manera el **índice de saturación de transferrina** (IST) nos permite conocer qué porcentaje de la ferritina está unido al hierro, siendo reflejo del transporte del hierro en plasma. El IST también se puede calcular de manera indirecta mediante el cociente entre el hierro sérico y la capacidad total de fijación de hierro de unión al hierro total de la transferrina sérica multiplicada por 100.<sup>74,92</sup>

Estos marcadores tienen el beneficio de ser una prueba que consume pocos recursos económicos, son de gran accesibilidad ya que se pueden obtener en una analítica sanguínea rutinaria y su interpretación es sencilla. Por otra parte, el diagnóstico basado en estos biomarcadores del estado del hierro presenta algunas limitaciones que deben ser remarcadas. La ferritina es una proteína que refleja el estado de los depósitos de hierro a nivel de sangre periférica, sin embargo, también es conocido su papel como reactante de fase aguda. Por tanto, aquellos pacientes con deficiencia de hierro que se encuentren en situaciones clínicas que comporten un estado inflamatorio aumentado pueden presentar niveles elevados de ferritina que dificulten o enmascaren el diagnóstico de DH y conduzcan a falsos negativos. Para tratar de minimizar este hecho, los valores de corte recomendados de

ferritina sérica que reflejan reducción de los depósitos de hierro en pacientes con IC son más altos (100 µg/L) que en individuos sanos (15-30 µg/L). Por otro lado, el IST puede verse aumentado debido a la alteración de la síntesis hepática de transferrina cuando hay una descompensación cardíaca.<sup>74,85</sup> Una manera de minimizar ambas situaciones es evaluar el estado del hierro en los pacientes con IC en fase estable y no al ingreso de una hospitalización por descompensación o por otros procesos agudos.

Clásicamente se han distinguido dos tipos de DH en función del perfil analítico, el DH absoluto y el DH funcional:

- **El DH absoluto** describe una situación de agotamiento de los depósitos de hierro en el organismo y analíticamente se corresponde con unos niveles de ferritina bajos. El DH absoluto altera la síntesis de hemoglobina y finalmente causa anemia ferropénica. Se han propuesto como causas de DH absoluto las interacciones farmacológicas, el consumo deficiente de hierro en la dieta, la malabsorción gastrointestinal y las pérdidas de sangre por sangrados ocultos gastrointestinales.<sup>74,85</sup>
- **El DH funcional** describe una situación de alteración en el transporte de hierro en sangre hasta las células efectoras y analíticamente se corresponde con IST bajo a pesar de poder presentar niveles de ferritina normales incluso elevados. En el DH funcional el hierro queda atrapado dentro del sistema reticuloendotelial, por lo que no está disponible para procesos celulares y metabólicos. Esta situación se asocia con las citocinas proinflamatorias, incluida la hepcidina, que atrapa el hierro en el sistema reticuloendotelial y bloquea la absorción de hierro en la dieta.<sup>74,85,93-96</sup>

**La hepcidina** es una pequeña hormona peptídica que resulta clave en el metabolismo sistémico del hierro y también es un elemento de respuesta inmune innata. La hepcidina circulante interactúa con su receptor transmembrana específico, ferroportina, en las células diana, lo que resulta en una reducción de la expresión de proteínas involucradas en la importación de hierro transmembrana a los enterocitos y de la internalización de ferroportina, que es la única proteína capaz de exportar hierro intracelular. Como consecuencia, la hepcidina bloquea la absorción intestinal de hierro y atrapa el hierro dentro del sistema reticuloendotelial. Los estímulos principales que disminuyen la expresión hepática de hepcidina y su liberación a la circulación son depósitos de hierro agotados, hipoxia y eritropoyesis ineficaz, mientras que la inflamación (por ejemplo, a través del aumento de interleucina 6) conduce al efecto contrario. En consecuencia, un nivel bajo

de hepcidina (incluso en presencia de inflamación concomitante) es una medida específica de las reservas de hierro agotadas.<sup>74,95,96</sup>

Un biomarcador de gran utilidad en la caracterización del estado del hierro es el **receptor soluble de transferrina** (sTfR) que informa de la demanda de hierro intracelular. Es la forma truncada de una proteína transmembrana presente en todas las células, y que forma el sistema principal responsable de la entrada de hierro intracelular. Cuando el suministro de hierro a las células es insuficiente para las necesidades metabólicas, la expresión aumentada del receptor de transferrina facilita la importación intracelular de hierro. Por lo tanto, el receptor soluble de transferrina refleja cuantitativamente y con precisión las necesidades metabólicas de hierro de los tejidos no satisfechas (agotamiento intracelular de hierro).<sup>97</sup>

Numerosos estudios han analizado las consecuencias del DH (con y sin anemia) en pacientes con IC crónica, mostrando asociaciones entre el DH y un peor pronóstico.<sup>98-107</sup> Un estudio de Klip *et al.* mostró que el DH es un fuerte predictor de mortalidad por todas las causas en pacientes con IC crónica independiente de la presencia de anemia, la función ventricular izquierda y la gravedad de la IC (HR 1,42; IC del 95 %: 1,14–1,77;  $p = 0,002$ ).<sup>81</sup> Por otra parte en un estudio previo de nuestro grupo, demostramos cómo el DH se asociaba a peor capacidad de esfuerzo y peor calidad de vida en pacientes con IC.<sup>105</sup>

**Las guías de la ESC definen DH en los pacientes con IC** como ferritina sérica < 100 µg/L o la combinación de ferritina sérica 100-300 µg/L con un índice de saturación de transferrina < 20 %, adoptando la definición utilizada en los grandes ensayos clínicos de suplementación con hierro intravenoso en IC.<sup>9</sup> Existen dos estudios principales que han evaluado los efectos de la administración de suplementos de hierro por vía intravenosa en pacientes con DH e IC crónica. En el estudio FAIR-HF y CONFIRM-HF se incluyeron pacientes con IC crónica sintomática y FEV < 45 %. La terapia con hierro carboximaltosa intravenoso mejoró síntomas, la clase funcional según la clasificación NewYork Heart Association (NYHA), la capacidad de esfuerzo y la calidad de vida relacionada con la salud con un buen perfil de seguridad.<sup>108-111</sup> En el estudio CONFIRM-HF, dicha terapia también resultó en una reducción de las hospitalizaciones por descompensación de IC durante el seguimiento de 12 meses, evaluado como *endpoint* secundario.<sup>111</sup> Además, en el estudio EFFECT-HF, estudio aleatorizado y abierto que incluyó pacientes con insuficiencia cardíaca sintomática crónica y una

FEVI  $\leq 45\%$ , la terapia con hierro carboximaltosa intravenoso aumentó el consumo máximo de oxígeno, de nuevo independientemente del nivel de hemoglobina.<sup>112</sup>

Por último, el reciente estudio IRON-OUT ha demostrado que la suplementación oral con hierro no aumenta de manera importante la saturación de ferritina ni transferrina en pacientes con IC, y no tiene impacto en la capacidad de ejercicio en pacientes con IC estable, poniendo en evidencia la ausencia de beneficio de la suplementación con hierro oral en pacientes con DH e IC.<sup>113</sup> Es importante destacar que, hasta ahora, ninguno de los estudios de intervención ha sido diseñado para analizar el impacto del hierro intravenoso en mortalidad cardiovascular o mortalidad por cualquier causa. Actualmente hay cuatro grandes ensayos clínicos en marcha que evaluarán beneficio en morbilidad y mortalidad del hierro intravenoso en DH e IC: los estudios AFFIRM-HF, FAIR-HF2, HEART-FID y IRONMAN.<sup>114</sup>

A partir de la evidencia disponible hasta la fecha las guías europeas de IC recomiendan la evaluación del estado del hierro en los pacientes con IC, y la suplementación con hierro intravenoso en caso de que cumplan los criterios de DH.<sup>9</sup> La dosis de hierro carboximaltosa intravenoso recomendada se calcula en función del peso del paciente y de la Hb conforme a la siguiente tabla.<sup>115</sup>

**Tabla 3.** Dosis de hierro carboximaltosa intravenoso en función de peso y hemoglobina en paciente con IC y DH.<sup>115</sup>

| <b>Dosis total de hierro carboximaltosa necesaria</b> |               |         |              |
|---|---------------|---------|--------------|
| Hb (mg/dL)  | Peso corporal |         |              |
|   | < 35 kg       | < 70 kg | $\geq 70$ kg |
| < 10  | 500 mg        | 1500 mg | 2000 mg      |
| a < 14  | 500 mg        | 1000 mg | 1500 mg      |
| $\geq 14$   | 500 mg        | 500 mg  | 500 mg       |



# 1.4

## Introducción

### Áreas de conocimiento pendientes de esclarecer en déficit de hierro e IC

Como hemos señalado previamente, los criterios para el diagnóstico de DH en pacientes con IC crónica son ferritina sérica  $< 100 \mu\text{g/L}$  o la combinación de ferritina sérica  $100\text{-}300 \mu\text{g/L}$  con saturación de transferrina  $< 20\%$ .<sup>9,108,109</sup>

Esta definición combina la información obtenida de dos parámetros bioquímicos distintos. La ferritina, que proporciona información sobre los depósitos de hierro, y por otro lado, el IST que proporciona información sobre el transporte del hierro en el organismo. Por lo tanto, podemos decir que los pacientes que cumplen con los criterios de déficit de hierro según la definición actual, constituyen un grupo heterogéneo, compuesto por pacientes con diferentes perfiles del estado de hierro en función de la anomalía predominante, ya que el déficit de hierro no es una situación dicotómica, sino que es un continuo que va desde el perfil de hierro normal hasta el agotamiento del hierro en todos los compartimentos.<sup>97</sup> Se desconoce si estos distintos estados de déficit de hierro se correlacionan con diferentes perfiles clínicos o si tienen implicaciones pronósticas distintas en pacientes con ICC.

Por lo tanto, se requieren estudios que evalúen de manera detallada los distintos perfiles de déficit de hierro en función de la alteración de los distintos biomarcadores y su asociación con el perfil clínico y la evolución de los pacientes. Esta información nos permitirá en el futuro salir de la definición global de DH en IC utilizada en la actualidad para conocer qué biomarcadores se asocian con peor pronóstico y qué perfiles de DH se podrían beneficiar más de la suplementación con hierro intravenoso para proporcionar

a los pacientes diagnóstico y tratamiento mucho más individualizado, y ejerciendo una medicina de precisión.

Por otra parte, a pesar de que se han sugerido múltiples hipótesis, los mecanismos que lleva a la aparición de DH en los pacientes con ICC aún no están bien establecidos.

En modelos celulares se ha demostrado cómo la exposición de cardiomiocitos a noradrenalina llevaba a una depleción del hierro intracelular a través de cambios en los receptores para la transferrina.<sup>114</sup> Por este motivo empezamos a sospechar que no solamente la ingesta o las pérdidas hemáticas estaban implicadas en la aparición de DH en los pacientes con IC sino que la activación neurohormonal podía estar implicada. Esto es muy relevante ya que sabemos que los pacientes con insuficiencia cardíaca tienen una actividad simpática incrementada y que esta se asocia a progresión de la enfermedad y peor pronóstico,<sup>9</sup> sin embargo, la asociación entre activación simpática y DH no se ha evaluado hasta el momento a nivel del paciente con insuficiencia cardíaca. Se requieren estudios que evalúen esta potencial asociación ya que podría ayudar a conocer los mecanismos de la aparición de DH en los pacientes con IC y además proporcionar información valiosa sobre la propia fisiopatología de la enfermedad.

# Hipótesis y Objetivos





## Hipótesis

Existen diferencias en las características clínicas y en el pronóstico de los pacientes con insuficiencia cardiaca crónica en función de distintos perfiles de déficit de hierro y, a su vez, la actividad simpática se asocia con ambas enfermedades.



# Objetivos

## Objetivo principal

Describir el estado del hierro de una gran cohorte internacional de pacientes con IC según diferentes perfiles (perfil del hierro normal, alteración del depósito, del transporte o de ambas) y evaluar su impacto en las variables clínicas asociadas a gravedad en IC y en la mortalidad de los pacientes.

## Objetivos secundarios

Evaluar la asociación entre la activación simpática y varios biomarcadores séricos de la homeostasis del hierro para ayudar a explicar:

- Los mecanismos de aparición de déficit de hierro en los pacientes con insuficiencia cardiaca.
- Los resultados obtenidos sobre las características clínicas y el pronóstico en función del perfil del hierro

Artículos con resolución favorable de la Comisión Académica del Programa de Doctorado de Medicina:



**Artículos originales**



## 2.1

### Artículos originales

## International Journal of Cardiology

*«Clinical correlates and prognostic impact of impaired iron storage versus impaired iron transport in an international cohort of 1821 patients with chronic heart failure»*

**Pedro Moliner**, Ewa A. Jankowska, Dirk J. van Veldhuisen, Nuria Farré, Piotr Rozentryt, Cristina Enjuanes, Lech Polonski, Oona Meroño, Adriaan A. Voors, Piotr Ponikowski, Peter Van der Meer, Josep Comin-Colet.

*International Journal of Cardiology*, 243 (2017), 360–366.

DOI: [dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2017.04.110](https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2017.04.110)





## 2.2

### Artículos originales

## Journal of the American Heart Association

*«Association Between Norepinephrine Levels and Abnormal Iron Status in Patients With Chronic Heart Failure: Is Iron Deficiency More Than a Comorbidity?»*

**Pedro Moliner**, Cristina Enjuanes, Marta Tajés, Miguel Cainzos-Achirica, Josep Lupón, MD, Alberto Garay, Santiago Jiménez-Marrero, Sergi Yun, Nuria Farré, Mercé Cladellas, Carles Díez, José González-Costello, Josep Comin-Colet.

*Journal of the American Heart Association*, 2019;8:e010887, 1-10.

DOI: [10.1161/JAHA.118.010887](https://doi.org/10.1161/JAHA.118.010887)



## ORIGINAL RESEARCH



## Association Between Norepinephrine Levels and Abnormal Iron Status in Patients With Chronic Heart Failure: Is Iron Deficiency More Than a Comorbidity?

Pedro Moliner, MD; Cristina Enjuanes, MD, PhD; Marta Tajés, PhD; Miguel Cainzos-Achirica, MD, MPH; Josep Lupón, MD, PhD; Alberto Garay, MD, PhD; Santiago Jimenez-Marrero, MD; Sergi Yun, MD; Núria Farré, MD, PhD; Mercé Cladellas, MD, PhD; Carles Díez, MD; Jose Gonzalez-Costello, MD; Josep Comin-Colet, MD, PhD

**Background**—Mechanisms underlying iron homeostasis dysregulation in patients with chronic heart failure remain unsettled. In cardiomyocyte models, norepinephrine may lead to intracellular iron depletion, but the potential association between catecholamines (sympathetic activation markers) and iron metabolism biomarkers in chronic heart failure is unknown.

**Methods and Results**—In this cross-sectional analysis, we studied the association between plasma norepinephrine levels and serum iron status biomarkers indicating iron storage (ferritin), iron transport (transferrin saturation), and iron demand (soluble transferrin receptor) in a prospective cohort of 742 chronic heart failure patients (mean age, 72±11 years; 56% male). Impaired iron status was defined as ferritin <100 µg/L or transferrin saturation <20%. Impaired iron status was observed in 69% of patients. In multivariate models, greater norepinephrine levels were associated with impaired iron transport (transferrin saturation <20%, odds ratio=2.28; 95% CI [1.19–4.35];  $P=0.013$ ), but not with impaired iron storage (ferritin <100 µg/L, odds ratio=1.25; 95% CI [0.73–2.16];  $P=0.415$ ). Norepinephrine was a significant predictor of increased iron demand (soluble transferrin receptor, standardized  $\beta$ -coefficient=0.12;  $P=0.006$ ) and low transferrin saturation (standardized  $\beta$ -coefficient=-0.12;  $P=0.003$ ). However, norepinephrine levels were not associated with iron or ferritin levels ( $P>0.05$ ). Adjusted norepinephrine marginal means were significantly higher in patients with impaired iron status compared with those with normal iron status (528 pg/mL [505–551] versus 482 pg/mL [448–518], respectively;  $P=0.038$ ).

**Conclusions**—In chronic heart failure patients, increased sympathetic activation estimated with norepinephrine levels is associated with impaired iron status and, particularly, dysregulation of biomarkers suggesting impaired iron transport and increased iron demand. Whether the relationship between norepinephrine and iron metabolism is bidirectional and entails causality need to be elucidated in future research. (*J Am Heart Assoc.* 2019;8:e010887. DOI: 10.1161/JAHA.118.010887.)

**Key Words:** anemia • chronic heart failure • iron • iron deficiency • norepinephrine • sympathetic nervous system

Iron deficiency is associated with worse quality of life, functional capacity, and prognosis in patients with chronic heart failure (CHF), regardless of the presence of anemia.<sup>1–6</sup>

Consequently, current guidelines recommend assessing the iron profile of patients with CHF and treating them with intravenous iron, when appropriate.<sup>7–10</sup> Nevertheless, the

From the Heart Failure Unit, Department of Cardiology, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona, Spain (P.M., J.L.); Department of Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona, Spain (P.M., J.L., N.F., M.C.); Community Heart Failure Program, Cardiology Department, Bellvitge University Hospital (C.E., M.C.-A., A.G., S.J.-M., S.Y., J.C.-C.), Cardiovascular Diseases Research Group, Bellvitge Biomedical Research Institute (IDIBELL; C.E., M.C.-A., A.G., S.J.-M., S.Y., C.D., J.G.-C., J.C.-C.), and Advanced heart Failure and Heart Transplant Unit, Department of Cardiology, Bellvitge University Hospital (C.D., J.G.-C.), Hospital de Llobregat, Barcelona, Spain; Heart Diseases Biomedical Research Group, Program of Research in Inflammatory and Cardiovascular Disorders, Hospital del Mar Biomedical Research Institute (IMIM), Barcelona, Spain (C.E., M.T., N.F., J.C.-C.); Johns Hopkins Ciccarone Center for the Prevention of Heart Disease, Department of Cardiology, Johns Hopkins Medical Institutions, Baltimore, MD (M.C.-A.); School of Medicine and Medical Sciences, Universitat Internacional de Catalunya, Sant Cugat del Valles, Barcelona, Spain (M.C.-A.); Heart Failure Program, Department of Cardiology, Hospital del Mar, Parc de Salut Mar, Barcelona, Spain (N.F.); Department of Cardiology, Hospital del Mar, Parc de Salut Mar, Barcelona, Spain (M.C.); Department of Clinical Sciences, School of Medicine, Universitat de Barcelona, Spain (J.C.-C.).

