

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ



ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΚΛΙΝΙΚΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ
Διευθυντής: Καθηγητής Μιχαήλ Βουλγαρέλης

Διδακτορική Διατριβή
Ειρήνης Α. Αποστολίδη
Ιατρού-Παθολόγου

«Προοπτική, πολυκεντρική μελέτη καταγραφής επίπτωσης συστηματικών μυκητιάσεων σε νοσηλευόμενους ενήλικους ασθενείς με αιματολογικές κακοήθειες και/ή μεταμόσχευση μυελού των οστών: το φορτίο σιδήρου ως παράγων κινδύνου»

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΝΙΚΟΛΑΟΣ Β. ΣΥΨΑΣ

ΑΘΗΝΑ 2023

Στον Αγαπημένο μου Αδερφό

Ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΗ

Ὅμνιμι Ἀπόλλωνα ἰητρὸν, καὶ Ἀσκληπιὸν, καὶ Ὑγιάν, καὶ Πανάκειαν, καὶ θεοὺς πάντας τε καὶ πάσας, ἴστωρας ποιούμενος, ἐπιτελέα ποιήσων κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμὴν ὄρκον τόνδε καὶ ξυγγραφὴν τήνδε, ἰγγήσασθαι μὲν τὸν διδάξαντά με τὴν τέχνην ταύτην ἴσα γενέτησιν ἐμοῖσι, καὶ βίου κοινώσασθαι, καὶ χρεῶν χρηζόντι μετάδοσιν ποιήσασθαι, καὶ γένος τὸ ἐξ αὐτέου ἀδελφοῦς ἴσον ἐπικρινέειν ἄρρεσι, καὶ διδάξω τὴν τέχνην ταύτην, ἣν χρηζῶσι μανθάνειν, ἄνευ μισθοῦ καὶ ξυγγραφῆς, παραγγελῆς τε καὶ ἀκροήσεως καὶ τῆς λοιπῆς ἀπάσης μαθήσεως μετάδοσιν ποιήσασθαι υἱοῖσι τε ἐμοῖσι, καὶ τοῖσι τοῦ ἐμὲ διδάξαντος, καὶ μαθηταῖσι συγγεγραμμένοιῖσι τε καὶ ὠρκισμένοις νόμῳ ἱητρικῷ, ἄλλω δὲ οὐδενί. Διαιτήμασί τε χρήσομαι ἐπ' ἀφελείῃ καμνόντων κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμὴν, ἐπὶ δηλήσει δὲ καὶ ἀδικίῃ εἶρξω. Οὐ δώσω δὲ οὐδὲ φάρμακον οὐδενὶ αἰτηθεὶς θανάσιμον, οὐδὲ ὑψηγήσομαι ξυμβουλήν τοιήνδε, ὁμοίως δὲ οὐδὲ γυναικὰ πεσοῦν φθόρον δώσω. Ἀγνώως δὲ καὶ ὁσίως διατηρήσω βίον τὸν ἐμὸν καὶ τέχνην τὴν ἐμήν. Οὐ τεμέω δὲ οὐδὲ μὴν λιθιῶντας, ἐκχωρήσω δὲ ἐργάτησιν ἀνδράσι πρήξιον τήσδε. Ἐς οἰκίας δὲ ὀκόσας ἂν ἐσίω, ἐσελεύσομαι ἐπ' ἀφελείῃ καμνόντων, ἐκτὸς ἐὰν πάσης ἀδικίης ἐκουσίης καὶ φθορῆς, τῆς τε ἄλλης καὶ ἀφροδισίων ἔργων ἐπὶ τε γυναικείων σωματίων καὶ ἀνδρῶν, ἐλευθέρων τε καὶ δούλων. Ἄ δ' ἂν ἐν θεραπείῃ ἦ ἴδω, ἢ ἀκούσω, ἢ καὶ ἄνευ θεραπείης κατὰ βίον ἀθρώπων, ἂ μὴ χρῆ ποτε ἐκλαλέεσθαι ἕξω, σιγήσομαι, ἄρρητα ἰγγείμενος εἶναι τὰ τοιαῦτα. Ὅρκον μὲν οὖν μοι τόνδε ἐπιτελέα ποίεοντι, καὶ μὴ ξυγχέοντι, εἴη ἐπαύρασθαι καὶ βίου καὶ τέχνης δοξαζομένῳ παρ' ἀπάσῳ ἀθρώποις ἐς τὸν αἰεὶ χρόνον, παραβαίνοντι δὲ καὶ ἐπορκούντι, τὰ ναντία τουτέων

Ημερομηνία ορισμού τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής: 15/04/2014

Ημερομηνία αλλαγής τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής: 31/08/2021

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή:

1. Καθηγητής κ. Νικόλαος Β. Σύψας (Επιβλέπων)
2. Καθηγητής κ. Μιχαήλ Βουλγαρέλης
3. Καθηγητής κ. Αθανάσιος Πρωτογέρου

Ημερομηνία κατάθεσης πρωτοκόλλου της διδακτορικής διατριβής: 28/04/2014

Ημερομηνία κατάθεσης 1ης έκθεσης προόδου: 01/04/2015

Ημερομηνία κατάθεσης 2ης έκθεσης προόδου: 16/09/2016

Ημερομηνία κατάθεσης 3ης έκθεσης προόδου: 16/11/2021

Ημερομηνία κατάθεσης 4^{ης} έκθεσης προόδου: 31/04/2023

Μέλη Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής:

1. Καθηγητής κ. Νικόλαος Β. Σύψας
2. Καθηγητής κ. Μιχαήλ Βουλγαρέλης
3. Καθηγητής κ. Αθανάσιος Πρωτογέρου
4. Καθηγήτρια κ. Γεωργία Βρυώνη
5. Καθηγητής κ. Μιχαήλ Σαμάρκος
6. Αναπληρώτρια Καθηγήτρια κ. Ευσταθία Καψογεώργου
7. Αναπληρώτρια Καθηγήτρια κ. Σταυρούλα Γιαννούλη

Βιογραφικό Σημείωμα Υποψήφιας Διδάκτορος

ΠΡΟΣΩΠΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Όνοματεπώνυμο Αποστολίδη Ειρήνη
Ημερομηνία Γέννησης 11 Οκτωβρίου 1988
Διεύθυνση Κατοικίας Παπαδιαμαντοπούλου 116, Ζωγράφου, Αττική
Τηλέφωνο Επικοινωνίας 6932000292
e-mail e-apostolidi@med.uoa.gr

Τίτλοι Σπουδών

Σεπτέμβριος 2007	Ιατρική Σχολή
Αύγουστος 2013	Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών Βαθμός Πτυχίου «Λίαν Καλώς»
Απρίλιος 2014 έως σήμερα	Υποψήφια Διδάκτορας Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ Κλινική Παθολογικής Φυσιολογίας με θέμα: « <i>Προοπτική, πολυκεντρική μελέτη καταγραφής επίπτωσης συστηματικών μυκητιάσεων σε νοσηλευόμενους ενήλικους ασθενείς με αιματολογικές κακοήθειες και/ή μεταμόσχευση μυελού των οστών: το φορτίο σιδήρου ως παράγων κινδύνου</i> »
Μάιος 2022	Απόκτηση Τίτλου Ειδικότητας Εσωτερικής Παθολογίας

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

Αύγουστος 2014 Οκτώβριος 2016	Ιατρός άνευ ειδίκευσης στο Δερματολογικό Ιατρείο Κ. Καντούνης
Φεβρουάριος 2017 Φεβρουάριος 2022	Ειδικευόμενη Εσωτερικής Παθολογίας στην Κλινική Παθολογικής Φυσιολογίας, Γ.Ν.Α. «Λαϊκό» Εκπαίδευση σε Μονάδα Ειδικών Λοιμώξεων Εκπαίδευση στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας Γ.Ν.Α «Λαϊκό» Εκπαίδευση στην Καρδιολογία στην Καρδιολογική Κλινική Γ.Ν.Α «Λαϊκό»
Φεβρουάριος 2022 Φεβρουάριος 2023	Παραμονή μετά τη λήψη τίτλου ειδικότητας ως βοηθός ΕΣΥ σε παράταση στην Κλινική της Παθολογικής Φυσιολογίας Εκπαίδευση στη διάγνωση και αντιμετώπιση αιματολογικών νοσημάτων στην Αιματολογική Μονάδα της Παθολογικής Φυσιολογίας
Μάρτιος 2023 έως σήμερα	Επιστημονικός Συνεργάτης Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ, Κλινική και Εργαστήριο Παθολογικής Φυσιολογίας, Συμμετοχή στη μελέτη με τίτλο «REVERSE: Μέτρα πρόληψης και διαχείρισης για τη μείωση της αντοχής στα αντιβιοτικά σε περιβάλλον υψηλού επιπολασμού» χρηματοδοτούμενη από πρόγραμμα “Horizon” της Ε.Ε.

ΔΙΔΑΚΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

Σεπτέμβριος 2022 Φεβρουάριος 2023	«Κλινική εξέταση αναπνευστικού συστήματος» στα πλαίσια της τρίμηνης εκπαίδευσης των εκτοετών
--------------------------------------	---

	φοιτητών της Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ στην Παθολογία- Κλινική Παθολογικής Φυσιολογίας
Οκτώβριος 2022	«Καρδιοαναπνευστική Αναζωογόνηση» στα πλαίσια εκπαίδευσης τριτοετών φοιτητών της Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ-Εργαστήριο Παθολογικής Φυσιολογίας
Φεβρουάριος 2022	Παρουσίαση άρθρου “Clinical outcomes among patients infected with Omicron (B.1.1.529) SARS- CoV-2 variant in southern California. Joseph LA et al.” στα πλαίσια βιβλιογραφικής ενημέρωσης ειδικευομένων ιατρών και τριμηνητών εκτοετών φοιτητών
9 Ιανουαρίου 2022	«Βιταμίνη D: Μύθοι και πραγματικότητα (με σχολιασμό κλινικών περιπτώσεων)» στα πλαίσια Webinar Ελληνικής Εταιρείας Εσωτερικής Παθολογίας
27 Μαρτίου 2023	«Πυρετός» στα πλαίσια του Μεταπτυχιακού προγράμματος του Νοσηλευτικού Τμήματος της Σχολής Επιστημών Υγείας του ΕΚΠΑ με τίτλο «Προηγμένη Κλινική Νοσηλευτική»
04 Μαΐου 2023	«Πόνος» στα πλαίσια του Μεταπτυχιακού προγράμματος του Νοσηλευτικού Τμήματος της Σχολής Επιστημών Υγείας του ΕΚΠΑ με τίτλο «Προηγμένη Κλινική Νοσηλευτική»

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

- Papadimitriou-Olivgeris M, Andrianaki A, Marangos M, Sipsas NV, **Apostolidi E**, Maltezos E, Panagopoulos P, Karapiperis D, Arvaniti K, Perdikouri E, Samonis G, Kofteridis DP.

Hospital-wide antifungal prescription in Greek hospitals: a multicenter repeated point-prevalence study.

Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2020 Feb;39(2):243-248. doi:10.1007/s10096-019-03713-w

- Vlachoyiannopoulos P, Alexopoulos H, **Apostolidi I**, Bitzogli K, Barba C, Athanasopoulou E, Dalakas M, Tzioufas A.

Anti-SARS-CoV-2 antibody detection in healthcare workers of two tertiary hospitals in Athens, Greece

Clin Immunol. 2020 Dec;221:108619. doi: 10.1016/j.clim.2020.108619.

- Chatzis L, **Apostolidi E**, Chatzis S.

Cavitary lung lesions in an immunosuppressed patient.

Int J Infect Dis. 2020 Jul;96:365-366. doi: 10.1016/j.ijid.2020.05.032.

- **Apostolidi EA**, Gamaletsou MN, Arapaki M, Asimakopoulos JV, Diamantopoulos D, Zafeiratou S, Kofteridis D, Pagoni M, Kotsopoulou M, Voulgarelis M and Sipsas NV.

Bone Marrow Iron Stores Are Not Associated with Increased Risk for Invasive Fungal Infections in Patients with Newly Diagnosed Acute Leukemia or Myelodysplastic Syndrome in Transformation: Is There a Relationship?

J Fungi (Basel) **2023**, 9,748. <https://doi.org/10.3390/jof9070748>

ANAPTHMENEΣ ANAKOINΩΣΕΙΣ

<p>26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases</p>	<p>A point-prevalence study of antifungal therapy in Greek hospitals D. Kofteridis, A. Andrianaki, M. Marangos, M. Papadimitriou-Olivgeris, N. Sipsas, E. Apostolidi, E. Maltezos, P. Panagopoulos, D. Karapiperis, I. Papadakis, C. Bikis, G. Samonis</p>
<p>26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases</p>	<p>Incidence and risk factors of Clostridium difficile infection in a Greek tertiary care hospital: a retrospective, observational study (2009-2015) E. Apostolidi, K. Korantanis, S. Katsouli, A. Markogiannakis, M. Gamaletsou, S. Smilakou, N. Sipsas</p>
<p>26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases</p>	<p>Clostridium difficile infection in a tertiary hospital in Greece: epidemiology and prognosis E. Kravvariti, E. Apostolidi, A. Markogiannakis, G. Daikos, N. Sipsas, M. Samarkos</p>
<p>28th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases</p>	<p>A point-prevalence study of antifungal therapy in Greek hospitals A. Andrianaki, G. Samonis, M. Marangos, M. Papadimitriou-Olivgeris, N. Sipsas, E. Apostolidi, E. Maltezos, P. Panagopoulos, D. Karapiperis, K. Arvaniti, E. Perdicouri, D. Kofteridis</p>
<p>7th Advances Against Aspergillosis</p>	<p>Epidemiology and outcome of invasive aspergillosis in patients with hematological</p>

	<p>malignancies: a Greek, single center, prospective, observational study (2014-2015)</p> <p>EA Apostolidi, MN Gamaletsou*, A Markogiannakis, NV Sipsas</p>
<p>30th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases</p>	<p>Fever of unknown origin: a prospective observational study in a tertiary university hospital</p> <p>S. Vlachos, D. Bassoulis , M.Samarkos , G. Patavoukas C. Siafarikas , F. Ntziora , E. Apostolidi , N. Sypsas , GL. Daikos , M. Psychogiou</p>
<p>22^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Εσωτερικής Παθολογίας</p>	<p>Ενδιαφέρον περιστατικό: ασθενής με παρατεινόμενο εμπύρετο οφειλόμενο σε σπάνιο αγγειακό όγκο των οστών</p> <p>Ε. Τζεραβίνη, Λ. Χατζής, Σ. Κομνηνός, Σ. Σαμαρά, Ε. Αποστολίδη, Ε. Νταρούτσου, Κουτσομπίνα, Σ. Παπαδάκος, Δ. Μουζιούρας, Ι. Ζερβός</p>
<p>21st European Congress of Internal Medicine</p>	<p>The prevalence of Post Covid-19 syndrome at 3 months after hospitalization with Covid-19 pneumonia-Comparison between Alpha, Delta and Omicron variant</p> <p>V. Georgakopoulou, S. Makrodimitri, A. Gkoyfa, I. Apostolidi, S. Provas, M. Gamaletsou, N. Sipsas</p>
<p>22^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Λοιμώξεων</p>	<p>Η επίπτωση του συνδρόμου Post Covid-19 σε ασθενείς που νοσηλεύτηκαν με πνευμονία Covid - 19: Σύγκριση μεταξύ των παραλλαγών Alpha, Delta και Omicron</p> <p>Γεωργακοπούλου Β., Μακροδημήτρη Σ., Γκούφα Α., Γκαμαλέτσου ΜΝ.,</p>

Αποστολίδη Ε., Προβατάς Σ., Μπασούλης Δ., Τσακανίκας Α.,
Σύψας ΝΒ.

ΕΙΣΗΓΗΣΕΙΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

22 ^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Λοιμώξεων	Χαρακτηριστικά του Συνδρόμου Post Covid-19 σε μη νοσηλευθέντες με ιστορικό νόσησης από Covid-19: ασθενείς: Σύγκριση μεταξύ των παραλλαγών Alpha, Delta και Omicron Β. Γεωργακοπούλου, Σ. Μακροδημήτρη, Α. Γκούφα, Μ.Ν. Γκαμαλέτσου, Ε. Αποστολίδη , Σ. Προβατάς, Δ. Μπασούλης, Α. Τσακανίκας, Ν.Β. Σύψας
22 ^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Λοιμώξεων	Πνευμονική λειτουργία σε ασθενείς με Covid-19 τρεις μήνες μετά την έξοδό τους από το νοσοκομείο: Σύγκριση μεταξύ των περιόδων επικράτησης της παραλλαγής Alpha, Delta και Omicron Β. Γεωργακοπούλου, Σ. Μακροδημήτρη, Α. Γκούφα, Μ.Ν. Γκαμαλέτσου, Ε. Αποστολίδη , Σ. Προβατάς, Δ. Μπασούλης, Α. Τσακανίκας, Ν.Β. Σύψας
25 th International Congress of Molecular Medicine Conference	Lung function at three months after hospitalization due to COVID-19: Comparison among alpha, delta and omicron predominance.

	V. Georgakopoulou, S. Makrodimitri, A. Gkoyfa, M. Gamaletsou, I. Apostolidi , S. Provas, D. Basoulis, A. Tsakanikas, N. Sipsas
8 ^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρίας Ιατρικής Μυκητολογίας	Άνδρας 66 ετών με λέμφωμα από μεγάλα Β κύτταρα και γλοιοβλάστωμα ΚΝΣ εισάγεται στο νοσοκομείο με πολλαπλές κοιλοτικές εξεργασίες στον πνεύμονα Ε. Αποστολίδη , Ι. Βλαχαδάμη, Π. Μήκου, Α. Ζορμπαλά, Γ. Βρυώνη, Μ.Ν. Γκαμαλέτσου

ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΧΡΗΜΑΤΟΔΟΤΟΥΜΕΝΕΣ ΑΠΟ ΤΗ ΦΑΡΜΑΚΟΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ

- Τίτλος κλινικής Μελέτης:** «Μια Φάσης 3, πολυκεντρική, προοπτική, τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή μελέτη δύο θεραπευτικών σχημάτων για την καντινταιμία ή/και τη διηθητική καντιντίαση: ενδοφλέβια εχινοκανδίνη ακολουθούμενη από ibrexafungerp από του στόματος έναντι ενδοφλέβιας εχινοκανδίνης ακολουθούμενης από φλουκοναζόλη από του στόματος (MARIO)»

Χρηματοδότηση: SCYNEXIS, Inc., United States

Αρ. EudraCT: 2022-000648-32

Ρόλος: Study Coordinator
- Τίτλος κλινικής Μελέτης:** «Μία τυχαιοποιημένη, ανοικτής επισήμανσης, πολυκεντρική, συγκριτική δοκιμή για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας και της ασφάλειας του pritelinivir έναντι της φοσκαρνέτης για τη θεραπεία των ανθεκτικών στην ακυκλοβίρη βλεννογονοδερματικών λοιμώξεων από HSV σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς (PRIOH-1)»

Χρηματοδότηση: AiCuris Anti-infective Cures GmbH, Wuppertal, Germany

Αρ. EudraCT: 2020-004940-27

Ρόλος: Study Coordinator, Study Investigator, Pharmacist

- **Τίτλος κλινικής Μελέτης:** «Μια επεμβατική, φάσης 2, τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή κλινική μελέτη αποτελεσματικότητας και ασφάλειας 2 σκελών για τη διερεύνηση επαναληπτικού 5ήμερου κύκλου νιρματρελβίρης/ριτοναβίρης σε σύγκριση με εικονικό φάρμακο/ριτοναβίρη σε συμμετέχοντες ηλικίας τουλάχιστον 12 ετών με επανεμφάνιση των συμπτωμάτων της Covid-19 και θετικότητα σε ταχεία εξέταση αντιγόνου

Χρηματοδότηση: Pfizer Inc.

Αρ. EudraCT: 2022-002827-36

Ρόλος: Study Coordinator, Study Investigator

ΓΝΩΣΕΙΣ ΞΕΝΩΝ ΓΛΩΣΣΩΝ

- Αγγλικής: Certificate of Proficiency in English- University of Michigan
Certificate of Proficiency in English- University of Cambridge
- Γερμανικής: Mittelstufe Zertifikat

Ευχαριστίες

Αρχικά, θα ήθελα να εκφράσω τη βαθιά μου ευγνωμοσύνη και να ευχαριστήσω από καρδιάς τον επιβλέποντα της παρούσας διατριβής και μέντορά μου Καθηγητή κ. Νικόλαο Β. Σύψα, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε αναθέτοντάς μου την εκπόνηση αυτού του έργου. Καθ' όλη τη διάρκεια του ταξιδιού μου στην έρευνα, αλλά και την κλινική πράξη υπήρξε εξαιρετικός δάσκαλος και πηγή έμπνευσης, δίνοντάς μου ευκαιρίες και χαρίζοντάς μου συμβουλές και γνώση. Μοιράστηκε μαζί μου την αγάπη του για την Λοιμώξεις και με βοήθησε να ανακαλύψω έναν κόσμο που με γοήτευσε. Καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης αυτής της διατριβής στεκόταν πάντα δίπλα μου και μου προσέφερε πολύτιμη βοήθεια στο να ξεπεραστεί οποιοδήποτε εμπόδιο ή πρόβλημα προέκυπτε. Είναι πραγματικά τιμή μου που με επέλεξε να συνεργάζομαι μαζί του.

Θα ήθελα, επίσης, να ευχαριστήσω θερμά τον Καθηγητή και Διευθυντή της κλινικής της Παθολογικής Φυσιολογίας κ. Μιχαήλ Βουλγαρέλη, που μοιράστηκε μαζί μου τη γνώση και την εμπειρία του και με βοήθησε να κατανοήσω τις ιδιαιτερότητες και την πολυπλοκότητα του αιματολογικού ασθενή. Ανεκτίμητη ήταν η βοήθεια του στο εργαστηριακό κομμάτι της διατριβής αυτής, αφού ήταν αυτός που με καθοδηγούσε με αμείωτο ενδιαφέρον. Οι εύστοχες παρατηρήσεις του και η ουσιαστική κριτική του υπήρξαν εφελκυστήρας για τη συνεχή προσωπική και επαγγελματική μου βελτίωση.

Ευχαριστώ ιδιαιτέρως τον Καθηγητή κ. Αθανάσιο Πρωτογέρου για την εμπιστοσύνη του και τη συνεχή ηθική του συμπαράσταση, που υπήρξε ουσιαστική για την περάτωση αυτού του έργου.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή κ. Δημήτριο Π. Κοντογιάννη (MD Anderson Cancer Center, Houston, TX) που μοιράστηκε μαζί μου το όραμά του και τις

σκέψεις του και έδειξε ιδιαίτερο ενδιαφέρον στην εκπαίδευσή μου παρά τη χιλιομετρική απόσταση. Η σοφία, η εμπειρία του και η άριστη γνώση του πάνω στις λοιμώξεις και τους μύκητες υπήρξαν καθοριστικά για την ολοκλήρωση της διατριβής τούτης.

Σ' αυτό το σημείο θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους διευθυντές των Αιματολογικών Κλινικών που συμμετείχαν στη μελέτη, καθώς και τους συνεργάτες τους, ιδιαίτερα τον κ. Ιωάννη Ασημακόπουλο, την κα Μαρία Αραπάκη και τον κ. Παναγιώτη Διαμαντόπουλο, για τη συνεχή τους προσπάθεια και την άριστη συνεργασία μας.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ/ABSTRACT OF THE THESIS

2. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

- 2.1 Λοιμώξεις και μεταβολισμός του σιδήρου
- 2.2 Ομοιοστασία σιδήρου και μύκητες
- 2.3 Διηθητικές Μυκητιάσεις στον αιματολογικό ασθενή
- 2.4 Υπερφόρτωση σιδήρου και μυκητιακές λοιμώξεις

3. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

- 3.1 Εισαγωγή
- 3.2 Υλικά και Μέθοδοι
 - 3.2.1 Πληθυσμός της μελέτης
 - 3.2.2 Συλλογή στοιχείων και υλικών
 - 3.2.3 Μέθοδοι και ανάλυση δεδομένων
 - 3.2.4 Χρώση σιδήρου μυελού των οστών και σύστημα βαθμονόμηση
 - 3.2.5 Στατιστική ανάλυση δεδομένων
- 3.3 Αποτελέσματα
- 3.4 Συζήτηση
- 3.5 Πίνακες και σχήματα

4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

5. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

- 5.1 Έντυπο παρακολούθησης ασθενούς
- 5.2 Ανάπτυπο Δημοσίευσης που προέκυψε από τη διατριβή

1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Οι διηθητικές μυκητιακές λοιμώξεις αποτελούν κύρια αιτία θνητότητας και θνησιμότητας για τους ασθενείς με αιματολογικές κακοήθειες. Ο σίδηρος διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεση των λοιμώξεων, συμπεριλαμβανομένων και των διηθητικών μυκητιάσεων. Έρευνες έχουν δείξει ότι η υπερφόρτωση του οργανισμού με σίδηρο είναι πιθανό να αποτελεί έναν ακόμη παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη διηθητικών μυκητιακών λοιμώξεων. Διεξήγαμε μια προοπτική, πολυκεντρική μελέτη σε ασθενείς με νεοδιάγνωση οξείας μυελογενούς λευχαιμίας ή μυελοδυσπλαστικού συνδρόμου σε εκτροπή, για να αποσαφηνίσουμε εάν η αυξημένη συγκέντρωση σιδήρου στις αποθήκες σιδήρου του μυελού των οστών και τα αυξημένα επίπεδα σιδήρου ορού και φερριτίνης είναι ανεξάρτητοι παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη διηθητικών μυκητιακών λοιμώξεων. Συνολικά, 98 ασθενείς καταγράφηκαν (76 με οξεία μυελογενή λευχαιμία) και παρακολούθηθηκαν για ένα έτος μετά τη διάγνωσή τους. 22 ασθενείς διεγνώσθησαν με διηθητική μυκητίαση κατά το διάστημα παρακολούθησης (διηθητική ασπεργίλλωση n=16, καντινταιμία n=5, μουκορμύκωση n=1). Αυξημένος σίδηρο στις αποθήκες σιδήρου του μυελού των οστών εντοπίστηκε σε 39 ασθενείς (31/76 ασθενείς χωρίς διηθητική μυκητίαση και 7/22 ασθενείς με διηθητική μυκητίαση). Η μονοπαραγοντική ανάλυση έδειξε ότι μόνο η διάγνωση της οξείας μυελογενούς λευχαιμίας αυτή καθ' αυτή αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα για την ανάπτυξη διηθητικής μυκητιακής λοίμωξης [OR (95% CI) 7.40 (1.05 – 325.42)]. Στη μονοπαραγοντική και στην πολυπαραγοντική ανάλυση, το αυξημένο BMIS score (≥ 3) στη διάγνωση δε φάνηκε να αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου. Ομοίως, ο σίδηρος και η φερριτίνη ορού δε διέφεραν στις δύο ομάδες που είχαν παρόμοια δημογραφικά χαρακτηριστικά. Στην κοορτή μας που αποτελείται από Έλληνες ασθενείς με πρωτοδιάγνωση οξείας μυελογενούς λευχαιμίας ή μυελοδυσπλαστικό

σύνδρομο σε εκτροπή, οι δείκτες υπερφόρτωσης του οργανισμού με σίδηρο δεν αποτελούν ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για διηθητικές μυκητιάσεις.

