

Revista Iberoamericana de Micología

www.elsevier.es/reviberoammicol



Revisión

Hierro e infección fúngica invasiva

Florencio Álvarez^a, Mario Fernández-Ruiz^b y José María Aguado^{b,*}

^a Servicio de Medicina Interna, Hospital Universitario 12 de Octubre, Instituto de Investigación Hospital 12 de Octubre (i+12), Universidad Complutense, Madrid, España

^b Unidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario 12 de Octubre, Instituto de Investigación Hospital 12 de Octubre (i+12), Universidad Complutense, Madrid, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 30 de agosto de 2012

Aceptado el 30 de abril de 2013

On-line el 14 de mayo de 2013

Palabras clave:

Mucormicosis
Aspergilosis
Quelantes del hierro
Deferoxamina
Deferasirox
Deferiprona

Keywords:

Mucormycosis
Aspergillosis
Iron chelators
Deferoxamine
Deferasirox
Deferiprone

R E S U M E N

El hierro es un elemento esencial para el crecimiento y la virulencia de la mayoría de los microorganismos. Dentro de los mecanismos de inmunidad innata (o nutricional) los mamíferos han desarrollado diversas estrategias para su transporte y almacenamiento, limitando así la disponibilidad de hierro libre en el medio. Para poder sobrevivir en este entorno hostil los hongos potencialmente patógenos disponen de mecanismos específicos para la captación del hierro, entre los que destaca la síntesis de sideróforos, moléculas solubles de bajo peso molecular con elevada capacidad de quelación. La sobrecarga férrica y el consiguiente aumento de la concentración de hierro libre son factores de riesgo para el desarrollo de infección fúngica invasiva (IFI) por Mucorales y *Aspergillus*. Por tanto, la reducción del hierro libre circulante mediante el uso de quelantes constituye un abordaje terapéutico atractivo. El primer quelante del hierro autorizado (deferoxamina) se reveló, paradójicamente, como un factor de riesgo para el desarrollo de IFI al actuar como un xenosideróforo para los Mucorales. Por el contrario, los quelantes orales de nueva generación (deferiprona y deferasirox) han demostrado inhibir el crecimiento fúngico in vitro y en modelos animales. La presente revisión analiza el papel del metabolismo férrico en la patogenia de la IFI, así como los datos preclínicos disponibles y la, hasta la fecha, limitada experiencia clínica que respalda el empleo de los nuevos quelantes del hierro en el tratamiento de la mucormicosis y de la aspergilosis invasiva.

© 2012 Revista Iberoamericana de Micología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Iron and invasive fungal infection

A B S T R A C T

Iron is an essential factor for both the growth and virulence of most of microorganisms. As a part of the innate (or nutritional) immune system, mammals have developed different mechanisms to store and transport this element in order to limit free iron bioavailability. To survive in this hostile environment, pathogenic fungi have specific uptake systems for host iron sources, one of the most important of which is based on the synthesis of siderophores-soluble, low-molecular-mass, high-affinity iron chelators. The increase in free iron that results from iron-overload conditions is a well-established risk factor for invasive fungal infection (IFI) such as mucormycosis or aspergillosis. Therefore, iron chelation may be an appealing therapeutic option for these infections. Nevertheless, deferoxamine –the first approved iron chelator– paradoxically increases the incidence of IFI, as it serves as a xeno-siderophore to Mucorales. On the contrary, the new oral iron chelators (deferiprone and deferasirox) have shown to exert a deleterious effect on fungal growth both in vitro and in animal models. The present review focuses on the role of iron metabolism in the pathogenesis of IFI and summarises the preclinical data, as well as the limited clinical experience so far, in the use of new iron chelators as treatment for mucormycosis and invasive aspergillosis.

© 2012 Revista Iberoamericana de Micología. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

El hierro se encuentra en la naturaleza en dos formas iónicas: ferrosa (Fe^{2+}) y férrica (Fe^{3+}). Gracias a su capacidad de cesión y captación de electrones constituye un cofactor esencial en numerosas reacciones intracelulares de oxidación-reducción, incluyendo la cadena de respiración mitocondrial, el metabolismo de

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: jaguadog@medynet.com (J.M. Aguado).