**Correspondence to:** Josep Comin-Colet, MD, PhD, Hospital Universitari de Bellvitge, Department of Cardiology, 19th Floor, Feixa Llarga s/n, 08907 Hospital de Llobregat, Barcelona, Spain. E-mail: jcomin@bellvitgehospital.cat

Received October 8, 2018; accepted January 9, 2019.

© 2019 The Authors. Published on behalf of the American Heart Association, Inc., by Wiley. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs License, which permits use and distribution in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non-commercial and no modifications or adaptations are made.

### Clinical Perspective

#### What Is New?

- The exact mechanisms by which chronic heart failure patients develop iron deficiency are still unknown.
- To the best of our knowledge, we demonstrate, for the first time, an interplay between raised sympathetic nervous system activity and systemic iron deficiency in patients with chronic heart failure and, particularly, with those biomarkers that suggest impaired iron transport (transferrin saturation <20%) and increased iron demand (raised soluble transferrin receptor levels).

#### What Are the Clinical Implications?

- Our results may support the hypothesis that iron deficiency might not just be a comorbidity, but may also be a key element in the pathophysiological sequence leading to, and promoting the progression of, chronic heart failure.

mechanisms underlying dysregulation of iron homeostasis in patients with CHF are still not well established.

Sympathetic activation, which entails increased serum levels of norepinephrine, is one of the main therapeutic targets in CHF because of its deleterious long-term effects,<sup>7,8,11–15</sup> particularly in patients with reduced left ventricle ejection fraction (LVEF). In this context, recent studies have shown that in cardiomyocyte models, norepinephrine leads to intracellular iron depletion.<sup>16</sup> These results in cellular models suggest a role of sympathetic activation in the development of iron homeostasis dysregulation. However, the association between sympathetic activity and iron status has not been evaluated so far at the patient level.

The aim of this study was thus to assess the potential association between sympathetic activation, as measured using plasma norepinephrine levels, and several biomarkers of serum iron homeostasis, including ferritin as a marker of iron availability, transferrin saturation (TSAT) as a marker of iron supply, and the soluble transferrin receptor (sTfR) as a marker of iron demand, in a large population of consecutive patients with CHF followed in a specialized, multidisciplinary CHF unit, in which all these measurements were available.

### Methods

Data are available upon request from a third party. Because of the sensitive nature of the data collected for this study, reasonable requests to access the data set from qualified researchers trained in human subject confidentiality protocols may be sent to Bellvitge Biomedical Research Institute at the corresponding author.

### Study Design and Study Population

The DAMOCLES (Definition of the neuro-hormonal activation, myocardial function, genomic expression and clinical outcomes in heart failure patients) study was a single-center, observational, prospective cohort study of 1236 consecutive patients diagnosed with CHF. The methodology of the DAMOCLES has been published previously by our group.<sup>2,17</sup> Briefly, for inclusion, patients had to be diagnosed with CHF according to the European Society of Cardiology diagnostic criteria, had at least 1 recent acute decompensation of CHF requiring intravenous diuretic therapy (either hospitalized or in the day care hospital), and had to be in stable condition at the time of study entry. Exclusion criteria were: significant primary valvular disease, clinical signs of fluid overload, pericardial disease, restrictive cardiomyopathy, hypertrophic cardiomyopathy, hemoglobin levels <8.5 g/dL, active malignancy, and chronic liver disease. The study was approved by the local committee of ethics for clinical research and was conducted in accord with the principles of the Declaration of Helsinki. All patients gave written informed consent before study entry.

For the present analysis, norepinephrine levels were evaluated in all consecutive participants included in the DAMOCLES study between June 2004 and January 2011. Patients included in the DAMOCLES study after this period did not have norepinephrine levels measured and thus were excluded from this analysis.

### Baseline Evaluation: Catecholamines, Iron Parameters, and Other Laboratory Measurements

Methods of blood collection and management, as well as the quantification of norepinephrine levels performed in the baseline DAMOCLES study visit, have been previously reported.<sup>17</sup> In summary, patients were resting in a supine position in a quiet room for 30 to 60 minutes after venous cannulation. Tubes with blood samples were immersed in melting ice and frozen until they were processed. Levels of norepinephrine were measured from 1.5 mL of plasma by high-resolution liquid chromatography. Norepinephrine analysis had a coefficient of variation of 8.7%. Serum N-terminal pro-B-type natriuretic peptide levels were measured in pg/mL using an immunoassay based on chemiluminescence using the Elecsys System (Roche, Indianapolis, IN). Serum iron (mg/dL) was measured using spectrophotometry; serum ferritin (ng/mL) and transferrin (mg/dL) were measured using immunoturbidimetry. TSAT was estimated using the formula:  $TSAT = \text{serum iron (mg/dL)} / [\text{serum transferrin (mg/dL)} \times 1.25]$ . Iron status was also assessed by measuring serum soluble transferrin receptor (sTfR; in mg/L) levels using an enzyme immunoassay. Hemoglobin (g/dL) was measured with

impedance laser colorimetry. Glomerular filtration rate was estimated from serum creatinine using the formula of the Modification of Diet in Renal Disease Study Group equation.<sup>18</sup>

### Study Definitions

Impaired iron status was defined as ferritin <100 ng/mL or TSAT <20%. To explore the association between norepinephrine and different components of the iron pathway, we also defined impaired iron storage as ferritin <100 ng/mL and impaired iron transport as TSAT <20%. Increased iron demand (high sTfR) was defined as levels of sTfR >75th percentile of its distribution in the study population. Anemia was defined using the World Health Organization criteria (cut-off values of 13 g/dL in men and 12 g/dL in women).<sup>19</sup>

### Statistical Analyses

This was a cross-sectional analysis using the baseline data from the DAMOCLES study. Demographic and clinical characteristics and laboratory test results were summarized using basic descriptive statistics, both in the overall cohort as well as stratified by norepinephrine tertiles. For quantitative variables, the arithmetic mean (and SD) or median (and interquartile range) were reported as appropriate, and *P* values were obtained using ANOVA and Kruskal–Wallis tests, respectively. For qualitative variables, number and percentages within specified groups were calculated, and *P* values were derived using  $\chi^2$  tests.

When necessary, natural logarithm transformation was used to fit skewed continuous variables into normal distributions. Specifically, norepinephrine was modeled in 2 ways for the analyses: as a continuous exposure (log-transformed), as well as a dichotomous exposure (“high norepinephrine” levels defined as norepinephrine >90th percentile [1050 pg/mL] of the distribution in the study population, as compared with ≤90th percentile).

To assess the association between sympathetic activation, as measured using norepinephrine levels, and the different iron status biomarkers, we first used logistic and linear regression to assess the crude (unadjusted) associations between norepinephrine and each of the relevant iron status biomarkers. Also, generalized additive models were used to graphically display the relationship between log norepinephrine serum levels and log TSAT, log sTfR, and log ferritin, respectively. Unadjusted logistic and linear regression analyses were also used to assess the bivariate associations between each of the predictors included in Table 1 and each of the iron status biomarkers.

Multivariable-adjusted linear and logistic regression models were used to evaluate the adjusted associations between

higher levels of norepinephrine as an independent variable and levels of each of the iron status biomarkers as the dependent variables. Multivariable models used step-wise forward conditional methods and were adjusted for the predictors that showed a significant association with impaired iron status in the bivariate logistic regression analyses.

Finally, general linear models were used to calculate adjusted marginal means and 95% CIs of norepinephrine according to different iron and anemia states. All general linear models were adjusted for factors associated with increased norepinephrine levels. Factors associated with raised norepinephrine levels have been described previously by our group.<sup>17</sup>

All statistical tests and CIs were constructed with a type 1 error alpha level of 5% with no adjustments for multiplicity, and *P*<0.05 were considered statistically significant. SPSS (version 22.0; IBM, Armonk, NY) and R software (version 3.0.1; R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) were used for statistical analyses.

## Results

### Study Population

Of the 1236 CHF patients included in the DAMOCLES study, 494 did not have baseline levels of norepinephrine measured and were excluded from the present analyses. This defined a final study population of 742 patients. Serum iron status parameters were available in all DAMOCLES study participants.

### Baseline Characteristics of the Study Participants

Baseline characteristics of the study participants, overall and by norepinephrine tertiles, are shown in Table 1. Overall, mean age was 72 years, and 56% participants were male. Mean LVEF was 44%, median N-terminal pro-b-type natriuretic peptide levels were 1547 pg/mL, and 45% of patients had a New York Heart Association functional class of III or IV. Median levels of norepinephrine were 523 (351–730), and 515 (69%) patients had impaired iron status.

By norepinephrine tertiles, patients in the upper tertile of norepinephrine (higher sympathetic activation) were older, more frequently male, and had a worse CHF clinical profile, with higher N-terminal pro-b-type natriuretic peptide levels, lower body mass index, and worse New York Heart Association functional class than their lower norepinephrine tertile counterparts. Also, the higher the norepinephrine tertile, the higher the prevalence of all iron abnormalities. Interestingly, LVEF, systolic blood pressure, and heart rate did not differ between categories of norepinephrine levels.

**Table 1.** Baseline Characteristics of the Study Population (N=742), Overall and by Norepinephrine Tertiles

|  | Overall<br>n=742 | T1 (<4.14 pg/mL)<br>n=248 | T2 (4.14–6.54 pg/mL)<br>n=248 | T3 (>6.54 pg/mL)<br>n=246 | P Value |
|--|------------------|---------------------------|-------------------------------|---------------------------|---------|
| Age, y                                     | 72±11            | 69±11                     | 73±11                         | 75±11                     | <0.001  |
| Sex, male, n (%)                           | 418 (56)         | 137 (55)                  | 134 (54)                      | 147 (60)                  | 0.40    |
| BMI, kg/m <sup>2</sup>                     | 28±6             | 30±6                      | 28±5                          | 27±5                      | <0.001  |
| Systolic BP, mm Hg                         | 125±23           | 127±24                    | 124±24                        | 123±22                    | 0.13    |
| Heart rate, bpm                            | 74±15            | 73±15                     | 75±15                         | 74±16                     | 0.62    |
| NT-proBNP, pg/mL                           | 1547 [662–3942]  | 1124 [489–2460]           | 1672 [647–3495]               | 2391 [923–6436]           | <0.001  |
| eGFR, mL/min per 1.73 m <sup>2</sup>       | 59±24            | 61±24                     | 59±23                         | 56±26                     | 0.08    |
| LVEF, %                                    | 44±17            | 45±17                     | 44±17                         | 43±18                     | 0.46    |
| HFpEF, n (%)                               | 278 (38)         | 91 (37)                   | 95 (38)                       | 92 (37)                   | 0.933   |
| HFmrEF, n (%)                              | 116 (16)         | 45 (18)                   | 38 (15)                       | 33 (13)                   | 0.346   |
| HFrfEF, n (%)                              | 348 (47)         | 112 (45)                  | 115 (47)                      | 121 (49)                  | 0.655   |
| Etiology of CHF, ischemic, n (%)           | 303 (41)         | 112 (45)                  | 96 (39)                       | 95 (39)                   | 0.24    |
| Atrial fibrillation, n (%)                 | 234 (32)         | 72 (29)                   | 85 (34)                       | 77 (31)                   | 0.45    |
| NYHA class III or IV, n (%)                | 330 (45)         | 98 (40)                   | 104 (42)                      | 128 (52)                  | 0.012   |
| Norepinephrine, median (IQR)               | 523 [351–730]    | 313 [252–352]             | 524 [467–592]                 | 858 [730–1111]            | <0.001  |
| Comorbidities, n (%)                       |                  |                           |                               |                           |         |
| Hypertension                               | 582 (78)         | 190 (77)                  | 195 (79)                      | 197 (80)                  | 0.64    |
| Diabetes mellitus                          | 345 (47)         | 130 (52)                  | 110 (44)                      | 105 (43)                  | 0.67    |
| CKD (eGFR <60 mL/min/1.73 m <sup>2</sup> ) | 418 (56)         | 126 (51)                  | 140 (57)                      | 152 (62)                  | 0.048   |
| Anemia                                     | 365 (49)         | 124 (50)                  | 115 (46)                      | 126 (51)                  | 0.53    |
| COPD                                       | 163 (22)         | 57 (23)                   | 49 (20)                       | 57 (23)                   | 0.59    |
| Obesity                                    | 247 (33)         | 101 (41)                  | 84 (34)                       | 62 (25)                   | 0.001   |
| Impaired iron status                       | 515 (69)         | 172 (69)                  | 164 (66)                      | 179 (73)                  | 0.278   |
| Impaired iron transport                    | 438 (59)         | 137 (55)                  | 139 (56)                      | 162 (66)                  | 0.028   |
| Impaired iron storage                      | 280 (38)         | 104 (42)                  | 88 (36)                       | 280 (38)                  | 0.247   |
| Treatments, n (%)                          |                  |                           |                               |                           |         |
| ACEI or ARBs                               | 578 (78)         | 205 (83)                  | 196 (79)                      | 177 (72)                  | 0.014   |
| Beta-blockers                              | 656 (88)         | 214 (86)                  | 224 (90)                      | 218 (89)                  | 0.37    |
| Aldosterone antagonists                    | 308 (42)         | 110 (44)                  | 101 (41)                      | 97 (39)                   | 0.52    |
| Digoxine                                   | 96 (13)          | 34 (14)                   | 38 (15)                       | 24 (10)                   | 0.166   |
| Statins                                    | 426 (57)         | 147 (59)                  | 139 (56)                      | 140 (57)                  | 0.754   |
| Loop diuretics                             | 655 (88)         | 219 (88)                  | 222 (90)                      | 214 (87)                  | 0.684   |
| Anticoagulants                             | 356 (48)         | 107 (43)                  | 118 (48)                      | 131 (53)                  | 0.079   |
| ICD  | 22 (3)           | 11 (5)                    | 2 (1)                         | 9 (4)                     | 0.046   |
| CRT  | 10 (1)           | 4 (2)                     | 4 (2)                         | 2 (1)                     | 0.68    |
| Serum levels                               |                  |                           |                               |                           |         |
| Hemoglobin, g/dL                           | 12.4±1.8         | 12.5±1.8                  | 12.6±1.8                      | 12.5±1.9                  | 0.87    |
| Ferritin, µg/L [IQR]                       | 142 [73–272]     | 141 [75–262]              | 132 [71–251]                  | 155 [70–289]              | 0.229*  |
| TSAT, %                                    | 17.8 [12.2–24.5] | 18.4 [12.8–25.5]          | 19.1 [13.1–25.2]              | 16.1 [11.2–23.3]          | <0.001* |
| Transferrin                                | 248±47           | 243±41                    | 249±46                        | 251±51                    | 0.116   |
| Raised sTfR, n (%)                         | 133 (25)         | 38 (24)                   | 38 (20)                       | 57 (30)                   | 0.058*  |

Continued

Table 1. Continued

|                                      | Overall<br>n=742 | T1 (<414 pg/mL)<br>n=248 | T2 (414–654 pg/mL)<br>n=248 | T3 (>654 pg/mL)<br>n=246 | P Value |
|--------------------------------------|------------------|--------------------------|-----------------------------|--------------------------|---------|
| Ferritin index, [IQR]                | 0.76 [0.54–1.14] | 0.72 [0.53–1.14]         | 0.72 [0.55–1.06]            | 0.8 [0.56–1.20]          | 0.348*  |
| Serum iron, mg/dL [IQR]              | 57 [42–79]       | 56 [41–77]               | 61 [43–84]                  | 52 [40–74]               | 0.007*  |
| Endogenous erythropoietin, U/L [IQR] | 15 [9–25]        | 14.1 [8–22]              | 15 [9–25]                   | 17 [9–26]                | 0.267*  |

Data are presented as means±SD, medians (25th–75th percentile), or numbers (with percentages), where appropriate. Anemia is defined as hemoglobin level <12 g/dL in women and <13 g/dL in men. Impaired iron transport is defined as TSAT <20%; impaired iron storage is defined as ferritin <100 µg/L; and impaired iron status is defined as ferritin <100 µg/L or TSAT <20%. Raised sTfR = soluble transferrin receptor >75th percentile. ACEI indicates angiotensin-converting enzyme inhibitor; ARB, angiotensin receptor blocker; BMI, body mass index; BP, blood pressure; CKD, chronic kidney disease; COPD, chronic obstructive pulmonary disease; CRT, cardiac resynchronization therapy; ferritin index, sTfR/log<sub>10</sub>[ferritin]; HFmrEF, heart failure with mid-range ejection fraction (defined as LVEF 40–49%); HFpEF, heart failure with preserved ejection fraction (defined as LVEF >50%); HFrEF, heart failure with reduced ejection fraction (defined as LVEF <40%); ICD, implantable cardioverter-defibrillator; LVEDD, left ventricular end diastolic diameter; LVEF, left ventricular ejection fraction; NT-proBNP, N-terminal pro-brain-type natriuretic peptide; NYHA, New York Heart Association functional class; sTfR, soluble transferrin receptor; TSAT, transferrin saturation; T1, first tertile; T2, second tertile; T3, third tertile.

\*P value from nonparametric tests (Kruskal–Wallis).

### Unadjusted Associations Between Norepinephrine and Serum Iron Status Biomarkers

Figure 1 displays crude (unadjusted) associations between norepinephrine levels (log transformed) and levels of each iron deficiency biomarker. There was evidence of an inverse, nonlinear association between higher norepinephrine levels and lower TSAT (*P* value for linear component, 0.001; *P* value for the nonlinear component, 0.046) and of a positive, linear association between norepinephrine levels and sTfR (*P* value for the linear component, 0.007). In contrast, there was no evidence of a crude association between norepinephrine levels and ferritin.

In univariate logistic regression analyses (Table 2), both a log-unit increase in norepinephrine levels as well as a norepinephrine level >90th percentile (as compared with <90th percentile) was significantly associated with higher odds of iron deficiency.

### Other Factors Associated With Serum Iron Status Biomarkers in Unadjusted Analyses

Table 2 presents the baseline variables that showed statistically significant associations with abnormal iron status in bivariate logistic regression analyses. Hyponatremia, anemia, and norepinephrine levels were the strongest, statistically significant clinical predictors.