ABSTRACT OF THE THESIS

Iron plays an important role in the pathogenesis of infections, including invasive fungal infections (IFIs). Studies suggested that iron overload might represent an additional risk factor for IFIs among patients with hematological malignancies. We conducted a prospective, multi-center study amongst adult patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia (AML) or myelodysplastic syndrome (MDS) in transformation, to determine whether baseline iron overload as measured using the bone marrow iron stores (BMIS) score is an independent risk factor for the development of IFIs. We also measured baseline serum iron and ferritin levels. A total of 98 patients were enrolled (76 with AML) and were followed for 12 months. Twenty-two patients developed IFI during the follow up period (invasive aspergillosis n=16, candidemia n=5, mucormycosis n=1). A baseline BMIS score ≥ 3 , indicating iron overload was relatively common (38/98 patients, 38%) and its frequency was comparable between patients with no IFIs (31/76, 40.7%) and in those with IFIs (8/22, 36.4%). Univariate analysis showed that only the presence of AML was associated with increased risk for IFIs [OR (95% CI) 7.40 (1.05 – 325.42)]. Both univariate and multivariate analyses showed that an increased BMIS score (≥ 3) at baseline was not an independent risk factor for IFIs. Similarly, there was no difference in serum iron and ferritin between the two groups that had similar demographic characteristics. Indices of iron overload were not independent risk factors for IFIs in our cohort of Greek patients with newly diagnosed AML/MDS in transformation.

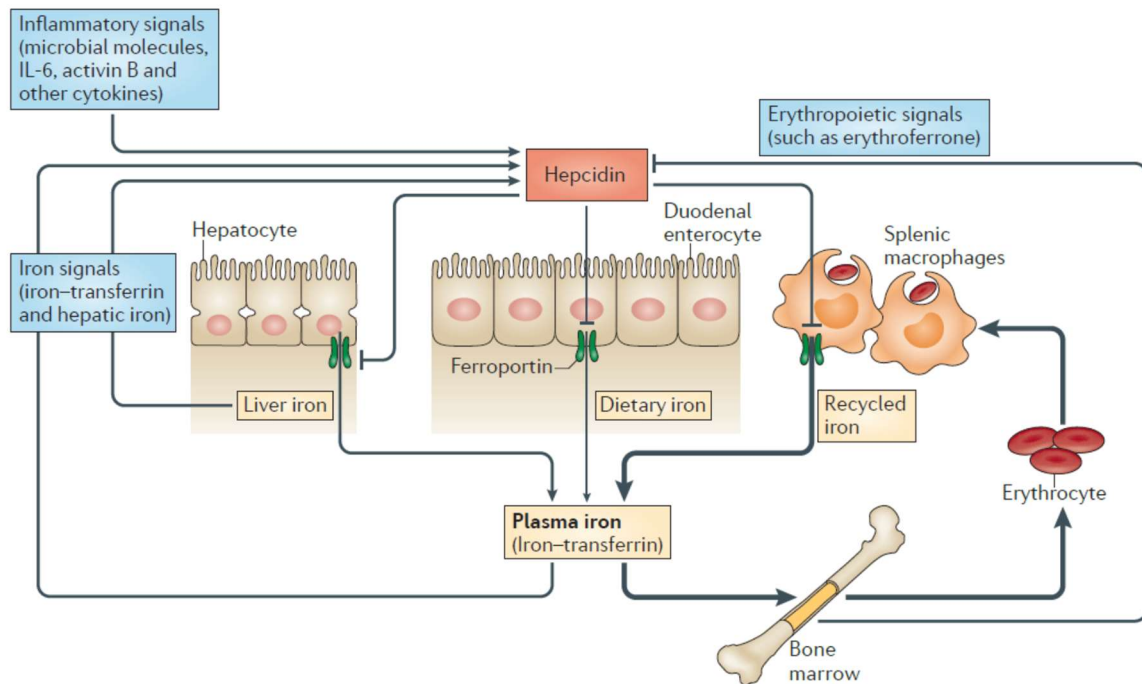
2. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΣΙΔΗΡΟΥ

Ο σίδηρος αποτελεί απαραίτητο μικροθρεπτικό συστατικό τόσο για τον ξενιστή όσο και για τις μεταβολικές διαδικασίες των παθογόνων μικροοργανισμών και παίζει καθοριστικό ρόλο στις μεταβολικές διεργασίες, στη μεταφορά οξυγόνου και τη λειτουργία του ανοσοποιητικού στους ανθρώπους. Η διατήρηση της ισορροπίας της διαθεσιμότητα σιδήρου (ομοιόσταση) είναι σημαντική για ένα υγιές σώμα. Η έλλειψη σιδήρου, καθώς και η υπερφόρτωση με σίδηρο οδηγεί σε κακή πρόγνωση σε μακροχρόνιες ασθένειες [1] και σε αυξημένη ευαισθησία σε λοιμώξεις [2, 3].

Η διατήρηση της ομοιόστασης του σιδήρου συμβαίνει μέσω της ρύθμισης της απορρόφησης του από το δωδεκαδάκτυλο και την ανακύκλωση των αποθεμάτων σιδήρου. Η πρόσληψη σιδήρου στο λεπτό έντερο ρυθμίζεται από την εψιδίνη, μια ολιγοπεπτιδική ορμόνη που συντίθεται στο ήπαρ [4, 5]. Η παραγωγή εψιδίνης αυξάνεται σημαντικά κατά τη διάρκεια της λοίμωξης και της φλεγμονής, και έχει αναφερθεί ότι έχει άμεση αντιμικροβιακή δράση [6, 7]. Ο σίδηρος που είναι συνδεδεμένος με την εψιδίνη μεταφέρεται στα κύτταρα μέσω της φερροπορτίνης, επιτρέποντας στα μακροφάγα, τα ηπατοκύτταρα και τα εντεροκύτταρα να συγκρατήσουν σίδηρο που διαφορετικά θα απελευθερωνόταν στην κυκλοφορία του αίματος. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, σχεδόν τα τρία τέταρτα του σιδήρου του σώματος είναι δεσμευμένα στην αιμοσφαιρίνη, με το υπόλοιπο να αποθηκεύεται ενδοκυτταρικά ως φερριτίνη ή να συνδέεται με εξωκυτταρίες πρωτεΐνες [8]. Το κανονικό επίπεδο σιδήρου στον ορό είναι 10–30 μM, ενώ πιο ψηλά επίπεδα δημιουργούν συμπτώματα υπερφόρτωσης σιδήρου [9, 10]. (Εικόνα 1)

Εικόνα 1. Η ομοιοστασία του σιδήρου και πώς αυτή διαμορφώνεται με βάση την ερυθροποίηση και τη φλεγμονή [11].



Ο σίδηρος είναι επίσης ένα απαραίτητο θρεπτικό συστατικό για την ανάπτυξη, την αναπαραγωγή και τον μεταβολισμό των βακτηρίων και το ανθρώπινο σώμα διαθέτει πολλούς αμυντικούς μηχανισμούς που μειώνουν τη διαθεσιμότητα σιδήρου σε παθογόνα [12]. Μία πιθανή βλάβη ιστού που προκύπτει από λοίμωξη μπορεί να αλλάξει την τοπική ομοιοστασία του σιδήρου ενισχύοντας τους μηχανισμούς δέσμευσης του σιδήρου και τη μείωση του κυκλοφορούντος σιδήρου, καθώς και την αποδόμηση της αίμης και της αιμοσφαιρίνης από τα μακροφάγα [11, 13]. Η πρωτεΐνη του ορού τρανσφερίνη (ονομάζεται επίσης σεροτρανσφερίνη) δημιουργεί ένα βακτηριοστατικό περιβάλλον δεσμεύοντας ελεύθερο σίδηρο [14].

Στη φυσική ανοσία, ο σίδηρος ρυθμίζει τη λειτουργία των αιμοποιητικών κυττάρων, επειδή ελέγχει τη δραστηριότητα των μεταγραφικών παραγόντων και των ενζύμων και έτσι την παραγωγή αντιμικροβιακών παραγόντων όπως το μονοξειδίο του αζώτου και οι ρίζες υδροξυλίου. Στην ειδική ανοσολογική απάντηση, ο σίδηρος είναι ένας βασικός αυξητικός παράγοντας για τον πολλαπλασιασμό λεμφοκυτταρικών κλώνων [11, 15,

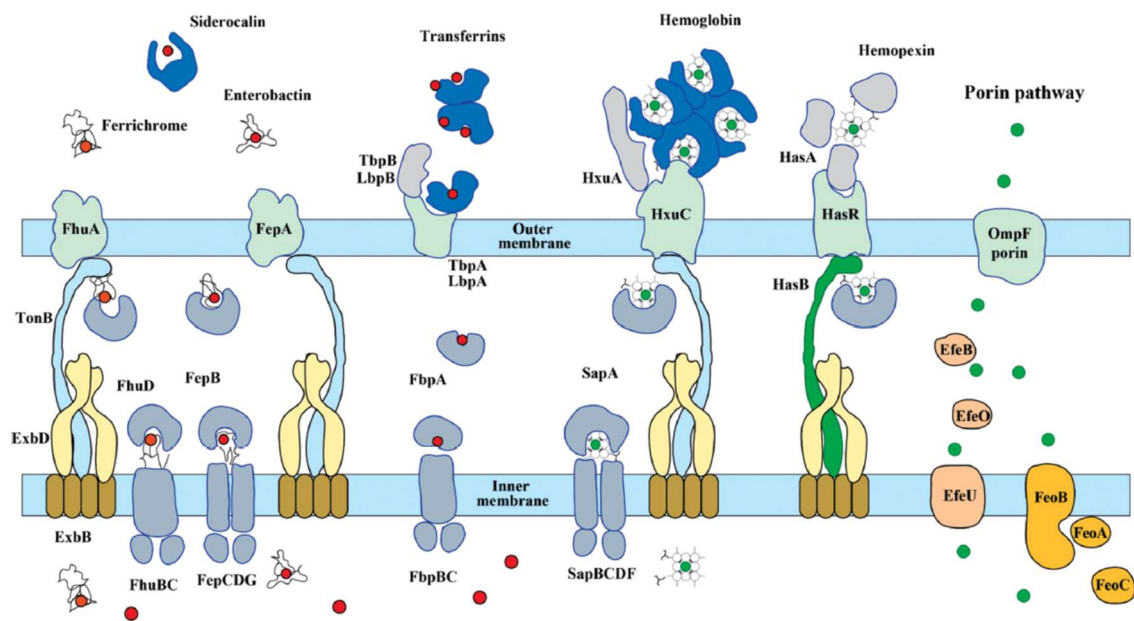
16]. Οποιαδήποτε μορφή ενεργοποίησης του ανοσοποιητικού συστήματος επηρεάζει την κατανομή σιδήρου στον οργανισμό και συνήθως οδηγεί σε μείωση του σιδήρου του πλάσματος (υποφερραιμία) και της διαμερισματοποίησης του εντός του συστήματος μονοπύρηνων φαγοκυττάρων (MPS). Αυτές οι αλλαγές ξεκινούν κατά την είσοδο μικροβίων, τα οποία αναγνωρίζονται από ειδικούς υποδοχείς (pattern recognition receptors, PRR), και την ιντερλευκίνη-6, που αποτελεί επαγωγέα της οξείας ανοσολογικής απάντησης. Πέραν των αλλαγών στην ομοιοστασία του σιδήρου που γίνονται στον οργανισμό λόγω της χρήσης του από το ανοσοποιητικό σύστημα, τα ίδια τα βακτήρια έχουν διάφορους μηχανισμούς για την απόκτηση σιδήρου από το περιβάλλον στο οποίο πολλαπλασιάζονται, προκειμένου να επιβιώσουν. Τα βακτήρια χρησιμοποιούν διάφορες στρατηγικές για να αποκτήσουν τον απαραίτητο σίδηρο για ανάπτυξη **[17]**. Οι πιο σημαντικοί μηχανισμοί (Εικόνα 2) αφορούν την κινητοποίηση του τρισθενούς σιδήρου (Fe^{+3}), την κυρίαρχη μορφή σιδήρου σε περιβάλλοντα πλούσια σε οξυγόνο, αλλά τα βακτήρια προσλαμβάνουν επίσης δισθενή σίδηρο (Fe^{+2}) **[18]** ή χρησιμοποιούν εύκολα τον σίδηρο που είναι δεσμευμένος στην αίμη **[19, 20, 21]**. Σε ένα υγιές άτομο, ο τρισθενής σίδηρος (Fe^{+3}) κυκλοφορεί συνδεδεμένος με τρανσφερίνη στο αίμα και ο δισθενής σίδηρος (Fe^{+2}) ενσωματώνεται στην αίμη, η οποία δεσμεύεται από την αιμοσφαιρίνη στα ερυθρά αιμοσφαίρια αλλά μπορεί να απελευθερωθεί με αιμόλυση κατά τη διάρκεια της λοίμωξης. Τα επίπεδα του ελεύθερου Fe^{+2} είναι χαμηλά. Τα περισσότερα βακτήρια εκκρίνουν ισχυρά σιδηροδεσμευτικά μόρια (iron–chelating molecules) που ονομάζονται σιδηροφόρα για να αποσπάσουν το σίδηρο από το περιβάλλον τους **[22]**. Ταξινομούνται σε τρεις κύριες κατηγορίες, τα καρβοξυλικά, τα κατεχολικά και τα υδροξαμικά. Τα κατεχολικά σιδηροφόρα μόρια έχουν την υψηλότερη συγγένεια για τον τρισθενή σίδηρο σε σχέση με τα καρβοξυλικά και τα υδροξαμικά σιδηροφόρα μόρια υπό φυσιολογικές συνθήκες.

Η εντεροβακτήνη, ένα κατεχολικό σιδηροφόρο μόριο, εμφανίζει την υψηλότερη γνωστή συγγένεια για τον τρισθενή σίδηρο, υψηλότερο και από αυτήν της δέσμευσης του σιδήρου του ξενιστή από την τρανσφερίνη [23]. Τα σιδηροφόρα μόρια, λοιπόν, αφαιρούν αποτελεσματικά το σίδηρο από τα σύμπλοκα σιδήρου-πρωτεΐνης του ξενιστή [24] και τα σύμπλοκα σιδήρου-σιδηροφόρων αναγνωρίζονται από το σύστημα πρόσληψης σιδήρου του βακτηρίου [24]. Στα gram-αρνητικά βακτήρια, το πρώτο βήμα είναι η σύνδεση σε ειδικούς υποδοχείς της εξωτερικής μεμβράνης (Εικόνα 1), που διευκολύνουν το πέρασμά του συμπλόκου εντός του βακτηρίου. Η μετατόπιση αυτή καθοδηγείται από πρωτεΐνες της οικογένειας TonB και του συμπλόκου ExbB/ExbD το οποίο βρίσκεται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη του βακτηρίου [25, 26, 27, 28, 29]. Η μεταφορά μέσω της περιπλασματικής και της εσωτερικής μεμβράνης στη συνέχεια διαμεσολαβείται από το σύστημα μεταφοράς ABC. Μόλις η αίμη βρεθεί εντός του κυτταροπλάσματος αποδομείται και ο σίδηρος αποθηκεύεται [30].

Ο ελεύθερος Fe^{+2} , όταν είναι διαθέσιμος, εισέρχεται μέσω του μονοπατιού της πορίνης. Ταυτόχρονα, τα Gram αρνητικά βακτήρια μπορούν να εκκρίνουν αιμοφόρα μόρια (hemophores) όπως το HasA και το HxuC και να αφαιρέσουν την αίμη από την αιμοσφαιρίνη και την αιμοπηξίνη. Στα Gram-θετικά βακτήρια το σύστημα Isd (Iron regulated surface determinant) του *Staphylococcus aureus* έχει μελετηθεί ιδιαίτερα και αφορά το μηχανισμό με τον οποίο το βακτήριο αποκτά το σίδηρο από την αίμη και την αιμοσφαιρίνη. Το σύστημα Isd αποτελείται από εννέα (9) πρωτεΐνες που ρυθμίζονται από το σίδηρο (IsdA, IsdB, IsdC, IsdH/HarA IsdD/E/F, IsdG και IsdI). Οι πρωτεΐνες αυτές αλληλεπιδρούν με τις πρωτεΐνες της αίμης για να αποσπάσουν το μόριο της αίμης και να το εισάγουν εντός του κυτοπλάσματος του βακτηρίου [31]. Τα παθογόνα έχουν, όπως αναφέρθηκε και πιο πάνω την ικανότητα να αποσπών σίδηρο και από την τρανσφερίνη, τη λακτοφερίνη και τη φεριτίνη. Στη Ναϊσερία, για παράδειγμα, οι

τρανσφερίνες δεσμεύονται από υποδοχείς εξωτερικής μεμβράνης που περιλαμβάνουν δύο (2) υπομονάδες (π.χ. LbpA και LbpB για τη λακτοφερρίνη) και αναγκάζονται να απελευθερώσουν ένα από τα δεσμευμένα ιόντα σιδήρου. Η απόκτηση σιδήρου που διαμεσολαβείται από κατεχόλες (π.χ. από την εντεροβακτήνη), όμως, μπορεί να ανασταλεί από την πρωτεΐνη λιποκαλίνη-2 (σιδηροκαλίνη ή λιποκαλίνη που σχετίζεται με ουδετεροφιλική ζελατινάση), η οποία εκκρίνεται κατά τη μη ειδική ανοσολογική απόκριση και δύναται να προσδένει και να δεσμεύει τα σιδηροφόρα και να ανακόπτει τη διαδικασία εισόδου τους στο βακτήριο.

Εικόνα 2. Οι μεταφορείς του σιδήρου στα gram-αρνητικά βακτήρια κατά τη διάρκεια της λοίμωξης [32].



Τα βακτήρια με ισχυρότερες στρατηγικές απόκτησης σιδήρου φαίνεται πως έχουν πλεονέκτημα ανάπτυξης. Για παράδειγμα, η *Klebsiella pneumoniae* είναι γνωστό ότι προκαλεί σημαντικό αριθμό λοιμώξεων στην κοινότητα (CA). Οι Holt et al. μελέτησαν

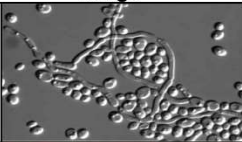

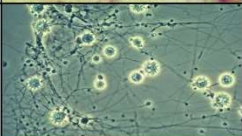


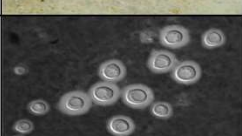
διηθητικές λοιμώξεις της κοινότητας από *Klebsiella pneumoniae* και απομόνωσαν επιπλέον γονίδια σιδηροφόρων μορίων και μεταβολισμού σιδήρου. Κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι αυτή η ενισχυμένη ικανότητα δέσμευσης σιδήρου από τον ξενιστή επιτρέπει στην *K. pneumoniae* να προκαλεί ασθένεια και σε ανοσολογικά επαρκείς πληθυσμούς [33, 34].

2.2 ΟΜΟΙΟΣΤΑΣΙΑ ΣΙΔΗΡΟΥ ΚΑΙ ΜΥΚΗΤΕΣ

Οι μύκητες αποτελούν ένα από τα πέντε βασίλεια των έμβιων όντων. Το βασίλειο αυτό των μυκήτων περιλαμβάνει μονοκύτταρους ή πολυκύτταρους ευκαρυωτικούς οργανισμούς. Οι μύκητες εμφανίζουν πολύ μεγάλη ποικιλία και υπάρχουν παντού. Οι περισσότεροι απαντώνται στο έδαφος και τα φυτά και διατρέφονται από οργανικά συστατικά ζώντων ή νεκρών οργανισμών γι' αυτό και θεωρούνται το "βιολογικό εργαστήριο αποικοδόμησης των οργανικών ουσιών". Τα διάφορα είδη μυκήτων ποικίλλουν από τους χρήσιμους για τον άνθρωπο ζυμομύκητες έως τους παθογόνους μικρομύκητες έως και τα γνωστά εδώδιμα μανιτάρια. Από τα 50.000 - 250.000 είδη μυκήτων που έχουν περιγραφεί, λιγότερα από 300 έχουν συσχετισθεί με νόσο στον άνθρωπο (Εικόνα 3). Οι μύκητες διακρίνονται βασικά σε δύο μεγάλες κατηγορίες, τους ζυμομύκητες και τους υφομύκητες. Οι ζυμομύκητες είναι σφαιρικοί ή ελλειψοειδείς σχηματισμοί που αναπαράγονται δια εκβλαστήσεων σε ειδικά θρεπτικά υλικά. Αντίθετα, οι υφομύκητες ή νηματοειδείς μύκητες, αποτελούνται από κυλινδρικούς σχηματισμούς, τις υφές, που μεγαλώνουν με διακλαδώσεις και επιμηκύνσεις σχηματίζοντας χνουδωτές αποικίες. Μια άλλη κατηγορία μυκήτων, οι καλούμενοι δίμορφοι μύκητες, αναπτύσσονται στον ξενιστή ως ζυμομύκητες, ενώ σε θερμοκρασία περιβάλλοντος λαμβάνουν τη μορφή υφομυκήτων.

Ο σίδηρος, όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω, αποτελεί βασικό στοιχείο για την ανάπτυξη και τη λοιμογονικότητα των περισσότερων παθογόνων [1]. Όσον αφορά τους μύκητες, έχει αποδειχθεί ότι η έλλειψη του σιδήρου από τον ορό αποτελεί σημαντικό αμυντικό μηχανισμό έναντι του *Rhizopus oryzae* συγκεκριμένα [35], διότι δεν αναπτύσσεται σε περιβάλλοντα στέρησης σιδήρου, ενώ ταυτόχρονα η εξωγενής χορήγηση αντιστρέφει τη φτωχή ανάπτυξή του και βοηθά το μύκητα να πολλαπλασιαστεί

Εικόνα 3. Μύκητες και νοσογόνες για τον άνθρωπο καταστάσεις [36]

Organism	Source	Image	Disease Spectrum
<i>Candida spp.</i> ¹	Commensal of the skin, GI tract, and vagina.		<ul style="list-style-type: none"> •Hematogenously disseminated infections •Mucocutaneous infections: <ul style="list-style-type: none"> Oropharyngeal infections (thrush) Skin/nail infections Vaginitis
<i>Pneumocystis spp.</i> ²	Species are host specific, with no known environmental reservoir.		<ul style="list-style-type: none"> •Pneumonia
<i>Histoplasma capsulatum</i> ³	Found in the environment in soil contaminated with bird or bat guano. Humans infected by inhaling conidia (spores).		<ul style="list-style-type: none"> •Self-limited flu-like syndrome •Acute pneumonia •Chronic pulmonary infection •Disseminated disease
<i>Blastomyces dermatitidis</i> ⁴	Found in the environment in soil / decaying wood. Humans infected by inhaling conidia (spores) or direct inoculation of the skin.		<ul style="list-style-type: none"> •Acute/chronic pulmonary infections •Skin lesions/ subcutaneous nodules •Disseminated disease
<i>Malassezia spp.</i> ⁵	Commensal of the skin.		<ul style="list-style-type: none"> •Primarily cutaneous infections <ul style="list-style-type: none"> Pityriasis versicolor Seborrheic dermatitis •Allergic atopic eczema
<i>Cryptococcus spp.</i> ⁶	Found in the environment in association with soil, pigeon guano, and trees. Infection occurs through inhalation of spores or small yeast.		<ul style="list-style-type: none"> •Pneumonia •Meningitis

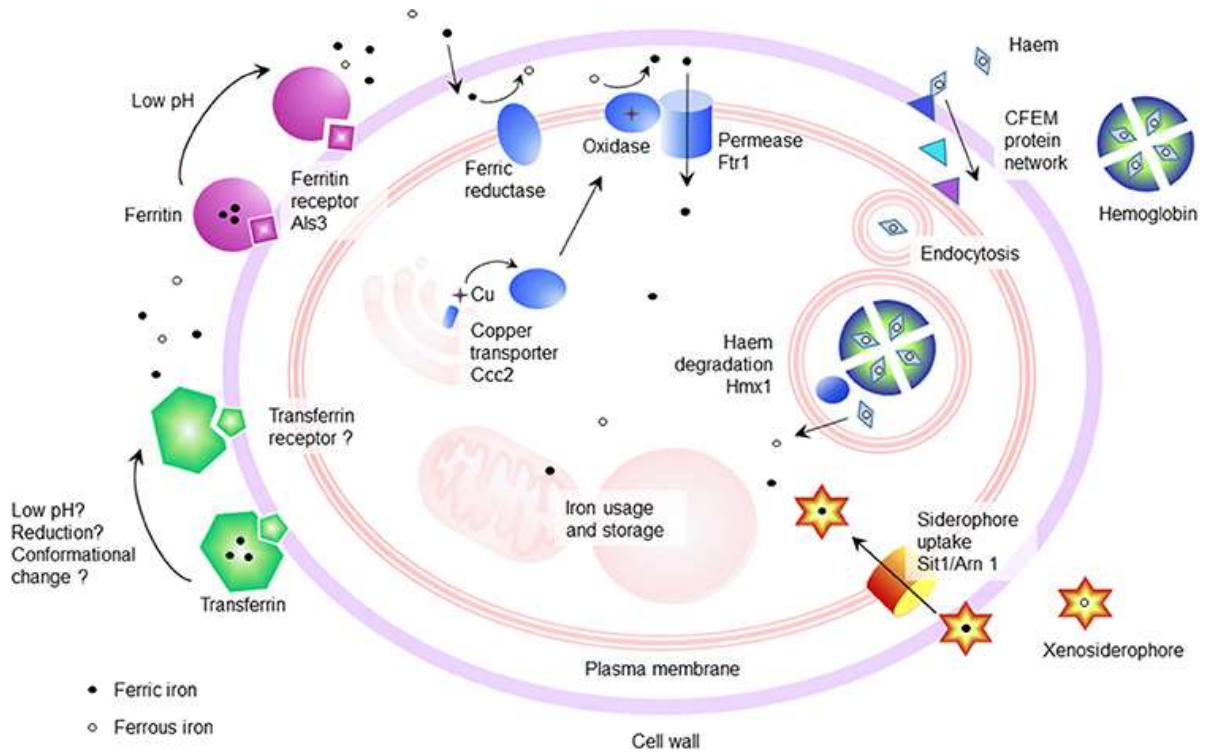
Δύο είναι τα κύρια προβλήματα που οφείλουν να αντιμετωπίσουν και να υπερκεράσουν οι μύκητες προκειμένου να αποκτήσουν τον απαραίτητο για την επιβίωσή τους σίδηρο. Καταρχάς, ο σίδηρος που υπάρχει στη φύση σε αερόβιες συνθήκες βρίσκεται κατά κύριο λόγο στην αδιάλυτη τρισθενή μορφή του, η οποία δε μπορεί να μεταφερθεί ενδοκυτταρικά. Το δεύτερο πρόβλημα που περιορίζει τη χρήση του σιδήρου από τους μύκητες είναι ότι ο σίδηρος είναι δυνητικά τοξικός λόγω της ικανότητάς του να καταλύει την παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου μέσω της αντίδρασης Haber-Weiss ή της αντίδρασης Fenton [37, 38, 39]. Η παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου από τον σίδηρο οδηγεί σε κυτταρικό τραυματισμό προκαλώντας οξειδωτική βλάβη. Επομένως, η σωστή αποθήκευση της περίσσειας

σιδήρου είναι απαραίτητη για την πρόληψη της τοξικότητας [40]. Για παράδειγμα, αμέσως μετά την πρόσληψη, ο σίδηρος μπορεί να βρεθεί σε δισθενή μορφή συνδεδεμένος με πολυφωσφορικά στα κενοτόπια του *S. cerevisiae* [41]. Εναλλακτικά, ο σίδηρος μπορεί να αποθηκευτεί ως μέρος πρωτεϊνών (φερριτίνη). Μέχρι σήμερα, οι μόνοι μύκητες που έχουν εντοπιστεί ότι αποθηκεύουν σίδηρο στη φερριτίνη είναι μέλη του γένους *Zygomycetes*, οι οποίοι σήμερα έχουν επαναταξινομηθεί στο γένος των *Mucorales*. [42]. Τρεις τύποι πρωτεϊνών πλούσιων σε σίδηρο έχουν εντοπιστεί στους *Zygomycetes*: η μυκοφερριτίνη [40], η βακτηριοφερριτίνη [43] και η ζυγοφερριτίνη, η οποία είναι μοναδική για τους *Zygomycetes* [40]. Επίσης, οι μύκητες μπορούν να αποθηκεύσουν σίδηρο ως μέρος σιδηροφόρων μορίων [42]. Αυτός ο μηχανισμός αποθήκευσης είναι κοινός μεταξύ των μυκήτων που ανήκουν στις τάξεις των ασκομυκήτων και των βασιδιομυκήτων.