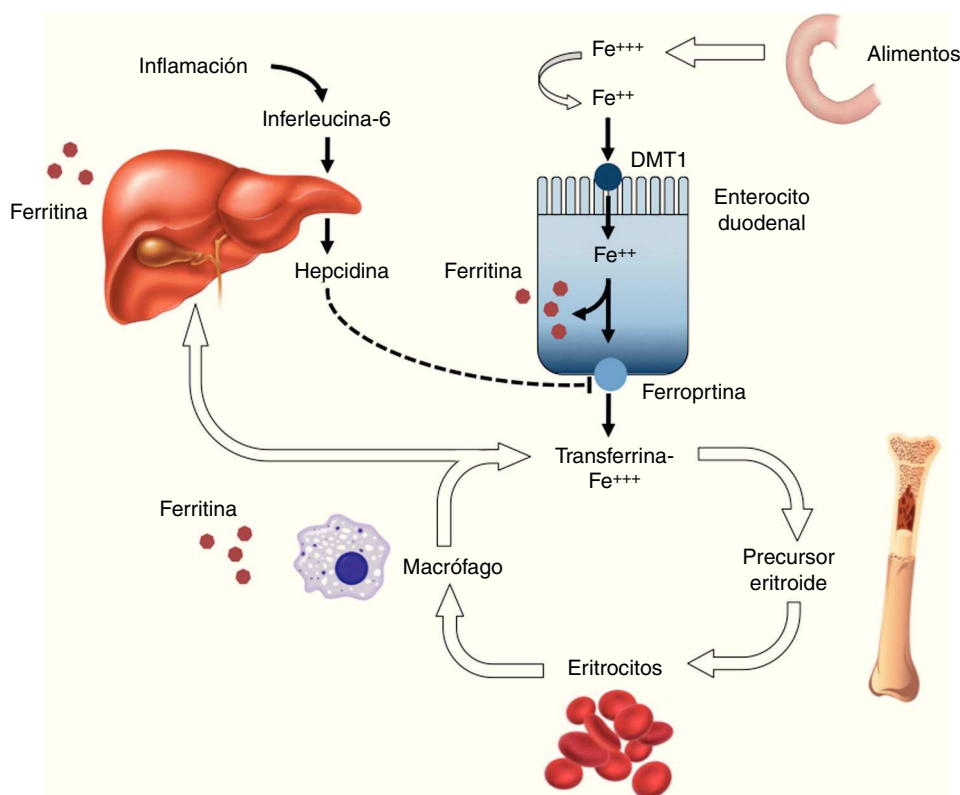


Figura 1. Ciclo biológico del hierro. Los enterocitos duodenales absorben aproximadamente 1-2 mg diarios del hierro de los alimentos a través de un sistema formado por 2 transportadores distintos: uno importador, situado en la membrana apical (*divalent metal transporter 1* [DMT1]), y otro exportador, situado en la basolateral (ferroportina). El hierro circula unido a la transferrina sérica y es suministrado a los precursores eritroides (hierro en forma hemo), o bien es reciclado y almacenado en el sistema reticuloendotelial y en el hígado en forma de ferritina (hierro no hemo). La entrada del hierro en la circulación es controlada por la hormona hepcidina, sintetizada en el hígado, que induce la internalización y degradación lisosómica de la ferroportina de los enterocitos. Entre otros estímulos, los estados inflamatorios inducen la síntesis de hepcidina a través de la interleucina 6.

los aminoácidos o la síntesis de ácidos nucleicos. El organismo de un adulto sano posee aproximadamente 40-50 mg/Kg de este elemento, en su mayor parte integrado en el grupo hemo de la hemoglobina (65%) y la mioglobina (10%), o como grupo prostético de diversas enzimas (peroxidasa, catalasa o citocromos). El 20% restante se almacena en forma de depósito (ferritina y hemosiderina), en tanto que menos del 1% del hierro corporal total es transportado en el suero unido a la transferrina, o bien excretado en la leche materna y otros fluidos asociado a la lactoferrina (constituyendo, en conjunto, el hierro circulante)⁷⁴. El ser humano carece de mecanismos eficaces para la eliminación del exceso de hierro. Las pérdidas diarias (por vía fecal, biliar o urinaria, a través de la mucosa intestinal o mediante descamación cutánea) no superan los 0,02 mg/Kg en varones adultos, si bien las mujeres en edad fértil están expuestas a una depleción adicional por pérdidas menstruales¹². Un elemento clave en esta homeostasis es la hormona hepcidina, un reactante de fase aguda de tipo 2 que ejerce su acción sobre un transportador presente en la membrana basolateral del enterocito denominado ferroportina. La hepcidina induce la internalización y la degradación lisosómica de dicho transportador, impidiendo el paso del hierro de los alimentos desde el enterocito duodenal a la sangre y, en último término, reduciendo la sideremia y la disponibilidad de hierro libre. La síntesis hepática de hepcidina se ve inducida en los estados de inflamación aguda e infección a través de la interleucina 6³⁰ (fig. 1). Adicionalmente, en el curso de la reacción inflamatoria también tiene lugar un incremento en la síntesis de ferritina en el hígado y de lactoferrina por parte de los leucocitos polimorfonucleares con el objetivo común de privar a los microorganismos del oligoelemento^{14,51}. Las concentraciones molares de hierro iónico