### Multivariable-Adjusted Associations Between Norepinephrine and Serum Iron Status Biomarkers

In line with the main objectives of the study, multivariable logistic regression analyses adjusting for variables significantly associated with iron deficiency were performed. High

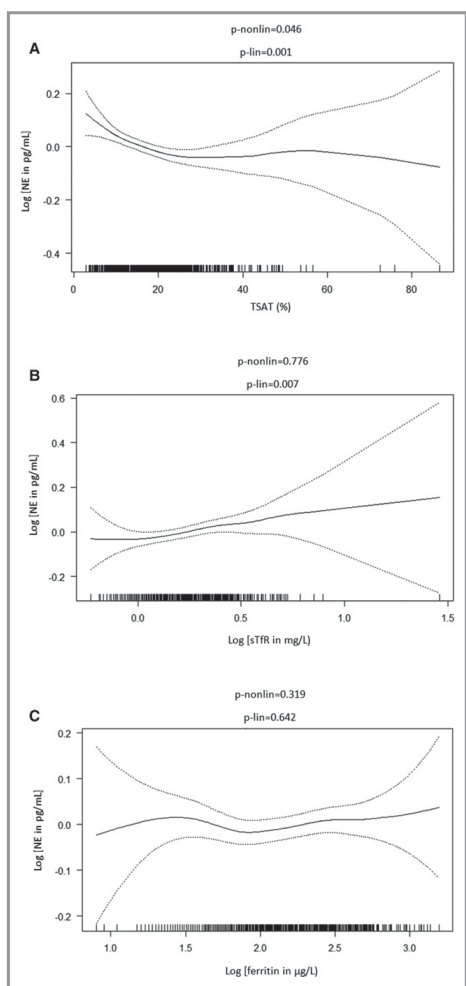
levels of norepinephrine (defined as norepinephrine >90th percentile of the distribution, as compared to norepinephrine ≤90th percentile) were significantly associated with impaired iron status (odds ratio, 2.21; 95% CI, 1.11–4.41), impaired iron transport (odds ratio, 2.28; 95% CI, 1.19–4.35), and increased iron demand (odds ratio, 2.23; 95% CI, 1.24–4.01), whereas it was not associated with impaired iron storage (low ferritin alone) or with presence of anemia (Table 3). Interestingly, the association between norepinephrine levels and the different biomarkers suggesting iron deficiency was independent of LVEF. We examined the interaction between LVEF categories and this association, and it was not significant (*P*=0.865).

To analyze the association between iron deficiency and norepinephrine, which was the main objective of the study, we performed bi- and multivariable-adjusted linear regression analyses between increasing levels of log-transformed norepinephrine and levels of several serum iron status biomarkers. Results are presented in Table 4. Norepinephrine levels were inversely associated with TSAT ( $\beta$ =−0.124; *P*=0.003) and were positively associated with sTfR levels ( $\beta$ =0.115; *P*=0.006). On the other hand, there was no statistically significant association of norepinephrine levels with either ferritin or hemoglobin. Multivariate models analyzing iron status were adjusted by factors associated with abnormal iron status represented in Table 2 and also body mass index, because it remained at the limit of significance in the univariate analysis (odds ratio, 1.027 [0.997–1.057]; *P*=0.075).

### Multivariable-Adjusted Associations Between Serum Iron Status and Norepinephrine Levels

Figure 2 displays the adjusted marginal means of serum norepinephrine according to different iron deficient and anemia states, obtained using fitted general linear models.





**Figure 1.** Unadjusted associations between norepinephrine levels (log-transformed) and levels of serum biomarkers of iron status. The associations were calculated using generalized additive models (GAM). Association between log norepinephrine serum levels and log TSAT (A), log NE serum levels and log sTfR (B), and log norepinephrine serum levels and log ferritin (C). sTfR indicates soluble transferrin receptor; TSAT, transferrin saturation.

Results were consistent with the previous analyses: Norepinephrine levels were significantly higher in patients with impaired iron status than in those with normal iron status (528 [505–551] versus 482 pg/mL [448–518];  $P$  value,

**Table 2.** Baseline Variables With Statistically Significant Associations With Abnormal Iron Status in Bivariate Logistic Regression Analyses

|   | OR (95% CI)         | $P$ Value |
|---|---------------------|-----------|
| Age (per y)                               | 1.026 (1.012–1.040) | <0.001    |
| Sex (male vs female)                      | 1.654 (1.198–2.284) | 0.002     |
| DM (yes vs no)                            | 1.533 (1.116–2.105) | 0.008     |
| SBP (per mm Hg)                           | 1.008 (1.001–1.015) | 0.021     |
| LVEF (per 1%)                             | 1.012 (1.003–1.021) | 0.012     |
| eGFR (per 1 mL/min/1.73 cm <sup>2</sup> ) | 0.991 (0.985–0.997) | 0.006     |
| logNT-proBNP (per 1 pg/mL)                | 1.553 (1.187–2.031) | 0.001     |
| Albumin (per 1 g/dL)                      | 0.555 (0.388–0.792) | 0.001     |
| hs-CRP (per 1 mg/L)                       | 1.183 (1.076–1.301) | 0.001     |
| Hemoglobin (per 1 g/dL)                   | 0.727 (0.662–0.797) | <0.001    |
| Anemia (yes vs no)                        | 2.707 (1.912–3.833) | <0.001    |
| ACEI (yes vs no)                          | 0.486 (0.345–0.684) | <0.001    |
| ARB (yes vs no)                           | 2.066 (1.322–3.229) | 0.001     |
| HDZ+NTG (yes vs no)                       | 2.060 (1.335–3.181) | 0.001     |
| MRA (yes vs no)                           | 0.718 (0.524–0.984) | 0.039     |
| Na <135 (yes vs no)                       | 2.844 (1.091–7.411) | 0.032     |
| NYHA III to IV (yes vs no)                | 1.438 (1.045–1.977) | 0.026     |
| logNE (per log 1 pg/mL)                   | 2.026 (1.091–3.762) | 0.025     |
| NE>p90 (yes vs no)                        | 2.737 (1.414–5.299) | 0.003     |

Anemia is defined as hemoglobin level <12 g/dL in women and <13 g/dL in men. Impaired iron status is defined as ferritin <100 µg/L or TSAT <20%. ACEI indicates angiotensin-converting enzyme inhibitor; ARB, angiotensin receptor blocker; DM, diabetes mellitus; eGFR, estimated glomerular filtration rate; HDZ+NTG, hydralazine and nitrates; hs-CRP, high-sensitivity C-reactive protein; logBNP, log N-terminal pro-brain-type natriuretic peptide; logNE, log norepinephrine concentration; LVEF, left ventricular ejection fraction; MRA, mineralocorticoid receptor antagonists; NE>p90, norepinephrine serum concentration >90th percentile (1050 pg/mL); NYHA, New York Heart Association functional class; SBP, systolic blood pressure.

0.038); in patients with impaired iron transport than in those with normal iron transport (537 [511–566] versus 482 pg/mL [452–513];  $P$  value, 0.012); and in patients with increased iron demand defined as levels of sTfR >75th percentile than in those with normal iron demand (590 [540–646] versus 518 pg/mL [492–545];  $P$  value, 0.014).

Also, there was a progressive increase in adjusted norepinephrine marginal means in each consecutive sTfR quartile. In contrast, adjusted norepinephrine levels were not significantly different according to iron storage or anemia status (all  $P>0.05$ ).

## Discussion

In a sample of 742 patients with CHF, raised norepinephrine levels were associated with impaired iron status and, particularly, with those biomarkers that suggest impaired

**Table 3.** Bi- and Multivariate-Adjusted Associations Between High Norepinephrine Levels (>90th Percentile) and Impaired Iron Status States

|                         | Raised Norepinephrine |                |         |                 |                |         |
|-------------------------|-----------------------|----------------|---------|-----------------|----------------|---------|
|                         | Unadjusted Models     |                |         | Adjusted Models |                |         |
|                         | OR                    | 95% CI         | P Value | OR              | 95% CI         | P Value |
| Impaired iron status    | 2.589                 | 1.334 to 5.025 | 0.005   | 2.206           | 1.105 to 4.405 | 0.025   |
| Impaired iron transport | 2.824                 | 1.566 to 5.095 | 0.001   | 2.276           | 1.192 to 4.346 | 0.013   |
| Impaired iron storage   | 1.083                 | 0.656 to 1.787 | 0.756   | 1.253           | 0.728 to 2.155 | 0.415   |
| Increased iron demand   | 2.376                 | 1.339 to 4.215 | 0.003   | 2.229           | 1.239 to 4.009 | 0.007   |
| Anemia                  | 1.606                 | 0.983 to 2.622 | 0.058   | 1.149           | 0.657 to 2.009 | 0.627   |

Anemia is defined as hemoglobin level <12 g/dL in women and <13 g/dL in men. Impaired iron transport is defined as TSAT <20%; impaired iron storage is defined as ferritin <100 µg/L; impaired iron status is defined as ferritin <100 µg/L or TSAT <20%; and increased iron demand is defined as soluble transferrin receptor >75th percentile. Raised norepinephrine = norepinephrine serum concentration >90th percentile. OR indicates odds ratio.

iron transport (TSAT <20%) and increased iron demand (raised levels of sTfR). This is particularly important given that these 2 iron-deficient states have been shown to strongly correlate with worse clinical profile and prognosis in patients with CHF.<sup>20</sup> Given the proven role of neurohormonal activation and, particularly, sympathetic activation in the pathophysiological cascade leading to, and promoting the progression of, CHF, the new data emerging from our study are particularly relevant given that they may support the hypothesis that iron deficiency might not just be a comorbidity, but could also be a key element in the pathophysiological sequence leading to, and promoting the progression of, CHF. To the best of our knowledge, this is the first clinical study suggesting a potential interplay between norepinephrine levels as a surrogate of activation of the sympathetic system and the frequent dysregulation of iron metabolism observed in patients with CHF.

It is well known that iron deficiency is common in patients with CHF, and it is associated with worse quality of life, functional capacity, and prognosis.<sup>1–6</sup> The negative impact of iron deficiency may not only be explained by the role of iron in erythropoiesis, but may also be driven by the effects of iron in cardiomyocyte function and, particularly, in mitochondrial respiration. These effects have been confirmed in cellular models where iron deficiency in the cardiomyocyte leads to mitochondrial dysfunction, hypertrophy, impaired cardiomyocyte contractility, and ventricular dysfunction<sup>21–28</sup> and where restoration of intracellular iron levels reversed these effects.<sup>27–29</sup> Haddad et al showed, in an animal model of cardiac iron deficiency, that the myocardium of these animals showed impaired mitochondrial respiration at the cardiomyocyte level and a blunted response in ventricular contractility after administration of dobutamine. Interestingly, these abnormalities were reversed after administration of intravenous iron.<sup>27</sup> At a clinical level, cohort studies conducted in healthy individuals in whom impaired iron status was associated with

higher risk of developing heart failure (HF) over time may give further support to the hypothesis that iron may be involved in the pathophysiological sequence leading to HF.<sup>30</sup>

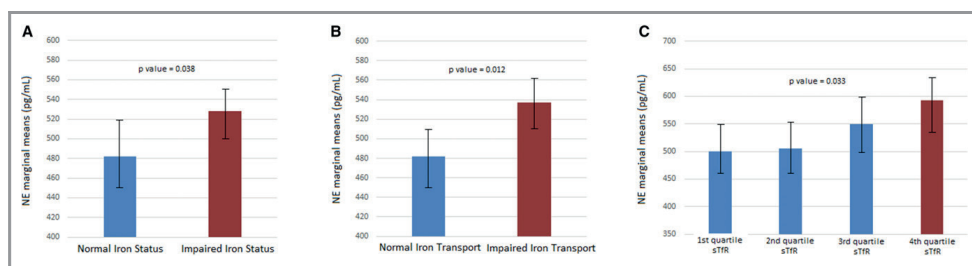
Disturbances in energy metabolism at the cellular level and impairment of the contractile function of cardiomyocytes and skeletal muscle cells as a result of iron deficiency may affect patients across all LVEF categories and may promote disease progression in all of them.

A previous study of our group showed that the particular iron states that are associated with a worse clinical profile and prognosis are those that entail abnormalities in the transport of iron or an increased demand of iron at the cellular level. However, in the above-mentioned study, isolated abnormalities at the storage level, represented by normal TSAT and low ferritin, were associated with a clinical profile and prognosis undistinguishable from patients with CHF and normal iron status.<sup>20</sup> Interestingly, in the present study, a raised sympathetic nervous system (SNS) activity, represented by raised norepinephrine levels, was particularly associated with biomarkers suggesting abnormalities in iron

**Table 4.** Bivariate and Multivariate-Adjusted Associations Between Increasing Levels of NE and Levels of Iron Status Biomarkers (All Log-Transformed)

|              | log NE            |        |         |                 |        |         |
|--------------|-------------------|--------|---------|-----------------|--------|---------|
|              | Unadjusted Models |        |         | Adjusted Models |        |         |
|              | R <sup>2</sup>    | B      | P Value | R <sup>2</sup>  | B      | P Value |
| log iron     | 0.014             | −0.120 | 0.001   | 0.379           | −0.071 | 0.019   |
| log ferritin | 0.000             | −0.017 | 0.642   | 0.084           | 0.024  | 0.503   |
| log TSAT     | 0.022             | −0.148 | <0.001  | 0.255           | −0.124 | 0.003   |
| log sTfR     | 0.014             | 0.116  | 0.007   | 0.076           | 0.115  | 0.006   |
| log Hb       | 0.002             | −0.039 | 0.288   | 0.245           | 0.005  | 0.878   |

logHb indicates log haemoglobin; log NE, log norepinephrine; logsTfR, log soluble transferrin receptor; logTSAT, log transferrin saturation.



**Figure 2.** Predicted adjusted marginal means of serum norepinephrine levels by iron status categories. Norepinephrine adjusted marginal means calculated with general linear models according to (A) iron status, (B) iron transport, and (C) iron demand: sTfR classified in quartiles (Q1  $\leq 1.21$  mg/L; Q2 1.22–1.60 mg/L; Q3 1.61–2.24 mg/L; Q4  $\geq 2.25$  mg/L). Impaired iron status was defined as TSAT  $< 20\%$  or ferritin  $< 100$  ng/mL. Impaired iron transport was defined as TSAT  $< 20\%$ . sTfR indicates soluble transferrin receptor; TSAT, transferrin saturation.

transport and increased iron demand at the cellular level. This association was independent of relevant factors such as body mass index and inflammatory status.<sup>31,32</sup>

It has been suggested that systemic iron depletion may precede iron deficiency at the myocardial level. Occult blood loss attributed to use of antiplatelet agents or anticoagulants, poor intake of iron in diet, and reduced intestinal absorption attributed to inflammation, among other factors, have been suggested as potential causes of systemic iron deficiency in these patients.<sup>33</sup> However, despite these assumptions, the exact mechanisms by which CHF patients develop iron deficiency at a systemic and myocardial level are still unknown. In consequence, it is important to investigate alternative mechanisms that may lead to iron deficiency at the cardiomyocyte level on top of systemic iron deficiency. From this point of view, the interplay between iron metabolism disturbances and neurohormonal activation represented by raised levels of norepinephrine in patients with CHF observed in our study needs to be taken into account. Activation of the SNS, which involves an elevation of serum norepinephrine levels, has long-term deleterious effects on CHF and is one of the main therapeutic targets in HF.<sup>7,8</sup> From our data, we suggest that the SNS could play a role in dysregulation of iron homeostasis in patients with CHF. Our observations are consistent with those from basic science models. Exposure of adult cardiomyocyte to norepinephrine leads to a downregulation of type 1 transferrin receptor expression.<sup>16</sup> These molecular changes may lead to intracellular iron depletion. In the same study, exposure of cardiomyocytes to the beta agonist, isoprenaline, also entails downregulation of type 1 transferrin receptor.<sup>16</sup> In another study, Melenovsky et al analyzed cardiomyocytes from hearts of patients transplanted because of advanced HF.<sup>29</sup> Compared with controls, cardiomyocytes of patients with HF showed reduced levels of intracellular iron. In this study, iron deficiency at the myocardial level was associated with a lower treatment rate

with beta-blockers. This association may give further support to the hypothesis that the modulation of the neurohormonal drive of the sympathetic system by using beta-blockers may interplay with the development of iron abnormalities at the myocardial level in patients with HF.

Taking all into account, we may hypothesize that iron deficiency might be a relevant factor involved in the complex pathophysiological cascade of HF given that it may be involved in the initiation and progression of the functional abnormalities observed in these patients leading to clinical events and functional impairments. According to this hypothesis, iron deficiency may be not just an “unpleasant innocent bystander,” but a key factor actively involved in the mechanisms involved in onset and progression of CHF.

### Study Limitations

Our study has several limitations that must be discussed. First of all, in this study, we conducted a cross-sectional analysis; therefore, causality may not be inferred. The deleterious influence between the 2 terms of the equation may be bidirectional. Raised norepinephrine levels as an expression of sympathetic activation may promote iron depletion at a cellular level, particularly in patients with systemic iron deficiency; on the other hand, it is also possible that systemic iron deficiency may lead to a greater impairment in cardiomyocyte function and mitochondrial function that would lead to more-pronounced oxidative stress, cardiomyocyte death, pump failure, and an enhanced (compensatory) neurohormonal activation represented by raised norepinephrine levels. This will promote HF progression and clinical adverse events.

Second, because this was a single-center study, our findings may not be representative of other CHF patient populations. Third, SNS activity is a complex concept that entails several biomarkers and measures. Using norepinephrine levels as a marker of sympathetic activation may

be seen as a simplification of the SNS. Third, SNS activity is a complex concept that may be defined by combined information obtained from several biomarkers and functional measures. According to this, estimation of SNS activity based on norepinephrine levels alone may be considered an oversimplification. Nevertheless, this parameter was used as a surrogate of the SNS when the neurohormonal hypothesis was developed and guided the development of key therapeutic strategies for treatment of CHF patients. Although sample processing and the laboratory method of analysis of norepinephrine are complex and may be seen as limitations of our study, we want to highlight that the procedures followed for obtaining and processing the samples and for measuring norepinephrine levels were accurate and based on standardized laboratory methods.