Τρεις είναι οι κυριότεροι μηχανισμοί με τους οποίους οι μύκητες καταφέρνουν να προσλάβουν το σίδηρο που χρειάζονται. Ο πρώτος αφορά την αναγωγή του τρισθενούς σιδήρου σε δισθενή και κατόπιν αυτού, μεταφοράς του με μία περμεάση [44, 45, 46, 47]. Κατά τη διαδικασία αυτή, οι μύκητες χρησιμοποιούν τρεις μεθόδους για να αναγάγουν τον τρισθενή σίδηρο στη πιο διαλυτή δισθενή του μορφή. Αυτοί περιλαμβάνουν: i) μια αναγωγή σιδήρου χαμηλής συγγένειας που λειτουργεί σε περιβάλλοντα πλούσια σε σίδηρο και μετατρέπει τον Fe^{+3} σε Fe^{+2} . Κατόπιν, η δισθενής μορφή μεταφέρεται στο κύτταρο μέσω της περμεάσης σιδήρου χαμηλής συγγένειας, ii) μια αναγωγή υψηλής συγγένειας, η οποία πραγματοποιεί τη μετατροπή Fe^{+3} σε Fe^{+2} και λειτουργεί σε περιβάλλοντα που στερούνται σίδηρο, όπως αυτά του ξενιστή και iii) μία μη ενζυμική μετατροπή του Fe^{+3} σε Fe^{+2} και μεταφορά του εντός του κυττάρου. Οι φαινολικές ενώσεις όπως το ανθρανιλικό και το 3-υδροξυανθρανιλικό διατηρούν ένα περιβάλλον για την απελευθέρωση και την παράταση της ύπαρξης του

Fe⁺² στη μυκητιακή μεμβράνη μέχρι να πραγματοποιηθεί η μεταφορά [41]. Ωστόσο, ο ρόλος αυτών των ενώσεων στην αναγωγή του σιδήρου θεωρείται περιορισμένος σε σύγκριση με τις ενζυμικές διαδικασίες. Ο δεύτερος μηχανισμός αφορά την περμεάση του σιδηροφόρου μορίου Sit1/Arn1 που στόχο έχει να διευκολύνει την πρόσληψη σιδήρου από το σιδηροφόρο μόριο στο οποίο έχει δεσμευτεί ο σίδηρος [48, 49, 50, 51]. Οι μύκητες μπορούν να παράγουν σιδηροφόρα μόρια, τα οποία παρέχουν στο κύτταρο τον πολύ απαραίτητο σίδηρο μετατρέποντας τον τρισθενή σε δισθενή σίδηρο [49, 50]. Για να αποκτήσουν σίδηρο, οι μύκητες μπορούν να χρησιμοποιήσουν τα δικά τους εκκρινόμενα σιδηροφόρα μόρια, τα σιδηροφόρα μόρια που εκκρίνονται από άλλους οργανισμούς (xenosiderophores) ή και τα δύο [40, 48, 52]. Ο τρίτος μηχανισμός αφορά ένα σύστημα πρόσληψης σιδήρου από την αίμη. Έχει αποδειχθεί ότι η *C. albicans* και το *Histoplasma capsulatum* [53, 54] χρησιμοποιούν την αίμη σαν πηγή απόκτησης σιδήρου. Συγκεκριμένα η κινητική πρόσληψης σιδήρου από την αίμη της *C. albicans* ακολουθεί μία ταχεία φάση σύνδεσης με την αίμη, η οποία ακολουθείται από μία βραδεία φάση πρόσληψης του σιδήρου από αυτή. Και οι δύο φάσεις συμβαίνουν σε περιβάλλοντα στέρησης σιδήρου ορού [53]. Τέλος, έχει περιγραφεί ένας δυνητικά νέος τρόπος πρόσληψης σιδήρου στους ζυγομύκητες, ο οποίος αφορά την οξίνιση (acidification) του περιβάλλοντος όταν οι μύκητες αναπτύσσονται σε αναερόβιες συνθήκες. Για παράδειγμα το *S. Cerevisiae* [41] και *Neurospora crassa* [39], υπό όξινες συνθήκες μπορούν να συσσωρεύσουν σίδηρο στην κυτταρική τους μεμβράνη και με τη βοήθεια υδροξυοξέων που εκκρίνουν, όπως το κιτρικό οξύ, να κινητοποιήσουν το σίδηρο και να τον μεταφέρουν εντός του κυττάρου. Ένας τέτοιος μηχανισμός in vivo θα μπορούσε να λαμβάνει χώρα για την απόκτηση σιδήρου από τους μύκητες σε ασθενείς με διαβητική κετοξέωση για παράδειγμα, παρόλα αυτά δεν έχει μελετηθεί μέχρι σήμερα εκτενώς.

Εικόνα 4: Οι διάφοροι μηχανισμοί απόκτησης σιδήρου από τους μύκητες [55]



2.3 ΔΙΗΘΗΤΙΚΕΣ ΜΥΚΗΤΙΑΣΕΙΣ ΣΤΟΝ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟ ΑΣΘΕΝΗ

Οι διηθητικές μυκητιακές λοιμώξεις επιπλέκουν συχνά την πορεία των ασθενών με αιματολογικές κακοήθειες και πλήττουν ιδιαίτερα τους ασθενείς με οξεία μυελογενή λευχαιμία ή ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε αλλογενή μεταμόσχευση μυελού των οστών [56]. Τις τελευταίες δεκαετίες έχουν εμφανίσει σημαντική αύξηση, λόγω της αύξησης του αριθμού των ασθενών που λαμβάνουν ανοσοκατασταλτική αγωγή. Μεταξύ των παραγόντων κινδύνου για ανάπτυξη διηθητικών μυκητιάσεων συμπεριλαμβάνονται η χρήση νεότερων βιολογικών παραγόντων για τη θεραπεία τους, η βαριά και παρατεταμένη ουδετεροπενία, η χρήση για μεγάλο χρονικό διάστημα κορτικοστεροειδών, η νόσος μοσχεύματος έναντι του ξενιστή σε ασθενείς μετά από αλλογενή μεταμόσχευση μυελού των οστών και η συλλοίμωξη με ανοσοτροποποιητικούς ιούς, όπως ο κυτταρομεγαλοϊός [57, 58]. Τα στελέχη του γένους *Aspergillus* και ιδιαίτερα ο *Aspergillus fumigatus* είναι υπεύθυνα συχνότερα για τις λοιμώξεις των ασθενών με αιματολογικές κακοήθειες. Οι υφομύκητες συνήθως εισέρχονται στον ανθρώπινο οργανισμό κατόπιν εισπνοής τους από το περιβάλλον, ενώ η *Candida* και τα διάφορα είδη της αποτελούν, συνήθως, μέρος της χλωρίδας του οργανισμού και γίνονται νοσογόνα κατόπιν ρήξης του φυσικού φραγμού του οργανισμού. Ο ασπέργιλλος, συνηθέστερα, στους ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς προσβάλλει τον πνεύμονα και από εκεί δύναται να διασπαρεί και να προσβάλλει όλα τα όργανα, καθιστώντας ακόμη πιο δύσκολη τη θεραπευτική αντιμετώπιση και πιο μεγάλη τη θνητότητά του. Η προφυλακτική αγωγή, όπως οι εχινοκανδίνες στους μεταμοσχευμένους και η ποσακοναζόλη στους ασθενείς με οξεία μυελογενή λευχαιμία και η εμπειρική αγωγή στην καθ' ημέρα πράξη, έχουν οδηγήσει σε breakthrough μυκητιακές λοιμώξεις και εμφάνιση ανθεκτικών στελεχών μυκήτων. Ταυτόχρονα, η χρήση μυκητοκτόνων στη γεωργία και τη βιομηχανία με μηχανισμούς παρόμοιους με

τα αντιμυκητιακά φάρμακα, έχει δημιουργήσει ένα πρόσφορο έδαφος για ανθεκτικούς μύκητες, ιδιαίτερα για ανθεκτικά στις αζόλες στελέχη ασπεργίλλου. Η ανεύρεση της μετάλλαξης TR34/L98H σε πολλά από τα στελέχη που προσβάλλουν τον άνθρωπο αποδεικνύει την προέλευση των ανθεκτικών αυτών μυκήτων και από το περιβάλλον. Εξαιρετικά ανησυχητική είναι η αύξηση των λοιμώξεων από *non-Candida* στελέχη στους αιματολογικούς ασθενείς, δεδομένου ότι τα στελέχη αυτά στην πλειοψηφία τους είναι ανθεκτικά στις εχινοκανδίνες [59]. Η ανάγκη για καταγραφή της επίπτωσης των διηθητικών μυκητιάσεων και των συχνότερων στελεχών σε κάθε γεωγραφικό μήκος και πλάτος έχει γίνει επιτακτική, για την καλύτερη πρόληψη και αντιμετώπιση της θανατηφόρου λοίμωξης από μύκητα καθώς και την εφαρμογή θεραπευτικών πρωτοκόλλων σε κάθε χώρα ξεχωριστά, προκειμένου να μειωθούν οι ανθεκτικότητες και η θνητότητα στους ασθενείς αυξημένου κινδύνου.

Η επιδημιολογική εικόνα των διηθητικών μυκητιάσεων ποικίλλει γεωγραφικά. Η μελέτη SEIFEM-2004 αποτελεί μια μεγάλη αναδρομική κοορτή που μελέτησε 11.802 ασθενείς με αιματολογικές κακοήθειες που εισήχθησαν σε 18 αιματολογικές κλινικές της Ιταλίας κατά την περίοδο 1999-2003. Από τους 11.802 ασθενείς, οι 538 ανέπτυξαν αποδεδειγμένη ή προφανή διηθητική μυκητιακή λοίμωξη, εκ των οποίων η πλειονότητα έπασχε από οξεία μυελογενή λευχαιμία (68%). Τα στελέχη του γένους *Aspergillus* ήταν ο πιο συχνός αιτιολογικός παράγοντας (2.6%) Η συνολική θνητότητα και η θνητότητα που αποδόθηκε σε διηθητική μυκητιακή λοίμωξη στους ασθενείς που προσβλήθηκαν από μύκητα ανευρέθη 2% και 39%, αντίστοιχα [60]. Τα δεδομένα για τον ελλαδικό χώρο είναι λιγοστά. Στην Ελλάδα διεξήχθη μια προοπτική καταγραφή στο Γ.Ν.Α «Λαϊκό» από τον Ιανουάριο του 2014 έως και το Μάιο του 2015, η οποία ανέδειξε 68 νέες περιπτώσεις διηθητικής ασπεργίλλωσης ανάμεσα σε 2.130 ασθενείς με αιματολογική κακοήθεια (3.2 περιπτώσεις ανά 100 ασθενείς), εκ των οποίων οι 36

(53%) έπασχαν από οξεία μυελογενή λευχαιμία [61]. Η κα Γκαμαλέτσου και η ομάδα της, βασιζόμενοι στα αποτελέσματα της ανωτέρω μελέτης, που ήταν παρόμοια με δύο ακόμη ευρωπαϊκές μελέτες [62, 63], χρησιμοποίησαν ένα υποθετικό μοντέλο για να υπολογίσουν την επίπτωση της διηθητικής ασπεργίλλωσης στους ασθενείς με αιματολογική κακοήθεια στη χώρα μας, η οποία με βάση τα αποτελέσματά τους ανέρχεται στο 10% για τους ασθενείς με οξεία μυελογενή λευχαιμία και στο 8% για τους ασθενείς που υπεβλήθησαν σε αλλογενή μεταμόσχευση του μυελού των οστών [64].

Η διάγνωση μιας διηθητικής μυκητιακής λοίμωξης αποτελεί πρόκληση και χρήζει διεπιστημονικής συνεργασίας. Μελέτες βιοψικού υλικού κατόπιν νεκροτομής έδειξαν ότι η διηθητική ασπεργίλλωση υποδιαγιγνώσκεται σε μεγάλο βαθμό και μόνο οι μισές διηθητικές μυκητιακές λοιμώξεις διαγιγνώσκονται πριν από το θάνατο [65]. Η έγκαιρη και κατά το δυνατό έγκυρη διάγνωση είναι εξαιρετικά σημαντική για την έναρξη στοχευμένης θεραπείας και τη μείωση της θνητότητας της νόσου. Για το σκοπό αυτό, τρία στοιχεία είναι απαραίτητα: η κλινική εικόνα, τα ακτινολογικά ευρήματα και τα μικροβιολογικά δεδομένα. Λόγω της αυξημένης δυσκολίας στη διάγνωση και την αντιμετώπιση των διηθητικών μυκητιάσεων, η επιστημονική κοινότητα έχει καταλήξει και παρέχει σαφείς οδηγίες για τη διαγνωστική προσέγγιση, τη θεραπεία και παρακολούθηση των ασθενών, καθώς και την ανάγκη χορήγησης προφυλακτικής αγωγής και πρόληψης της νόσου [66, 67, 68]. Η βέβαιη διάγνωση της μυκητίασης απαιτεί ανάπτυξη του μύκητα και απομόνωσή του σε βιοψικό υλικό, είτε αυτό πρόκειται για καλλιέργεια ιστού, είτε καλλιέργεια αίματος ή άλλου βιολογικού υγρού που έχει ληφθεί με στείρες διαδικασίες. Ως εκ τούτου, λόγω της δυσκολίας αυτής της μεθόδου, έχουν αναπτυχθεί εναλλακτικές, λιγότερο παρεμβατικές μέθοδοι ανίχνευσης της παρουσίας μύκητα στα βιολογικά υγρά (αίμα, βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα), όπως η

γαλακτομαννάνη και η β-D-γλυκάνη, οι οποίες σε συνδυασμό με την κλινική και ακτινολογική εικόνα βοηθούν στη διάγνωση.

Η θεραπευτική προσέγγιση των διηθητικών μυκητιάσεων περιλαμβάνει μια σειρά φαρμακευτικών ουσιών που στοχεύουν κυρίως στη κυτταρική μεμβράνη ή το κυτταρικό τοίχωμα του μύκητα. Οι ασθενείς με αιματολογικές κακοήθειες πολύ συχνά εμφανίζουν σοβαρές συννοσηρότητες. Επομένως, η επιλογή του αντιμυκητιακού φαρμάκου αποτελεί πρόκληση στην κλινική πράξη, καθώς ο κλινικός γιατρός οφείλει να λάβει υπόψη την αλληλεπίδραση του εκάστοτε φαρμάκου με άλλα φάρμακα, τις πιθανές τοξικότητες και τη βέλτιστη συγκέντρωση στο όργανο-στόχο. Οι δύο μεγάλες και πιο συχνά χρησιμοποιούμενες στον αιματολογικό ασθενή κατηγορίες αντιμυκητιακών φαρμάκων είναι οι αζόλες και οι εχινοκανδίνες. Η αμφοτερικίνη Β και η λιποσωμιακή μορφή της παρέχουν το μεγαλύτερο φάσμα δράσης έναντι των μυκήτων. Παρά την καλύτερη ανοχή της λιποσωμιακής μορφής από τους ασθενείς, η αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης τοξικότητας, ιδίως νεφροτοξικότητας, παραμένει ένα σοβαρό μειονέκτημα. Οι εχινοκανδίνες, από την άλλη πλευρά, παρέχουν μεγαλύτερη ασφάλεια και καλύτερη ανοχή από τους ασθενείς, αλλά το φάσμα δράσης τους παραμένει περιορισμένο και χορηγούνται αποκλειστικά ενδοφλεβίως . Παρά ταύτα, συνεχίζουν να αποτελούν την καλύτερη επιλογή έναντι των περισσότερων ειδών *Candida*. Η εμφάνιση νέων ανθεκτικών στελεχών έχει καταστήσει επιτακτική την ανάγκη για ανάπτυξη νέων φαρμακευτικών σκευασμάτων με ευρύτερο φάσμα δράσης [69].

2.4 ΥΠΕΡΦΟΡΤΩΣΗ ΣΙΔΗΡΟΥ ΚΑΙ ΜΥΚΗΤΙΑΚΕΣ ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ

Οι διηθητικές μυκητιακές λοιμώξεις αποτελούν σημαντική αιτία θνητότητας σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς με αιματολογικές κακοήθειες, αλλά και ασθενείς που πρόκειται να υποστούν αλλογενή μεταμόσχευση. Ανάμεσα στις μυκητιακές αυτές λοιμώξεις, η διηθητική ασπεργίλλωση αποτελεί την πιο συχνή μυκητίαση με θνητότητα που υπερβαίνει το 80% ακόμη και με την αντιμυκητιακή αγωγή. Παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη διηθητικής ασπεργίλλωσης αποτελούν η ουδετεροπενία, η παρατεταμένη χρήση κορτικοστεροειδών, η νόσος μοσχεύματος έναντι του ξενιστή (GvHD) μετά από αλλογενή μεταμόσχευση και η συλλοίμωξη από κυταρομεγαλοϊό [57, 58].

Ο σίδηρος βελτιώνει την ικανότητα των μικροβίων να αναπτύσσονται στα κύτταρα του ξενιστή, στους ιστούς και τα υγρά του και ταυτόχρονα μειώνει την φαγοκυτταρική, την χυμιοστακτική και την βακτηριοκτόνο ικανότητα των ουδετερόφιλων και των μονοκυττάρων. In vitro, ο σίδηρος μειώνει την παραγωγή των κυτταροτοξικών T-λεμφοκυττάρων, την πολλαπλασιαστική ικανότητα των βοηθητικών T-λεμφοκυττάρων και ταυτόχρονα παρεμποδίζει τη δράση των φυσικών κυττάρων φονέων και των μακροφάγων [70, 71, 72]. Επιπρόσθετα, κλινικές έρευνες έδειξαν ότι ανοσοκατεσταλμένοι ασθενείς με αιματολογικές κακοήθειες, οι οποίοι ανέπτυξαν κάποια διηθητική λοίμωξη από μύκητα, είχαν αυξημένο σίδηρο ορού και φερριτίνη, καθώς επίσης αυξημένα ήταν και τα επίπεδα κορεσμού της τρανσφερίνης, ενώ ταυτόχρονα η σιδηροδεσμευτική ικανότητα μειώθηκε στη διάγνωση [73]. Οι Karp και Merz περιέγραψαν την άνοδο της σιδηροδεσμευτικής ικανότητας σε τέτοιους ασθενείς στα φυσιολογικά επίπεδα μετά από αντιμυκητιακή αγωγή [74].

Η υπερφόρτωση σιδήρου αποτελεί αναγνωρισμένο παράγοντα κινδύνου ανάπτυξης λοίμωξης από μούκορμύκητα [48, 75, 76]. Οι Corbel και Eades όταν ένεσαν σπόρους *Absidia ramosa* σε εναιώρημα σιδήρου αυξήθηκε η θανατηφόρος δράση τους [75]. Σε πειραματικά μοντέλα ζώων, που έχουν μολυνθεί με μούκορμύκητα, η προσθήκη σιδήρου ή desferoxamine (παράγοντας αποσιδήρωσης) περιορίζει σημαντικά την επιβίωση των επίνοσων ποντικιών. *In vitro*, ο *Rhizopus oryzae* φάνηκε να ζει λιγότερο σε συνθήκες στέρησης σιδήρου. Μάλιστα φάνηκε ότι ο μηχανισμός θανάτου του μύκητα γινόταν μέσω καταστροφής της μεμβράνης των μιτοχονδρίων [35]. Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί αξιοσημείωτη συσχέτιση μειωμένης επίπτωσης μυκητιακών λοιμώξεων μεταξύ των ασθενών σε αιμοκάθαρση και της χρήσης desferoxamine για τη θεραπεία αποσιδήρωσης τους [48]. Αντίθετα, οι καινούριας γενιάς παράγοντες αποσιδήρωσης, όπως είναι το deferasirox δεν έχουν συσχετισθεί με αυξημένη επίπτωση μυκητιακών λοιμώξεων. Το Deferasirox είναι πολύ καλά ανεκτό από τους ασθενείς [76]. Τέλος, ο Maertens και οι συνεργάτες του υποστηρίζουν ότι η υπερσιδήρωση παίζει πιθανώς κάποιο ρόλο στην ανάπτυξη μούκορμύκητα σε αιματολογικούς ασθενείς μετά από αλλογενή μεταμόσχευση [77].

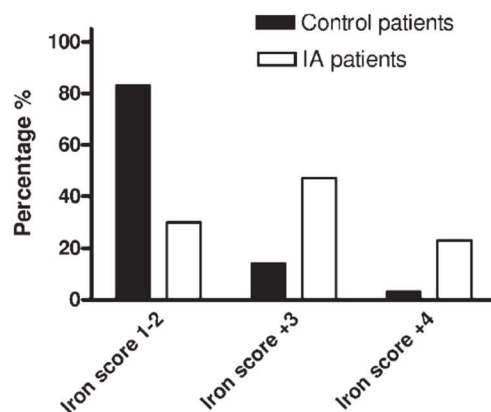
Σημαντικό ρόλο φαίνεται να έχει η υπερφόρτωση σιδήρου και στην ανάπτυξη και την τοξικότητα της *Candida*. Ο Abe και οι συνεργάτες του, μετά από πρόκληση καντιντίασης σε ποντίκια με αυξημένο σίδηρο, παρατήρησαν μεγάλη διαφορά στην θνησιμότητα των ποντικιών αυτών (80%) σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (40%) [78]. Αξιοσημείωτο είναι επίσης, ότι τα μακροφάγα των παιδιών με μείζονα θαλασσαιμία και αιμοσιδήρωση σχετιζόμενη με μεταγγίσεις αναπτύσσουν ελαττωματικούς οξειδωτικούς μηχανισμούς θανάτου των ειδών *Candida* [79].

Η υπερφόρτωση σιδήρου μετά μεταγγίσεων σε λευχαιμικούς ασθενείς και σε ασθενείς που λαμβάνουν αλλογενή μεταμόσχευση φαίνεται να αποτελεί ένα σημαντικό ζήτημα

στις μέρες μας, καθώς οι ασθενείς αυτοί πλέον ζουν περισσότερο και λαμβάνουν συχνές μεταγγίσεις. Δεδομένου ότι η υπερφόρτωση σιδήρου είναι μία υποκλινική κατάσταση είναι πολύ πιθανό να αποτελεί έναν από τους παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη διηθητικών μυκητιακών λοιμώξεων. Επιπλέον έρευνες, παρόλα αυτά απαιτούνται για τον προσδιορισμό του ρόλου της αύξησης του σιδήρου στην παθογένεση της διηθητικής ασπεργίλλωσης στις αιματολογικές κακοήθειες και στους μεταμοσχευμένους αλλογενώς ασθενείς.

Ο κ. Κοντογιάννης και η ομάδα του, στο MDACC, διεξήγαγε μία αναδρομική μελέτη, στην οποία αξιολογήθηκαν τα κλινικά χαρακτηριστικά και οι αποθήκες σιδήρου στο μυελό των οστών σε 33 νοσηλευόμενους ασθενείς με αιματολογική κακοήθεια με διηθητική ασπεργίλλωση, όπως αυτά διαφοροποιήθηκαν από την ομάδα ελέγχου, η οποία αποτελούνταν από 33 ασθενείς που δεν επιπλάκησαν από κάποια μυκητιακή λοίμωξη [58]. Οι ασθενείς επιλέχθηκαν από μία κοορτή ασθενών που είχε δημοσιευθεί παλαιότερα σαν μελέτη ασθενών μαρτύρων στο MDACC (από το Σεπτέμβριο 2002 έως και το Μάρτιο 2004). Και οι δύο ομάδες κατηγοριοποιήθηκαν ανάλογα με τα δημογραφικά τους στοιχεία και τα κλινικά τους χαρακτηριστικά (π.χ. ηλικία, φύλο, είδος και στάδιο της κακοήθειας, ουδετεροπενία, GvHD, λήψη υψηλών δόσεων κορτικοστεροειδών). Συλλέχθηκε αρχειοθετημένο παθολογοανατομικό υλικό από βιοψίες μυελού των οστών στους ασθενείς, το οποίο βάφτηκε με χρώση Pearl Blue και αξιολογήθηκε τυφλά από ειδικό αιματολόγο-παθολογοανατόμο. Το φορτίο σιδήρου στο μυελό των οστών (BMIS) βαθμονομήθηκε με μία κλίμακα από 0-4. Ως υπερφόρτωση σιδήρου θεωρήθηκαν τιμές από 3 και πάνω. Η σοβαρή ουδετεροπενία ορίστηκε ως <100 πολυμορφοπύρηνα/ mm^3 για > 10 ημέρες και ως χρήση κορτικοστεροειδών ορίστηκε η χρήση > 600 mg πρεδνιζόνης εντός 1 μηνός από την διάγνωση διηθητικής ασπεργίλλωσης (IA).