libre en condiciones fisiológicas son extremadamente reducidas (del orden de 10^{-18}). Así, la escasa disponibilidad de hierro libre en el medio supone un factor limitante para el crecimiento de los microorganismos patógenos y constituye un mecanismo de inmunidad innata (o nutricional) muy preservado a nivel evolutivo en los mamíferos^{14,51,74}.

Los estados patológicos de sobrecarga férrica modifican esta delicada homeostasis y aumentan la disponibilidad de hierro libre en el organismo, favoreciendo el desarrollo de determinadas infecciones. Por ejemplo, está bien documentada la mayor susceptibilidad de los pacientes con hemocromatosis hereditaria (HH) a la bacteriemia por *Vibrio vulnificus*, microorganismo que carece de mecanismos propios para la captación eficaz del hierro⁷. En la etiopatogenia de las complicaciones infecciosas propias de la HH parece jugar un papel crucial la desregulación del eje ferroportina-hepcidina antes descrito. Los tipos I, II y III de la HH cursan con niveles anormalmente bajos de hepcidina, mientras que el tipo IV presenta una mutación en la ferroportina de los enterocitos que induce una pérdida de la regulación inhibitoria de la hepcidina, con el consiguiente exceso en el transporte de hierro desde el duodeno^{30,49}. La hepcidina, de hecho, fue originalmente caracterizada como un péptido con funciones antimicrobianas y ha demostrado actividad antifúngica frente a *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* y *Aspergillus niger*⁶⁵.

Hace ya décadas que se comprobó que los pacientes con leucemia mieloide aguda y valores elevados de sideremia presentan una mayor incidencia de infecciones por *C. albicans*¹⁹. Otras condiciones que aumentan la disponibilidad de hierro libre, como los tratamientos quimioterápicos⁵⁰, la cetoacidosis diabética⁵ o la

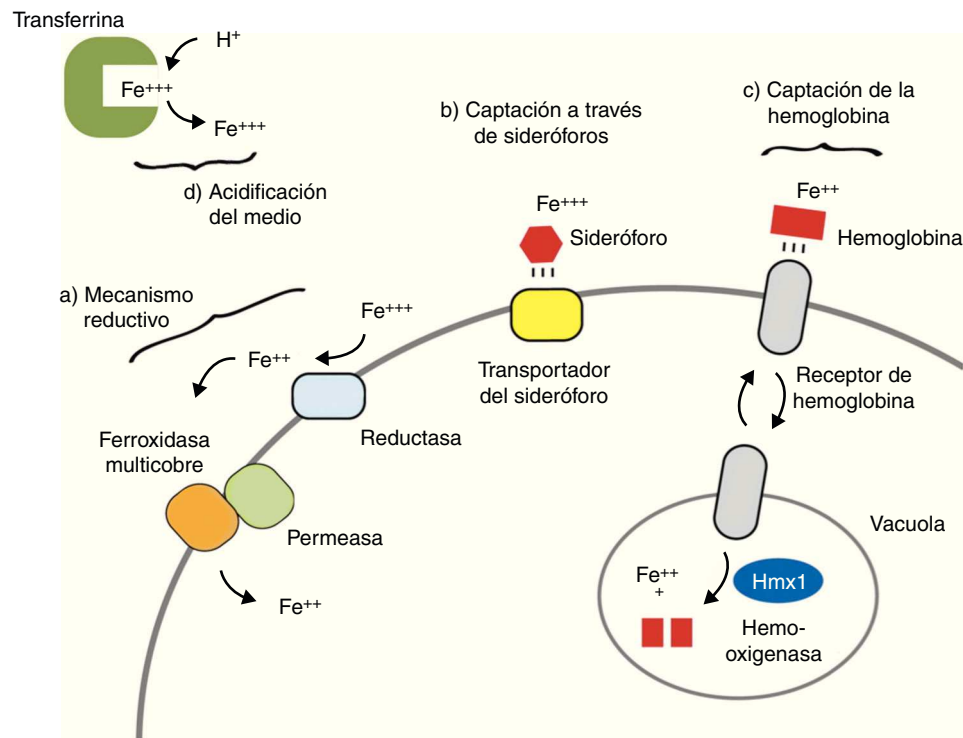


Figura 2. Mecanismos de captación fúngica del hierro. Adaptada y modificada de Chen et al. Cell Host Microbe. 2011;10:118-35.