And, fourth, we used biomarkers that indirectly estimate the true iron status; however, these biomarkers are those used in daily clinical practice.<sup>29,34</sup>

## Conclusions

In patients with CHF, an increased sympathetic activation estimated with raised norepinephrine levels is associated with impaired iron status. Specifically, we observed robust, independent associations between norepinephrine levels and dysregulation of biomarkers suggesting impaired iron transport (low TSAT) and increased iron demand (raised sTfR), whereas no associations were identified with iron storage (ferritin) or presence of anemia. Longitudinal studies are needed to better understand the directionality and potential causal relationship underlying the observed associations.

## Sources of Funding

This work was supported by an unrestricted grant from Vifor Pharma for editorial support and open access of the publication.

## Disclosures

Comin-Colet has received speaker fees from Vifor Pharma. The remaining authors have no disclosures to report.

## References

- Klip IT, Comin-Colet J, Voors AA, Ponikowski P, Enjuanes C, Banasiak W, Lok DJ, Rosentryt P, Torrens A, Polonski L, van Veldhuisen DJ, van der Meer P, Jankowska EA. Iron deficiency in chronic heart failure: an international pooled analysis. *Am Heart J*. 2013;165:575–582.
- Comin-Colet J, Enjuanes C, González G, Torrens A, Cladellas M, Meroño O, Ribas N, Ruiz S, Gómez M, Verdú JM, Bruguera J. Iron deficiency is a key determinant of health-related quality of life in patients with chronic heart failure regardless of anaemia status. *Eur J Heart Fail*. 2013;15:1164–1172.
- Enjuanes C, Klip IT, Bruguera J, Cladellas M, Ponikowski P, Banasiak W, van Veldhuisen DJ, van der Meer P, Jankowska EA, Comin-Colet J. Iron deficiency and health-related quality of life in chronic heart failure: results from a multicenter European study. *Int J Cardiol*. 2014;174:268–275.
- Enjuanes C, Bruguera J, Grau M, Cladellas M, Gonzalez G, Meroño O, Moliner-Borja P, Verdú JM, Farré N, Comin-Colet J. Iron status in chronic heart failure: impact on symptoms, functional class and submaximal exercise capacity. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2016;69:247–255.
- Bojarczuk J, Josiak K, Kasztura M, Kustrzycka-Kratochwil D, Nowak K, Jagielski D, Banasiak W, Jankowska EA, Ponikowski P. Iron deficiency in heart failure: impact on response to cardiac resynchronization therapy. *Int J Cardiol*. 2016;222:133–134.
- Martens P, Verbrugge F, Nijst P, Dupont M, Tang WH, Mullens W. Impact of iron deficiency on response to and remodeling after cardiac resynchronization therapy. *Am J Cardiol*. 2017;119:65–70.
- Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, Butler J, Casey DE Jr, Colvin MM, Drazner MH, Filippatos GS, Fonarow GC, Givertz MM, Hollenberg SM, Lindenfeld J, Masoudi FA, McBride PE, Peterson PN, Stevenson LW, Westlake C. 2017 ACC/AHA/HFSA Focused Update of the 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines and the Heart Failure Society of America. *J Am Coll Cardiol*. 2017;70:776–803.
- Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JGF, Coats AJS, Falk V, González-Juanatey JR, Harjola VP, Jankowska EA, Jessup M, Linde C, Nihoyannopoulos P, Parissis JT, Pieske B, Riley JP, Rosano GMC, Rusoiu LM, Ruschitzka F, Rutten FH, van der Meer P; ESC Scientific Document Group. 2016 ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2016;37:2129–2200.
- Anker SD, Comin-Colet J, Filippatos G, Willenheimer R, Dickstein K, Drexler H, Lüscher TF, Bart B, Banasiak W, Niegowska J, Kirwan BA, Mori C, von Eisenhart Rothe B, Pocock SJ, Poole-Wilson PA, Ponikowski P; FAIR-HF Trial Investigators. Ferric carboxymaltose in patients with heart failure and iron deficiency. *N Engl J Med*. 2009;361:2436–2448.
- Ponikowski P, van Veldhuisen DJ, Comin-Colet J, Ertl G, Komajda M, Mareev V, McDonagh T, Parkhomenko A, Tavazzi L, Levesque V, Mori C, Roubert B, Filippatos G, Ruschitzka F, Anker SD; CONFIRM-HF Investigators. Beneficial effects of long-term intravenous iron therapy with ferric carboxymaltose in patients with symptomatic heart failure and iron deficiency. *Eur Heart J*. 2015;36:657–668.
- Hjalmarson A, Goldstein S, Fagerberg B, Wedel H, Waagstein F, Kjekshus J, Wikstrand J, ElAllaf D, Vitovec J, Aldershvile J, Halinen M, Dietz R, Neuhaus KL, Jánosi A, Thorgeirsson G, Dunselman PH, Gullestad L, Kuch J, Herlitz J, Rickenbacher P, Ball S, Gottlieb S, Deedwania P; MERIT-HF Study Group. Effects of controlled-release metoprolol on total mortality, hospitalizations, and wellbeing in patients with heart failure: the Metoprolol CR/XL Randomized Intervention Trial in congestive Heart Failure (MERIT-HF). *JAMA*. 2000;283:1295–1302.
- Packer M, Coats AJ, Fowler MB, Katus HA, Krum H, Mohacsi P, Rouleau JL, Tendera M, Castaigne A, Roecker EB, Schultz MK, DeMets DL. Effect of carvedilol on survival in severe chronic heart failure. *N Engl J Med*. 2001;344:1651–1658.
- Packer M, Bristow MR, Cohn JN, Colucci WS, Fowler MB, Gilbert EM, Shusterman NH. The effect of carvedilol on morbidity and mortality in patients with chronic heart failure. *N Engl J Med*. 1996;334:1349–1355.
- Packer M. Effect of carvedilol on the morbidity of patients with severe chronic heart failure: results of the Carvedilol Prospective Randomized Cumulative Survival (COPERNICUS) Study. *Circulation*. 2002;106:2194–2199.
- Flather MD, Shibata MC, Coats AJS, Van Veldhuisen DJ, Parkomenko A, Borbola J, Cohen-Solal A, Dumitrascu D, Ferrari R, Lechat P, Soler-Soler J, Tavazzi L, Spinarova L, Toman J, Böhm M, Anker SD, Thompson SG, Poole-Wilson PA; SENIORS Investigators. Randomized trial to determine the effect of nebivolol on mortality and cardiovascular hospital admission in elderly patients with heart failure (SENIORS). *Eur Heart J*. 2005;26:215–225.
- 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*. 2011;58:474–480.
- Farré N, Aranyó J, Enjuanes C, Verdú-Rotellar JM, Ruiz S, Gonzalez-Robledo G, Meroño O, de Ramon M, Moliner P, Bruguera J, Comin-Colet J. Differences in neurohormonal activity partially explain the obesity paradox in patients with heart failure: the role of sympathetic activation. *Int J Cardiol*. 2015;181:120–126.
- Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. *Ann Intern Med*. 1999;130:461–470.
- Nutritional anaemias. Report of a WHO scientific group. *World Health Organ Tech Rep Ser*. 1968;405:5–37.

20. Moliner P, Jankowska EA, van Veldhuisen DJ, Farre N, Rozentryt P, Enjuanes C, Polonski L, Meroño O, Voors AA, Ponikowski P, Van der Meer P, Comin-Colet J. Clinical correlates and prognostic impact of impaired iron storage versus impaired iron transport in an international cohort of 1821 patients with chronic heart failure. *Int J Cardiol.* 2017;243:360–366.
21. Chen C, Paw BH. Cellular and mitochondrial iron homeostasis in vertebrates. *Biochim Biophys Acta.* 2012;1823:1459–1467.
22. Anderson GJ, Vulpe CD. Mammalian iron transport. *Cell Mol Life Sci.* 2009;66:3241–3261.
23. Richardson DR, Lane DJ, Becker EM, Huang ML, Whitnall M, Suryo Rahmanto Y, Sheftel AD, Ponka P. Mitochondrial iron trafficking and the integration of iron metabolism between the mitochondrion and cytosol. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010;107:10775–10782.
24. Bayeva M, Ardehali H. Mitochondrial dysfunction and oxidative damage to sarcomeric proteins. *Curr Hypertens Rep.* 2010;12:426–432.
25. Bayeva M, Gheorghade M, Ardehali H. Mitochondria as a therapeutic target in heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2013;61:599–610.
26. Naito Y, Tsujino T, Matsumoto M, Sakoda T, Ohyanagi M, Masuyama T. Adaptive response of the heart to long-term anemia induced by iron deficiency. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2009;296:H585–H593.
27. Haddad S, Wang Y, Galy B, Korf-Klingebiel M, Hirsch V, Baru AM, Rostami F, Rebolli MR, Heineke J, Flögel U, Groos S, Renner A, Toischer K, Zimmermann F, Engeli S, Jordan J, Bauersachs J, Hentze MW, Wollert KC, Kempf T. Iron-regulatory proteins secure iron availability in cardiomyocytes to prevent heart failure. *Eur Heart J.* 2017;38:362–372.
28. Hoes MF, Grote Beverborg N, Kijlstra JD, Kuipers J, Swinkels DW, Giepmans BN, Rodenburg RJ, van Veldhuisen DJ, de Boer RA, van der Meer P. Iron deficiency impairs contractility of human cardiomyocytes through decreased mitochondrial function. *Eur J Heart Fail.* 2018;20:910–919.
29. Melenovsky V, Petrak J, Mracek T, Benes J, Borlaug BA, Nuskova H, Pluhacek T, Spatenka J, Kovalcikova J, Drahota Z, Kautzner J, Pirk J, Houstek J. Myocardial iron content and mitochondrial function in human heart failure: a direct tissue analysis. *Eur J Heart Fail.* 2017;19:522–530.
30. Silvestre OM, Gonçalves A, Nadruz W Jr, Claggett B, Couper D, Eckfeldt JH, Pankow JS, Anker SD, Solomon SD. Ferritin levels and risk of heart failure—the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Eur J Heart Fail.* 2017;19:340–347.
31. Tkaczyszyn M, Drozd M, Węgrzynowska-Teodorczyk K, Flinta I, Kobak K, Banasiak W, Ponikowski P, Jankowska EA. Depleted iron stores are associated with inspiratory muscle weakness independently of skeletal muscle mass in men with systolic chronic heart failure. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2018;9:547–556.
32. Van Aelst LNL, Abraham M, Sadoune M, Lefebvre T, Manivet P, Logeart D, Launay JM, Karim Z, Puy H, Cohen-Solal A. Iron status and inflammatory biomarkers in patients with acutely decompensated heart failure: early in-hospital phase and 30-day follow-up. *Eur J Heart Fail.* 2017;19:1075–1076.
33. Jankowska EA, Rozentryt P, Witkowska A, Nowak J, Hartmann O, Ponikowska B, Borodulin-Nadzieja L, Banasiak W, Polonski L, Filippatos G, McMurray JJ, Anker SD, Ponikowski P. Iron deficiency: an ominous sign in patients with systolic chronic heart failure. *Eur Heart J.* 2010;31:1872–1880.
34. Grote Beverborg N, Klip IT, Meijers WC, Voors AA, Vegter EL, van der Wal HH, Swinkels DW, van Pelt J, Mulder AB, Bulstra SK, Vellenga E, Mariani MA, de Boer RA, van Veldhuisen DJ, van der Meer P. Definition of iron deficiency based on the gold standard of bone marrow iron staining in heart failure patients. *Circ Heart Fail.* 2018;11:e004519.

# Resultados



# 3

## Resumen global de resultados

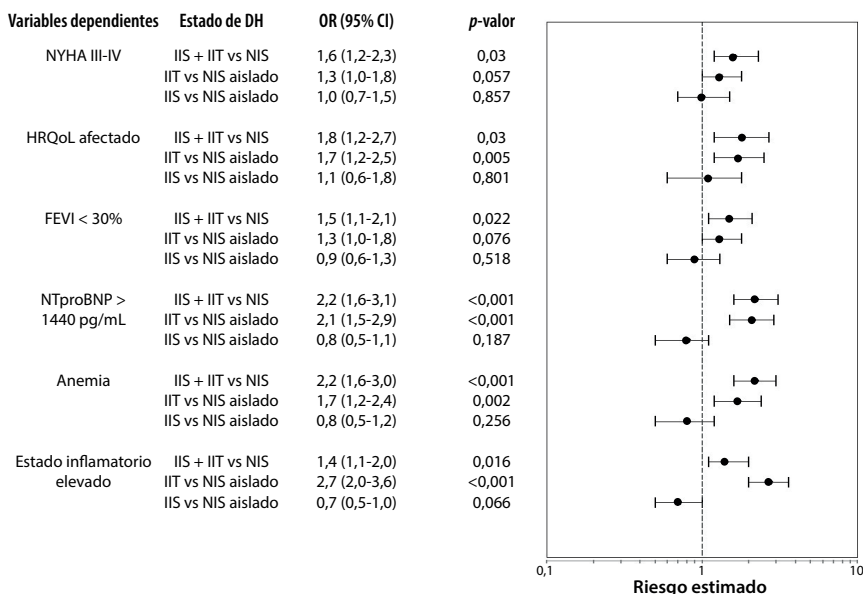
Se realizó un estudio a partir de los pacientes del European Iron Consortium (EIC), compuesto por 1821 pacientes con IC crónica de cinco cohortes diferentes reclutadas en Polonia, España y Holanda, y que abarcaban todo el espectro de FEVI. Ninguno de los pacientes recibió transfusiones de sangre, terapia con eritropoyetina o terapia con hierro por vía intravenosa en el momento de la inclusión.

Clasificamos los pacientes en cuatro grupos diferentes en función de su perfil del hierro. El primer grupo representa el estado normal de hierro (*normal iron status*, NIS) y lo definimos como ferritina  $\geq 100 \mu\text{g/L}$  e IST  $\geq 20\%$ , que sugiere almacenamiento y transporte de hierro preservados. El segundo grupo representa una deficiencia aislada en el depósito de hierro (*isolated impaired iron storage*, iIIS), definido como niveles bajos de ferritina ( $<100 \mu\text{g/L}$ ) pero IST normal ( $\geq 20\%$ ). El tercer grupo representa un deterioro aislado del transporte de hierro (*isolated impaired iron transport*, iIIT) definido como IST bajo ( $<20\%$ ) pero ferritina normal ( $\geq 100 \mu\text{g/L}$ ). Finalmente, describimos un cuarto grupo que representa la coexistencia de la alteración en depósito y transporte de hierro (IIS + IIT) definido como ferritina  $< 100 \mu\text{g/L}$  y también IST  $<20\%$ .

Observamos una alteración aislada en los depósitos del hierro (iIIS) en 219 pacientes (12%), alteración aislada en el transporte del hierro (iIIT) en 454 pacientes (25%) y la combinación de ambas condiciones (IIS + IIT) en 389 pacientes (21%). Teniendo en cuenta estos datos podemos decir que en el 58% de los pacientes existía alguna anomalía del estado del hierro y el 42% restante (759 pacientes) presentaba un perfil del hierro normal.



### Impacto del estado del hierro en el perfil clínico de pacientes con ICC



**Figura 6.** Resultado del análisis multivariado. Asociación entre cada perfil de hierro y variables clínicas.

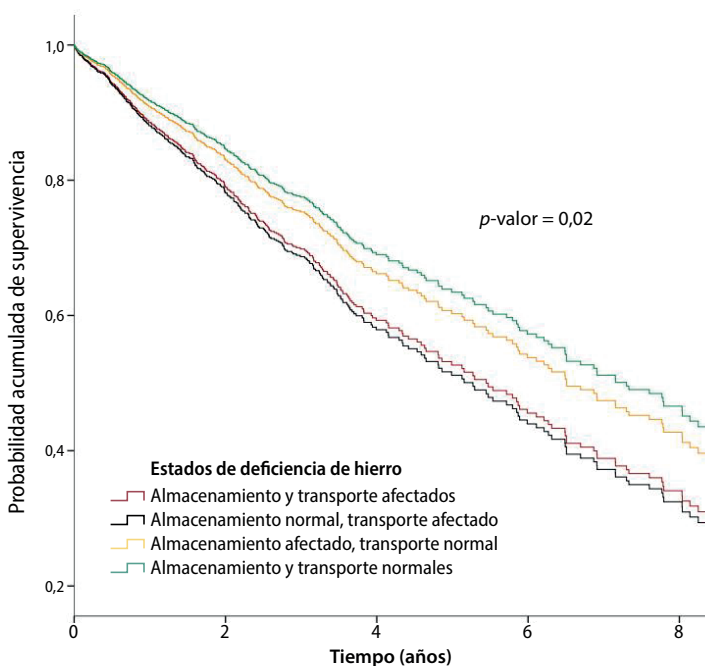
En los análisis no ajustados, los pacientes con iIIS ya parecían tener un mejor perfil clínico que los pacientes con iIIT o la combinación de IIT + IIS, aunque peor perfil clínico que los pacientes con estado del hierro normal. La estratificación por clase funcional de la NYHA reveló que el perfil de hierro normal y la alteración aislada en el depósito del hierro (iIIS) eran más frecuentes en los grupos con mejor clase funcional, mientras que la alteración aislada en el transporte del hierro (iIIT) y la combinación de la alteración de depósito y transporte (IIT + IIS) eran más prevalentes en las clases funcionales III y IV de la NYHA.

Para ampliar el conocimiento del estado del hierro de cada grupo analizamos la demanda de hierro mediante las concentraciones de sTfR. La proporción de pacientes con una mayor demanda de hierro (definida como sTfR por encima del límite de referencia) disminuyó progresivamente desde el grupo combinado IIS + IIT, pasando por el grupo iIIT hasta el grupo iIIS, y esta proporción fue a su vez significativamente más alta en iIIS que en los pacientes con un estado del hierro normal ( $p$ -valor < 0,001). Esto sugiere una mayor demanda tisular de hierro en todos los grupos con estado del hierro alterado comparados con los pacientes con un estado del hierro

normal, pero de nuevo son los grupos que incluyen alteración en el transporte los que presentan mayor severidad.

En los modelos ajustados observamos que, en comparación con el grupo de pacientes con perfil de hierro normal, la combinación de IIS + IIT, y la alteración aislada en el transporte del hierro (iIIT) se asociaron significativamente con una peor calidad de vida relacionada con la salud, mayores concentraciones de péptidos natriuréticos, un mayor riesgo de presentar anemia y un mayor estado inflamatorio. Además, la combinación de IIS + IIT se asoció a clase funcional avanzada y a tener disfunción sistólica del ventrículo izquierdo grave. Por el contrario, aquellos pacientes con alteración aislada de los depósitos del hierro (iIIS) no diferían de los pacientes con perfil del hierro normal en ninguna de las variables clínicas estudiadas.