Όλοι εκτός από 1 από τους ασθενείς στην ομάδα μελέτης είχαν πνευμονική διηθητική ασπεργίλλωση. Σχεδόν οι μισοί (16 ασθενείς, 48%) είχαν ΙΑ λόγω του *Aspergillus fumigatus* και 27 ασθενών (82%) είχε σημαντική ΙΑ μετά από προηγηθείσα χρήση αντιμυκητιακών φαρμάκων. Το ποσοστό θνησιμότητας στις 12 εβδομάδων στη ομάδα μελέτης ήταν 70% (19 από 27 ασθενείς). Η μέση ημέρα αξιολόγησης BMIS σε σχέση με τη διάγνωση διηθητικής ασπεργίλλωσης ήταν συγκρίσιμη και στις δύο ομάδες (Πίνακας 1) (P 5.3). Και οι δύο ομάδες ήταν συγκρίσιμες όσον αφορά τα δημογραφικά στοιχεία και τα κλινικά χαρακτηριστικά συμπεριλαμβανομένης της ηλικίας, του φύλου, του τύπου και της κατάστασης της κακοήθειας, της υποβολής σε αλλογενή μεταμόσχευση μυελού των οστών, την ουδετεροπενία, του GVHD, τη λήψη υψηλών δόσεων κορτικοστεροειδών και τη λοίμωξη από CMV. Ωστόσο, η διάμεση τιμή του APACHE II score βρέθηκε να είναι υψηλότερη στην ομάδα μελέτης (13, εύρος, 5–22) σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (12, εύρος, 5–22) (P 5,04).



Η πλειοψηφία των ασθενών με ΙΑ (23 από 33 ασθενείς [70%]) είχαν αυξημένη βαθμολογία BMIS (3) σε σύγκριση με τους ασθενείς ελέγχου (6 από τους 33 ασθενείς [18%]) (P <.0001). Στην πολυπαραγοντική ανάλυση, αυξημένο σκορ BMIS (OR 12,3, 95% CI, 3,4–44,9 [P <.0001]) και βαθμολογία APACHE II > 11 (OR 5,16, 95% CI, 1,3–20,5 [P 5,01]) βρέθηκαν να είναι ανεξάρτητοι παράγοντες κινδύνου για ανάπτυξη

διηθητικής ασπεργίλλωσης. Επειδή η υψηλότερη διάμεση τιμή στο APACHE II στην ομάδα με ΙΑ σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου θα μπορούσε πιθανότατα να αντανακλά διαφορές στην ανοσοκαταστολή σε αυτούς τους ασθενείς αντί να αποτελεί παράγοντα κινδύνου για ΙΑ *per se*, έγινε επανάληψη της πολυπαραγοντικής ανάλυσης αφού αποκλείστηκε το APACHE και διαπιστώθηκε ότι ο αυξημένος σίδηρος στο μυελό των οστών ήταν η μόνη σημαντική μεταβλητή που σχετίζεται με ΙΑ (OR 12,4; 95% CI, 3,9–38,9[P<.0001]).

Πίνακας 1

TABLE 1
Characteristics of Patients in the Control and Study Groups and Results of Univariate and Multivariate Analyses

Characteristic	Control patients	Patients with IA	Univariate analysis		Multivariate analysis	
			OR (95% CI)	P	OR (95% CI)	P
Median day of BMIS evaluation (range) [†]	-8 (-160 to -180)	-9 (-344 to -85)	-	.3000	-	-
Median age (range), y	50 (2-78)	56 (25-78)	-	.3500	-	-
Male sex	18/33 (55%)	20/33 (61%)	-	.8000	-	-
MDS or AML [‡]	11/33 (33%)	15/33 (45%)	-	.4500	-	-
Active malignancy	17/33 (52%)	24/33 (73%)	-	.1700	-	-
Neutropenia (< 500 cells/mm ³) at diagnosis	12/33 (36%)	14/33 (42%)	-	.6200	-	-
Severe neutropenia (< 100 cells/mm ³ for > 10 days) [‡]	6/33 (18%)	7/33 (21%)	-	.7500	-	-
Lymphopenia (< 500 cells/mm ³) [‡]	17/33 (52%)	21/33 (64%)	-	.4500	-	-
Monocytopenia (< 10 cells/mm ³) [‡]	12/33 (36%)	14/33 (42%)	-	.8000	-	-
Significant corticosteroid use [§]	8/33 (24%)	14/33 (42%)	-	.1900	-	-
Allogeneic HSCT [¶]	8/33 (24%)	14/33 (42%)	-	.1900	-	-
GVHD	2/8 (25%)	8/14 (57%)	-	.2000	-	-
CMV reactivation	3/33 (9%)	9/33 (27%)	-	.1800	-	-
History of diabetes mellitus	4/33 (12%)	7/33 (21%)	-	.5100	-	-
APACHE II score > 11 [‡]	17/33 (52%)	26/33 (79%)	3.5 (1.2-10.3)	.0300	5.16 (1.3-20.5)	.0100
Median APACHE II score (range) [‡]	12 (5-22)	13 (5-22)	-	.0400	-	-
Malnutrition (albumin level ≤ 3 mg/dL) [‡]	17/33 (52%)	22/33 (67%)	-	.3100	-	-
Increased BMIS score (≥3) [¶]	6/33 (18%)	23/33 (70%)	10.4 (3.2-32.8)	< .0001	12.3 (3.4-44.9)	< .0001

IA indicates invasive aspergillosis; OR, odds ratio; 95% CI, 95% confidence interval; BMIS, bone marrow iron stores; MDS, myelodysplastic syndrome; AML, acute myelogenous leukemia; HSCT, hematopoietic stem cell transplantation; GVHD, graft-versus-host disease; CMV, cytomegalovirus; APACHE, Acute Physiological and Chronic Health Evaluation.

[†] The days of BMIS evaluation were assessed with respect to the day of diagnosis of IA (study group) or the day of hospitalization (control group). There were no statistically significant differences noted with regard to the date of hospitalization between the patients in the study and those in the control group (data not shown).

[‡] Of the 33 patients with hematologic malignancies and IA, 10 had AML, 9 had non-Hodgkin lymphoma, 5 had MDS, 2 had acute lymphoblastic leukemia, 2 had chronic lymphocytic leukemia, 2 had chronic myelogenous leukemia, 2 had Hodgkin disease, and 1 had multiple myeloma. Of the 33 control patients with hematologic malignancies, 10 had non-Hodgkin lymphoma, 9 had AML, 4 had acute lymphoblastic leukemia, 4 had chronic lymphocytic leukemia, 2 had MDS, 2 had multiple myeloma, and 2 had chronic myelogenous leukemia.

[§] At the time of diagnosis.

[¶] Prednisone equivalent (> 600 mg) administered during the month before the diagnosis of IA was made.

[‡] Four of 8 allogeneic HSCT recipients in the control group (50%) and 7 of 14 allogeneic HSCT recipients in the study group (50%) received transplants from mismatched related or matched unrelated donors (P = .65).

[‡] Increased BMIS (≥3) was found to be the only independent factor associated with IA (P < .0001; OR of 12.4 [95% CI, 3.9-38.9]) on stepwise logistic regression analysis performed after excluding the APACHE II score from the model.

[¶] A total of 23, 8, 5, and 1 control patients and 5, 5, 16, and 18 patients with IA had an iron score on bone marrow biopsy analysis with a BMIS score of +1, +2, +3, and +4, respectively.

Τα πλεονεκτήματα της ανωτέρω μελέτης σε σχέση με μελέτες πριν από αυτή είναι ο μεγαλύτερος αριθμός ασθενών, η χρήση της ομάδας ασθενών μαρτύρων και η

ομοιογένεια μεταξύ των δύο ομάδων και η προσέγγιση της υπερφόρτωσης σιδήρου στους ασθενείς μέσω της μέτρησης της συγκέντρωσης αυτού στο μυελό των οστών που όπως έχει αποδείξει παλαιότερα ο Strasser και η ομάδα του προσομοιάζει τη συγκέντρωση στο ήπαρ και αποτελεί αξιόπιστο δείκτη. Παρόλα αυτά πρόκειται για μια αναδρομική μελέτη, από την οποία λείπουν χρήσιμοι παράμετροι όπως το χημειοθεραπευτικό σχήμα, τα επίπεδα φερριτίνης και του σιδήρου ορού, το χρονικό διάστημα από την διάγνωση της κακοήθειας καθώς και ο αριθμός των μεταγγίσεων που είχε λάβει ο κάθε ασθενής.

3. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Είναι ευρέως γνωστό ότι οι ασθενείς με αιματολογικό καρκίνο, συχνά επιπλέκονται με μυκητιακές λοιμώξεις, που μπορεί να είναι θανατηφόρες [80]. Η βαριά ανοσοκαταστολή, είτε από το αιματολογικό νόσημα αυτό καθ' αυτό είτε από τη χορηγούμενη χημειοθεραπεία, καθιστούν το ασθενή ευάλωτο στις μυκητιακές λοιμώξεις. Σημαντικό ρόλο διαδραματίζει η εξασθένηση της φυσικής ανοσίας (μειωμένος αριθμός και λειτουργικότητα των ουδετεροφίλων και των μακροφάγων) καθώς και της T κυτταρικής ανοσίας, η οποία είναι εξαιρετικά σημαντική για την ανοσολογική απάντηση ενάντια στα ενδοκυττάρια παθογόνα.

Η επίπτωση των διηθητικών μυκητιακών λοιμώξεων είναι ιδιαίτερα υψηλή σε ασθενείς με οξεία μυελογενή λευχαιμία και μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο υψηλού κινδύνου που έχει εκτραπεί, αφού οι ασθενείς αυτοί λαμβάνουν εντατικοποιημένα σχήματα χημειοθεραπειών που οδηγούν σε παρατεταμένη ουδετεροπενία, έναν από τους καλά εδραιωμένους παράγοντες κινδύνου για διηθητικές μυκητιάσεις [81]. Άλλοι παράγοντες κινδύνου είναι η χορηγίαση ανοσοκατασταλτικής θεραπείας, η παρατεταμένη χορήγηση κορτικοστεροειδών, η νόσος μοσχεύματος έναντι του ξενιστή στους ασθενείς που υποβάλλονται σε αλλογενή μεταμόσχευση μυελού των οστών και η συλλοίμωξη με κυτταρομεγαλοϊό. Μελέτες έχουν δείξει ότι ο κίνδυνος διηθητικής μυκητίασης είναι αυξημένος σε ασθενείς με υποτροπιάζων ή ανθεκτικό στη χημειοθεραπεία υποκείμενο νόσημα [82]. Οι νεότερες θεραπείες, όπως οι βιολογικοί παράγοντες έχουν κάνει την είσοδό τους στην κλινική πρακτική και φαίνεται να αποτελούν ένα ακόμη αναδυόμενο παράγοντα κινδύνου [83, 84, 85]. Εντούτοις, οι διηθητικές μυκητιάσεις δεν προσβάλλουν ανεξαρτήτως όλους τους υψηλού κινδύνου ασθενείς, γεγονός που υποδεικνύει την ανάγκη για περαιτέρω αναζήτηση αιτιολογικών παραγόντων [57, 58, 86]. Η βαθύτερη γνώση μας για τους προδιαθεσικούς

παράγοντες για ανάπτυξη διηθητικών μυκητιακών λοιμώξεων σ' αυτή την ευάλωτη ομάδα ασθενών μπορεί να αποτελέσει βάση για νέες προφυλακτικές θεραπείες και στρατηγικές πιο έγκαιρης θεραπευτικής παρέμβασης.

Μέχρι σήμερα, έχει αποδειχθεί *in vivo* σε μοντέλα ποντικών ότι ο σίδηρος παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεση της διηθητικής ασπεργίλλωσης, στη μουκορμύκωση και στη διηθητική καντιντίαση. Επιπρόσθετα, σε *in vitro* μελέτες η στέρηση σιδήρου οδήγησε στην απόπτωση του μούκορα, ενισχύοντας την υποψία ότι η υπερφόρτωση του οργανισμού με σίδηρο μπορεί να αποτελεί παράγοντα κινδύνου για διηθητικές μυκητιάσεις.

Ο σίδηρος διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεση των λοιμώξεων, καθώς ενισχύει την ικανότητα των παθογόνων να πολλαπλασιάζονται εντός των κυττάρων, των ιστών και των οργάνων του ξενιστή [70]. Επιπρόσθετα, ο σίδηρος παρεμβαίνει στη διαδικασία της ανοσολογικής απάντησης του οργανισμού στις λοιμώξεις [3]. Ο σίδηρος έχει φανεί *in vitro* ότι μειώνει την φαγοκυτταρική, την χυμιοστακτική και την βακτηριοκτόνο ικανότητα των ουδετερόφιλων και των μονοκυττάρων, την παραγωγή των κυτταροτοξικών Τ-λεμφοκυττάρων, την πολλαπλασιαστική ικανότητα των βοηθητικών Τ-λεμφοκυττάρων και ταυτόχρονα παρεμποδίζει τη δράση των φυσικών κυττάρων φονέων και των μακροφάγων [70, 71, 72].

Αναφορικά με τους μύκητες, φαίνεται ο σίδηρος να είναι και σε αυτούς απαραίτητος για την ανάπτυξη και τη λοιμογόνο δράση τους [87]. Όπως συμβαίνει και με τα βακτήρια, οι μύκητες χρειάζονται το σίδηρο για την επιβίωσή τους, καθώς είναι απαραίτητος για βιολογικές διαδικασίες, όπως η αντιγραφή και η μεταγραφή του DNA, ο μεταβολισμός και η παραγωγή ενέργειας [88, 89]. Οι μύκητες έχουν αναπτύξει περίτεχνους μηχανισμούς προκειμένου να αποκτήσουν τον πολύτιμο για αυτούς σίδηρο, όπως η μετατροπή του τρισθενούς σε δισθενή σίδηρο, η παραγωγή

σιδηροφόρων μορίων, η απόκτηση σιδήρου από την αιμοσφαιρίνη, η χρήση ξενοσιδηροφόρων μορίων, κ.ά. [87, 89]. Μελέτες σε μοντέλα ζώων έδειξαν ότι, *in vivo*, ο σίδηρος διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της διηθητικής ασπεργίλλωσης, της μουκορμύκωσης και πιθανότατα και της διηθητικής καντιντίασης [55, 73]. Αντιθέτως, η στέρηση σιδήρου προκάλεσε απόπτωση στον *Mucorales*, *in vitro* και σε πειραματικά μοντέλα [35, 76].

Οι ασθενείς με οξεία μυελογενή λευχαιμία ή μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο υψηλού κινδύνου σε εκτροπή, έχουν μεγάλη ανάγκη καθημερινών μεταγγίσεων με Μονάδες Συμπυκνωμένων Ερυθρών, που περιέχουν σίδηρο [90]. Ως εκ τούτου, η υπερφόρτωση του εκάστοτε ασθενούς με σίδηρο λόγω πολλαπλών μεταγγίσεων είναι αναπόφευκτη. Λαμβάνοντας υπόψη, τη σημασία του σιδήρου στην επιβίωση των μυκήτων, γεννάται το ερώτημα εάν η περίσσεια σιδήρου στον οργανισμό αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη διηθητικών μυκητιακών λοιμώξεων. Οι έως τώρα δημοσιευμένες κλινικές μελέτες που προσπάθησαν να εξυπηρετήσουν αυτό το σκοπό είναι είτε αναδρομικές, είτε εξέτασαν μικρό πληθυσμό, είτε χρησιμοποίησαν παραμέτρους για να αποδείξουν τη μεγάλη ποσότητα σιδήρου στον οργανισμό, που επηρεάζονται αναπόφευκτα και από άλλους παράγοντες, όπως είναι η ίδια η φλεγμονή [58, 74, 91]. Διεξήγαμε, λοιπόν, μία προοπτική, πολυκεντρική μελέτη σε ασθενείς με πρωτοδιάγνωση οξείας λευχαιμίας ή μυελοδυσπλαστικού συνδρόμου υψηλού για εκτροπή κινδύνου, με σκοπό να διαπιστώσουμε κατά πόσο το φορτίο σιδήρου, όπως αυτό μετράται στο μυελό των οστών, αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη διηθητικής μυκητιακής λοίμωξης.

3.2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.2.1 Πληθυσμός της μελέτης

Στη μελέτη συμπεριελήφθησαν όλοι οι ασθενείς άνω των 18 ετών, οι οποίοι διεγνώσθησαν με οξεία μυελογενή ή μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο που εκτράπει, προτού λάβουν οποιαδήποτε θεραπεία για το υποκείμενο νόσημα τους, είτε ανοσοκατασταλτική είτε ανοσοτροποποιητική. Εισήχθησαν ασθενείς από τις αιματολογικές κλινικές ή τμήματα τεσσάρων τριτοβάθμιων νοσοκομείων. Για την εισαγωγή τους στη μελέτη έπρεπε να έχουν υποβληθεί στα πλαίσια της διάγνωσής τους σε οστεομυελική βιοψία με αναρρόφηση μυελού των οστών. Αποκλείσθηκαν από τη μελέτη, ασθενείς με αναμενόμενο χρόνο επιβίωσης κάτω από τέσσερις εβδομάδες και όσοι είχαν στοιχεία ενεργού διηθητικής μυκητίασης στη διάγνωσή τους. Οι ασθενείς παρακολουθούνταν για ένα χρόνο μετά την εισαγωγή τους στη μελέτη για την ανάπτυξη διηθητικής μυκητιακής λοίμωξης.

3.2.2 Συλλογή στοιχείων και υλικών

Από κάθε ασθενή που εισήχθη στη μελέτη συλλέχθησαν, κατόπιν της αναρρόφησης μυελού των οστών που πραγματοποιούνταν σαν έλεγχος ρουτίνας από τους θεράποντες για τη διάγνωσή τους, δύο πλακάκια μυελού των οστών για χρώση σιδήρου (Sigma-Aldrich Iron stain HT20). Επιπλέον, καταγράφονταν τα δημογραφικά στοιχεία των ασθενών όπως ηλικία, φύλο, το είδος της υποκείμενης κακοήθειας, ενώ ταυτόχρονα λαμβάνονταν ιατρικό ιστορικό για τη συγκέντρωση στοιχείων όπως ο σακχαρώδης διαβήτης, το ιστορικό μεταγγίσεων με Μονάδες Συμπυκνωμένων Ερυθρών και η χρήση κορτικοστεροειδών. Από τον αρχικό εργαστηριακό έλεγχο ρουτίνας, συλλέγονταν για κάθε ασθενή στοιχεία όπως ο απόλυτος αριθμός ουδετεροφίλων, η αιμοσφαιρίνη ορού, ο αριθμός των αιμοπεταλίων και ο σίδηρος και

η φερριτίνη ορού. Σε περίπτωση ουδετεροπενικού εμπύρετου γινόταν εκτίμηση των διαθέσιμων απεικονιστικών εξετάσεων (ακτινογραφία θώρακος ή/και αξονική τομογραφία).

3.2.3 Μέθοδοι και ανάλυση δεδομένων

Ουδετεροπενία

Για την εκτίμηση της ουδετεροπενίας των ασθενών, θεωρήσαμε ως ουδετεροπενικούς τους ασθενείς που είχαν ουδετερόφιλα $< 500/\text{mm}^3$, ενώ η ουδετεροπενία ορίστηκε ως σοβαρή όταν ο αριθμός των ουδετεροφίλων ήταν χαμηλότερος από $100 \text{ κύτταρα}/\text{mm}^3$.

Κορτικοστεροειδή

Η χρήση των κορτικοστεροειδών από τους ασθενείς θεωρήθηκε αξιόλογη, όταν ο ασθενής υπερέβαινε τη δόση των 600mg πρεδνιζόνης για τουλάχιστον ένα μήνα πριν από τη διάγνωση της διηθητικής μυκητίασης.

Κατηγορίες Διηθητικών Μυκητιακών Λοιμώξεων

Για την κατηγοριοποίηση των μυκητιακών λοιμώξεων χρησιμοποιήθηκαν τα ανανεωμένα κριτήρια EORTC/MSG. Σύμφωνα με τα ανωτέρω κριτήρια, κάθε συμμετέχοντας στη μελέτη που εμφάνιζε ουδετεροπενικό εμπύρετο και εφόσον μπορούσε να στοιχειοθετηθεί μυκητιακή ανάπτυξη σε καλλιέργεια ή σε ιστό κατόπιν βιοψίας και ιστοπαθολογικής εξέτασης ή άμεσης μικροσκόπησης κατατασσόταν ως έχων αποδεδειγμένη μυκητιακή λοίμωξη (proven). Ο αιματολογικός ασθενής, όμως, που ανέπτυξε ουδετεροπενικό εμπύρετο και δεν ήταν δυνατό να έχουμε κάποια από τα ανωτέρω για να στοιχειοθετηθεί άμεση διάγνωση, κατατασσόταν στην περίπτωση

της προφανούς (probable) διηθητικής μυκητιακής λοίμωξης, εφόσον πληρούσε ακτινολογικά ευρήματα συμβατά με διήθηση ιστού από μύκητα ή/και θετικό αντιγόνο β-D γλυκάνης ή γαλακτομαννάνης. Ως ημερομηνία έναρξης της εκάστοτε διηθητικής μυκητιακής λοίμωξης οριζόταν η ημέρα εμφάνισης κλινικής συμπτωματολογίας συμβατής ή η ημέρα διάγνωσης της διηθητικής μυκητίασης με βάση τα κλινικοεργαστηριακά ή/και τα απεικονιστικά δεδομένα.

Χρώση σιδήρου Μυελού των Οστών και Σύστημα Βαθμονόμηση

Τα συλλεχθέντα πλακάκια μετά την αρχική αναρρόφηση μυελού των οστών βάφονταν με χρώση σιδήρου Sigma-Aldrich HT20 και κατόπιν μικροσκόπησης βαθμονομούνταν από 0-4, αναλόγως του φορτίου σιδήρου που διαπιστωνόταν. Πιο συγκεκριμένα, όταν η χρώση αναδείκνυε απουσία, μικρή ή μέτρια συγκέντρωση σιδήρου στο μυελό των οστών, τότε οι αποθήκες σιδήρου του ασθενούς βαθμονομούνταν με σκορ 0,1 ή 2 αντίστοιχα. Μεγαλύτερες συγκεντρώσεις βαθμονομούνταν με σκορ 3 ή 4 και αντιστοιχούσαν σε αυξημένες ποσότητες σιδήρου στο μυελό των οστών. Τέλος, θεωρήθηκε ότι τα σκορ 3 και 4 αφορούσαν ασθενείς με υπερφόρτωση σιδήρου [92].

Στατιστική Ανάλυση Δεδομένων

Για την περιγραφική στατιστική ανάλυση των δεδομένων χρησιμοποιήσαμε τη μέση τιμή (mean, SD) για κανονικά κατανομημένες συνεχείς μεταβλητές και τη διάμεση τιμή (25^ο -75^ο εκατοστημόριο) για μη κανονικά κατανομημένες συνεχείς μεταβλητές. Για τις ποιοτικές μεταβλητές χρησιμοποιήθηκαν απόλυτες (N) και σχετικές (%) συχνότητες. Σχεδιάστηκε καμπύλη Kaplan-Meier για την ανάπτυξη διηθητικής μυκητίασης κατά το διάστημα παρακολούθησης των ασθενών με BMIS <3 και των ασθενών με BMIS ≥3. Το στατιστικό μας μοντέλο για την ανίχνευση παραγόντων κινδύνου περιελάμβανε

μονοπαραγοντική και πολυπαραγοντική ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης για τις συνεχείς μεταβλητές και λογιστική παλινδρόμηση για ποιοτικές μεταβλητές. Πολυπαραγοντική ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης χρησιμοποιήθηκε για περαιτέρω διερεύνηση της συσχέτισης του αυξημένου BMIS score και της ανάπτυξης διηθητικής μυκητιακής λοίμωξης κατά το διάστημα παρακολούθησης, με προσαρμογή στους γνωστούς ανεξάρτητους παράγοντες κινδύνου, όπως η ουδετεροπενία (ή η βαριά ουδετεροπενία), η χρήση κορτικοστεροειδών, ο σακχαρώδης διαβήτης, η κακή θρέψη και τα επίπεδα σιδήρου και φερριτίνης ορού κατά τη διάγνωση. Παρά την αδυναμία ανεύρεσης ανεξάρτητου παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη διηθητικής μυκητίασης από τη μονοπαραγοντική ανάλυση, προχωρήσαμε σε πολυπαραγοντική ανάλυση, διότι σε σπάνιες περιπτώσεις, η στατιστική σημαντικότητα αναδεικνύεται, μόνο εφόσον ληφθούν υπόψη όλες οι μεταβλητές [93]. Εφαρμόσαμε δύο αναλύσεις ευαισθησίας, εξαιρώντας τους ασθενείς με μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο σε εκτροπή στην πρώτη και τους ασθενείς με διηθητική καντιντίαση στη δεύτερη, χρησιμοποιώντας τα ίδια μοντέλα. Υπολογίσαμε, επίσης, τους λόγους πιθανοτήτων (odds ratio) και τα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης (95% CIs). Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε ως <0.05 . Όλες οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με το Stata 14 software (Stata Corp., College State, TX, USA).

3.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στη μελέτη εισήχθησαν 129 ασθενείς, από τους οποίους 31 αποκλείστηκαν, κατά κύριο λόγο διότι δεν υπήρχαν διαθέσιμα δύο πλακάκια μυελού των οστών, τα οποία να μπορούν να βαθμονομηθούν για το φορτίο σιδήρου, βάση σχεδιασμού της μελέτης, κυρίως γιατί δεν διέθεταν αξιολογήσιμο υλικό (dry-tap). Τα δημογραφικά των ασθενών περιλαμβάνονται στον πίνακα 1. Εβδομήντα έξι (77.6%) ασθενείς έπασχαν από οξεία μυελογενή λευχαιμία και 22 (22.4%) από μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο υψηλού κινδύνου σε εκτροπή. Η πλειοψηφία των ασθενών που εισήχθησαν στη μελέτη (95/98) ελάμβανε προφυλακτική αγωγή για μύκητες. Κατά το χρονικό διάστημα της παρακολούθησής τους, 22 ασθενείς (22.4%) ανέπτυξαν διηθητική μυκητιακή λοίμωξη. Η διάμεση τιμή του χρόνου εμφάνισης της προσβολής από μύκητα ήταν 21 ημέρες μετά την αρχική εκτίμηση και εισαγωγή στη μελέτη (διακύμανση 0-319 ημέρες). Η καμπύλη Kaplan-Meier για την ανάπτυξη διηθητικής μυκητίασης φαίνεται στο Σχήμα 1. Οι ασθενείς εμφάνιζαν κατά κύριο λόγο διηθητική ασπεργίλλωση (n=16) και ως επί τω πλείστω χαρακτηρίστηκαν ως προφανείς μυκητιακές λοιμώξεις με βάση τα κριτήρια EORTC/MSG (Πίνακας 2). Το σύνολο των ασθενών που ανέπτυξε διηθητική μυκητιακή λοίμωξη (n=22) ήταν συγκρίσιμο με το σύνολο των ασθενών που δεν προσβλήθηκαν από μύκητα (n=76), όσον αφορά την ηλικία, το φύλο, τη χρήση κορτικοστεροειδών, το ιστορικό σακχαρώδους διαβήτη και την υποαλβουμιναιμία κατά τη διάγνωσή του. Βρήκαμε ότι οι ασθενείς που έπασχαν από οξεία μυελογενή λευχαιμία εμφάνιζαν σε μεγαλύτερη συχνότητα διηθητικές μυκητιακές λοιμώξεις (95.5% έναντι 73.7%), ουδετεροπενία (40.9% έναντι 23.7%) και βαριά ουδετεροπενία (27.3% έναντι 13.2%), με βάση τα δεδομένα που συλλέχθηκαν στην αρχική εκτίμηση των ασθενών. Αξίζει να σημειωθεί ότι, μετά την αρχική εκτίμηση και τη συλλογή των πρώτων δεδομένων για τους ασθενείς, όλοι έλαβαν άμεση χημειοθεραπευτικά

σχήματα για τη νόσο τους και έγιναν ουδετεροπενικοί. Οι δύο ομάδες προς μελέτη εμφάνιζαν στην αρχική εκτίμηση συγκρίσιμες τιμές σιδήρου ορού και φερριτίνης, όπως φαίνεται και στον πίνακα 1. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και όσον αφορά την υπερφόρτωση σιδήρου στο μυελό των οστών (36.4% στην ομάδα των ασθενών που εμφάνισαν διθητική μυκητίαση έναντι 40.8% στην έτερη ομάδα).