También encontramos diferencias significativas respecto al pronóstico en función del perfil de hierro. Tomando el estado de hierro normal (NIS) como categoría de referencia, encontramos que la combinación de IIS + IIT (HR 1.41 [1.06–1.86]  $p$ -valor 0,015) y también la alteración aislada en el transporte (HR 1.47 [1.13–1.92]  $p$ -valor 0,004) se asociaron significativamente con un mayor riesgo de muerte por todas las causas. Sin embargo, esto



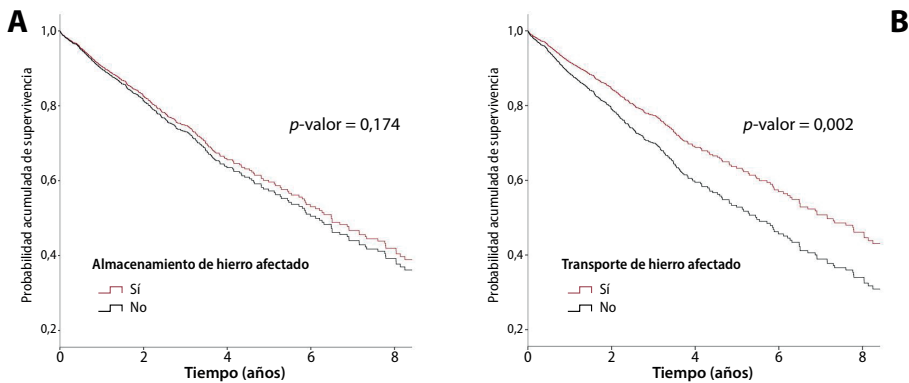
**Figura 7.** Curvas de supervivencia en función de los cuatro perfiles de hierro.

no se cumplía para pacientes con alteración aislada en los depósitos del hierro (HR 1.11 [0.78-1.58],  $p$ -valor 0,549). Como muestra la figura 7, las curvas de supervivencia mostraron claras diferencias entre el patrón del grupo combinado IIS + IIT o el grupo iIIT en comparación con los grupos iIIS y NIS.

Por lo tanto, a partir del análisis de los distintos perfiles de déficit de hierro y a diferencia de la definición actual de DH, nuestros resultados remarcan claramente el valor pronóstico del IST frente a la alteración en la ferritina. Para confirmar el papel protagonista del transporte anormal de hierro en términos de pronóstico y otros parámetros clínicos, se estudiaron por separado las consecuencias de presentar IST bajo (IST < 20%), que reflejaría un transporte de hierro deteriorado independientemente del estado de almacenamiento de hierro, frente a presentar ferritina baja (ferritina < 100  $\mu\text{g/L}$ ), que refleja almacenamiento de hierro deteriorado independientemente del estado del transporte de hierro.

En comparación con los pacientes con perfil de hierro normal, un IST < 20% se asoció con una peor clase funcional NYHA (OR 1.38 [1.07–1.79];  $p$ -valor 0,015), peor calidad de vida (OR 1.64 [1.19–2.26];  $p$ -valor 0,002), FEVI más baja (OR: 1.43 [1.08–1.92];  $p$ -valor 0.014), tasas más altas de anemia (OR 2.08 [1.59–2.73];  $p$ -valor < 0,001) NTproBNP elevado (OR 2.10 [1.61–2.74] ;  $p$ -valor < 0.001) y aumento del estado inflamatorio (OR 2.16 [1.70–2.74];  $p$ -valor < 0.001). Por el contrario, la ferritina < 100  $\mu\text{g/L}$  no se asoció significativamente con ninguna de estas variables clínicas al compararla con el perfil de hierro normal. Finalmente, confirmamos que un IST < 20%, independientemente de los niveles de ferritina, se asoció con un mayor riesgo de mortalidad en comparación con el grupo de perfil de hierro normal (HR: 1,41 [1,13-1,76];  $p$ -valor 0,002), mientras que una ferritina baja, no presentó asociación significativa con mayor mortalidad.

Nuestro siguiente objetivo fue tratar de explicar si estos resultados, así como la propia presencia del déficit de hierro en los pacientes con IC, guardaban alguna relación con la actividad simpática. Para ello, estudiamos los pacientes de la cohorte española del EIC en los que se tenía disponibilidad de los niveles de noradrenalina (NA) en plasma (742 pacientes) para utilizarlos como biomarcador de activación simpática y se estudió su relación con ferritina, IST y sTfR. Definimos «alteración del estado del hierro» como ferritina < 100  $\mu\text{g/L}$  o IST < 20%, y «aumento de la demanda de hierro» como sTfR > percentil 75 de su distribución.



**Figura 8. A:** curvas de supervivencia comparando alteración de los depósitos de hierro vs perfil de hierro normal. **B:** curvas de supervivencia comparando alteración del transporte del hierro vs. perfil de hierro normal.

Del total de la muestra, 515 pacientes (69%) presentaban alguna alteración del estado del hierro (ferritina o IST reducidas). Al analizar los pacientes según los niveles de NA por terciles, observamos que aquellos pacientes en el tercil superior (mayor activación simpática) tenían mayor edad, con mayor frecuencia eran varones y tenían un peor perfil clínico de IC ya que presentaban niveles más altos de NTproBNP, menor índice de masa corporal, y peor clase funcional NYHA que los pacientes en terciles de NA inferiores. Además, en el análisis univariado ya se apreció que a mayor tercil de NA, mayor era la prevalencia de las alteraciones del hierro.

El análisis no ajustado entre niveles de NA y los distintos biomarcadores de la homeostasis del hierro estudiados ya mostró que a mayores niveles de NA existía una asociación con menor IST y con mayor sTfR. Sin embargo, no hubo asociación entre los niveles de NA y ferritina. En los análisis ajustados, los niveles elevados de NA (definido como NA > percentil 90 de la distribución) se asociaron significativamente con alteración del estado del hierro (OR 2,21; IC 95 %, 1,11–4,41), con una IST < 20% (OR 2,28; IC del 95 %, 1,19–4,35) y con aumento de la demanda de hierro (OR 2,23; IC del 95 %, 1,24–4,01), sin embargo, no se asoció con un ferritina < 100 µg/L.

En los análisis de regresión lineal ajustados por aquellos factores que se habían asociado a alteración del estado del hierro, los niveles de NA se asociaron de manera significativa y negativa con el IST ( $\beta = 0,124$ ;  $p$ -valor = 0,003) y se asociaron de manera significativa y positiva con los niveles de sTfR ( $\beta = 0,115$ ;  $p$ -valor = 0,006). Sin embargo, de nuevo no hubo asociación

estadísticamente significativa de los niveles de noradrenalina con ferritina, tampoco con hemoglobina.

Por último, los resultados al calcular las medias marginales ajustadas de NA fueron consistentes con los resultados anteriores: los niveles de NA fueron significativamente más altos en pacientes con alteración del estado del hierro que en aquellos con estado de hierro normal (528 [505–551] versus 482 pg/mL [448–518];  $p$ -valor 0,038); fueron más elevados en pacientes con IST < 20% que en aquellos con IST normal (537 [511–566] versus 482 pg/ml [452–513];  $p$ -valor 0,012); y también fueron significativamente más altos en pacientes con aumento de la demanda de hierro que en aquellos con sTfR por debajo del percentil 75 (590 [540–646] versus 518 pg/ml [492–545];  $p$ -valor 0,014). En contraste, los niveles ajustados de NA no variaron de manera significativa en función de si existía una ferritina <100 µg/L o de la presencia anemia (todos los  $p$ -valor > 0,05).

# Discusión



# 4

## Resumen global de la discusión

El DH en los pacientes con IC comporta peor calidad de vida y peor pronóstico,<sup>98-107</sup> sin embargo, a pesar de su importancia, quedan aspectos muy relevantes que esclarecer. Uno de ellos es el mecanismo por el cual los pacientes con IC presentan déficit de hierro y si este es causa o consecuencia de la enfermedad. Otro aspecto crucial es si estamos diagnosticando de manera apropiada a nuestros pacientes en la práctica clínica diaria, es decir, si la definición dicotómica de DH actual está discriminando correctamente a aquellos pacientes con DH o, por el contrario, podríamos mejorar la valoración del estado del hierro de nuestros pacientes sin tener que llegar a pruebas invasivas o costosas. Consideramos que los resultados de esta tesis doctoral aportan información muy valiosa para responder a estas preguntas.

Sabemos que los pacientes con ICC y DH tienen peor clase funcional, peor capacidad de esfuerzo, peor calidad de vida relacionada con la salud y mayor mortalidad en comparación con los pacientes con un perfil de hierro normal.<sup>98-107</sup> El impacto negativo del déficit de hierro se había atribuido en el pasado únicamente a sus efectos en la eritropoyesis, sin embargo, numerosos estudios han demostrado que este impacto clínico es independiente de la presencia de anemia.<sup>81,85,108,111</sup> El déficit de hierro es especialmente relevante en los pacientes con IC por los efectos del hierro en la función de los cardiomiocitos y, particularmente, en la cadena de respiración mitocondrial.<sup>82-89</sup> Estos efectos se han confirmado en modelos celulares donde la deficiencia de hierro en el cardiomiocito conduce a disfunción mitocondrial, hipertrofia, alteración de la contractilidad y finalmente disfunción ventricular y es especialmente relevante que en estos



estudios la restauración de los niveles de hierro intracelular revirtió estos efectos.<sup>90,117,118</sup> En un estudio de Haddad *et al.*, se demostró en un modelo animal de deficiencia de hierro que el miocardio de estos animales mostraba una función mitocondrial alterada y un menor aumento de la contractilidad tras la administración de dobutamina. Estas anomalías también revirtieron después de la administración de hierro intravenoso.<sup>117</sup>

El agotamiento sistémico del hierro se desarrolla como un continuo, desde la reducción en la cantidad de hierro disponible a nivel de depósitos hasta el agotamiento completo del hierro en todos los compartimentos.<sup>97</sup> Sin embargo, la definición actual de DH en los pacientes con ICC utilizando los criterios FAIR-HF no informa sobre los estados intermedios entre el estado normal del hierro en un lado y el agotamiento absoluto de hierro en el otro lado.<sup>9,108,111</sup>

En nuestro trabajo pretendimos explorar si los diferentes estados de DH en pacientes con ICC, según el estado del hierro en los depósitos y en el transporte, se asociaban con un perfil clínico y resultados diferentes. Nuestros resultados muestran cómo la alteración en el transporte del hierro ya sea de manera aislada o combinada también a alteración en los depósitos se asocia con un peor perfil clínico y un mayor riesgo de mortalidad en comparación con pacientes con estado de hierro normal. En contraposición, aquellos pacientes que presentaban una alteración aislada de la ferritina, con IST normal, no presentaron diferencias en perfil clínico ni pronóstico respecto a aquellos con un perfil de hierro sin alteraciones sugiriendo una forma más leve de DH. Todos estos datos sugieren que el transporte de hierro, medido con IST, es el principal factor relacionado con los resultados clínicos y el pronóstico en DH e IC, incluso con niveles normales de ferritina. Consideramos, que esta valoración del estado del hierro aporta más información que la definición actual de DH, es de fácil interpretación y se puede llevar a cabo con biomarcadores de uso común en las analíticas sanguíneas que solicitamos en nuestra práctica clínica diaria.

Podemos sugerir como explicación fisiopatológica de estos resultados, que los estados del hierro que implican una falta de transferencia de hierro a las proteínas efectoras de acción biológica conducirían a un peor estado clínico y un mayor riesgo de eventos, ya que tendrían un mayor impacto a nivel funcional de la célula. Esto se traduciría en una síntesis más baja de hemoglobina y una producción de energía reducida, entre otras consecuencias. Sin embargo, en una reducción aislada de la ferritina

(con IST normal), las anomalías de hierro estarían limitadas a niveles de almacenamiento y es posible que no se hayan traducido en un suministro anormal a las células del organismo lo que tendría implicaciones más leves para el correcto funcionamiento de las células receptoras de ese hierro. En estos casos de alteración aislada de los depósitos, a pesar de un mayor nivel de demanda de hierro (mayor proporción de pacientes con niveles elevados de sTfR en comparación con pacientes con estado normal de hierro), la disponibilidad de hierro podría ser suficiente para mantener los procesos celulares y la producción de energía. Consideramos que son hallazgos muy relevantes teniendo en cuenta la importancia clínica y la alta prevalencia del déficit de hierro en los pacientes con IC.

Como hemos comentado anteriormente, si usamos la definición del estudio FAIR-HF para el diagnóstico de DH,<sup>9,108,111</sup> la prevalencia en los pacientes con IC es de aproximadamente el 50%.<sup>81</sup> Algunas causas que se han sugerido para esta alta prevalencia de DH en IC han sido la pérdida de sangre oculta atribuida al uso de agentes antiplaquetarios o anticoagulantes, la ingesta deficiente de hierro en la dieta o la reducción de la absorción intestinal atribuida a la inflamación.<sup>74,85,103</sup> Sin embargo, a pesar de estos supuestos, todavía se desconocen los mecanismos exactos por los cuales los pacientes con IC desarrollan DH a nivel sistémico y miocárdico.

La actividad simpática es una de las principales vías fisiopatológicas que tienen relevancia en IC. Actúa como mecanismo neurohormonal compensatorio que incluye la liberación de catecolaminas como la adrenalina en sangre, y proporciona soporte inotrópico, aumenta el volumen sistólico y aumenta la vasoconstricción periférica para tratar de conservar la perfusión de órganos vitales ante una noxa sistémica. Sin embargo, su activación sostenida que conlleva aumento de presión arterial, taquicardia, activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona, etcétera, acelera la progresión de la enfermedad y reduce la supervivencia. Por este motivo, el tratamiento betabloqueante, que actúa inhibiendo esta vía, ha demostrado beneficio pronóstico en los pacientes con ICFEr y es una de las bases de su tratamiento.<sup>122-126</sup>

Estudios experimentales que utilizan modelos celulares han demostrado que la exposición de los cardiomiocitos adultos tanto a la noradrenalina (mediadora de la activación del SNS) como a la aldosterona (mediadora de la activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona) provoca cambios moleculares que podrían conducir al agotamiento intracelular del hierro en

los cardiomiocitos.<sup>93,116</sup> Estos hallazgos sugerirían que el DH no es solo una comorbilidad común en la insuficiencia cardíaca, sino también un factor que puede desempeñar un papel importante en la fisiopatología de la IC al estando implicada la activación neurohormonal en su desarrollo.

En nuestro estudio los niveles elevados de noradrenalina se asociaron con una alteración del estado del hierro y, en particular, con aquellos biomarcadores que sugieren un transporte de hierro deteriorado (TSAT <20%) y una mayor demanda de hierro (niveles elevados de sTfR). Esto es particularmente importante tras haber demostrado previamente que estos dos estados deficientes de hierro son los que se correlacionan fuertemente con un peor perfil clínico y peor pronóstico en pacientes con IC. Hasta donde sabemos, este es el primer estudio que muestra una asociación entre los niveles de noradrenalina como biomarcador de la activación del sistema simpático y la alteración del metabolismo del hierro en pacientes con ICC.

Como hemos introducido, nuestras observaciones son consistentes con las de los modelos de ciencias básicas. Melenovsky *et al.*, analizaron cardiomiocitos de los corazones explantados de pacientes sometidos a trasplante cardíaco, por lo que se trataba de corazones de pacientes con IC en fase muy avanzada.<sup>118</sup> En comparación con los controles, los cardiomiocitos de estos corazones mostraron niveles reducidos de hierro intracelular. Además, en este estudio la deficiencia de hierro a nivel miocárdico se asoció con una tasa de tratamiento más baja con betabloqueantes. Estos resultados podrían sugerir que la modulación del impulso neurohormonal del sistema simpático mediante el uso de betabloqueantes podría llegar a interactuar con el desarrollo de anomalías de hierro a nivel miocárdico en pacientes con IC.

En resumen, a partir de nuestros resultados, sugerimos que las alteraciones en el transporte del hierro son el componente principal asociado a peor perfil clínico y peor pronóstico en los pacientes con IC, que existe una asociación entre la activación simpática y estos perfiles de DH de peor pronóstico, que la alteración aislada de los depósitos del hierro impresiona ser una forma más leve de DH, y que el DH surge como un factor clave en los mecanismos involucrados en el inicio y la progresión de la IC debido a su asociación con la activación simpática. De esta manera la deficiencia de hierro dejaría de ser una comorbilidad para pasar a formar parte de la propia fisiopatología de la IC.<sup>129,130</sup>

## Limitaciones

Nuestra investigación tiene algunas limitaciones que consideramos que deben comentarse:

- Se trata de un estudio transversal, por lo que solo disponemos de una medición del perfil de hierro en el tiempo y no podemos proporcionar información sobre los cambios en el estado del hierro.
- Aunque los pacientes incluidos en el estudio no recibieron eritropoyetina ni terapia de hierro por vía intravenosa, no podemos proporcionar información sobre cuántos de ellos recibieron suplementos de hierro por vía oral durante la fase de seguimiento, aunque es cierto que la evidencia disponible no respalda la idea de que esto pudiera haber afectado de manera relevante los resultados en nuestro estudio.<sup>113</sup>
- A partir de este estudio, transversal, no se puede inferir causalidad. La interrelación entre los dos términos de la ecuación podría ser uni o bidireccional y tendrá que estudiarse en futuras investigaciones.
- El estudio sobre la asociación entre NA y los biomarcadores de la homeostasis del hierro se realizó en un solo centro, por lo que puede no ser aplicable a otras poblaciones de pacientes con IC.
- La actividad del sistema nervioso simpático es un concepto complejo que implica varios biomarcadores y medidas. El uso de los niveles de noradrenalina como marcador de activación simpática podría ser visto como una simplificación del SNS, aunque ya se ha utilizado en otros estudios como biomarcador de activación simpática.<sup>127,128</sup>
- El procesamiento de las muestras y el método de análisis de laboratorio para estudiar la noradrenalina son complejos y pueden verse como limitaciones de nuestro estudio, pero debemos resaltar que los procedimientos seguidos para obtener y procesar las muestras y para medir los niveles de noradrenalina fueron precisos y se basaron en métodos de laboratorio estandarizados.
- El *gold standard* para el estudio del hierro sería el estudio en médula ósea, aunque buscando la aplicabilidad y la accesibilidad del método de valoración del estado del hierro se ha preferido utilizar biomarcadores que, aunque estimen de manera indirecta el estado del hierro, pudieran utilizarse en la práctica clínica diaria.



# Conclusiones



# 5

## Conclusiones

### Conclusión del objetivo principal

En una cohorte multicéntrica e internacional de pacientes con IC crónica, aquellos perfiles del hierro que incluían una alteración en el transporte definida como  $IST < 20\%$  se asociaron de manera independiente con:

- un perfil clínico de mayor gravedad
- un mayor riesgo de mortalidad

La alteración en los depósitos del hierro definida como ferritina  $< 100\mu\text{g/L}$ , especialmente cuando no se acompañaba de alteraciones en el transporte del hierro, no se asoció a ninguna de las variables clínicas de gravedad de IC estudiadas ni a un aumento de mortalidad comparado con los pacientes con un perfil de hierro normal.

### Conclusión de objetivos secundarios

Un aumento de la activación simpática, estimado con niveles elevados de noradrenalina, se asoció con alteración del estado del hierro. Particularmente, nuestro trabajo mostró asociaciones robustas e independientes entre los niveles de noradrenalina y la alteración de biomarcadores que sugieren una alteración en el transporte del hierro (IST bajo) y una mayor demanda de hierro (niveles elevados de sTfR).



No se identificaron asociaciones entre los niveles de noradrenalina y las alteraciones en el almacenamiento de hierro estimado con los niveles de ferritina plasmática.

Estos resultados podrían ayudar a explicar:

- El desarrollo de déficit de hierro en los pacientes con insuficiencia cardiaca en los que sabemos que existe una especial activación del SNS.
- La asociación de la alteración en el transporte del hierro con peor perfil clínico y pronóstico demostrada previamente.

# **Aplicabilidad y futuras líneas**



# 6

## Aplicabilidad de los resultados y futuras líneas de investigación

Del presente estudio podrían derivar aplicaciones en la práctica clínica diaria y futuras líneas de investigación.

Como ya hemos desarrollado, la definición actual de DH toma como referencia los depósitos de hierro (ferritina  $< 100 \mu\text{g/L}$ ) y condiciona el diagnóstico de DH por alteración en el transporte en función de la ferritina (IST  $< 20\%$  siempre que la ferritina sea  $< 300 \mu\text{g/L}$ ). En nuestro estudio todos los pacientes con alteración aislada de los depósitos (iIIS) y todos los pacientes en el grupo combinado (IIS + IIT) cumplirían con estos criterios de DH. Sin embargo, 117 pacientes del grupo iIIT presentaron ferritina sérica  $>300 \mu\text{g/L}$  y por tanto a pesar de presentar una alteración en el transporte del hierro no se incluirían en la definición actual. Este es un subgrupo que representa el 12% de todos los pacientes que presentaban un estado del hierro alterado y del que conocemos muy poco al excluirse de muchos estudios sobre déficit de hierro en IC. Debemos potenciar estudios en este subgrupo de pacientes con IST bajo pero ferritina  $> 300 \mu\text{g/L}$  para conocer más sobre sus características, su pronóstico e incluso si algún subgrupo podría beneficiarse de tratamiento con hierro intravenoso.

Por otro lado, como hemos demostrado, los pacientes con alteración aislada de los depósitos del hierro (ferritina baja pero TSAT normal) parecen tener una forma más leve de déficit de hierro. Estos pacientes presentaban mayores niveles de sTfR que aquellos con perfil de hierro normal, y por tanto tienen mayor demanda de hierro tisular, pero no se asociaron ni a peor perfil clínico ni a mayor mortalidad. Por lo tanto, sería interesante confirmar si realmente este subgrupo obtiene un beneficio similar con la administración

intravenosa de hierro en comparación con el resto de pacientes con DH. Esto es particularmente importante ya que, en nuestra cohorte, los pacientes con alteración aislada de los depósitos representaron el 23% de los 945 pacientes con deficiencia de hierro de acuerdo con los criterios FAIR-HF.

La asociación entre la actividad simpática y el déficit de hierro abre una vía de investigación de enorme relevancia. Los niveles elevados de noradrenalina como expresión de activación simpática pueden promover el agotamiento de hierro a nivel celular como ya hemos comentado, sin embargo, también es posible que la deficiencia sistémica de hierro pudiera conducir a un mayor deterioro en la función de los cardiomiocitos y finalmente una activación neurohormonal aumentada en respuesta a esta noxa y a la progresión de la IC. Esta posible bidireccionalidad y la existencia de causalidad debe estudiarse en futuras investigaciones.

Por este motivo, la línea de investigación de esta tesis nos ha permitido desarrollar nuevos proyectos de base preclínica y básica con el objetivo de establecer si existe relación causal entre la activación neurohormonal y anomalías del estado del hierro. Para ello nuestro grupo ha desarrollado una línea celular de cardiomioblasto sobre la que se está evaluando el efecto de la exposición al influjo neurohormonal típico de la IC y estudiar su relación con el metabolismo del hierro a nivel intracelular, intramitocondrial y también de los transportadores celulares. Los resultados preliminares parecen demostrar que la exposición de células cardíacas a la estimulación del sistema renina-angiotensina-aldosterona podría alterar la afectación de la disponibilidad del hierro a nivel del citosol pero también muy especialmente a nivel mitocondrial, con impacto a nivel energético y de estrés oxidativo. De confirmarse los resultados en estos trabajos, que son fruto del resultado de esta tesis doctoral, podríamos estar describiendo las bases de un cambio de paradigma de la relación entre déficit de hierro e IC, pasando de considerar al déficit de hierro como una comorbilidad a ser una pieza que forma parte del desarrollo de la enfermedad.

# Bibliografía



## Bibliografía

1. Mosterd A, Hoes AW. Clinical epidemiology of heart failure. *Heart*. 2007; 93: 1137-46.
2. Redfield MM, Jacobsen SJ, Burnett JC, Mahoney DW, Bailey KR, Rodeheffer RJ. Burden of systolic and diastolic ventricular dysfunction in the community: appreciating the scope of the heart failure epidemic. *JAMA*. 2003;289:194-202.
3. Bleumink GS, Knetsch AM, Sturkenboom MCJM, Straus SMJM, Hofman A, Deckers JW, Wittteman JCM, Stricker BHC. Quantifying the heart failure epidemic: prevalence, incidence rate, lifetime risk and prognosis of heart failure The Rotterdam Study. *Eur Heart J England*. 2004;25:1614-9.
4. Ceia F, Fonseca C, Mota T, Morais H, Matias F, De Sousa A, Oliveira AG. Prevalence of chronic heart failure in Southwestern Europe: the EPICA study. *Eur J Heart Fail*. 2002;4:531-9.
5. Van Riet EES, Hoes AW, Limburg A, Landman MAJ, van der Hoeven H, Rutten FH. Prevalence of unrecognized heart failure in older persons with shortness of breath on exertion. *Eur J Heart Fail*. 2014;16:772-7.
6. Filippatos G, Parissis JT. Heart failure diagnosis and prognosis in the elderly: the proof of the pudding is in the eating. *Eur J Heart Fail*. 2011;13:467-71.
7. Farré N, Vela E, Clèries M, Bustins M, Cainzos-Achirica M, Enjuanes C, Moliner P, Ruiz S, Verdú-Rotellar JM, Comín-Colet J. Real world heart failure epidemiology and outcome: A population-based analysis of 88,195 patients. *PLoS One*. 2017 24;12(2):e0172745.



8. Farré N, Vela E, Clèries M, Bustins M, Cainzos-Achirica M, Enjuanes C, Moliner P, Ruiz S, Verdú-Rotellar JM, Comín-Colet J. Medical resource use and expenditure in patients with chronic heart failure: a population-based analysis of 88 195 patients. *Eur J Heart Fail.* 2016; 18(9):1132-40.
9. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JGF, Coats AJS, Falk V, Gonzalez-Juanatey JR, Harjola VP, Jankowska EA, Jessup M, Linde C, Nihoyannopoulos P, Parissis JT, Pieske B, Riley JP, Rosano GMC, Ruilope LM, Ruschitzka F, Rutten FH, van der Meer P; ESC Scientific Document Group. 2016 ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J.* 2016;37:2129–2200.
10. Sayago-Silva I, García-López F, Segovia-Cubero J. Epidemiology of heart failure in Spain over the last 20 years. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed).* 2013; 66(8): 649-56.
11. Gerber Y, Weston SA, Redfield MM, Chamberlain AM, Manemann SM, Jiang R, Killian JM, Roger VL. A contemporary appraisal of the heart failure epidemic in Olmsted County, Minnesota, 2000 to 2010. *JAMA Intern Med.* 2015;175: 996–1004.
12. Owan TE, Hodge DO, Herges RM, Jacobsen SJ, Roger VL, Redfield MM. Trends in prevalence and outcome of heart failure with preserved ejection fraction. *N Engl J Med.* 2006;355:251–9.
13. Meta-analysis Global Group in Chronic Heart Failure (MAGGIC). The survival of patients with heart failure with preserved or reduced left ventricular ejection fraction: an individual patient data meta-analysis. *Eur Heart J.* 2012;33: 1750–7.
14. Maggioni AP, Dahlstrom U, Filippatos G, Chioncel O, Leiro MC, Drozd J, Fruhwald F, Gullestad L, Logeart D, Fabbri G, Urso R, Metra M, Parissis J, Persson H, Ponikowski P, Rauchhaus M, Voors AA, Nielsen OW, Zannad F, Tavazzi L, Crespo Leiro M, Drozd J, Fruhwald F, Gullestad L, Logeart D, Fabbri G, Urso R, Metra M, Parissis J, Persson H, Ponikowski P, Rauchhaus M, Voors AA, Nielsen OW, Zannad F, Tavazzi L. EURObservational Research Programme: regional differences and 1-year follow-up results of the Heart Failure Pilot Survey (ESC-HF Pilot). *Eur J Heart Fail.* 2013;15:808–17.
15. Pocock SJ, Ariti CA, McMurray JJV, Maggioni A, Kober L, Squire IB, Swedberg K, Dobson J, Poppe KK, Whalley GA, Doughty RN. Predicting survival in heart

- failure: a risk score based on 39 372 patients from 30 studies. *Eur Heart J*. 2013;34: 1404–13.
16. Bayes-Genis A, García C, de Antonio M, Fernandez-Nofrerías E, Domingo M, Zamora E, Moliner P, Lupón J. Impact of a ‘stent for life’ initiative on post-ST elevation myocardial infarction heart failure: a 15 year heart failure clinic experience. *ESC Heart Fail*. 2018; 5(1):101-105.
  17. Méndez-Bailón M, Jiménez-García R, Hernández-Barrera V, Comín-Colet J, Esteban-Hernández J, de Miguel-Díez J, de Miguel-Yanes JM, Muñoz-Rivas N, Lorenzo-Villalba N, López-de-Andrés A. Significant and constant increase in hospitalization due to heart failure in Spain over 15 year period. *Eur J Intern Med*. 2019; 64:48-56.
  18. Instituto Nacional de Estadística (2016). Evolución de la tasa de hospitalización y de mortalidad por Insuficiencia Cardíaca en España en el período 2006-2016. Recuperado el 1 septiembre 2019, desde <https://www.ine.es>.
  19. MSIQ: Módulos para el seguimiento de indicadores de calidad CatSalut (2017). Indicadores demográficos, de morbimortalidad y de consumo de recursos por insuficiencia cardíaca en 2017. Recuperado el 1 septiembre 2019, desde <https://msiq.catsalut.cat>.
  20. Paulus WJ, Tschope C. A novel paradigm for heart failure with preserved ejection fraction. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62:263–71.
  21. Jessup M, Brozena S. Heart failure. *N Engl J Med*. 2003 May 15;348(20):2007-18.
  22. Ergatoudes C, Schaufelberger M, Andersson B, Pivodic A, Dahlström U, Fu M. Non-cardiac comorbidities and mortality in patients with heart failure with reduced vs. preserved ejection fraction: a study using the Swedish Heart Failure Registry. *Clin Res Cardiol*. 2019;108(9):1025-1033.
  23. Van Deursen VM, Urso R, Laroche C, Damman K, Dahlström U, Tavazzi L, Maggioni AP, Voors AA. Co-morbidities in patients with heart failure: an analysis of the European Heart Failure Pilot Survey. *Eur J Heart Fail*. 2014;16(1):103-11.
  24. Dahlström U. Frequent non-cardiac comorbidities in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2005; 16;7(3):309-16.
  25. Lauritsen J, Gustafsson F, Abdulla J. Characteristics and long-term prognosis of patients with heart failure and mid-range ejection fraction compared with reduced and preserved ejection fraction: a systematic review and meta-analysis. *ESC Heart Fail* 2018;5(4):685-694.

26. Rickenbacher P, Kaufmann BA, Maeder MT, Bernheim A, Goetschalckx K, Pfister O, Pfisterer M, Brunner-La Rocca HP; TIME-CHF Investigators. Heart failure with mid-range ejection fraction: a distinct clinical entity? Insights from the Trial of Intensified versus standard Medical therapy in Elderly patients with Congestive Heart Failure (TIME-CHF). *Eur J Heart Fail* 2017;19(12):1586-1596.
27. Cleland JGF, Bunting KV, Flather MD, Altman DG, Holmes J, Coats AJS, Manzano L, McMurray JVV, Ruschitzka F, van Veldhuisen DJ, von Lueder TG, Böhm M, Andersson B, Kjekshus J, Packer M, Rigby AS, Rosano G, Wedel H, Hjalmarson Å, Wikstrand J, Kotecha D; Beta-blockers in Heart Failure Collaborative Group. Beta-blockers for heart failure with reduced, mid-range, and preserved ejection fraction: an individual patient-level analysis of double-blind randomized trials. *Eur Heart J* 2018;39(1):26-35.
28. Solomon SD, Claggett B, Lewis EF, Desai A, Anand I, Sweitzer NK, O'Meara E, Shah SJ, McKinlay S, Fleg JL, Sopko G, Pitt B, Pfeffer MA; TOPCAT Investigators. Influence of ejection fraction on outcomes and efficacy of spironolactone in patients with heart failure with preserved ejection fraction. *Eur Heart J* 2016;37(5):455-62.
29. Gastelurrutia P, Lupón J, Moliner P, Yang X, Cediel G, de Antonio M, Domingo M, Altimir S, González B, Rodríguez M, Rivas C, Díaz V, Fung E, Zamora E, Santesmases J, Núñez J, Woo J, Bayes-Genis A. Comorbidities, Fragility, and Quality of Life in Heart Failure Patients With Midrange Ejection Fraction. *Mayo Clin Proc Innov Qual Outcomes*. 2018; 19;2(2):176-185.
30. Moliner P, Lupón J, de Antonio M, Domingo M, Santiago-Vacas E, Zamora E, Cediel G, Santesmases J, Díez-Quevedo C, Troya MI, Boldó M, Altimir S, Alonso N, González B, Núñez J, Bayes-Genis A. Trends in modes of death in heart failure over the last two decades: less sudden death but cancer deaths on the rise. *Eur J Heart Fail*. 2019; 30. [Epub ahead of print]
31. Kotecha D, Piccini JP. Atrial fibrillation in heart failure: what should we do? *Eur Heart J* 2015;36:3250-7.
32. Kotecha D, Lainscak M. Chapter: Co-morbidity (HF<sub>r</sub>EF and HF<sub>p</sub>EF): atrial fibrillation. *ESC CardioMed* (3 edn). Oxford University Press. ISBN-13:9780198784906
33. Kirchhof P, Benussi S, Kotecha D, Ahlsson A, Atar D, Casadei B, Castella M, Diener HC, Heidbuchel H, Hendriks J, Hindricks G, Manolis AS, Oldgren J, Popescu BA, Schotten U, Van Putte B, Vardas P; ESC Scientific Document Group.

- 2016 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation developed in collaboration with EACTS. *Eur Heart J* 2016;37:2893–962.
34. Sanders P, Morton JB, Davidson NC, Spence SJ, Vohra JK, Sparks PB, Kalman JM. Electrical remodeling of the atria in congestive heart failure: electrophysiological and electroanatomic mapping in humans. *Circulation* 2003;108:1461–8.
  35. Lubitz SA, Benjamin EJ, Ellinor PT. Atrial fibrillation in congestive heart failure. *Heart Fail Clin* 2010;6:187–200.
  36. Kalifa J, Jalife J, Zaitsev AV, Bagwe S, Warren M, Moreno J, Berenfeld O, Nattel S. Intra-atrial pressure increases rate and organization of waves emanating from the superior pulmonary veins during atrial fibrillation. *Circulation* 2003;108:668–71.
  37. Knackstedt C, Gramley F, Schimpf T, Mischke K, Zarse M, Plisiene J, Schmid M, Lorenzen J, Frechen D, Neef P, Hanrath P, Kelm M, Schauerte P. Association of echocardiographic atrial size and atrial fibrosis in a sequential model of congestive heart failure and atrial fibrillation. *Cardiovasc Pathol* 2008;17:318–24.
  38. Crespo-Leiro MG, Anker SD, Maggioni AP, Coats AJ, Filippatos G, Ruschitzka F, Ferrari R, Piepoli MF, Delgado Jimenez JF, Metra M, Fonseca C, Hradec J, Amir O, Logeart D, Dahlström U, Merkely B, Drozd J, Goncalvesova E, Hassanein M, Chioncel O, Lainscak M, Seferovic PM, Tousoulis D, Kavaliuniene A, Fruhwald F, Fazlibegovic E, Temizhan A, Gatzov P, Erglis A, Laroche C, Mebazaa A; Heart Failure Association (HFA) of the European Society of Cardiology (ESC). European Society of Cardiology Heart Failure Long-Term Registry (ESC-HF-LT): 1-year followup outcomes and differences across regions. *Eur J Heart Fail* 2016;18:613–25.
  39. Dries DL, Exner DV, Gersh BJ, Domanski MJ, Waclawiw MA, Stevenson LW. Atrial fibrillation is associated with an increased risk for mortality and heart failure progression in patients with asymptomatic and symptomatic left ventricular systolic dysfunction: a retrospective analysis of the SOLVD trials. *Studies of Left Ventricular Dysfunction*. *J Am Coll Cardiol* 1998;32:695–703.
  40. Kotecha D, Holmes J, Krum H, Altman DG, Manzano L, Cleland JG, Lip GY, Coats AJ, Andersson B, Kirchhof P, von Lueder TG, Wedel H, Rosano G, Shibata MC, Rigby A, Flather MD; Beta-Blockers in Heart Failure Collaborative Group. Efficacy of beta blockers in patients with heart failure plus atrial fibrillation: an individual-patient data meta-analysis. *Lancet* 2014;384:2235–43.