Η μονοπαραγοντική ανάλυση έδειξε ότι ο μόνος προδιαθεσικός παράγοντας για διθητική μυκητίαση ήταν η νεοδιάγωση οξείας μυελογενούς λευχαιμίας. Πιο συγκεκριμένα, οι ασθενείς αυτοί εμφάνιζαν 7.40 (95% CI: 1.05-325.42) φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να αναπτύξουν διθητική μυκητίαση σε σχέση με τους ασθενείς που είχαν μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο σε εκτροπή. Παρά ταύτα, η πολυπαραγοντική ανάλυση δεν ανέδειξε κανένα στατιστικά σημαντικό παράγοντα κινδύνου για διθητική μυκητίαση κατόπιν προσαρμογής για τις διάφορες μεταβλητές, όπως η ουδετεροπενία, η χρήση κορτικοστεροειδών, ο σακχαρώδης διαβήτης, η κακή θρέψη και τα επίπεδα σιδήρου και φερριτίνης ορού στη διάγνωση (Πίνακας 1). Το BMIS score (≥ 3) δεν ανεδείχθη ως στατιστικά σημαντικό παράγοντα κινδύνου ούτε κατόπιν αντικατάστασης της ουδετεροπενίας με βαριά ουδετεροπενία στο ίδιο στατιστικό μοντέλο. (Πίνακας S1). Προκειμένου να έχουμε ένα πιο ομοιογενές δείγμα πληθυσμού όσον αφορά τους παράγοντες κινδύνου για διθητικές μυκητιάσεις και σαν ανάλυση ευαισθησίας, εφαρμόσαμε το ίδιο μοντέλο αποκλείοντας τους ασθενείς με μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο σε εκτροπή σε μια πρώτη ανάλυση (Πίνακας S2) και εν συνεχεία αποκλείοντας τους ασθενείς με διθητική καντιντίαση σε μία δεύτερη ανάλυση (Πίνακας S2). Σε καμία από τις δύο αναλύσεις το BMIS score δεν ανεδείχθη παράγοντα κινδύνου για διθητική μυκητιακή λοίμωξη.

3.4 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Μέχρι σήμερα, η επιστημονική κοινότητα, μέσα από εργαστηριακές και αναδρομικές μελέτες ή μελέτες που αφορούσαν μικρό αριθμό ασθενών, έχει δείξει ότι η υπερφόρτωση του οργανισμού με σίδηρο μπορεί να σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης διηθητικής καντιντίασης ή άλλης μυκητιακής λοίμωξης σε ασθενείς με αιματολογικές κακοήθειες [58, 73, 77, 89, 94]. Η προοπτική αυτή μελέτη σχεδιάστηκε με σκοπό να αποδείξει, εάν το αυξημένο φορτίο σιδήρου, όπως αυτό μετράται στις αποθήκες σιδήρου στο μυελό των οστών σχετίζεται με μεγαλύτερη πιθανότητα προσβολής από διηθητική μυκητίαση σε ασθενείς που έπασχαν από οξεία μυελογενή λευχαιμία ή μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο με περίσσεια βλαστών που παρουσιάζει εκτροπή.

Μελετήσαμε 98 ασθενείς με τα παραπάνω νοσήματα και καταλήξαμε ότι το αυξημένο φορτίο σιδήρου στο μυελό των οστών (BMIS score ≥ 3) δε σχετίζεται με αυξημένη πιθανότητα διηθητικής μυκητιακής λοίμωξης στους ασθενείς αυτούς. Ο κ. Κοντογιάννης και η ομάδα του εκτίμησαν το φορτίο σιδήρου στο μυελό των οστών αναδρομικά σε λευχαιμικούς ασθενείς και ασθενείς που είχαν υποβληθεί σε αλλογενή μεταμόσχευση μυελού των οστών με διηθητική ασπεργίλλωση (n=33) και τους συνέκριναν με όσους δεν είχαν προσβληθεί από ασπέργιλλο. (n=33). Το φορτίο σιδήρου στο μυελό των οστών ήταν αυξημένο στην πλειονότητα των ασθενών με διηθητική ασπεργίλλωση (70%) σε σχέση με την ομάδα ελέγχου(16%) (P<.0001). Το αυξημένο φορτίο σιδήρου ανεδείχθη ως ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για την ανάπτυξη διηθητικής ασπεργίλλωσης κατόπιν πολυπαραγοντικής ανάλυσης. Τα αντικρουόμενα συμπεράσματα των δύο μελετών μπορούν να εξηγηθούν είτε λόγω της φύσης της μελέτης του κ. Κοντογιάννη και της ομάδας του που είναι αναδρομική, είτε λόγω της σύστασης των μελετούμενων πληθυσμών στις δύο μελέτες, καθώς στη δική

μας δεν συμπεριελήφθησαν ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε αλλογενή μεταμόσχευση μυελού των οστών. Επιπλέον, στη μελέτη του κ. Κοντογιάννη μελετήθηκε μόνο η διηθητική ασπεργίλλωση, ενώ στη μελέτη αυτή συμπεριελήφθησαν και άλλα είδη διηθητικών μυκητιακών λοιμώξεων, όπως η διηθητική καντιντίαση και η διηθητική μουκορμύκωση. Προκειμένου οι δύο μελέτες να καταστούν συγκρίσιμες, εφαρμόσαμε ανάλυση ευαισθησίας με μοναδικό καταληκτικό σημείο την ανάπτυξη διηθητικής ασπεργίλλωσης, αλλά και σε αυτή την περίπτωση το BMIS ≥ 3 δεν ανευρέθηκε στατιστικά σημαντικό για την ανάπτυξη διηθητικής ασπεργίλλωσης (Πίνακας S3). Ο Miceli και η ομάδα του [94], σε άλλη μελέτη, μελέτησαν το φορτίο σιδήρου στο μυελό των οστών χρησιμοποιώντας την ίδια βαθμονόμηση με την παρούσα μελέτη, σε ασθενείς με πολλαπλούν μυέλωμα πριν αυτοί υποβληθούν σε αυτόλογη μεταμόσχευση μυελού των οστών και κατέληξαν ότι η υπερφόρτωση του μυελού με σίδηρο αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για βακτηριακές λοιμώξεις μετά τη διαδικασία της μεταμόσχευσης. Η συγκεκριμένη μελέτη δεν αναφέρθηκε σε διηθητικές μυκητιάσεις, πιθανώς λόγω της φύσης του νοσήματος και τη χαμηλή πιθανότητα αυτών των ασθενών να προσβληθούν από μύκητα.

Ο πληθυσμός της μελέτης μας αποτελείται από ασθενείς με οξεία μυελογενή λευχαιμία και μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο υψηλού κινδύνου σε εκτροπή, που τυπικά έχουν χαμηλές πιθανότητες (< 10%) για διηθητική μυκητίαση σε σχέση με τους ασθενείς με υποτροπή ή ανθεκτική στη χημειοθεραπεία οξεία μυελογενή λευχαιμία. Παρά ταύτα, ο αριθμός των μυκητιακών λοιμώξεων που κατεγράφησαν ήταν υψηλός. Μία πιθανή εξήγηση για αυτό το φαινόμενο είναι ότι κατά τη διάρκεια διεξαγωγής της μελέτης στα ελληνικά νοσοκομεία, όπως φάνηκε σε πρόσφατη μελέτη, η οικονομική κρίση και η πανδημία από SARS-COV-2, ευνόησαν την ανάπτυξη ασπεργίλλωσης [95].

Στην παρούσα μελέτη βρήκαμε ότι τα επίπεδα του σιδήρου ορού και της φερριτίνης τη στιγμή της διάγνωσης ήταν παρόμοια ανάμεσα στην ομάδα των ασθενών και στην ομάδα των μαρτύρων. Τα υψηλά επίπεδα φερριτίνης αποτελούν δείκτη φλεγμονής σε αρκετές περιπτώσεις πέραν των λοιμώξεων. Η φλεγμονώδης διεργασία στους ασθενείς με οξεία μυελογενή λευχαιμία, τόσο στον παιδιατρικό όσο και στον ενήλικο πληθυσμό, έχει φανεί ότι αλλάζει τη δομή του ανοσοποιητικού μικροπεριβάλλοντος στο μυελό των οστών, οδηγώντας σε χειρότερη έκβαση των ασθενών με βαριά φλεγμονή λόγω της νόσου, αλλά δεν προδιαθέτει σε μυκητιακές λοιμώξεις [96]. Οι Tanaka et al. μελέτησαν 190 ασθενείς με οξεία μυελογενή λευχαιμία ή μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο, που υπεβλήθησαν σε μεταμόσχευση μυελού των οστών και ανέφεραν ότι τα υψηλά επίπεδα φερριτίνης ορού πριν τη μεταμόσχευση δεν επηρέασαν τον αριθμό των λοιμώξεων, αλλά προμήνυαν χειρότερα ποσοστά επιβίωσης [97]. Παρόμοια αποτελέσματα δημοσίευσαν και οι Styczynski et al σε αντίστοιχο παιδιατρικό πληθυσμό [98].

Ο Iglesias-Osma και η ομάδα του [73] σε αναδρομική μελέτη που διεξήγαγαν μελέτησαν 74 ασθενείς με αιματολογικές κακοήθειες και βρήκαν ότι οι ασθενείς που ανέπτυσσαν διηθητική μυκητιακή λοίμωξη είχαν αυξημένο σίδηρο ορού και επίπεδα φερριτίνης σε σύγκριση με τους ασθενείς που δεν προσβλήθηκαν από μύκητα. Πρόκειται, παρ' αυτά, για μία αναδρομική μελέτη και επιπρόσθετα από τους 74 υπό μελέτη ασθενείς μόνο οι 30 είχαν οξεία λευχαιμία. Ο Maertens και η ομάδα του [77] μελέτησαν 15 ασθενείς που είχαν υποβληθεί σε αλλογενή μεταμόσχευση μυελού των οστών και έδειξαν ότι ο αυξημένος αριθμός μεταγγίσεων και η μέση τιμή των επιπέδων φερριτίνης ορού ήταν σαφώς μεγαλύτερη στους 5 ασθενείς που ανέπτυσαν μουκορμύκωση σε σχέση με την ομάδα μαρτύρων που αποτελούνταν από τους λοιπούς 10 ασθενείς. Ο μικρός αριθμός του υπό μελέτη πληθυσμού, όμως αποτελεί

σημαντικό περιορισμό της μελέτης αυτής. Τέλος, Οι Karp Και Merz [74] μελέτησαν προοπτικά 70 λευχαιμικούς ασθενείς και συμπέραναν ότι τα επίπεδα της σιδηροδεσμευτικής ικανότητας όπως αυτά μετρίονται στον ορό των ασθενών ήταν σαφώς χαμηλότερα στους ασθενείς που ανέπτυξαν διηθητική μυκητιακή λοίμωξη (n=54) έναντι όσων δεν ανέπτυξαν (n=16). Παρότι η μελέτη αυτή ήταν προοπτική, καταγράφηκαν μόνο 13 αποδεδειγμένες μυκητιακές λοιμώξεις (12 είχαν καντιντίαση) και οι ασθενείς που είχαν καντινιασική οισοφαγίτιδα ή καντιντουρία ταξινομήθηκαν ως πιθανές μυκητιάσεις.

Στη μελέτη μας, η ουδετεροπενία τη στιγμή της διάγνωσης (κατά την αρχική εκτίμηση του ασθενούς και την πρώτη διαγνωστική βιοψία μυελού των οστών) και προχημειοθεραπείας, δεν ανεδείχθη σαν ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου. Παρά ταύτα, όλοι οι ασθενείς άμεσα έλαβαν χημειοθεραπεία και έγιναν ουδετεροπενικοί εντός 14 ημερών, Ως εκ τούτου, όλοι θεωρούνται έκτοτε ουδετεροπενικοί και με μεγάλη πιθανότητα ανάπτυξης διηθητικής μυκητιάσης, εφόσον η επαγόμενη από χημειοθεραπεία ουδετεροπενία αποτελεί καλά παγιωμένο παράγοντα κινδύνου για διηθητικές μυκητιακές λοιμώξεις [80]. Ο κίνδυνος για διηθητικές μυκητιάσεις στους ασθενείς της μελέτης λόγω της αρχικής ουδετεροπενίας δεν αντανακλά απαραίτητα τον επερχόμενο κίνδυνο λόγω ουδετεροπενίας μετά τη χορήγηση χημειοθεραπείας.

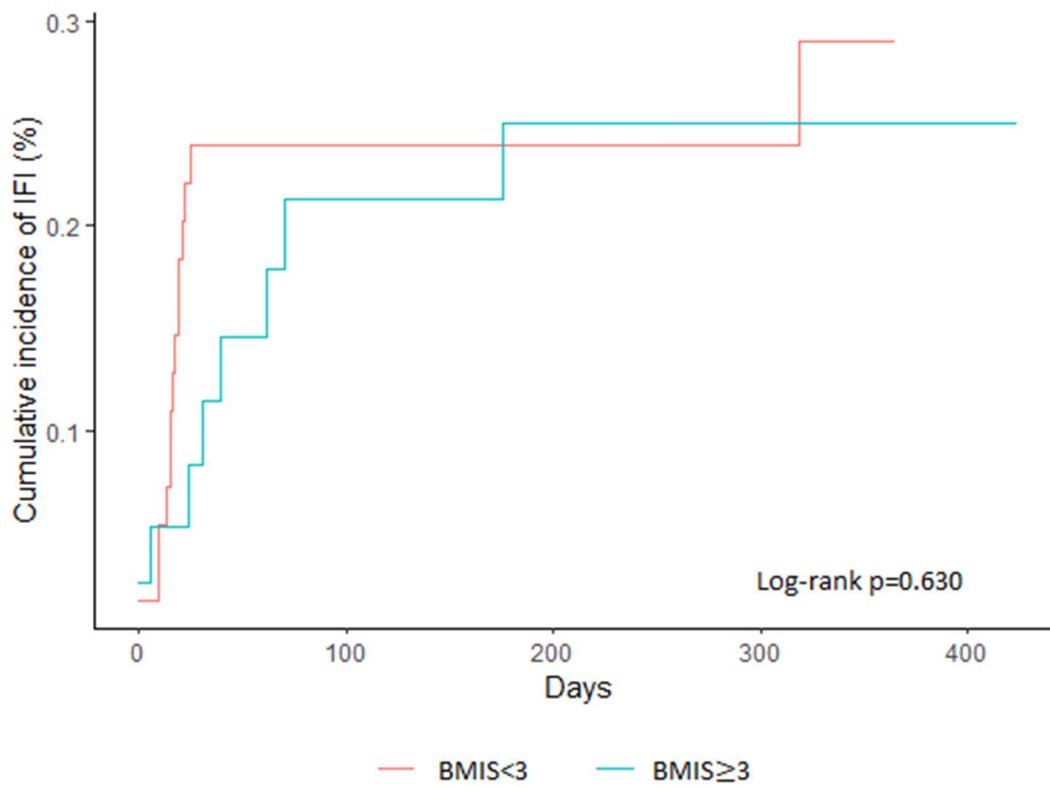
Η παρούσα μελέτη έχει περιορισμούς και αυτοί αφορούν κυρίως το σχετικά μικρό αριθμό ασθενών που εισήχθησαν στη μελέτη και το γεγονός ότι η πλειοψηφία των καταγεγραμμένων διηθητικών μυκητιακών λοιμώξεων ταξινομήθηκαν ως προφανείς βάση των κριτηρίων EORTC/MSG. Επιπρόσθετα, οι αποθήκες σιδήρου στο μυελό των οστών εκτιμήθηκαν και βαθμονομήθηκαν από έναν μόνο αιματολόγο και το σύστημα βαθμονόμησης που χρησιμοποιήθηκε είναι ημιποσοτικό. Τέλος, ο υψηλός αριθμός των καταγεγραμμένων μυκητιάσεων σε συνδυασμό με το μικρό πληθυσμό

της μελέτης, η χημειοεπαγόμενη ουδετεροπενία και το γεγονός ότι σχεδόν όλοι οι ασθενείς ελάμβαναν προφυλακτική αγωγή για μύκητες, είναι πιθανό να αλλοίωσε την εικόνα των παραγόντων κινδύνου για την ανάπτυξη διηθητικών μυκητιάσεων. Πρόκειται, παρόλα αυτά, για την πρώτη προοπτική, πολυκεντρική μελέτη που σχεδιάστηκε για να διερευνήσει κατά πόσο η υπερφόρτωση σιδήρου με βάση τα επίπεδα σιδήρου στο μυελό των οστών, αποτελεί παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη διηθητικής μυκητίασης σε ασθενείς με οξεία μυελογενή λευχαιμία ή μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο σε εκτροπή.

Συμπερασματικά, στη μελέτη μας καταλήξαμε ότι η υπερφόρτωση με σίδηρο, όπως αυτή μετράται στις αποθήκες σιδήρου στο μυελό των οστών δεν αποτελεί παράγοντα κινδύνου για ανάπτυξη διηθητικής μυκητίασης σε λευχαιμικούς ασθενείς ή ασθενείς με μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο που έχει εκτραπεί.

3.5 ΠΙΝΑΚΕΣ ΚΑΙ ΣΧΗΜΑΤΑ

Σχήμα 1. Αθροιστική επίπτωση διηθητικών μυκητιακών λοιμώξεων σε διάστημα 12 μηνών μετά διάγνωση και εισαγωγή στη μελέτη



Πίνακας 1. Χαρακτηριστικά των ασθενών που ανέπτυξαν ή δεν ανέπτυξαν διηθητική μυκητιακή λοίμωξη κατά την περίοδο παρακολούθησής τους

Χαρακτηριστικά κατά τη διάγνωση αιματολογικής κακοήθειας	Ασθενείς άνευ διηθητικής μυκητίασης (n=76)	Ασθενείς με διηθητική μυκητίαση (n=22)	Μονοπαραγοντική ανάλυση		Πολυπαραγοντική ανάλυση	
			OR (95% CI)	P	OR (95% CI)	P
Ηλικία (διάμεση τιμή, 25° -75° εκατοστημόριο, έτη)	67.5 (53.5-75.0)	58 (47-65)	-	-	-	-
Άρρεν φύλο	44/76 (57.9%)	14/22 (63.6%)	-	-	-	-
ΟΜΛ	56/76 (73.7%)	21/22 (95.5%)	7.40 (1.05 – 325.42)	0.037	7.96 (0.94-67.34)	0.057
Ουδετεροπενία (<500 κύτταρα / mm ³) στη διάγνωση	18/76 (23.7%)	9/22 (40.9%)	2.21 (0.71 – 6.72)	0.174	1.97 (0.68-5.74)	0.214
Βαριά ουδετεροπενία (<100 κύτταρα / mm ³) στη διάγνωση	10/76 (13.2%)	6/22 (27.3%)	2.45 (0.63 – 8.83)	0.186	-	-
Κορτικοστεροειδή	17/76 (22.4%)	5/22 (22.7%)	1.02 (0.26 – 3.47)	>0.999	1.11 (0.32-3.82)	0.874
Σακχαρώδης διαβήτης	7/76 (9.2%)	2/22 (9.1%)	0.99 (0.09 – 5.76)	>0.999	1.01 (0.17-6.06)	0.995
Υποθρεψία (αλβουμίνη < 3 mg/dL)	25/76 (32.9%)	7/22 (31.8%)	0.95 (0.29 – 2.88)	>0.999	1.13 (0.37-3.46)	0.828
BMIS ≥ 3	31/76 (40.8%)	8/22 (36.4%)	0.83 (0.27 – 2.43)	0.807	0.88 (0.31-2.50)	0.805
Επίπεδα σιδήρου ορού (διάμεση τιμή, 25°-75° εκατοστημόριο, mg/dL)	125.5 (79.5-170.5)	114.0 (92.0-156.0)	1.00 (0.98 – 1.00)	0.334	1.00 (0.99 – 1.00)	0.346
Επίπεδα Φερριτίνης ορού (διάμεση τιμή, 25°-75° εκατοστημόριο, mg/dL)	678.2 (233.4-1012.0) (n=75)	873.3 (386.1-1225.6)	1.00 (0.99 – 1.00)	0.911	1.00 (0.99 – 1.00)	0.519

Πίνακας 2. Αριθμός και είδος διηθητικών μυκητιακών λοιμώξεως κατά τη διάρκεια παρακολούθησης των ασθενών

Διηθητική Μυκητιακή Λοίμωξη	Αποδεδειγμένη*	Προφανής*	Σύνολο
Διηθητική Καντιντίαση/Καντινταμία	5	0	5
Διηθητική Ασπεργίλλωση	4	12	16
Μουκορμύκωση	1	0	1
Σύνολο	10	12	22

*Σύμφωνα με τα αναθεωρημένα κριτήρια EORTC/MSG [67]

Πίνακας S1. Αποτελέσματα πολυπαραγοντικής ανάλυση για τη διερευνήσιμη σχέση μεταξύ αυξημένων BMIS και την ανάπτυξη διηθητικών μυκητιάσεων, προσαρμοσμένα για βαριά ουδετεροπενία, χρήση κορτικοστεροειδών, σακχαρώδη διαβήτη, υποθρεψία και τα επίπεδα σιδήρου και φερριτίνης ορού κατά τη διάγνωση

Παράγων Κινδύνου	Πολυπαραγοντική ανάλυση	
	OR (95% CI)	P
ΟΜΛ	7.95 (0.93- 67.83)	0.058
Βαριά ουδετεροπενία (<100 cells / mm ³)	2.17 (0.62- 7.61)	0.228
Κορτικοστεροειδή	1.04 (0.3- 3.65)	0.950
Σακχαρώδης διαβήτης	0.94 (0.16- 5.58)	0.943
Υποθρεψία (αλβουμίνη < 3 mg/dL)	1.09 (0.35- 3.41)	0.876
BMIS ≥ 3	0.85 (0.29- 2.43)	0.755
Επίπεδα σιδήρου ορού (διάμεση τιμή, 25 ^ο -75 ^ο εκατοστημόριο, mg/dL)	1.00 (0.99- 1.00)	0.354
Επίπεδα Φερριτίνης ορού (διάμεση τιμή, 25 ^ο -75 ^ο εκατοστημόριο, mg/dL)	1.00 (0.99- 1.00)	0.515

Πίνακας S2. Χαρακτηριστικά ασθενών που ανέπτυξαν ή δεν ανέπτυξαν διηθητική μυκητίαση κατά την περίοδο παρακολούθησης ενός έτους μετά την αρχική διάγνωση ΟΜΛ. Αποτελέσματα μονοπαραγοντικής και πολυπαραγοντικής ανάλυσης.

Χαρακτηριστικά κατά τη διάγνωση αιματολογικής κακοήθειας	Ασθενείς άνευ διηθητικής μυκητίασης (n=56)	Ασθενείς με διηθητική μυκητίαση (n=21)	Μονοπαραγοντική ανάλυση		Πολυπαραγοντική ανάλυση			
			OR (95% CI)	P	OR (95% CI) [†]	P [*]	OR (95% CI) [†]	P [†]
Ηλικία (διάμεση τιμή, 25 ^ο -75 ^ο εκατοστημόριο, έτη)	66.0 (53.0-74.0)	58.0 (47.0-65.0)	-	-	-	-	-	-
Άρρεν φύλο	34/56 (60.7%)	13/21 (61.9%)	-	-	-	-	-	-
Ουδετεροπενία (<500 κύτταρα / mm ³) στη διάγνωση	14/56 (25.0%)	9/21 (42.9%)	2.22 (0.68-7.27)	0.216	2.20 (0.72-6.68)	0.164	-	-
Βαριά ουδετεροπενία (<100 κύτταρα / mm ³) στη διάγνωση	8/56 (14.3%)	6/21 (28.6%)	2.37 (0.58-9.31)	0.267	-	-	2.34 (0.64-8.57)	0.199

Χαρακτηριστικά κατά τη διάγνωση αιματολογικής κακοήθειας	Ασθενείς άνευ διηθητικής μυκητίασης (n=56)	Ασθενείς με διηθητική μυκητίαση (n=21)	Μονοπαραγοντική ανάλυση		Πολυπαραγοντική ανάλυση			
			OR (95% CI)	P	OR (95% CI)	P*	OR (95% CI) [†]	P [†]
Κορτικοστεροειδή	11/56 (19.6%)	5/21 (23.8%)	1.27 (0.30-4.79)	0.909	1.26 (0.34-4.64)	0.732	1.19 (0.32-4.45)	0.791
Σακχαρώδης διαβήτης	5/56 (8.9%)	2/21 (9.5%)	1.07 (0.09-7.26)	>0.999	0.98 (0.15-6.47)	0.981	0.90 (0.14-5.85)	0.908
Υποθρεψία (αλβουμίνη < 3 mg/dL)	15/56 (26.8%)	7/21 (33.3%)	1.36 (0.39-4.50)	0.764	1.38 (0.43-4.41)	0.585	1.34 (0.42-4.35)	0.621
BMIS ≥ 3	22/56 (39.3%)	7/21 (33.3%)	0.78 (0.23-2.46)	0.837	0.73 (0.24-2.23)	0.586	0.70 (0.23-2.15)	0.535
Επίπεδα σιδήρου ορού (διάμεση τιμή, 25 ^ο -75 ^ο εκατοστημόριο, mg/dL)	121.5 (79.5-170.5)	113.0 (92.0-154.0)	0.99 (0.98-1.00)	0.233	0.99 (0.98-1.00)	0.195	0.99 (0.98-1.00)	0.198
Επίπεδα Φερριτίνης ορού (διάμεση τιμή, 25 ^ο -75 ^ο εκατοστημόριο, mg/dL)	524.4 (225.1-846.9)	861.6 (386.1-1202)	1.00 (0.99-1.00)	0.690	1.00 (0.99-1.00)	0.574	1.00 (0.99-1.00)	0.559

* Μοντέλο προσαρμοσμένο για ουδετεροπενία † Μοντέλο προσαρμοσμένο για βαριά ουδετεροπενία

Πίνακας S3. Χαρακτηριστικά ασθενών που ανέπτυξαν διηθητική μυκητίαση από υφομύκητα κατά την περίοδο παρακολούθησης ενός έτους μετά την αρχική διάγνωση. Αποτελέσματα μονοπαραγοντικής και πολυπαραγοντικής ανάλυσης.