41. Amato L, Paolisso G, Cacciatore F, Ferrara N, Ferrara P, Canonico S, Varricchio M, Rengo F. Congestive heart failure predicts the development of non-insulin-dependent diabetes mellitus in the elderly. The Osservatorio Geriatrico Regione Campania Group. *Diabetes Metab.* 1997;23(3):213-8.
42. Tenenbaum A, Motro M, Fisman EZ, Leor J, Freimark D, Boyko V, Mandelzweig L, Adler Y, Sherer Y, Behar S. Functional class in patients with heart failure is associated with the development of diabetes. *Am J Med.* 2003;114(4):271-5.
43. Win TT, Davis HT, Laskey WK. Mortality among patients hospitalized with heart failure and diabetes mellitus. *Circ Hear Fail* 2016;9:e003023.
44. Docherty KF, Petrie MC. Chapter: Co-morbidity (HF<sub>r</sub>EF and HF<sub>p</sub>EF): diabetes mellitus. *ESC CardioMed* (3 edn). Oxford University Press. ISBN-13:9780198784906.
45. Nitenberg A, Valensi P, Sachs R, Dali M, Aptekar E, Attali JR. Impairment of coronary vascular reserve and ACh-induced coronary vasodilation in diabetic patients with angiographically normal coronary arteries and normal left ventricular systolic function. *Diabetes* 1993;42:1017–25.
46. Strauer BE, Motz W, Vogt M, Schwartzkopff B. Impaired coronary flow reserve in NIDDM: a possible role for diabetic cardiopathy in humans. *Diabetes* 1997. p. S119–24.
47. Carli MF Di, Bianco-Batlles D, Landa ME, Kazmers a, Groehn H, Muzik O, Grunberger G. Effects of autonomic neuropathy on coronary blood flow in patients with diabetes mellitus. *Circulation* 1999;100:813–9.
48. Liu JE, Palmieri V, Roman MJ, Bella JN, Fabsitz R, Howard B V, Welty TK, Lee ET, Devereux RB. The impact of diabetes on left ventricular filling pattern in normotensive and hypertensive adults: the Strong Heart Study. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:1943–9.
49. Dauriz M, Targher G, Temporelli PL, Lucci D, Gonzini L, Nicolosi GL, Marchioli R, Tognoni G, Latini R, Cosmi F, Tavazzi L, Maggioni AP, GISSI-HF Investigators. Prognostic impact of diabetes and prediabetes on survival outcomes in patients with chronic heart failure: a post-hoc analysis of the GISSI-HF (Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nella Insufficienza Cardiaca-Heart Failure) Trial. *J Am Heart Assoc* 2017;6:e005156.
50. Muñoz-Rivas N, Jiménez-García R, Méndez-Bailón M, Hernández-Barrera V, de Miguel-Díez J, Lorenzo-Villalba N, de Miguel-Yanes JM, López-de-Andrés A. Type 2 diabetes increases the risk of hospital admission for heart failure and

- reduces the risk of in hospital mortality in Spain (2001-2015). *Eur J Intern Med.* 2019;59:53-59.
51. Roversi S, Hawkins N. Chapter: Co-morbidity (HFrEF and HFpEF): lung disease. *ESC CardioMed* (3 edn). Oxford University Press. ISBN-13:9780198784906
  52. Hawkins NM, Jhund PS, Simpson CR, Petrie MC, Macdonald MR, Dunn FG, Macintyre K, McMurray JJ. Primary care burden and treatment of patients with heart failure and chronic obstructive pulmonary disease in Scotland. *Eur J Heart Fail* 2010;12:17-24.
  53. De Blois J, Simard S, Atar D, Agewall S; Norwegian Heart Failure Registry. COPD predicts mortality in HF: the Norwegian Heart Failure Registry. *J Card Fail* 2010;16:225-9.
  54. Mascarenhas J, Lourenço P, Lopes R, Azevedo A, Bettencourt P. Chronic obstructive pulmonary disease in heart failure. Prevalence, therapeutic and prognostic implications. *Am Heart J* 2008;155:521-5.
  55. Mentz RJ, Kelly JP, von Lueder TG, Voors AA, Lam CS, Cowie MR, Kjeldsen K, Jankowska EA, Atar D, Butler J, Fiuzat M, Zannad F, Pitt B, O'Connor CM. Noncardiac comorbidities in heart failure with reduced versus preserved ejection fraction. *J Am Coll Cardiol* 2014;64:2281-93.
  56. Ather S, Chan W, Bozkurt B, Aguilar D, Ramasubbu K, Zachariah AA, Wehrens XH, Deswal A. Impact of noncardiac comorbidities on morbidity and mortality in a predominantly male population with heart failure and preserved versus reduced ejection fraction. *J Am Coll Cardiol* 2012;59:998-1005.
  57. Smith BM, Kawut SM, Bluemke DA, Basner RC, Gomes AS, Hoffman E, Kalhan R, Lima JA, Liu CY, Michos ED, Prince MR, Rabbani L, Rabinowitz D, Shimbo D, Shea S, Barr RG. Pulmonary hyperinflation and left ventricular mass: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis COPD Study. *Circulation* 2013;127:1503-11.
  58. Jörgensen K, Müller MF, Nel J, Upton RN, Houltz E, Ricksten SE. Reduced intrathoracic blood volume and left and right ventricular dimensions in patients with severe emphysema: an MRI study. *Chest* 2007;131:1050-7.
  59. Boussuges A, Pinet C, Molenat F, Burnet H, Ambrosi P, Badier M, Sainty JM, Orehek J. Left atrial and ventricular filling in chronic obstructive pulmonary disease. An echocardiographic and Doppler study. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:670-5.

60. Van Gestel YRBM, Sin DD, Poldermans D. Elevated N-terminal pro-Btype natriuretic peptide levels: the effect of chronic obstructive pulmonary disease. *J Am Coll Cardiol* 2009;53:458.
61. Sin DD, Man SFP. Why are patients with chronic obstructive pulmonary disease at increased risk of cardiovascular diseases? The potential role of systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease. *Circulation* 2003;107:1514–9.
62. De Boer RA, Meijers WC, van der Meer P, van Veldhuisen DJ. Cancer and heart disease: associations and relations. *Eur J Heart Fail.* 2019;18.
63. Zamorano JL, Lancellotti P, Rodriguez Muñoz D, Aboyans V, Asteggiano R, Galderisi M, Habib G, Lenihan DJ, Lip GYH, Lyon AR, Lopez Fernandez T, Mohty D, Piepoli MF, Tamargo J, Torbicki A, Suter TM; ESC Scientific Document Group. 2016 ESC Position Paper on cancer treatments and cardiovascular toxicity developed under the auspices of the ESC Committee for Practice Guidelines: The Task Force for cancer treatments and cardiovascular toxicity of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J.* 2016; 21;37(36):2768-2801.
64. López-Fernández T, Martín García A, Santaballa Beltrán A, Montero Luis Á, García Sanz R, Mazón Ramos P, Velasco Del Castillo S, López de Sá Areses E, Barreiro-Pérez M, Hinojar Baydes R, Pérez de Isla L, Valbuena López SC, Dalmau González-Gallarza R, Calvo-Iglesias F, González Ferrer JJ, Castro Fernández A, González-Caballero E, Mitroi C, Arenas M, Virizuela Echaburu JA, Marco Vera P, Íñiguez Romo A, Zamorano JL, Plana Gómez JC, López Sendón Henchel JL. Cardio-Onco-Hematology in Clinical Practice. Position Paper and Recommendations. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed).* 2017; 70(6):474-486.
65. Banke A, Schou M, Videbaek L, Moller JE, Torp-Pedersen C, Gustafsson F, Dahl JS, Kober L, Hildebrandt PR, Gislason GH. Incidence of cancer in patients with chronic heart failure: a long-term follow-up study. *Eur J Heart Fail* 2016;18:260–266.
66. Meijers WC, Maglione M, Bakker SJL, Oberhuber R, Kieneker LM, de Jong S, Haubner BJ, Nagengast WB, Lyon AR, van der Vegt B, van Veldhuisen DJ, Westenbrink BD, van der Meer P, Silljé HH, de Boer RA. The failing heart stimulates tumor growth by circulating factors. *Circulation* 2018;138:678–691.
67. Richards AM. Can heart failure cause cancer? *Nat Rev Cardiol* 2019;16:7–8.
68. Meijers WC, de Boer RA. Common risk factors for heart failure and cancer. *Cardiovasc Res* 2019;115:844–853.

69. Nholo LF, Villarraga HR. Rationale for Cardio-Oncology Units. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2017;70(7):583-589.
70. Damman K. Chapter: Co-morbidity (HFrEF and HFpEF): renal dysfunction. *ESC CardioMed* (3 edn). Oxford University Press. ISBN-13:9780198784906
71. Damman K, Valente MA, Voors AA, O'Connor CM, Van Veldhuisen DJ, Hillege HL. Renal impairment, worsening renal function, and outcome in patients with heart failure: an updated meta-analysis. *Eur Heart J* 2014;35:455-69.
72. Ronco C, Haapio M, House AA, Anavekar N, Bellomo R. Cardiorenal syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2008;52:1527-39.
73. Bongartz LG, Cramer MJ, Doevendans PA, Joles JA, Braam B. The severe cardiorenal syndrome: 'Guyton revisited'. *Eur Heart J* 2005;26:11-7.
74. Tkaczyszyn M, Jankowska EA, Ponikowski P. Chapter: Co-morbidity (HFrEF and HFpEF): anaemia/iron deficiency. *ESC CardioMed* (3.<sup>a</sup> edic.). Oxford University Press. ISBN-13:9780198784906.
75. Van der Wal HH, van Deursen VM, van der Meer P, Voors AA. Comorbidities in Heart Failure. *Handb Exp Pharmacol*. 2017;243:35-66.
76. Van der Meer P, Lipsic E, Westenbrink BD, van de Wal RM, Schoemaker RG, Vellenga E, van Veldhuisen DJ, Voors AA, van Gilst WH. Levels of hematopoiesis inhibitor N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline partially explain the occurrence of anemia in heart failure. *Circulation*. 2005; 20;112(12):1743-7.
77. Anand IS. Anemia and chronic heart failure implications and treatment options. *J Am Coll Cardiol* 2008;52:501-11.
78. Groenveld HF, Januzzi JL, Damman K, van Wijngaarden J, Hillege HL, van Veldhuisen DJ, van der Meer P. Anemia and mortality in heart failure patients a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol* 2008;52:818-27
79. Swedberg K, Young JB, Anand IS, Cheng S, Desai AS, Diaz R, Maggioni AP, McMurray JJ, O'Connor C, Pfeffer MA, Solomon SD, Sun Y, Tendera M, van Veldhuisen DJ; RED-HF Committees; RED-HF Investigators. Treatment of anemia with darbepoetin alfa in systolic heart failure. *N Engl J Med* 2013;368:1210-9.
80. Cohen-Solal A, Leclercq C, Deray G, Lasocki S, Zambrowski JJ, Mebazaa A, de Groote P, Damy T, Galinier M. Iron deficiency: an emerging therapeutic target in heart failure. *Heart*. 2014; 15;100(18):1414-20.



81. Klip IT, Comin-Colet J, Voors AA, Ponikowski P, Enjuanes C, Banasiak W, Lok DJ, Rosentryt P, Torrens A, Polonski L, van Veldhuisen DJ, van der Meer P, Jankowska EA. Iron deficiency in chronic heart failure: an international pooled analysis. *Am Heart J.* 2013;165:575–582.
82. C. Chen, B.H. Paw, Cellular and mitochondrial iron homeostasis in vertebrates, *Biochim. Biophys. Acta* 1823 (9);2012 1459–1467.
83. G.J. Anderson, C.D. Vulpe, Mammalian iron transport, *Cell. Mol. Life Sci.* 66 (20) (2009) 3241–3261.
84. D.R. Richardson, D.J. Lane, E.M. Becker, *et al.*, Mitochondrial iron trafficking and the integration of iron metabolism between the mitochondrion and cytosol, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107 (24) (2010) 10775–10782.
85. E.A. Jankowska, H.S. von, S.D. Anker, I.C. Macdougall, P. Ponikowski, Iron deficiency and heart failure: diagnostic dilemmas and therapeutic perspectives, *Eur. Heart J.* 34 (11) (2013) 816–829.
86. M. Bayeva, H. Ardehali, Mitochondrial dysfunction and oxidative damage to sarcomeric proteins, *Curr. Hypertens. Rep.* 12 (6) (2010) 426–432.
87. M. Bayeva, M. Gheorghide, H. Ardehali, Mitochondria as a therapeutic target in heart failure, *J. Am. Coll. Cardiol.* 61 (6) (2013) 599–610.
88. Y. Naito, T. Tsujino, M. Matsumoto, T. Sakoda, M. Ohyanagi, T. Masuyama, Adaptive response of the heart to long-term anemia induced by iron deficiency, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 296 (3) (2009) H585–H593.
89. Z. Tanne, R. Coleman, M. Nahir, D. Shomrat, J.P. Finberg, M.B. Youdim, Ultrastructural and cytochemical changes in the heart of iron-deficient rats, *Biochem. Pharmacol.* 47 (10) (1994) 1759–1766.
90. Hoes MF, Grote Beverborg N, Kijlstra JD, Kuipers J, Swinkels DW, Giepmans BN, Rodenburg RJ, van Veldhuisen DJ, de Boer RA, van der Meer P. Iron deficiency impairs contractility of human cardiomyocytes through decreased mitochondrial function. *Eur J Heart Fail.* 2018;20:910–919.
91. Grote Beverborg N, Klip IT, Meijers WC, Voors AA, Vegter EL, van der Wal HH, Swinkels DW, van Pelt J, Mulder AB, Bulstra SK, Vellenga E, Mariani MA, de Boer RA, van Veldhuisen DJ, van der Meer P. Definition of iron deficiency based on the gold standard of bone marrow iron staining in heart failure patients. *Circ Heart Fail.* 2018;11:e004519.

92. J. Beilby, J. Olynyk, S. Ching, *et al.*, Transferrin index: an alternative method for calculating the iron saturation of transferrin, *Clin. Chem.* 38 (10) (1992) 2078–2081.
93. P. Leszek, B. Sochanowicz, M. Szperl, *et al.*, Myocardial iron homeostasis in advanced chronic heart failure patients, *Int. J. Cardiol.* 159 (1) (2012) 47–52.
94. G. Weiss, L.T. Goodnough, Anemia of chronic disease, *N. Engl. J. Med.* 352 (10) (2005) 1011–1023.
95. E. Nemeth, S. Rivera, V. Gabayan, *et al.*, IL-6 mediates hypoferremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin, *J. Clin. Invest.* 113 (9) (2004) 1271–1276.
96. J.F. Collins, M. Wessling-Resnick, M.D. Knutson, Hepcidin regulation of iron transport, *J. Nutr.* 138 (11) (2008) 2284–2288.
97. P. Suominen, K. Punnonen, A. Rajamäki, K. Irjala, Serum transferrin receptor and transferrin receptor-ferritin index identify healthy subjects with subclinical iron deficits, *Blood* 92 (8) (1998) 2934–2939.
98. J. Comin-Colet, S. Ruiz, M. Cladellas, M. Rizzo, A. Torres, J. Bruguera, A pilot evaluation of the long-term effect of combined therapy with intravenous iron sucrose and erythropoietin in elderly patients with advanced chronic heart failure and cardio-renal anemia syndrome: influence on neurohormonal activation and clinical outcomes, *J. Card. Fail.* 15 (9) (2009) 727–735.
99. E.A. Jankowska, P. Rozentryt, Witkowska, *et al.*, Iron deficiency predicts impaired exercise capacity in patients with systolic chronic heart failure, *J. Card. Fail.* 17 (11) (2011) 899–906.
100. C. Enjuanes, I.T. Klip, J. Bruguera, *et al.*, Iron deficiency and health-related quality of life in chronic heart failure: results from a multicenter European study, *Int. J. Cardiol.* 174 (2) (2014) 268–275.
101. D.J. van Veldhuisen, S.D. Anker, P. Ponikowski, I.C. Macdougall, Anemia and iron deficiency in heart failure: mechanisms and therapeutic approaches, *Nat. Rev. Cardiol.* 8 (9) (2011) 485–493.
102. T. Kilp, E.A. Jankowska, C. Enjuanes, *et al.*, The additive burden of iron deficiency in the cardiorenal-anaemia axis: scope of a problem and its consequences, *Eur. J. Heart Fail.* 16 (2014) 655–662.