Χαρακτηριστικά κατά τη διάγνωση αιματολογικής κακοήθειας	Ασθενείς άνευ διηθητικής μυκητίασης (n=76)	Ασθενείς με διηθητική μυκητίαση (n=17)	Μονοπαραγοντική ανάλυση		Πολυπαραγοντική ανάλυση			
			OR (95% CI)	P	OR (95% CI)*	P*	OR (95% CI) [†]	P [†]
Ηλικία (διάμεση τιμή, 25 ^ο -75 ^ο εκατοστημόριο, έτη)	67.5 (53.5-75)	55 (47-65)	-	-	-	-	-	-
Άρρεν φύλο	44/76 (57.9%)	11/17 (64.7%)	-	-	-	-	-	-
ΟΜΛ	56/76 (73.7%)	16/17 (94.1%)	5.64 (0.77-251.42)	0.107	5.73 (0.67-49.08)	0.111	5.89 (0.69-50.5)	0.106

Χαρακτηριστικά κατά τη διάγνωση αιματολογικής κακοήθειας	Ασθενείς άνευ διηθητικής μυκητίασης (n=76)	Ασθενείς με διηθητική μυκητίαση (n=17)	Μονοπαραγοντική ανάλυση		Πολυπαραγοντική ανάλυση			
			OR	95% CI	OR	95% CI	OR	95% CI
Ουδετεροπενία (<500 κύτταρα / mm ³) στη διάγνωση	18/76 (23.7%)	7/17 (41.2%)	2.23 (0.63-7.66)	0.224	1.96 (0.6-6.43)	0.267	-	-
Βαριά ουδετεροπενία (<100 κύτταρα / mm ³) στη διάγνωση	10/76 (13.2%)	4/17 (23.5%)	2.01 (0.40-8.46)	0.278	-	-	1.73 (0.41-7.34)	0.459
Κορτικοστεροειδή	17/76 (22.4%)	3/17 (17.7%)	0.75 (0.12-3.14)	>0.999	0.82 (0.19-3.45)	0.785	0.79 (0.19-3.38)	0.753
Σακχαρώσης διαβήτη	7/76 (9.2%)	1/17 (5.9%)	0.62 (0.01-5.40)	>0.999	0.76 (0.08-7.37)	0.815	0.68 (0.07-6.37)	0.732
Υποθρεψία (αλβουμίνη < 3 mg/dL)	25/76 (32.9%)	5/17 (29.4%)	0.85 (0.21-2.96)	>0.999	0.96 (0.27-3.39)	0.948	0.98 (0.27-3.53)	0.970
BMIS ≥ 3	31/76 (40.8%)	8/17 (47.1%)	1.29 (0.39-4.23)	0.787	1.35 (0.44-4.13)	0.602	1.32 (0.43-4.06)	0.626
Επίπεδα σιδήρου ορού (διάμεση τιμή, 25 ^ο -75 ^ο εκατοστημόριο, mg/dL)	125.5 (79.5-170.5)	1128 (95-156)	1.00 (0.99-1.01)	0.584	1 (0.99-1.01)	0.570	1 (0.99-1.01)	0.585
Επίπεδα Φερριτίνης ορού (διάμεση τιμή, 25 ^ο -75 ^ο εκατοστημόριο, mg/dL)	678.2 (233.4-1012.0)	688.1 (262.3-1102.5)	1.00 (0.99-1.00)	0.974	1.00 (0.99-1.00)	0.738	1.00 (0.99-1.00)	0.710

* Μοντέλο προσαρμοσμένο για ουδετεροπενία † Μοντέλο προσαρμοσμένο για βαριά ουδετεροπενία

4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Tansarli, G. S.; Karageorgopoulos, D. E.; Kapaskelis, A.; Gkegkes, I.; Falagas, M. E., Iron deficiency and susceptibility to infections: evaluation of the clinical evidence. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **2013**, *32*, 1253-8.
2. Kontoghiorghes, G. J.; Kolnagou, A.; Skiada, A.; Petrikkos, G., The role of iron and chelators on infections in iron overload and non iron loaded conditions: prospects for the design of new antimicrobial therapies. *Hemoglobin* **2010**, *34*, 227-39.
3. Nairz, M.; Schroll, A.; Sonnweber, T.; Weiss, G., The struggle for iron - a metal at the host-pathogen interface. *Cell Microbiol* **2010**, *12*, 1691-702.
4. Ganz, T., Heparidin and its role in regulating systemic iron metabolism. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* **2006**, 29-35, 507.
5. Nemeth, E.; Ganz, T., Regulation of iron metabolism by hepcidin. *Annu Rev Nutr* **2006**, *26*, 323-42.
6. Jiang, X. F.; Liu, Z. F.; Lin, A. F.; Xiang, L. X.; Shao, J. Z., Coordination of Bactericidal and Iron Regulatory Functions of Heparidin in Innate Antimicrobial Immunity in a Zebrafish Model. *Sci Rep* **2017**, *7*, 4265.
7. Park, C. H.; Valore, E. V.; Waring, A. J.; Ganz, T., Heparidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem* **2001**, *276*, 7806-10.
8. Brock, J. H., Benefits and dangers of iron during infection. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* **1999**, *2*, 507-10.
9. Kasvosve, I.; Delanghe, J., Total iron binding capacity and transferrin concentration in the assessment of iron status. *Clin Chem Lab Med* **2002**, *40*, 1014-8.
10. Yamanishi, H.; Iyama, S.; Yamaguchi, Y.; Kanakura, Y.; Iwatani, Y., Total iron-binding capacity calculated from serum transferrin concentration or serum iron concentration and unsaturated iron-binding capacity. *Clin Chem* **2003**, *49*, 175-8.
11. Ganz, T.; Nemeth, E., Iron homeostasis in host defence and inflammation. *Nat Rev Immunol* **2015**, *15*, 500-10.
12. Schaible, U. E.; Kaufmann, S. H., Iron and microbial infection. *Nat Rev Microbiol* **2004**, *2*, 946-53.
13. Wessling-Resnick, M., Iron homeostasis and the inflammatory response. *Annu Rev Nutr* **2010**, *30*, 105-22.
14. Ong, S. T.; Ho, J. Z.; Ho, B.; Ding, J. L., Iron-withholding strategy in innate immunity. *Immunobiology* **2006**, *211*, 295-314.
15. Soares, M. P.; Weiss, G., The Iron age of host-microbe interactions. *EMBO Rep* **2015**, *16*, 1482-500.
16. Weiss, G., Iron and immunity: a double-edged sword. *Eur J Clin Invest* **2002**, *32 Suppl 1*, 70-8.
17. Wandersman, C.; Delepelaire, P., Bacterial iron sources: from siderophores to hemophores. *Annu Rev Microbiol* **2004**, *58*, 611-47.
18. Lau, C. K.; Krewulak, K. D.; Vogel, H. J., Bacterial ferrous iron transport: the Feo system. *FEMS Microbiol Rev* **2016**, *40*, 273-98.
19. Contreras, H.; Chim, N.; Credali, A.; Goulding, C. W., Heme uptake in bacterial pathogens. *Curr Opin Chem Biol* **2014**, *19*, 34-41.
20. Smith, A. D.; Wilks, A., Extracellular heme uptake and the challenges of bacterial cell membranes. *Curr Top Membr* **2012**, *69*, 359-92.

21. Hantke, K., Ferrous Iron Transport. In *Iron Transport in Bacteria*, 2004; pp 178-184.
22. Page, M. G., Siderophore conjugates. *Ann N Y Acad Sci* **2013**, *1277*, 115-26.
23. Raymond, K. N.; Müller, G.; Matzanke, B. F., Complexation of Iron by Siderophores — A Review of Their Solution and Structural Chemistry and Biological Function. In *Structural Chemistry*, Friedrich, L. B., Ed. De Gruyter: Berlin, Boston, 1984; pp 49-102.
24. Chu, B. C.; Garcia-Herrero, A.; Johanson, T. H.; Krewulak, K. D.; Lau, C. K.; Peacock, R. S.; Slavinskaya, Z.; Vogel, H. J., Siderophore uptake in bacteria and the battle for iron with the host; a bird's eye view. *Biometals* **2010**, *23*, 601-11.
25. Karlsson, M.; Hannavy, K.; Higgins, C. F., ExbB acts as a chaperone-like protein to stabilize TonB in the cytoplasm. *Mol Microbiol* **1993**, *8*, 389-96.
26. Larsen, R. A.; Thomas, M. G.; Postle, K., Protonmotive force, ExbB and ligand-bound FepA drive conformational changes in TonB. *Mol Microbiol* **1999**, *31*, 1809-24.
27. Paquelin, A.; Ghigo, J. M.; Bertin, S.; Wandersman, C., Characterization of HasB, a *Serratia marcescens* TonB-like protein specifically involved in the haemophore-dependent haem acquisition system. *Mol Microbiol* **2001**, *42*, 995-1005.
28. Sverzhinsky, A.; Fabre, L.; Cottreau, A. L.; Biot-Pelletier, D. M.; Khalil, S.; Bostina, M.; Rouiller, I.; Coulton, J. W., Coordinated rearrangements between cytoplasmic and periplasmic domains of the membrane protein complex ExbB-ExbD of *Escherichia coli*. *Structure* **2014**, *22*, 791-7.
29. Fardeau, S.; Mullie, C.; Dassonville-Klimpt, A.; Audic, N.; Sonnet, P., Bacterial iron uptake: a promising solution against multidrug resistant bacteria. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances* **2011**, 695-705.
30. Runyen-Janecky, L. J., Role and regulation of heme iron acquisition in gram-negative pathogens. *Front Cell Infect Microbiol* **2013**, *3*, 55.
31. Muryoi, N.; Tiedemann, M. T.; Pluym, M.; Cheung, J.; Heinrichs, D. E.; Stillman, M. J., Demonstration of the iron-regulated surface determinant (Isd) heme transfer pathway in *Staphylococcus aureus*. *J Biol Chem* **2008**, *283*, 28125-36.
32. Page, M. G. P., The Role of Iron and Siderophores in Infection, and the Development of Siderophore Antibiotics. *Clin Infect Dis* **2019**, *69*, S529-S537.
33. Allred, B. E.; Correnti, C.; Clifton, M. C.; Strong, R. K.; Raymond, K. N., Siderocalin outwits the coordination chemistry of vibriobactin, a siderophore of *Vibrio cholerae*. *ACS Chem Biol* **2013**, *8*, 1882-7.
34. Fischbach, M. A.; Lin, H.; Liu, D. R.; Walsh, C. T., How pathogenic bacteria evade mammalian sabotage in the battle for iron. *Nature chemical biology* **2006**, *2*, 132-138.
35. Shirazi, F.; Kontoyiannis, D. P.; Ibrahim, A. S., Iron starvation induces apoptosis in *Rhizopus oryzae* in vitro. *Virulence* **2015**, *6*, 121-6.
36. Reedy, J. L.; Bastidas, R. J.; Heitman, J., The virulence of human pathogenic fungi: notes from the South of France. *Cell Host Microbe* **2007**, *2*, 77-83.
37. Eide, D.; Davis-Kaplan, S.; Jordan, I.; Sipe, D.; Kaplan, J., Regulation of iron uptake in *Saccharomyces cerevisiae*. The ferrireductase and Fe(II) transporter are regulated independently. *J Biol Chem* **1992**, *267*, 20774-81.
38. Haber, F.; Weiss, J. J., The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts. *Proceedings of The Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* **1934**, *147*, 332-351.
39. Halliwell, B.; Gutteridge, J. M., Role of iron in oxygen radical reactions. *Methods Enzymol* **1984**, *105*, 47-56.
40. Howard, D. H., Acquisition, transport, and storage of iron by pathogenic fungi. *Clin Microbiol Rev* **1999**, *12*, 394-404.
41. Lesuisse, E.; Labbe, P., Reductive iron assimilation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Metal ions in fungi* **1994**, *11*, 149-178.
42. Matzanke, B. F., Iron storage in fungi. *Metal ions in fungi* **1994**, *11*, 179-214.

43. Carrano, C. J.; Bohnke, R.; Matzanke, B. F., Fungal ferritins: the ferritin from mycelia of *Absidia spinosa* is a bacterioferritin. *FEBS Lett* **1996**, *390*, 261-4.
44. Dix, D. R.; Bridgham, J. T.; Broderius, M. A.; Byersdorfer, C. A.; Eide, D. J., The FET4 gene encodes the low affinity Fe(II) transport protein of *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem* **1994**, *269*, 26092-9.
45. Eck, R.; Hundt, S.; Hartl, A.; Roemer, E.; Kunkel, W., A multicopper oxidase gene from *Candida albicans*: cloning, characterization and disruption. *Microbiology (Reading)* **1999**, *145 (Pt 9)*, 2415-2422.
46. Knight, S. A. B.; Lesuisse, E.; Stearman, R.; Klausner, R. D.; Dancis, A., Reductive iron uptake by *Candida albicans*: role of copper, iron and the TUP1 regulator. *Microbiology (Reading)* **2002**, *148*, 29-40.
47. Ramanan, N.; Wang, Y., A high-affinity iron permease essential for *Candida albicans* virulence. *Science* **2000**, *288*, 1062-4.
48. Boelaert, J. R.; de Locht, M.; Van Cutsem, J.; Kerrels, V.; Cantinieaux, B.; Verdonck, A.; Van Landuyt, H. W.; Schneider, Y. J., Mucormycosis during deferoxamine therapy is a siderophore-mediated infection. In vitro and in vivo animal studies. *J Clin Invest* **1993**, *91*, 1979-86.
49. Guerinot, M. L., Microbial iron transport. *Annu Rev Microbiol* **1994**, *48*, 743-72.
50. Heymann, P.; Gerads, M.; Schaller, M.; Dromer, F.; Winkelmann, G.; Ernst, J. F., The siderophore iron transporter of *Candida albicans* (Sit1p/Arn1p) mediates uptake of ferrichrome-type siderophores and is required for epithelial invasion. *Infect Immun* **2002**, *70*, 5246-55.
51. Lesuisse, E.; Simon-Casteras, M.; Labbe, P., Siderophore-mediated iron uptake in *Saccharomyces cerevisiae*: the SIT1 gene encodes a ferrioxamine B permease that belongs to the major facilitator superfamily. *Microbiology (Reading)* **1998**, *144 (Pt 12)*, 3455-3462.
52. de Locht, M.; Boelaert, J. R.; Schneider, Y. J., Iron uptake from ferrioxamine and from ferrirhizoferrin by germinating spores of *Rhizopus microsporus*. *Biochem Pharmacol* **1994**, *47*, 1843-50.
53. Santos, R.; Buisson, N.; Knight, S.; Dancis, A.; Camadro, J. M.; Lesuisse, E., Haemin uptake and use as an iron source by *Candida albicans*: role of CaHMX1-encoded haem oxygenase. *Microbiology (Reading)* **2003**, *149*, 579-588.
54. Worsham, P. L.; Goldman, W. E., Quantitative plating of *Histoplasma capsulatum* without addition of conditioned medium or siderophores. *J Med Vet Mycol* **1988**, *26*, 137-43.
55. Fourie, R.; Kuloyo, O. O.; Mochochoko, B. M.; Albertyn, J.; Pohl, C. H., Iron at the Centre of *Candida albicans* Interactions. *Front Cell Infect Microbiol* **2018**, *8*, 185.
56. Bays, D. J.; Thompson, G. R., 3rd, Fungal Infections of the Stem Cell Transplant Recipient and Hematologic Malignancy Patients. *Infect Dis Clin North Am* **2019**, *33*, 545-566.
57. Kontoyannis, D. P.; Bodey, G. P., Invasive aspergillosis in 2002: an update. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **2002**, *21*, 161-72.
58. Kontoyannis, D. P.; Chamilos, G.; Lewis, R. E.; Giralt, S.; Cortes, J.; Raad, II; Manning, J. T.; Han, X., Increased bone marrow iron stores is an independent risk factor for invasive aspergillosis in patients with high-risk hematologic malignancies and recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Cancer* **2007**, *110*, 1303-6.
59. Gamaletsou, M. N.; Walsh, T. J.; Sipsas, N. V., Invasive Fungal Infections in Patients with Hematological Malignancies: Emergence of Resistant Pathogens and New Antifungal Therapies. *Turk J Haematol* **2018**, *35*, 1-11.
60. Pagano, L.; Caira, M.; Candoni, A.; Offidani, M.; Fianchi, L.; Martino, B.; Pastore, D.; Picardi, M.; Bonini, A.; Chierichini, A.; Fanci, R.; Caramatti, C.; Invernizzi, R.; Mattei, D.; Mitra, M. E.; Melillo, L.; Aversa, F.; Van Lint, M. T.; Falcucci, P.; Valentini, C. G.; Girmenia, C.; Nosari, A., The epidemiology of fungal infections in patients with hematologic malignancies: the SEIFEM-2004 study. *Haematologica* **2006**, *91*, 1068-75.
61. Apostolidi EA, G. M., Markogiannakis A, Sipsas NV In *Epidemiology and outcome of invasive aspergillosis in patients with hematological malignancies: a Greek, single center, prospective,*

- observational study (2014–2015)*. 7th Advances Against Aspergillosis Conference, Manchester, UK, 3–5 March 2016; Manchester, UK, 2016.
62. Herbrecht, R.; Bories, P.; Moulin, J. C.; Ledoux, M. P.; Letscher-Bru, V., Risk stratification for invasive aspergillosis in immunocompromised patients. *Ann N Y Acad Sci* **2012**, *1272*, 23-30.
 63. Lopez-Campos Bodineau, J. L.; Fernandez Guerra, J.; Lara Blanquer, A.; Perea-Milla Lopez, E.; Moreno, L.; Cebrian Gallardo, J. J.; Garcia Jimenez, J. M., [Analysis of admissions for chronic obstructive pulmonary disease in Andalusia in 2000]. *Arch Bronconeumol* **2002**, *38*, 473-8.
 64. Gamaletsou, M. N.; Drogari-Apiranthitou, M.; Denning, D. W.; Sipsas, N. V., An estimate of the burden of serious fungal diseases in Greece. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **2016**, *35*, 1115-20.
 65. Winters, B.; Custer, J.; Galvagno, S. M., Jr.; Colantuoni, E.; Kapoor, S. G.; Lee, H.; Goode, V.; Robinson, K.; Nakhasi, A.; Pronovost, P.; Newman-Toker, D., Diagnostic errors in the intensive care unit: a systematic review of autopsy studies. *BMJ Qual Saf* **2012**, *21*, 894-902.
 66. Blyth, C. C.; Gilroy, N. M.; Guy, S. D.; Chambers, S. T.; Cheong, E. Y.; Gottlieb, T.; McGuinness, S. L.; Thursky, K. A., Consensus guidelines for the treatment of invasive mould infections in haematological malignancy and haemopoietic stem cell transplantation, 2014. *Intern Med J* **2014**, *44*, 1333-49.
 67. De Pauw, B.; Walsh, T. J.; Donnelly, J. P.; Stevens, D. A.; Edwards, J. E.; Calandra, T.; Pappas, P. G.; Maertens, J.; Lortholary, O.; Kauffman, C. A.; Denning, D. W.; Patterson, T. F.; Maschmeyer, G.; Bille, J.; Dismukes, W. E.; Herbrecht, R.; Hope, W. W.; Kibbler, C. C.; Kullberg, B. J.; Marr, K. A.; Munoz, P.; Odds, F. C.; Perfect, J. R.; Restrepo, A.; Ruhnke, M.; Segal, B. H.; Sobel, J. D.; Sorrell, T. C.; Viscoli, C.; Wingard, J. R.; Zaoutis, T.; Bennett, J. E.; European Organization for, R.; Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative, G.; National Institute of, A.; Infectious Diseases Mycoses Study Group Consensus, G., Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis* **2008**, *46*, 1813-21.
 68. Suleyman, G.; Alangaden, G. J., Nosocomial Fungal Infections: Epidemiology, Infection Control, and Prevention. *Infect Dis Clin North Am* **2021**, *35*, 1027-1053.
 69. Nivoix, Y.; Ledoux, M. P.; Herbrecht, R., Antifungal Therapy: New and Evolving Therapies. *Semin Respir Crit Care Med* **2020**, *41*, 158-174.
 70. Braun, V., Iron uptake mechanisms and their regulation in pathogenic bacteria. *Int J Med Microbiol* **2001**, *291*, 67-79.
 71. Walker, E. M., Jr.; Walker, S. M., Effects of iron overload on the immune system. *Ann Clin Lab Sci* **2000**, *30*, 354-65.
 72. Ward, R. J.; Crichton, R. R.; Taylor, D. L.; Della Corte, L.; Srai, S. K.; Dexter, D. T., Iron and the immune system. *J Neural Transm (Vienna)* **2011**, *118*, 315-28.
 73. Iglesias-Osma, C.; Gonzalez-Villaron, L.; San Miguel, J. F.; Caballero, M. D.; Vazquez, L.; de Castro, S., Iron metabolism and fungal infections in patients with haematological malignancies. *J Clin Pathol* **1995**, *48*, 223-5.
 74. Karp, J. E.; Merz, W. G., Association of reduced total iron binding capacity and fungal infections in leukemic granulocytopenic patients. *J Clin Oncol* **1986**, *4*, 216-20.
 75. Corbel, M. J.; Eades, S. M., Factors determining the susceptibility of mice to experimental phycomycosis. *J Med Microbiol* **1975**, *8*, 551-64.
 76. Ibrahim, A. S.; Gebermariam, T.; Fu, Y.; Lin, L.; Husseiny, M. I.; French, S. W.; Schwartz, J.; Skory, C. D.; Edwards, J. E., Jr.; Spellberg, B. J., The iron chelator deferasirox protects mice from mucormycosis through iron starvation. *J Clin Invest* **2007**, *117*, 2649-57.
 77. Maertens, J.; Demuyne, H.; Verbeken, E. K.; Zachee, P.; Verhoef, G. E.; Vandenberghe, P.; Boogaerts, M. A., Mucormycosis in allogeneic bone marrow transplant recipients: report of five cases and review of the role of iron overload in the pathogenesis. *Bone Marrow Transplant* **1999**, *24*, 307-12.

78. Abe, F.; Tateyma, M.; Shibuya, H.; Azumi, N.; Ommura, Y., Experimental candidiasis in iron overload. *Mycopathologia* **1985**, *89*, 59-63.
79. Sternbach, M. S.; Tsoukas, C.; Paquin, M.; Lajeunesse, N.; Strawczynski, H., Monocyte-macrophage (M-M) functions in asymptomatic hemophiliacs and supertransfused thalassemics. *Clin Invest Med* **1987**, *10*, 275-81.
80. Lionakis, M. S.; Lewis, R. E.; Kontoyiannis, D. P., Breakthrough Invasive Mold Infections in the Hematology Patient: Current Concepts and Future Directions. *Clin Infect Dis* **2018**, *67*, 1621-1630.
81. Pagano, L.; Caira, M.; Nosari, A.; Van Lint, M. T.; Candoni, A.; Offidani, M.; Aloisi, T.; Irrera, G.; Bonini, A.; Picardi, M.; Caramatti, C.; Invernizzi, R.; Mattei, D.; Melillo, L.; de Waure, C.; Reddiconto, G.; Fianchi, L.; Valentini, C. G.; Girmenia, C.; Leone, G.; Aversa, F., Fungal infections in recipients of hematopoietic stem cell transplants: results of the SEIFEM B-2004 study--Sorveglianza Epidemiologica Infezioni Fungine Nelle Emopatie Maligne. *Clin Infect Dis* **2007**, *45*, 1161-70.
82. Jenks, J. D.; Cornely, O. A.; Chen, S. C.; Thompson, G. R., 3rd; Hoenigl, M., Breakthrough invasive fungal infections: Who is at risk? *Mycoses* **2020**, *63*, 1021-1032.
83. Aldoss, I.; Dadwal, S.; Zhang, J.; Tegtmeier, B.; Mei, M.; Arslan, S.; Al Malki, M. M.; Salhotra, A.; Ali, H.; Aribi, A.; Sandhu, K.; Khaled, S.; Snyder, D.; Nakamura, R.; Stein, A. S.; Forman, S. J.; Marcucci, G.; Pullarkat, V., Invasive fungal infections in acute myeloid leukemia treated with venetoclax and hypomethylating agents. *Blood Adv* **2019**, *3*, 4043-4049.
84. Chamilos, G.; Lionakis, M. S.; Kontoyiannis, D. P., Call for Action: Invasive Fungal Infections Associated With Ibrutinib and Other Small Molecule Kinase Inhibitors Targeting Immune Signaling Pathways. *Clin Infect Dis* **2018**, *66*, 140-148.
85. Little, J. S.; Weiss, Z. F.; Hammond, S. P., Invasive Fungal Infections and Targeted Therapies in Hematological Malignancies. *J Fungi (Basel)* **2021**, *7*.
86. Marr, K. A.; Carter, R. A.; Boeckh, M.; Martin, P.; Corey, L., Invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients: changes in epidemiology and risk factors. *Blood* **2002**, *100*, 4358-66.
87. Hissen, A. H.; Wan, A. N.; Warwas, M. L.; Pinto, L. J.; Moore, M. M., The *Aspergillus fumigatus* siderophore biosynthetic gene *sidA*, encoding L-ornithine N5-oxygenase, is required for virulence. *Infect Immun* **2005**, *73*, 5493-503.
88. Caza, M.; Kronstad, J. W., Shared and distinct mechanisms of iron acquisition by bacterial and fungal pathogens of humans. *Front Cell Infect Microbiol* **2013**, *3*, 80.
89. Valkovic, T.; Damic, M. S., Role of Iron and Iron Overload in the Pathogenesis of Invasive Fungal Infections in Patients with Hematological Malignancies. *J Clin Med* **2022**, *11*.
90. Pagano, L.; Akova, M.; Dimopoulos, G.; Herbrecht, R.; Drgona, L.; Blijlevens, N., Risk assessment and prognostic factors for mould-related diseases in immunocompromised patients. *J Antimicrob Chemother* **2011**, *66 Suppl 1*, i5-14.
91. Dadwal, S. S.; Tegtmeier, B.; Liu, X.; Frankel, P.; Ito, J.; Forman, S. J.; Pullarkat, V., Impact of pretransplant serum ferritin level on risk of invasive mold infection after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Eur J Haematol* **2015**, *94*, 235-42.
92. Takkunen, H., Iron deficiency in the Finnish adult population. *Scand J Haematol Suppl* **1976**, *25*, 1-91.
93. Peng, H.; Sun, M.; Hu, X.; Han, H.; Su, J.; Peng, E.; Wiley, J.; Lommel, L.; Chen, J. L., Prevalence, awareness, and associated factors of high blood pressure among female migrant workers in Central South China. *PeerJ* **2022**, *10*, e13365.
94. Miceli, M. H.; Dong, L.; Graziutti, M. L.; Fassas, A.; Thertulien, R.; Van Rhee, F.; Barlogie, B.; Anaissie, E. J., Iron overload is a major risk factor for severe infection after autologous stem cell transplantation: a study of 367 myeloma patients. *Bone Marrow Transplant* **2006**, *37*, 857-64.
95. Sipsas, N. V.; Pagoni, M. N.; Kofteridis, D. P.; Meletiadi, J.; Vrioni, G.; Papaioannou, M.; Antoniadou, A.; Petrikkos, G.; Samonis, G., Management of Invasive Fungal Infections in Adult Patients with Hematological Malignancies in Greece during the Financial Crisis: Challenges and Recommendations. *J Fungi (Basel)* **2018**, *4*.

96. Lasry, A.; Nadorp, B.; Fornerod, M.; Nicolet, D.; Wu, H.; Walker, C. J.; Sun, Z.; Witkowski, M. T.; Tikhonova, A. N.; Guillamot-Ruano, M.; Cayan, G.; Yeaton, A.; Robbins, G.; Obeng, E. A.; Tsigos, A.; Stone, R. M.; Byrd, J. C.; Pounds, S.; Carroll, W. L.; Gruber, T. A.; Eisfeld, A. K.; Aifantis, I., An inflammatory state remodels the immune microenvironment and improves risk stratification in acute myeloid leukemia. *Nat Cancer* **2023**, *4*, 27-42.
97. Tanaka, M.; Kanamori, H.; Matsumoto, K.; Tachibana, T.; Numata, A.; Ohashi, K.; Kobayashi, T.; Nakaseko, C.; Kanda, Y.; Yamazaki, E.; Fujisawa, S.; Ooi, J.; Sakura, T.; Aotsuka, N.; Onoda, M.; Machida, S.; Kato, J.; Usuki, K.; Watanabe, R.; Taguchi, J.; Yano, S.; Saito, T.; Takahashi, S.; Sakamaki, H.; Okamoto, S.; Kanto Study Group for Cell, T., Clinical significance of pretransplant serum ferritin on the outcome of allogeneic hematopoietic SCT: a prospective cohort study by the Kanto Study Group for Cell Therapy. *Bone Marrow Transplant* **2015**, *50*, 727-33.
98. Styczynski, J.; Slomka, A.; Lecka, M.; Albrecht, K.; Romiszewski, M.; Pogorzala, M.; Kubicka, M.; Kurylo-Rafinska, B.; Tejza, B.; Gadomska, G.; Kolanska-Dams, E.; Michalska, M.; Zekanowska, E., Soluble Hemojuvelin and Ferritin: Potential Prognostic Markers in Pediatric Hematopoietic Cell Transplantation. *Cancers (Basel)* **2023**, *15*.
99. Oken, M. M.; Creech, R. H.; Tormey, D. C.; Horton, J.; Davis, T. E.; McFadden, E. T.; Carbone, P. P., Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol* **1982**, *5*, 649-55.

5. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

5.1 ΦΟΡΜΑ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ ΑΣΘΕΝΟΥΣ

5.2 ΑΝΑΤΥΠΟ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΗΣ

GRADE 2

GRADE 3

GRADE 4

Ηλεκτροφόρηση αιμοσφαιρίνης:.....

Άλλα στοιχεία

Hct.....

WBC.....

CRP.....

ΚΡΕΑΤΙΝΙΝΗ.....

ΛΕΥΚΩΜΑΤΙΝΗ ΟΡΟΥ.....

ΓΛΥΚΟΖΗ.....

ΓΛΥΚΟΖΙΛΙΩΜΕΝΗ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ.....

SGOT.....

SGPT.....

ALP.....

γ-GT.....

ΧΟΛΕΡΥΘΡΙΝΗ

ΟΛΙΚΗ.....

ΑΜΕΣΗ.....

ΕΜΜΕΣΗ.....

Σε περίπτωση λοίμωξης:

Γενικά στοιχεία

(Day 0 θεωρείται η μέρα θετικής καλλιέργειας ή έναρξης εμπειρικής θεραπείας)

Ημερομηνία:.....

ECOG status..... GCS.....

Ιστορικό μεταγγίσεων μέχρι την ημέρα της μυκητίασης:

.....

ΜΜΟ:

ΝΑΙ ΟΧΙ

ΑΝ ΝΑΙ: ΑΛΛΟΓΕΝΗΣ ΑΥΤΟΛΟΓΗ ΗΜΕΡΕΣ ΜΕΤΑ ΜΜΟ.....

Χημειοθεραπευτικό σχήμα.....

Κύκλος.....

Βλεννογονίτιδα: Grade 1

Grade 2

Grade 3

Grade 4

Λήψη προφυλακτικής αγωγής για μυκητιακή λοίμωξη

ΝΑΙ ΟΧΙ

Είδος

Διάρκεια.....

GVHD: ΝΑΙ ΟΧΙ

Είδος αγωγής :.....

ΟΥΔΕΤΕΡΟΠΕΝΙΑ: ΝΑΙ <1000 <500 <100 ΟΧΙ

ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ:ΗΜΕΡΕΣ

ΣΤΕΡΟΕΙΔΗ (ΕΝΤΟΣ ΤΩΝ ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΩΝ 4 ΕΒΔΟΜΑΔΩΝ) ΝΑΙ ΟΧΙ

ΠΑΡΕΝΤΕΡΙΚΗ ΣΙΤΙΣΗ (ΤΙΣ ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΕΣ 15ΗΜ) ΝΑΙ ΟΧΙ

ΚΕΝΤΡΙΚΟΣ ΦΛΕΒΙΚΟΣ ΚΑΘΕΤΗΡΑΣ ΝΑΙ ΟΧΙ

ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ (ΤΥΠΟΥ I – ΤΥΠΟΥ II) ΝΑΙ ΟΧΙ

ΥΠΟΓΑΜΜΑΣΦΑΙΡΙΝΑΙΜΙΑ ΝΑΙ ΟΧΙ

ΜΕΘ ΣΤΗΝ ΕΝΑΡΞΗ ΛΟΙΜΩΞΗΣ: ΝΑΙ ΟΧΙ

ΑΝΑΓΚΗ ΓΙΑ ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗ ΜΕΘ ΜΕΤΕΠΕΙΤΑ: ΝΑΙ ΟΧΙ

ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Είδος λοίμωξης:

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΘΕΤΙΚΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ:

- *Aspergillus* spp.
 - ◆ *fumigatus*
 - ◆ *flavus*
 - ◆ *oryzae*
 - ◆ *parasiticus*
 - ◆ *terreus*
 - ◆ *versicolor*

- *Candida* spp
 - *albicans*
 - *glabrata*
 - *parapsilosis*
 - *krusei*
- Zygomycosis

- Άλλο

ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΘΕΤΙΚΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

- ΚΕΝΤΡΙΚΟΣ ΦΛΕΒΙΚΟΣ ΚΑΘΕΤΗΡΑΣ
- ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑ
- ΚΑΙ ΤΑ ΔΥΟ
- BAL
- ΟΥΡΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ
- ΠΑΡΑΚΕΝΤΗΣΗ ΠΝΕΥΜΟΝΑ
- ΚΑΝΕΝΑ

Εργαστηριακός Έλεγχος

(Day 0 θεωρείται η μέρα της λήψης καλλιέργειας)

Ακτινογραφία θώρακος (Ημερομηνία.....)

- Ύπαρξη κοιλότητας
- Υδραερικά επίπεδα
- Σαφώς περιγεγραμμένη σκίαση
- Ασαφώς περιγεγραμμένη σκίαση
- Άλλο.....

Αξονική τομογραφία θώρακος (Ημερομηνία.....)

- Halo sign
- Reverse halo sign
- Μονήρες Οζίδιο
- Πολλαπλά Οζίδια
- Άλλο.....

Τεστ Γαλακτομαννάνης : Θετικό..... Αρνητικό..... (Day)

Επανάληψη: Θετικό..... Αρνητικό..... (Day.....)

Δεν έγινε

Ταξινόμηση μυκητίασης:

Proven

Probable

Possible

ΘΕΡΑΠΕΙΑ

• ΑΦΑΙΡΕΣΗ ΚΕΝΤΡΙΚΟΥ ΚΑΘΕΤΗΡΑ

ΝΑΙ (ΕΝΤΟΣ 3 ΗΜΕΡΩΝ) ΟΧΙ Ν/Α

• ΑΝΑΚΑΜΨΗ ΑΠΟ ΟΥΔΕΤΕΡΟΠΕΝΙΑ

ΝΑΙ (>500 X 3d) ΟΧΙ Ν/Α

• G CSF:

ΝΑΙ ΟΧΙ Ν/Α

• **ΑΝΤΙΜΥΚΗΤΙΑΚΗ ΑΓΩΓΗ** **ΝΑΙ** **ΟΧΙ**

AMB

FLUCO

ITRA

CASPO

VORI

ANIDULA

MICA

ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΑΝΤΙΜΥΚΗΤΙΑΚΗΣ ΑΓΩΓΗΣ (ΗΜΕΡΕΣ).....

ΜΟΝΟΘΕΡΑΠΕΙΑ

ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΣ ΑΝΤΙΜΥΚΗΤΙΑΚΩΝ

ΔΙΑΔΟΧΙΚΑ ΑΝΤΙΜΥΚΗΤΙΑΚΑ.....

ΔΙΑΚΟΠΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΛΟΓΩ ΠΑΡΕΝΕΡΓΕΙΩΝ **ΝΑΙ** **ΟΧΙ**

(Προσδιορίστε αντιμυκητιακό, ημέρα θεραπείας, παρενέργεια:
.....)

ΑΛΛΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

WBC.....

Hct.....

CRP.....

ΚΡΕΑΤΙΝΙΝΗ.....

ΛΕΥΚΩΜΑΤΙΝΗ ΟΡΟΥ.....

ΓΛΥΚΟΖΗ.....

SGOT.....

SGPT.....

ALP.....

γ-GT.....

ΧΟΛΕΡΥΘΡΙΝΗ

ΟΛΙΚΗ.....

ΑΜΕΣΗ.....

ΕΜΜΕΣΗ.....

ΣΥΝΥΠΑΡΧΟΥΣΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΗ ΛΟΙΜΩΞΗ: ΝΑΙ ΟΧΙ

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ (είδος λοίμωξης/ είδος μικροβίου).....

ΕΠΙΤΥΧΩΣ ΘΕΡΑΠΕΥΘΕΙΣΑ: ΝΑΙ ΟΧΙ

ΣΥΝΥΠΑΡΧΟΥΣΑ ΙΟΓΕΝΗΣ ΛΟΙΜΩΞΗ: ΝΑΙ ΟΧΙ

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ (είδος λοίμωξης/ είδος ιού).....

ΕΠΙΤΥΧΩΣ ΘΕΡΑΠΕΥΘΕΙΣΑ: ΝΑΙ ΟΧΙ

ΣΥΝΥΠΑΡΧΟΥΣΑ ΜΥΚΗΤΙΑΚΗ ΛΟΙΜΩΞΗ: ΝΑΙ ΟΧΙ

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ (είδος λοίμωξης/ είδος μύκητα).....

ΕΠΙΤΥΧΩΣ ΘΕΡΑΠΕΥΘΕΙΣΑ: ΝΑΙ ΟΧΙ

ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΑ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ/ΑΝΤΙΠΛΗΚΑ/ΑΝΤΙΜΥΚΗΤΙΑΚΑ (14 ΗΜΕΡΕΣ ΠΡΙΝ):

ΝΑΙ ΟΧΙ

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ.....

ΤΑΥΤΟΧΡΟΝΗ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ: ΝΑΙ ΟΧΙ

Προσδιορισμός αντιβιοτικής αγωγής

Εάν ναι: Αποδιδόμενος στην μυκητίαση ΝΑΙ
ΟΧΙ

Τελικό FOLLOW-UP

ΗΜΕΡΑ 365 ΑΝΤΑΠΟΚΡΙΣΗ ΝΑΙ ΟΧΙ

ΑΙΤΙΑ..... ΘΑΝΑΤΟΣ ΝΑΙ ΟΧΙ

Εάν ναι: Αποδιδόμενος στην μυκητίαση ΝΑΙ ΟΧΙ

Προσδιορισμός στελέχους.....

Αριθμός μυκητιακών λοιμώξεων.....

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ECOG Performance Status

Grade ECOG [99]

- 0 Fully active, able to carry on all pre-disease performance without restriction
- 1 Restricted in physically strenuous activity but ambulatory and able to carry out work of a light or sedentary nature, e.g., light house work, office work
- 2 Ambulatory and capable of all self-care but unable to carry out any work activities. Up and about more than 50% of waking hours
- 3 Capable of only limited self-care, confined to bed or chair more than 50% of waking hours
- 4 Completely disabled. Cannot carry on any self-care. Totally confined to bed or chair
- 5 Dead

Definition of Proven-probable IFI [67]

Table 2. Criteria for probable invasive fungal disease except for endemic mycoses.

Host factors ^a
Recent history of neutropenia ($<0.5 \times 10^9$ neutrophils/L [<500 neutrophils/mm ³] for >10 days) temporally related to the onset of fungal disease
Receipt of an allogeneic stem cell transplant
Prolonged use of corticosteroids (excluding among patients with allergic bronchopulmonary aspergillosis) at a mean minimum dose of 0.3 mg/kg/day of prednisone equivalent for >3 weeks
Treatment with other recognized T cell immunosuppressants, such as cyclosporine, TNF- α blockers, specific monoclonal antibodies (such as alemtuzumab), or nucleoside analogues during the past 90 days
Inherited severe immunodeficiency (such as chronic granulomatous disease or severe combined immunodeficiency)
Clinical criteria ^b
Lower respiratory tract fungal disease ^c
The presence of 1 of the following 3 signs on CT:
Dense, well-circumscribed lesions(s) with or without a halo sign
Air-crescent sign
Cavity
Tracheobronchitis
Tracheobronchial ulceration, nodule, pseudomembrane, plaque, or eschar seen on bronchoscopic analysis
Sinonasal infection
Imaging showing sinusitis plus at least 1 of the following 3 signs:
Acute localized pain (including pain radiating to the eye)
Nasal ulcer with black eschar
Extension from the paranasal sinus across bony barriers, including into the orbit
CNS infection
1 of the following 2 signs:
Focal lesions on imaging
Meningeal enhancement on MRI or CT
Disseminated candidiasis ^d
At least 1 of the following 2 entities after an episode of candidemia within the previous 2 weeks:
Small, target-like abscesses (bull's-eye lesions) in liver or spleen
Progressive retinal exudates on ophthalmologic examination
Mycological criteria
Direct test (cytology, direct microscopy, or culture)
Mold in sputum, bronchoalveolar lavage fluid, bronchial brush, or sinus aspirate samples, indicated by 1 of the following:
Presence of fungal elements indicating a mold
Recovery by culture of a mold (e.g., <i>Aspergillus</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Zygomycetes</i> , or <i>Scedosporium</i> species)
Indirect tests (detection of antigen or cell-wall constituents) ^e
Aspergillosis
Galactomannan antigen detected in plasma, serum, bronchoalveolar lavage fluid, or CSF
Invasive fungal disease other than cryptococcosis and zygomycoses
β -D-glucan detected in serum

NOTE. Probable IFD requires the presence of a host factor, a clinical criterion, and a mycological criterion. Cases that meet the criteria for a host factor and a clinical criterion but for which mycological criteria are absent are considered possible IFD.

^a Host factors are not synonymous with risk factors and are characteristics by which individuals predisposed to invasive fungal diseases can be recognized. They are intended primarily to apply to patients given treatment for malignant disease and to recipients of allogeneic hematopoietic stem cell and solid-organ transplants. These host factors are also applicable to patients who receive corticosteroids and other T cell suppressants as well as to patients with primary immunodeficiencies.

^b Must be consistent with the mycological findings, if any, and must be temporally related to current episode.

^c Every reasonable attempt should be made to exclude an alternative etiology.

^d The presence of signs and symptoms consistent with sepsis syndrome indicates acute disseminated disease, whereas their absence denotes chronic disseminated disease.

^e These tests are primarily applicable to aspergillosis and candidiasis and are not useful in diagnosing infections due to *Cryptococcus* species or *Zygomycetes* (e.g., *Rhizopus*, *Mucor*, or *Absidia* species). Detection of nucleic acid is not included, because there are as yet no validated or standardized methods.

Table 1. Criteria for proven invasive fungal disease except for endemic mycoses.

Analysis and specimen	Molds ^a	Yeasts ^a
Microscopic analysis: sterile material	Histopathologic, cytopathologic, or direct microscopic examination ^b of a specimen obtained by needle aspiration or biopsy in which hyphae or melanized yeast-like forms are seen accompanied by evidence of associated tissue damage	Histopathologic, cytopathologic, or direct microscopic examination ^b of a specimen obtained by needle aspiration or biopsy from a normally sterile site (other than mucous membranes) showing yeast cells—for example, <i>Cryptococcus</i> species indicated by encapsulated budding yeasts or <i>Candida</i> species showing pseudohyphae or true hyphae ^c
Culture		
Sterile material	Recovery of a mold or “black yeast” by culture of a specimen obtained by a sterile procedure from a normally sterile and clinically or radiologically abnormal site consistent with an infectious disease process, excluding bronchoalveolar lavage fluid, a cranial sinus cavity specimen, and urine	Recovery of a yeast by culture of a sample obtained by a sterile procedure (including a freshly placed [<24 h ago] drain) from a normally sterile site showing a clinical or radiological abnormality consistent with an infectious disease process
Blood	Blood culture that yields a mold ^d (e.g., <i>Fusarium</i> species) in the context of a compatible infectious disease process	Blood culture that yields yeast (e.g., <i>Cryptococcus</i> or <i>Candida</i> species) or yeast-like fungi (e.g., <i>Trichosporon</i> species)
Serological analysis: CSF	Not applicable	Cryptococcal antigen in CSF indicates disseminated cryptococcosis

^a If culture is available, append the identification at the genus or species level from the culture results.

^b Tissue and cells submitted for histopathologic or cytopathologic studies should be stained by Grocott-Gomori methenamine silver stain or by periodic acid Schiff stain, to facilitate inspection of fungal structures. Whenever possible, wet mounts of specimens from foci related to invasive fungal disease should be stained with a fluorescent dye (e.g., calcofluor or blankophor).

^c *Candida*, *Trichosporon*, and yeast-like *Geotrichum* species and *Blastochizomyces capitatus* may also form pseudohyphae or true hyphae.

^d Recovery of *Aspergillus* species from blood cultures invariably represents contamination.

5.2 ΑΝΑΤΥΠΟ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΗΣ

Brief Report

Bone Marrow Iron Stores Are Not Associated with Increased Risk for Invasive Fungal Infections in Patients with Newly Diagnosed Acute Leukemia or Myelodysplastic Syndrome in Transformation: Is There a Relationship?

Eirini A. Apostolidi ¹, Maria N. Gamaletsou ¹, Maria Arapaki ², John V. Asimakopoulos ², Panagiotis Diamantopoulos ³, Sofia Zafeiratou ⁴, Diamantis Kofteridis ⁵, Maria Pagoni ⁶, Maria Kotsopoulou ⁷, Michael Voulgarelis ¹ and Nikolaos V. Sipsas ^{1,*}

- ¹ Pathophysiology Department, General Hospital of Athens Laiko, Medical School, National and Kapodistrian University of Athens, 11527 Athens, Greece; e-apostolidi@med.uoa.gr (E.A.A.)
 - ² Hematology Department, General Hospital of Athens Laiko, 11527 Athens, Greece
 - ³ First Department of Internal Medicine, General Hospital of Athens Laiko, Medical School, National and Kapodistrian University of Athens, 11527 Athens, Greece
 - ⁴ Department of Hygiene, Epidemiology and Medical Statistics, Medical School, National and Kapodistrian University of Athens, 11527 Athens, Greece
 - ⁵ Medicine Department, Medical School, University of Crete, 71003 Heraklion, Greece
 - ⁶ Hematology Department, General Hospital of Athens Evangelismos, 10676 Athens, Greece
 - ⁷ Hematology Department, Metaxa Hospital, 18537 Piraeus, Greece
- * Correspondence: nsipsas@med.uoa.gr; Tel.: +30-210-746-2513



Citation: Apostolidi, E.A.; Gamaletsou, M.N.; Arapaki, M.; Asimakopoulos, J.V.; Diamantopoulos, P.; Zafeiratou, S.; Kofteridis, D.; Pagoni, M.; Kotsopoulou, M.; Voulgarelis, M.; et al. Bone Marrow Iron Stores Are Not Associated with Increased Risk for Invasive Fungal Infections in Patients with Newly Diagnosed Acute Leukemia or Myelodysplastic Syndrome in Transformation: Is There a Relationship? *J. Fungi* **2023**, *9*, 748. <https://doi.org/10.3390/jof9070748>

Academic Editor: Athanasios Triagiannidis

Received: 7 June 2023

Revised: 2 July 2023

Accepted: 12 July 2023

Published: 14 July 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Iron plays an important role in the pathogenesis of infections, including invasive fungal infections (IFIs). Studies suggested that iron overload might represent an additional risk factor for IFIs among patients with hematological malignancies. We conducted a prospective, multi-center study amongst adult patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia (AML) or myelodysplastic syndrome (MDS) in transformation to determine whether baseline iron overload as measured using the bone marrow iron store (BMIS) score is an independent risk factor for the development of IFIs. We also measured baseline serum iron and ferritin levels. A total of 98 patients were enrolled (76 with AML) and were followed for 12 months. Twenty-two patients developed IFI during the follow-up period (invasive aspergillosis $n = 16$, candidemia $n = 5$, mucormycosis $n = 1$). A baseline BMIS score ≥ 3 indicated that iron overload was relatively common (38/98 patients, 38%), and its frequency was comparable between patients with no IFIs (31/76, 40.7%) and in those with IFIs (8/22, 36.4%). Univariate analysis showed that only the presence of AML was associated with increased risk for IFIs [OR (95% CI) 7.40 (1.05–325.42)]. Both univariate and multivariate analyses showed that an increased BMIS score (≥ 3) at baseline was not an independent risk factor for IFIs. Similarly, there was no difference in serum iron and ferritin between the two groups that had similar demographic characteristics. Indices of iron overload were not independent risk factors for IFIs in our cohort of Greek patients with newly diagnosed AML/MDS in transformation.

Keywords: invasive fungal infections; mycoses; acute leukemia; myelodysplastic syndrome; iron; iron overload; ferritin; aspergillosis; invasive candidiasis; mucormycosis

1. Introduction

Despite progress, invasive fungal infections (IFIs) remained a feared complication of hematologic malignancy treatment [1]. Heavy immunosuppression, resulting from the hematologic malignancy itself or the available treatment modalities, such as intense chemotherapy, biologic agents, radiation therapy, and hematopoietic stem cell transplantation (HSCT), is the driving force for the susceptibility to IFIs. The role of the impaired

innate immunity (a reduced number and function of neutrophils and macrophages) and the impaired T cell immunity is crucial, which is of paramount importance for the immune response to intracellular pathogens.

The incidence of IFIs is highest in patients with acute myeloid leukemia (AML) or myelodysplastic syndrome (MDS) in transformation because these patients are routinely treated with intensive chemotherapy resulting in protracting neutropenia, which is a well-established risk factor for IFIs [2]. Other risk factors include treatment with immunosuppressive drugs, corticosteroid use, co-infection with cytomegalovirus, graft-versus-host disease among recipients of HSCT, and active malignancy. Researchers have shown that the risk of IFIs is higher among non-responders to chemotherapy, relapsed patients, or patients with refractory disease [3]. Newer treatment modalities, such as biologic agents, are emerging as additional risk factors for IFIs [4–6]. IFIs do not develop in all high-risk patients, suggesting that other biological factors may contribute to the development of these dreadful infections [7–9]. Discovery of novel risk factors is important for designing prophylactic and early treatment strategies.

Iron plays an important role in the pathogenesis of infections, as it boosts the ability of pathogens to multiply in host cells, tissues, and organs [10]. Moreover, iron interferes with the immune response to infections [11]. Experimental data show that iron impairs in vitro the phagocytic, chemotactic, and bactericidal capacity of effector immune cells, such as neutrophils and monocytes, affects the generation of cytotoxic T-cells, markedly reduces the proliferative capacity of helper T-cells, and inhibits the activity of natural killer cells and macrophages [10,12,13].

Regarding mycoses, iron is also essential for the growth and virulence of a variety of fungal pathogens [14]. Like bacteria, fungi need iron for their survival, as this micronutrient is of paramount importance for biological processes such as DNA replication, transcription, metabolism, and energy generation, which facilitate the propagation of fungal infection [15,16]. Fungi developed several sophisticated mechanisms to acquire iron from their mammalian hosts, such as reduction of ferric to ferrous iron, siderophore production, iron acquisition from hemoglobin, use of xenosiderophores, and others [14,16]. In vivo studies in animal models have shown that iron plays an important role in the pathogenesis of invasive aspergillosis (IA), mucormycosis, and possibly invasive candidiasis [17,18]. On the contrary, iron starvation has been shown to induce apoptosis in *Mucorales*, in vitro and in experimental models [19,20].

Because patients with acute myeloid leukemia or transfusion-dependent myelodysplastic syndrome in transformation at a high risk of IFIs [21] routinely receive multiple units of red blood cells, transfusion-induced iron overload could represent an unrecognized risk factor for IFIs. Clinical studies indicate that iron overload might be a predisposing factor for IFIs in this high-risk population, but these studies are either small case series, retrospective studies, or use serum parameters to define iron overload, such as serum iron and ferritin levels, which are affected by inflammation [7,22,23]. We, therefore, conducted a prospective, non-interventional, multi-center study amongst patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia or MDS in transformation to determine whether baseline iron overload, as measured using the bone marrow iron store (BMIS) score, before initiation of chemotherapy or other treatment, is an independent risk factor for the development of IFIs.

2. Materials and Methods

All consecutive patients with newly diagnosed AML or with transfusion-dependent MDS in transformation, before initiation of chemotherapy, radiation, or other immunosuppressive therapy, were included in the study. All MDS patients, upon entering the study, had >20% blasts in bone marrow that had already transformed to AML. The patients were attended by the hematology departments of four tertiary-care Greek hospitals. Only patients with a bone marrow biopsy at baseline, as part of their routine initial diagnostic workup, were included. For each patient, at least two extra backup slides of bone marrow

were saved for iron staining. Exclusion criteria included estimated life expectancy of less than 4 weeks and evidence for active fungal infection at presentation. The study protocol was approved by the Ethics Committee of each participating hospital.