103. E.A. Jankowska, P. Rozentryt, A. Witkowska, *et al.*, Iron deficiency: an ominous sign in patients with systolic chronic heart failure, *Eur. Heart J.* 31 (15) (2010) 1872–1880.
104. J. Comín-Colet, C. Enjuanes, G. Gonzalez-Robledo, *et al.*, Iron deficiency is a key determinant of health-related quality of life in patients with chronic heart failure regardless of anaemia status, *Eur. J. Heart Fail.* 15 (10) (2013) 1164–1172.
105. Enjuanes C, Bruguera J, Grau M, Cladellas M, Gonzalez G, Meroño O, Moliner-Borja P, Verdu JM, Farre N, Comín-Colet J. Iron status in chronic heart failure: impact on symptoms, functional class and submaximal exercise capacity. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2016;69:247–255.
106. Bojarczuk J, Josiak K, Kasztura M, Kustrzycka-Kratochwil D, Nowak K, Jagielski D, Banasiak W, Jankowska EA, Ponikowski P. Iron deficiency in heart failure: impact on response to cardiac resynchronization therapy. *Int J Cardiol.* 2016;222:133–134.
107. Martens P, Verbrugge F, Nijst P, Dupont M, Tang WH, Mullens W. Impact of iron deficiency on response to and remodeling after cardiac resynchronization therapy. *Am J Cardiol.* 2017;119:65–70.
108. Anker SD, Comin Colet J, Filippatos G, Willenheimer R, Dickstein K, Drexler H, Luscher TF, Bart B, Banasiak W, Niegowska J, Kirwan BA, Mori C, von Eisenhart Rothe B, Pocock SJ, Poole-Wilson PA, Ponikowski P; FAIR-HF Trial Investigators. Ferric carboxymaltose in patients with heart failure and iron deficiency. *N Engl J Med.* 2009;361:2436–2448.
109. J. Comin-Colet, M. Lainscak, K. Dickstein, G.S. Filippatos, *et al.*, The effect of intravenous ferric carboxymaltose on health-related quality of life in patients with chronic heart failure and iron deficiency: a subanalysis of the FAIR-HF study, *Eur. Heart J.* 34 (1) (2013) 30–38.
110. G. Filippatos, D. Farmakis, J.C. Colet, *et al.*, Intravenous ferric carboxymaltose in iron deficient chronic heart failure patients with and without anaemia: a subanalysis of the FAIR-HF trial, *Eur. J. Heart Fail.* 15 (11) (2013) 1267–1276.
111. Ponikowski P, van Veldhuisen DJ, Comin-Colet J, Ertl G, Komajda M, Mareev V, McDonagh T, Parkhomenko A, Tavazzi L, Levesque V, Mori C, Roubert B, Filippatos G, Ruschitzka F, Anker SD; CONFIRM-HF Investigators. Beneficial effects of long-term intravenous iron therapy with ferric carboxymaltose

- in patients with symptomatic heart failure and iron deficiency. *Eur Heart J*. 2015;36:657–668.
112. Van Veldhuisen DJ, Ponikowski P, van der Meer P, Metra M, Böhm M, Doletsky A, Voors AA, Macdougall IC, Anker SD, Roubert B, Zakin L, Cohen-Solal A; EFFECT-HF Investigators. Effect of ferric carboxymaltose on exercise capacity in patients with chronic heart failure and iron deficiency. *Circulation* 2017;136:1374–83.
113. Lewis GD, Malhotra R, Hernandez AF, McNulty SE, Smith A, Felker GM, Tang WHW, LaRue SJ, Redfield MM, Semigran MJ, Givertz MM, Van Buren P, Whellan D, Anstrom KJ, Shah MR, Desvigne-Nickens P, Butler J, Braunwald E; NHLBI Heart Failure Clinical Research Network. Effect of Oral Iron Repletion on Exercise Capacity in Patients With Heart Failure With Reduced Ejection Fraction and Iron Deficiency: The IRONOUT HF Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2017;16;317(19):1958-1966.
114. Ensayos clínicos activos sobre hierro carboximaltosa en insuficiencia cardiaca (2019). Recuperado el 1 septiembre 2019, desde <http://www.clinicaltrials.gov>.
115. McDonagh T, Damy T, Doehner W, Lam CSP, Sindone A, van der Meer P, Cohen-Solal A, Kindermann I, Manito N, Pfister O, Pohjantähti-Maaroos H, Taylor J, Comin-Colet J. Screening, diagnosis and treatment of iron deficiency in chronic heart failure: putting the 2016 European Society of Cardiology heart failure guidelines into clinical practice. *Eur J Heart Fail*. 2018;20(12): 1664-1672.
116. 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*. 2011;58:474–480.
117. Haddad S, Wang Y, Galy B, Korf-Klingebiel M, Hirsch V, Baru AM, Rostami F, Reboll MR, Heineke J, Fogel U, Groos S, Renner A, Toischer K, Zimmermann F, Engeli S, Jordan J, Bauersachs J, Hentze MW, Wollert KC, Kempf T. Iron regulatory proteins secure iron availability in cardiomyocytes to prevent heart failure. *Eur Heart J*. 2017;38:362–372.
118. Melenovsky V, Petrak J, Mracek T, Benes J, Borlaug BA, Nuskova H, Pluhacek T, Spatenka J, Kovalcikova J, Drahotka Z, Kautzner J, Pirk J, Houstek J. Myocardial iron content and mitochondrial function in human heart failure: a direct tissue analysis. *Eur J Heart Fail*. 2017;19:522–530.

119. Silvestre OM, Gonc\_alves A, Nadruz W Jr, Claggett B, Couper D, Eckfeldt JH, Pankow JS, Anker SD, Solomon SD. Ferritin levels and risk of heart failure the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Eur J Heart Fail.* 2017;19:340–347.
120. Tanai E, Frantz S. Pathophysiology of Heart Failure. *Compr Physiol* 2015;6(1): 187-214.
121. Prijic S, Buchhorn R. Mechanisms of Beta-Blockers Action in Patients with Heart Failure. *Rev Recent Clin Trials.* 2014;9(2):58-60.
122. Hjalmarson A, Goldstein S, Fagerberg B, Wedel H, Waagstein F, Kjekshus J, Wikstrand J, ElAllaf D, V\_itovec J, Aldershvile J, Halinen M, Dietz R, Neuhaus KL, Janosi A, Thorgeirsson G, Dunselman PH, Gullestad L, Kuch J, Herlitz J, Rickenbacher P, Ball S, Gottlieb S, Deedwania P; MERIT-HF Study Group. Effects of controlled-release metoprolol on total mortality, hospitalizations, and wellbeing in patients with heart failure: the Metoprolol CR/XL Randomized Intervention Trial in congestive Heart Failure (MERIT-HF). *JAMA.* 2000;283: 1295–1302.
123. Packer M, Coats AJ, Fowler MB, Katus HA, Krum H, Mohacsi P, Rouleau JL, Tendera M, Castaigne A, Roecker EB, Schultz MK, DeMets DL. Effect of carvedilol on survival in severe chronic heart failure. *N Engl J Med.* 2001;344:1651–1658.
124. Packer M, Bristow MR, Cohn JN, Colucci WS, Fowler MB, Gilbert EM, Shusterman NH. The effect of carvedilol on morbidity and mortality in patients with chronic heart failure. *N Engl J Med.* 1996;334:1349–1355.
125. Packer M. Effect of carvedilol on the morbidity of patients with severe chronic heart failure: results of the Carvedilol Prospective Randomized Cumulative Survival (COPERNICUS) Study. *Circulation.* 2002;106:2194–2199.
126. Flather MD, Shibata MC, Coats AJS, Van Veldhuisen DJ, Parkhomenko A, Borbola J, Cohen-Solal A, Dumitrascu D, Ferrari R, Lechat P, Soler-Soler J, Tavazzi L, Spinarova L, Toman J, Böhm M, Anker SD, Thompson SG, Poole-Wilson PA; SENIORS Investigators. Randomized trial to determine the effect of nebivolol on mortality and cardiovascular hospital admission in elderly patients with heart failure (SENIORS). *Eur Heart J.* 2005;26:215–225.
127. Farre N, Aranyo J, Enjuanes C, Verdu-Rotellar JM, Ruiz S, Gonzalez-Robledo G, Meroño O, de Ramon M, Moliner P, Bruguera J, Comin-Colet J. Differences in neurohormonal activity partially explain the obesity paradox in patients with heart failure: the role of sympathetic activation. *Int J Cardiol.* 2015;181: 120–126.

128. Vergaro G, Aimò A, Prontera C, Ghionzoli N, Arzilli C, Zyw L, Taddei C, Gabutti A, Poletti R, Giannoni A, Mammini C, Spini V, Passino C, Emdin M. Sympathetic and renin-angiotensin-aldosterone system activation in heart failure with preserved, mid-range and reduced ejection fraction. *Int J Cardiol.* 2019; 17. pii: S0167-5273(19)34052-5.
129. Moliner P, Jankowska EA, van Veldhuisen DJ, Farre N, Rozentryt P, Enjuanes C, Polonski L, Merono O, Voors AA, Ponikowski P, Van der Meer P, Comin-Colet J. Clinical correlates and prognostic impact of impaired iron storage versus impaired iron transport in an international cohort of 1821 patients with chronic heart failure. *Int J Cardiol.* 2017;243:360–366.
130. Moliner P, Enjuanes C, Tajés M, Cainzos-Achirica M, Lupón J, Garay A, Jimenez-Marrero S, Yun S, Farré N, Cladellas M, Díez C, Gonzalez-Costello J, Comin-Colet J. Association Between Norepinephrine Levels and Abnormal Iron Status in Patients With Chronic Heart Failure: Is Iron Deficiency More Than a Comorbidity? *J Am Heart Assoc.* 2019; 19;8(4):e010887.



**Anexos**

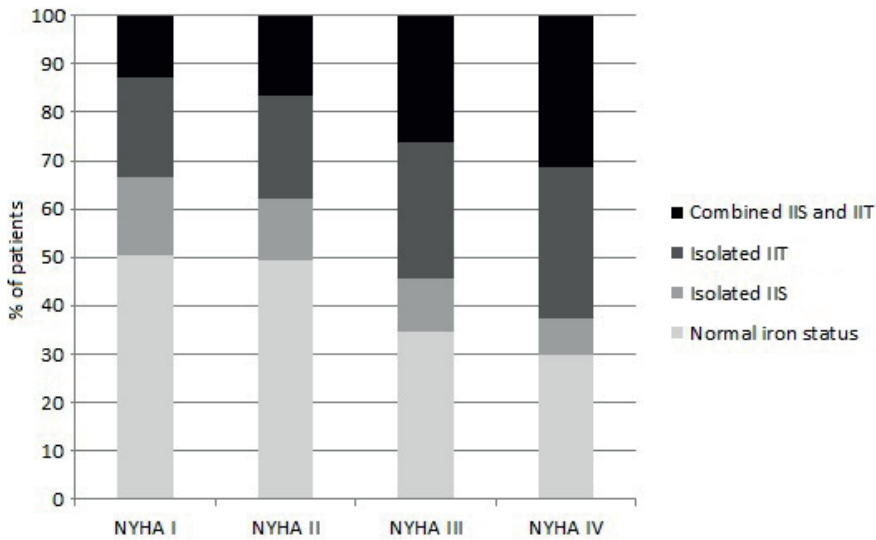




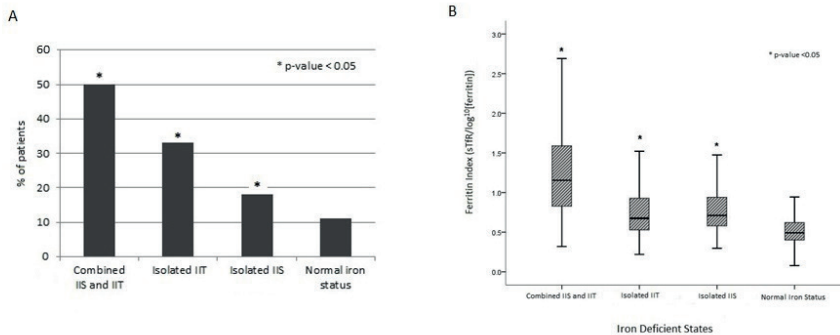
## Anexos

### Material suplementario del artículo:

Moliner P, Jankowska EA, van Veldhuisen DJ, Farre N, Rozentryt P, Enjuanes C, Polonski L, Meroño O, Voors AA, Ponikowski P, Van der Meer P, Comin-Colet J. Clinical correlates and prognostic impact of impaired iron storage versus impaired iron transport in an international cohort of 1821 patients with chronic heart failure. *Int J Cardiol.* 2017 Sep 15;243:360-366. doi:10.1016/j.ijcard.2017.04.110.



**Supplementary Figure 1.** NYHA class and ID states. Percentage of the different ID states according to NYHA class. Normal iron status was defined as ferritin  $\geq 100\mu\text{g/L}$  and TSAT  $\geq 20\%$ ; IIT, impaired iron transport (TSAT  $< 20\%$ ); IIS, impaired iron storage (ferritin  $< 100\mu\text{g/L}$ ); Isolated IIT was defined as TSAT  $< 20\%$  and ferritin  $\geq 100\mu\text{g/L}$ ; Isolated IIS was defined as ferritin  $< 100\mu\text{g/L}$  and TSAT  $\geq 20\%$ . NYHA: New York Heart Association. \*In all ID groups a statistically significant difference was observed ( $p < 0.05$ ) from normal iron status group.



**Supplementary Figure 2.** A) Increased levels of sTfR and ID states. Proportion of patients with concentrations of sTfR above the upper normal limit of reference according to ID states. Normal iron status was defined as ferritin  $\geq 100\mu\text{g/L}$  and TSAT  $\geq 20\%$ ; IIT, impaired iron transport (TSAT  $< 20\%$ ); IIS, impaired iron storage (ferritin  $< 100\mu\text{g/L}$ ); Isolated IIT was defined as TSAT  $< 20\%$  and ferritin  $\geq 100\mu\text{g/L}$ ; Isolated IIS was defined as ferritin  $< 100\mu\text{g/L}$  and TSAT  $\geq 20\%$ ; sTfR, soluble transferrin receptor. \*In all ID groups a statistically significant difference was observed ( $p < 0.05$ ) from normal iron status group. B) Ferritin Index and ID states. Box plots of values of ferritin index according to ID states. \*p-value  $< 0.001$  compared to patients with normal iron status.

**Supplementary table 1.** Iron status biomarkers and haematinics measurements.

| Variables                 | Combined             | Isolated     | Isolated     | Normal Iron     | p value |
|---------------------------|----------------------|--------------|--------------|-----------------|---------|
|                           | IIT and IIS<br>n=389 | IIT<br>n=454 | IIS<br>n=219 | Status<br>n=759 |         |
| Haemoglobin, g/dL         | 13 ± 1.8             | 13 ± 2       | 14 ± 1.3     | 14 ± 1.8        | <0.001  |
| Ferritin, µg/L [IQR]      | 55 [42]              | 194 [166]    | 68 [33]      | 240 [214]       | < 0.001 |
| TSAT, %                   | 12 ± 4.8             | 14 ± 4.5     | 30 ± 9.4     | 34 ± 12         | <0.001  |
| Raised sTfR, n (%)        | 127 (50)             | 99 (33)      | 28 (18)      | 68 (11)         | <0.001  |
| Ferritin index, [IQR]     | 1.15 [0.76]          | 0.67 [0.4]   | 0.71 [0.36]  | 0.49 [0.22]     | <0.001  |
| Serum iron, mg/dL [IQR]   | 45 [24]              | 46 [25]      | 94 [36]      | 99 [48]         | <0.001  |
| MCH, pg                   | 28 ± 2.4             | 29 ± 2.4     | 30 ± 2       | 31 ± 2.4        | <0.001  |
| MCHC, g/dL                | 32 ± 1.6             | 33 ± 1.6     | 33 ± 1.4     | 34 ± 2          | <0.001  |
| MCV, fL                   | 88 ± 6               | 90 ± 6       | 91 ± 5       | 92 ± 6          | <0.001  |
| RDW, %                    | 16 ± 2               | 15 ± 2       | 14 ± 1.2     | 14 ± 1.7        | <0.001  |
| RDW>15%, n (%)            | 126 (56)             | 106 (41)     | 23 (24)      | 71 (22)         | <0.001  |
| ID anisocytosis, n (%)    | 124 (54)             | 97 (38)      | 22 (22)      | 61 (18)         | <0.001  |
| CHR, pg                   | 31 ± 3.6             | 32 ± 4       | 34 ± 2.4     | 34 ± 2.8        | <0.001  |
| Endogenous EPO, U/L [IQR] | 22 [22]              | 16 [18]      | 18 [13]      | 13 [13]         | <0.001  |
| Vit B12, pg/mL [IQR]      | 402 [262]            | 474 [325]    | 388 [232]    | 446 [289]       | <0.001  |
| Folic acid, ng/mL [IQR]   | 8.6 [5.3]            | 9.3 [5.3]    | 9 [4.7]      | 8.4 [5.1]       | 0.23    |

Normal iron status was defined as ferritin  $\geq 100\mu\text{g/L}$  and TSAT  $\geq 20\%$ ; IIT, impaired iron transport (TSAT  $< 20\%$ ); IIS, impaired iron storage (Ferritin  $< 100\mu\text{g/L}$ ); Isolated IIT was defined as TSAT  $< 20\%$  and ferritin  $\geq 100\mu\text{g/L}$ ; Isolated IIS was defined as ferritin  $< 100\mu\text{g/L}$  and TSAT  $\geq 20\%$ ; TSAT, transferrin saturation; sTfR, soluble transferrin receptor; Ferritin index, sTfR/ $\log_{10}$ [ferritin]; MCH, mean corpuscular haemoglobin; MCHC, mean corpuscular haemoglobin concentration; MCV, mean corpuscular volume; RDW, red cell distribution width; ID anisocytosis was defined as RDW  $> 15\%$  and MCV  $< 100\text{fL}$ ; CHR, reticulocyte haemoglobin content; EPO, erythropoietin. Data

are presented as means  $\pm$  SD (standard deviation), medians (with interquartile range), or numbers (with percentages) where appropriate.

**Supplementary table 2.** Cox proportional hazards analyses exploring the influence of abnormalities of iron status in predicting all-cause mortality in patients with chronic heart failure.

| Variable            | Univariate               |         | Multivariate             |         |
|---------------------|--------------------------|---------|--------------------------|---------|
| ID States           | Hazard ratio<br>(95% CI) | p-value | Hazard ratio<br>(95% CI) | p-value |
| IIT + IIS vs NIS    | 1.60 (0.40-0.90)         | 0.014   | 1.41 (1.06-1.86)         | 0.015   |
| Isolated IIT vs NIS | 1.60 (0.43-0.98)         | 0.041   | 1.47 (1.13-1.92)         | 0.004   |
| Isolated IIS vs NIS | 1.0 (0.70-1.4)           | 0.998   | 1.11 (0.78-1.58)         | 0.549   |
| Iron Transport      | Hazard ratio<br>(95% CI) | p-value | Hazard ratio<br>(95% CI) | p-value |
| IIT vs normal IT    | 1.60 (1.32-1.91)         | <0.001  | 1.41 (1.13-1.76)         | 0.002   |
| Iron Storage        | Hazard ratio<br>(95% CI) | p-value | Hazard ratio<br>(95% CI) | p-value |
| IIS vs normal IS    | 1.14 (0.94-1.39)         | 0.174   | 1.06 (0.86-1.31)         | 0.589   |

ID, iron deficiency; Normal iron status (NIS) was defined as ferritin  $\geq$  100 $\mu$ g/L and TSAT  $\geq$ 20%; IIT, impaired iron transport (TSAT<20%); IIS, impaired iron storage (Ferritin<100 $\mu$ g/L); Isolated IIT was defined as TSAT <20% and ferritin  $\geq$ 100  $\mu$ g/L; Isolated IIS was defined as ferritin <100  $\mu$ g/L and TSAT  $\geq$ 20%.