The following data were recorded at baseline: demographics, type of malignancy, neutropenia, significant corticosteroid use, diabetes mellitus, history of blood transfusions, and laboratory assessments obtained as part of routine clinical care, such as white blood cell count, absolute neutrophil count, serum hemoglobin, platelet count, and serum albumin, iron, and ferritin levels. Available chest X-rays or CT scans were reviewed. We defined neutropenia as <500 polymorphonuclear cells/ mm^3 and profound neutropenia as <100 polymorphonuclear cells/ mm^3 for >10 days. Significant corticosteroid use was defined as the use of >600 mg of prednisone equivalent for at least 1 month prior to the diagnosis of IFI or during the follow-up for patients who did not develop IFIs.

The initial bone marrow aspirate smears were stained with Sigma-Aldrich pearl blue iron stain. A standardized scoring system (0–4) was used afterward to evaluate bone marrow iron store (BMIS) [24]. More specifically, scores of 0, 1, and 2 indicated the absence or a small or moderate amount of iron within the bone marrow specimen studied, respectively, whereas scores of 3 and 4 indicated moderate or increased stainable iron stores, respectively. A score of 3 or more was considered an increased BMIS. Almost all patients (95/98) were receiving mold-active antifungal prophylaxis at baseline and before starting chemotherapy.

All patients enrolled in the study were followed prospectively for 12 months for the development of proven or probable invasive fungal infection. Proven and probable IFIs were determined in accordance with the revised European Organization for Research and Treatment of Cancer/Mycoses Study Group (EORTC/MSG) criteria [25]. Briefly, any patient with a fever and neutropenia, and definitive evidence of active fungal infection, such as a positive culture, a positive histopathologic, cytopathologic, or direct microscopic examination of a biopsy specimen, was considered as having proven fungal infection. On the other hand, patients with a neutropenic fever, with no proven IFI but with radiological findings compatible with IFI and/or two consecutive positive galactomannans (for IA), were classified as having a probable fungal infection. As date of IFI onset was considered the date of the first signs or symptoms attributable to IFI or the date of the laboratory diagnosis.

For descriptive statistics, we used mean (SD) for normally distributed continuous variables, median (25–75th percentile) for non-normally distributed continuous variables, and absolute (N) and relative (%) frequencies for categorical variables. The Kaplan–Meier curves for IFI development among patients with $\text{BMIS} < 3$ or ≥ 3 were produced. Modeling risk factors that were independently associated with the development of IFI within one year were found by using univariate and multivariable logistic regression analyses for continuous variables and exact logistic regression for categorical variables. Multivariate logistic regression was also performed to investigate the association of increased baseline BMIS with the development of IFI during the follow-up period, adjusted for known risk factors for IFIs, such as neutropenia (or profound neutropenia alternatively), corticosteroid use, diabetes mellitus, malnutrition, and baseline levels of serum iron and serum ferritin. Although results from univariate analysis did not identify any independent risk factors for IFI development, we proceeded to a multivariate analysis, as it is possible, although uncommon, for an association to become significant only after considering all variables [26]. We applied two sensitivity analyses, excluding the patients with MDS in the first and excluding the patients with invasive candidiasis in the second, and applied the same models. Odds ratios (ORs) and 95% confidence intervals (95% CIs) were reported, and the level of statistical significance was set to 0.05. All analyses were performed with Stata 14 software (Stata Corp., College Station, TX, USA).

3. Results

A total of 129 patients were screened for the study; 31 patients were excluded, because of the non-availability of at least two slides for iron staining, mainly due to a non-productive

bone-marrow aspiration (dry tap). The demographics of the 98 patients included in the study are shown in Table 1. A total of 76 (77.6%) patients had AML and 22 (22.4%) had MDS in transformation. The vast majority of patients (95/98) were receiving antifungal prophylaxis. During the one-year follow-up period, 22 (22.4%) patients developed an IFI at a median time of 21 days after baseline assessment (range 0–319 days). The Kaplan–Meier curve for IFI development among patients with a BMIS score < 3 compared to those with a BMIS score ≥ 3 is presented in Figure 1. No statistically significant difference in the cumulative incidence of IFIs between the two groups was observed (log-rank = 0.630). IFIs were mainly invasive aspergillosis ($n = 16$) and characterized mainly as probable ($n = 12$) (Table 2). The group of patients who developed IFI ($n = 22$) was comparable to the group who did not develop IFI ($n = 76$), regarding age, sex, corticosteroid use, diabetes mellitus, and hypoalbuminemia, at baseline (Table 1). Compared to patients who did not develop IFIs, patients with IFIs more frequently had newly diagnosed acute leukemia (95.5% vs. 73.7%), neutropenia (40.9% vs. 23.7%), and profound neutropenia (27.3% vs. 13.2%) at diagnosis. It should be noted that after the initial diagnosis, all patients received induction chemotherapy, and all developed chemotherapy-induced neutropenia. Regarding the markers of iron overload, the two groups had comparable baseline serum levels of iron and ferritin (Table 1). A BMIS score ≥ 3 , which is a more reliable marker of iron overload, was observed in similar frequency in the two groups (36.4% among patients with IFIs vs. 40.8% among patients without IFIs). Univariate analysis showed that the only independent predictor for IFI was the diagnosis of acute leukemia at baseline, indicating that patients with acute leukemia had 7.40 (95% CI: 1.05–325.42) times higher odds of developing an IFI compared to those with MDS in transformation. However, the subsequent multivariate analysis failed to reveal any statistically significant predictor of IFIs after adjustment for variables such as neutropenia, corticosteroid use, diabetes mellitus, malnutrition, and baseline levels of serum iron and serum ferritin (Table 1). Both univariate and multivariate analyses showed that an increased BMIS score (≥ 3) at baseline was not an independent risk factor for IFIs (Table 1). Baseline BMIS score (≥ 3) was not an independent risk factor after replacing neutropenia with profound neutropenia at diagnosis in the same statistical model (Table S1). As a sensitivity analysis and to have a more homogenous population regarding the risk for IFIs, we applied the same model, including only patients with acute leukemia and excluding patients with MDS in transformation (Table S2). Similarly, this model did not identify the BMIS as an independent risk factor for IFIs in this AML-only patient population. Similar results were provided by the sensitivity analysis when we excluded patients with invasive candidiasis (Table S3).

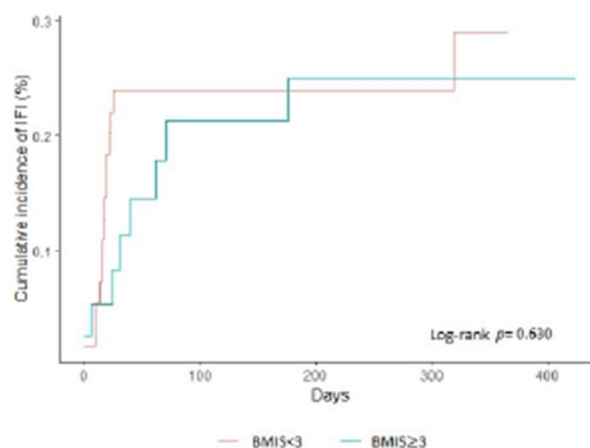


Figure 1. Cumulative incidence of invasive fungal infection diagnosis over 12 months after enrolment.

Table 1. Characteristics of patients who developed or did not develop invasive mold infection during the follow-up period of one year after the initial bone-marrow aspiration.

Characteristics at Diagnosis of Hematological Malignancy	No IFI (n = 76)	Patients with IFI (n = 22)	Univariate Analysis		Multivariate Analysis	
			OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
Age (median, 25–75th percentile, years)	67.5 (53.5–75.0)	58 (47–65)	-	-	-	-
Male sex	44/76 (57.9%)	14/22 (63.6%)	-	-	-	-
AML	56/76 (73.7%)	21/22 (95.5%)	7.40 (1.05–325.42)	0.037	7.96 (0.94–67.34)	0.057
Neutropenia at diagnosis (<500 cells/mm ³)	18/76 (23.7%)	9/22 (40.9%)	2.21 (0.71–6.72)	0.174	1.97 (0.68–5.74)	0.214
Profound neutropenia at diagnosis (<100 cells/mm ³)	10/76 (13.2%)	6/22 (27.3%)	2.45 (0.63–8.83)	0.186	-	-
Corticosteroid use	17/76 (22.4%)	5/22 (22.7%)	1.02 (0.26–3.47)	>0.999	1.11 (0.32–3.82)	0.874
Diabetes mellitus	7/76 (9.2%)	2/22 (9.1%)	0.99 (0.09–5.76)	>0.999	1.01 (0.17–6.06)	0.995
Malnutrition (albumin < 3 mg/dL)	25/76 (32.9%)	7/22 (31.8%)	0.95 (0.29–2.88)	>0.999	1.13 (0.37–3.46)	0.828
BMIS ≥ 3	31/76 (40.8%)	8/22 (36.4%)	0.83 (0.27–2.43)	0.807	0.88 (0.31–2.50)	0.805
Baseline serum iron levels (median, 25–75th percentile, mg/dL)	125.5 (79.5–170.5)	114.0 (92.0–156.0)	1.00 (0.98–1.00)	0.334	1.00 (0.99–1.00)	0.346
Baseline serum ferritin levels (median, 25–75th percentile, ng/dL)	678.2 (233.4–1012.0) (n = 75)	873.3 (386.1–1225.6)	1.00 (0.99–1.00)	0.911	1.00 (0.99–1.00)	0.519

IFI: invasive fungal infection; AML: acute myeloid leukemia; and BMIS: bone marrow iron store.

Table 2. Number of cases of invasive fungal infections developed during the 12-month follow-up period in the study population.

Invasive Fungal Infection	Proven *	Probable *	Total
Invasive candidiasis/candidemia	5	0	5
Invasive aspergillosis	4	12	16
Mucormycosis	1	0	1
Total	10	12	22

* According to the revised EORTC/MSG definitions [25].

4. Discussion

Researchers have shown previously in laboratory studies, small case series, and retrospective clinical studies that iron overload might be associated with increased risk for IFIs, including invasive candidiasis and invasive mold infections, among patients with hematological malignancies [7,16,18,27,28]. This prospective study was designed to investigate whether iron overload, as measured by the BMIS score, is associated with increased risk for IFIs among patients with AML or MDS in transformation, and multivariate analysis showed no evidence that baseline iron overload is an independent risk factor for IFIs in this specific population of heavily immunocompromised patients. We also performed confirmatory post hoc analyses that included only patients with AML, excluded patients with candidemia, or adjusted only for profound neutropenia at diagnosis. These models similarly failed to show that a BMIS score ≥ 3 at baseline is an independent risk factor for IFIs.

We prospectively studied 98 patients with acute leukemia or MDS in transformation, and we found that a baseline BMIS score ≥ 3 was not associated with increased risk for IFIs. Kontoyannis et al. retrospectively evaluated the BMIS score in patients with leukemia as well as recipients of allogeneic HSCT with IA (n = 33) and those without IA (n = 33) and found that most patients with IA (70%) had BMIS scores ≥ 3 compared with the control patients (16%) ($p < 0.0001$). Increased BMIS score was found to be an independent risk factor for IA on multivariate analysis ($p < 0.0001$) [7]. The contradictory findings of the two

studies might be explained by the retrospective nature of the latter study as well as from the differences in the composition of the studied populations, as in our study, there are no HSCT recipients, and all our patients were newly diagnosed, whereas Kontoyiannis's study also included patients refractory to treatment and/or relapsed. Moreover, Kontoyiannis et al. included only patients with IA, whereas, in our study, we examined all IFIs, including invasive candidiasis and invasive mold infections. To produce comparable data, we ran a sensitivity analysis using as an endpoint only the development of IA, but a BMIS ≥ 3 still did not emerge as an independent risk factor (Table S3). In another clinical study, Miceli et al. studied the BMIS in patients with multiple myeloma before autologous HSCT and found that iron overload, as expressed by a high BMIS score, is a risk factor for serious bacterial infections after HSCT [27]. Yet the study did not report any IFIs among the MM patients, who are at low risk for fungal infections.

Our patient population consisted of patients with newly diagnosed AML/MDS, who typically have a relatively low (typically < 10%) risk of IFI compared to refractory/relapsed AML, yet we report relatively high rates of IFIs. A possible explanation is that the particular conditions in Greek hospitals, especially during the recent financial crisis and the subsequent SARS-CoV-2 pandemic favored high rates of aspergillosis, as has been shown in a recent study [29]. On the other hand, our patient population differs from the heavily treated or relapsed patients of similar published studies, where iron overload is nothing more than a marker of poor response of AML to therapy, which is the driver of fungal risk and, therefore, could not be an independent factor [30].

We found that baseline serum levels of iron and ferritin did not differ significantly between the group of patients who subsequently developed an IFI and those who did not. High levels of ferritin are present as an inflammatory marker on many occasions other than infections. Inflammation, in both pediatric and adult patients with AML, has been found to remodel the bone marrow immune microenvironment resulting in worse outcomes, but not propensity to fungal infections [31]. In line with this, Tanaka et al. studied 190 patients with acute leukemia or MDS who have had HSCT and reported that high levels of pre-transplant ferritin did not influence the incidence of infection but were associated with worse survival. Similar data were reported by Styczynski et al. amongst pediatric HSCT recipients [32]. Iglesias-Olma and colleagues reported in a retrospective study of 74 patients with hematological malignancies that patients who developed IFI had increased serum iron and ferritin levels compared to patients without IFI [18]. However, this study was retrospective, and only 30 of the 74 patients had acute leukemia. In a study of 15 patients with allogeneic HSCT, Maertens et al. showed that the number of red cell transfusions and the mean levels of serum ferritin were significantly higher among the five patients with mucormycosis compared with the 10 matched controls [28]. Yet, the small number of patients limits the validity of the findings. Finally, Karp and Merz [22] reported that among 70 patients with acute leukemia, the baseline total iron binding capacity was significantly lower among patients who developed IFIs ($n = 54$) compared to those who did not ($n = 16$). Although this study was prospective, only 13 had documented IFI (12 had candidiasis), while patients with *Candida* esophagitis or candiduria were classified as suspected to have IFI.

In our study, neutropenia at the time of initial diagnosis (i.e., diagnostic bone marrow aspiration/biopsy) and before chemotherapy did not emerge as an independent risk factor for IFIs. However, the patients received induction chemotherapy immediately after diagnosis, and all developed chemotherapy-induced neutropenia by day 14 of the study follow-up. Therefore, all patients are considered neutropenic and of high risk for IFIs, as the association of chemotherapy-induced neutropenia with the development of IFIs is well established [1]. The risk for IFIs due to neutropenia at diagnosis does not necessarily reflect the risk for IFIs due to chemotherapy-induced neutropenia.

Our study has limitations, including the relatively small number of patients and the fact that most IFIs are classified as probable based on the revised EORTC/MSG criteria. Also, only one experienced hematologist assessed the BMIS, which is a semiquantitative

grading system, and interobserver variability may exist. Yet the method is highly reproducible and validated for the diagnosis of moderate/severe iron overload [33]. We also did not consider the possible heterogeneity between the participating centers regarding the availability of diagnostic modalities. Finally, the high incidence of IFIs, combined with the relatively low number of patients and the fact that all patients developed chemotherapy-induced neutropenia and all were under antifungal prophylaxis, might have blurred the effect of well-known risk factors for IFIs. Yet, this is, to our knowledge, the first prospective, multi-center study designed to investigate whether iron overload, as measured by the BMIS score, is associated with increased risk for IFIs among high-risk patients with AML or MDS in transformation.

5. Conclusions

In conclusion, in our study population of patients with AML or MDS in transformation, baseline iron overload, as expressed by a BMIS score ≥ 3 , was not an independent risk factor for IFIs.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/jof9070748/s1>, Table S1: Results from multivariate analysis for the investigation of the association of increased BMIS and development of invasive fungal infection, adjusted for profound neutropenia, corticosteroid use, diabetes mellitus, malnutrition and baseline levels of serum iron and serum ferritin; Table S2: Characteristics of patients with acute myeloid leukemia who developed or did not develop invasive fungal infection during the follow up period of one year after the initial bone-marrow aspiration and results from univariate and multivariate models. Patients with myelodysplastic syndrome have been excluded; Table S3: Characteristics of patients who developed or not invasive aspergillosis, during the follow up period of one year after the initial bone-marrow aspiration and results from univariate and multivariate models. Patients with invasive candidiasis have been excluded.

Author Contributions: Conceptualization, N.V.S. and E.A.A.; methodology, N.V.S. and M.N.G.; validation, M.N.G.; formal analysis, S.Z. and E.A.A.; investigation, E.A.A., M.A., J.V.A., P.D., D.K., M.P., M.K. and M.V.; resources, N.V.S.; writing—original draft preparation, E.A.A. and N.V.S.; writing—review and editing, E.A.A. and N.V.S.; supervision, M.N.G. and N.V.S. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the Ethics Committee of the Laiko General Hospital in Athens, Greece (protocol code 4636 and 17 April 2018).

Informed Consent Statement: Patient consent was waived due to the non-interventional nature of the study.

Data Availability Statement: The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors, without undue reservation to any qualified researcher.

Acknowledgments: The authors thank Dimitrios P. Kontoyannis from MD Anderson Cancer Center, Houston, TX, for his valuable comments.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Abbreviations

IA: invasive aspergillosis; MDS: myelodysplastic syndrome; AML: acute myeloid leukemia; IFI: invasive fungal disease; BMIS: bone marrow iron store.

References

- Lionakis, M.S.; Lewis, R.E.; Kontoyiannis, D.P. Breakthrough Invasive Mold Infections in the Hematology Patient: Current Concepts and Future Directions. *Clin. Infect. Dis.* **2018**, *67*, 1621–1630. [CrossRef] [PubMed]
- Pagano, L.; Caira, M.; Nosari, A.; Van Lint, M.T.; Candoni, A.; Offidani, M.; Aloisi, T.; Irrera, G.; Bonini, A.; Picardi, M.; et al. Fungal infections in recipients of hematopoietic stem cell transplants: Results of the SEIFEM B-2004 study—Sorveglianza Epidemiologica Infezioni Fungine Nelle Emopatie Maligne. *Clin. Infect. Dis.* **2007**, *45*, 1161–1170. [CrossRef] [PubMed]
- Jenks, J.D.; Cornely, O.A.; Chen, S.C.; Thompson, G.R., 3rd; Hoening, M. Breakthrough invasive fungal infections: Who is at risk? *Mycoses* **2020**, *63*, 1021–1032. [CrossRef] [PubMed]
- Aldoss, I.; Dadwal, S.; Zhang, J.; Tegtmeier, B.; Mei, M.; Arslan, S.; Al Malki, M.M.; Salhotra, A.; Ali, H.; Aribi, A.; et al. Invasive fungal infections in acute myeloid leukemia treated with venetoclax and hypomethylating agents. *Blood Adv.* **2019**, *3*, 4043–4049. [CrossRef] [PubMed]
- Chamilos, G.; Lionakis, M.S.; Kontoyiannis, D.P. Call for Action: Invasive Fungal Infections Associated with Ibrutinib and Other Small Molecule Kinase Inhibitors Targeting Immune Signaling Pathways. *Clin. Infect. Dis.* **2018**, *66*, 140–148. [CrossRef]
- Little, J.S.; Weiss, Z.F.; Hammond, S.P. Invasive Fungal Infections and Targeted Therapies in Hematological Malignancies. *J. Fungi* **2021**, *7*, 1058. [CrossRef]
- Kontoyiannis, D.P.; Chamilos, G.; Lewis, R.E.; Giralt, S.; Cortes, J.; Raad, I.I.; Manning, J.T.; Han, X. Increased bone marrow iron stores is an independent risk factor for invasive aspergillosis in patients with high-risk hematologic malignancies and recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Cancer* **2007**, *110*, 1303–1306. [CrossRef]
- Kontoyiannis, D.P.; Bodey, G.P. Invasive aspergillosis in 2002: An update. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **2002**, *21*, 161–172. [CrossRef]
- Marr, K.A.; Carter, R.A.; Boeckh, M.; Martin, P.; Corey, L. Invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients: Changes in epidemiology and risk factors. *Blood* **2002**, *100*, 4358–4366. [CrossRef]
- Braun, V. Iron uptake mechanisms and their regulation in pathogenic bacteria. *Int. J. Med. Microbiol.* **2001**, *291*, 67–79. [CrossRef]
- Nairz, M.; Weiss, G. Iron in infection and immunity. *Mol. Asp. Med.* **2020**, *75*, 100864. [CrossRef] [PubMed]
- Walker, E.M., Jr.; Walker, S.M. Effects of iron overload on the immune system. *Ann. Clin. Lab. Sci.* **2000**, *30*, 354–365. [PubMed]
- Ward, R.J.; Crichton, R.R.; Taylor, D.L.; Della Corte, L.; Srai, S.K.; Dexter, D.T. Iron and the immune system. *J. Natl. Transm.* **2011**, *118*, 315–328. [CrossRef]
- Hissen, A.H.; Wan, A.N.; Warwas, M.L.; Pinto, L.J.; Moore, M.M. The *Aspergillus fumigatus* siderophore biosynthetic gene *sidA*, encoding L-ornithine N5-oxygenase, is required for virulence. *Infect. Immun.* **2005**, *73*, 5493–5503. [CrossRef]
- Caza, M.; Kronstad, J.W. Shared and distinct mechanisms of iron acquisition by bacterial and fungal pathogens of humans. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* **2013**, *3*, 80. [CrossRef] [PubMed]
- Valkovic, T.; Damic, M.S. Role of Iron and Iron Overload in the Pathogenesis of Invasive Fungal Infections in Patients with Hematological Malignancies. *J. Clin. Med.* **2022**, *11*, 4457. [CrossRef] [PubMed]
- Fourie, R.; Kuloyo, O.O.; Mochochoko, B.M.; Albertyn, J.; Pohl, C.H. Iron at the Centre of *Candida albicans* Interactions. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* **2018**, *8*, 185. [CrossRef] [PubMed]
- Iglesias-Osma, C.; Gonzalez-Villaron, L.; San Miguel, J.F.; Caballero, M.D.; Vazquez, L.; de Castro, S. Iron metabolism and fungal infections in patients with haematological malignancies. *J. Clin. Pathol.* **1995**, *48*, 223–225. [CrossRef]
- Ibrahim, A.S.; Gebermariam, T.; Fu, Y.; Lin, L.; Hussein, M.L.; French, S.W.; Schwartz, J.; Skory, C.D.; Edwards, J.E., Jr.; Spellberg, B.J. The iron chelator deferasirox protects mice from mucormycosis through iron starvation. *J. Clin. Invest.* **2007**, *117*, 2649–2657. [CrossRef]
- Shirazi, F.; Kontoyiannis, D.P.; Ibrahim, A.S. Iron starvation induces apoptosis in *Rhizopus oryzae* in vitro. *Virulence* **2015**, *6*, 121–126. [CrossRef]
- Pagano, L.; Akova, M.; Dimopoulos, G.; Herbrecht, R.; Drgona, L.; Blijlevens, N. Risk assessment and prognostic factors for mould-related diseases in immunocompromised patients. *J. Antimicrob. Chemother.* **2011**, *66* (Suppl. S1), i5–i14. [CrossRef] [PubMed]
- Karp, J.E.; Merz, W.G. Association of reduced total iron binding capacity and fungal infections in leukemic granulocytopenic patients. *J. Clin. Oncol.* **1986**, *4*, 216–220. [CrossRef] [PubMed]
- Dadwal, S.S.; Tegtmeier, B.; Liu, X.; Frankel, P.; Ito, J.; Forman, S.J.; Pullarkat, V. Impact of pretransplant serum ferritin level on risk of invasive mold infection after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Eur. J. Haematol.* **2015**, *94*, 235–242. [CrossRef] [PubMed]
- Takkunen, H. Iron deficiency in the Finnish adult population. *Scand. J. Haematol. Suppl.* **1976**, *25*, 1–91.
- Donnelly, J.P.; Chen, S.C.; Kauffman, C.A.; Steinbach, W.J.; Baddley, J.W.; Verweij, P.E.; Clancy, C.J.; Wingard, J.R.; Lockhart, S.R.; Groll, A.H.; et al. Revision and Update of the Consensus Definitions of Invasive Fungal Disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer and the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. *Clin. Infect. Dis.* **2020**, *71*, 1367–1376. [CrossRef]
- Peng, H.; Sun, M.; Hu, X.; Han, H.; Su, J.; Peng, E.; Wiley, J.; Lommel, L.; Chen, J.L. Prevalence, awareness, and associated factors of high blood pressure among female migrant workers in Central South China. *PeerJ* **2022**, *10*, e13365. [CrossRef]

27. Miceli, M.H.; Dong, L.; Graziutti, M.L.; Fassas, A.; Thertulien, R.; Van Rhee, F.; Barlogie, B.; Anaissie, E.J. Iron overload is a major risk factor for severe infection after autologous stem cell transplantation: A study of 367 myeloma patients. *Bone Marrow Transplant.* **2006**, *37*, 857–864. [[CrossRef](#)]
28. Maertens, J.; Demuyne, H.; Verbeken, E.K.; Zachee, P.; Verhoef, G.E.; Vandenberghe, P.; Boogaerts, M.A. Mucormycosis in allogeneic bone marrow transplant recipients: Report of five cases and review of the role of iron overload in the pathogenesis. *Bone Marrow Transplant.* **1999**, *24*, 307–312. [[CrossRef](#)]
29. Sipsas, N.V.; Pagoni, M.N.; Kofteridis, D.P.; Meletiadis, J.; Vriani, G.; Papaioannou, M.; Antoniadou, A.; Petrikos, G.; Samonis, G. Management of Invasive Fungal Infections in Adult Patients with Hematological Malignancies in Greece during the Financial Crisis: Challenges and Recommendations. *J. Fungi* **2018**, *4*, 94. [[CrossRef](#)]
30. Moafi, A.; Ziaie, M.; Abedi, M.; Rahgozar, S.; Reisi, N.; Nematollahi, P.; Moafi, H. The relationship between iron bone marrow stores and response to treatment in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Medicine* **2017**, *96*, e8511. [[CrossRef](#)]
31. Lasry, A.; Nadorp, B.; Fornerod, M.; Nicolet, D.; Wu, H.; Walker, C.J.; Sun, Z.; Witkowski, M.T.; Tikhonova, A.N.; Guillamot-Ruano, M.; et al. An inflammatory state remodels the immune microenvironment and improves risk stratification in acute myeloid leukemia. *Nat. Cancer* **2023**, *4*, 27–42. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Styczynski, J.; Slomka, A.; Lecka, M.; Albrecht, K.; Romiszewski, M.; Pogorzala, M.; Kubicka, M.; Kurylo-Rafinska, B.; Tejsa, B.; Gadowska, G.; et al. Soluble Hemojuvelin and Ferritin: Potential Prognostic Markers in Pediatric Hematopoietic Cell Transplantation. *Cancers* **2023**, *15*, 1041. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Burns, E.R.; Goldberg, S.N.; Lawrence, C.; Wenz, B. Clinical utility of serum tests for iron deficiency in hospitalized patients. *Am. J. Clin. Pathol.* **1990**, *93*, 240–245. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.