β -talasemia^{11,89}, conllevan igualmente un riesgo incrementado de complicaciones infecciosas, en particular de etiología fúngica. El trasplante, tanto de órgano sólido como de progenitores hematopoyéticos (TPH), supone otra situación de riesgo. El contenido de hierro en la pieza de hepatectomía, evaluado mediante tinción de Perls, se ha revelado como un factor de riesgo independiente para el desarrollo de infección fúngica invasiva (IFI) en receptores de trasplante hepático³. En estos pacientes los parámetros de metabolismo férrico determinados en la primera semana postrasplante predicen no solo el riesgo de infección, sino también el de mortalidad global al año del procedimiento²¹. Según aumenta el índice de saturación de la transferrina (IST) se produce un aumento del hierro no ligado a la transferrina. Así, para un IST superior al 80% se puede detectar hierro no ligado a la transferrina en cerca del 90% de los receptores de un TPH alogénico, en tanto que su prevalencia desciende a menos del 10% con un IST por debajo del 8%⁷⁰. En el curso del tratamiento de acondicionamiento previo al TPH alogénico en pacientes con neoplasias hematológicas el IST puede llegar al 100% en el segundo día, limitándose así su capacidad para capturar el hierro sérico; en la mayoría de los pacientes el IST persiste por encima del 80% hasta 2 semanas después del procedimiento, con el consecuente incremento del hierro no ligado a la transferrina⁷⁰.

Por otra parte, el exceso de hierro ejerce un efecto deletéreo sobre la respuesta inmune del huésped, tanto innata como adaptativa⁶². Se ha comprobado que la capacidad fagocítica y bactericida de los leucocitos polimorfonucleares y de los monocitos, así como su respuesta quimiotáctica, aparece disminuida en pacientes con sobrecarga férrica en comparación con controles sanos⁸⁴. Los sujetos con la β -talasemia presentan una expansión anómala de los linfocitos T-CD8⁺ (proporcional al número de transfusiones recibidas³⁵) y una inhibición de la respuesta a mitógenos y de la función de los linfocitos T-CD4⁺, con la consiguiente inversión del cociente normal entre ambas poblaciones^{24,86}. La actividad de las células *natural killer* y el proceso de diferenciación de los linfocitos B también están alterados en estos pacientes^{2,28}.

Mecanismos fúngicos de captación del hierro

Como se ha comentado, la disponibilidad de hierro libre supone un factor limitante para el crecimiento y proliferación de numerosas especies fúngicas de interés clínico. Por este motivo los hongos han desarrollado mecanismos complejos de captación y almacenamiento que les permiten competir de forma exitosa por este elemento en el medio^{39,57}. Básicamente pueden distinguirse 4 estrategias (fig. 2):

- La reducción extracelular del hierro en estado férrico (Fe^{3+}) a ferroso (Fe^{2+}) mediante la acción de reductasas localizadas en la pared fúngica constituye uno de los mecanismos empleados por hongos levaduriformes como *Saccharomyces cerevisiae*,⁸² *Cryptococcus neoformans*⁴⁸ o *C. albicans*,⁶³ así como por algunos hongos dimórficos (*Histoplasma capsulatum*)³¹. Estas reductasas están asociadas a permeasas que permiten la internalización del hierro en el citoplasma. Además, en presencia de bajas concentraciones de hierro estos hongos pueden expresar sistemas de transporte de alta afinidad dependientes de cobre⁶³.
- La síntesis y secreción al medio de moléculas de bajo peso con actividad quelante del hierro, en conjunto denominadas sideróforos (del griego *sideros* [hierro] y *phoros* [transportador]), constituye otro de los mecanismos de captación al que recurren algunos hongos en condiciones ambientales extremas. Una vez unidos al hierro, los sideróforos introducen este elemento en el interior de la célula mediante diversos mecanismos enzimáticos y no enzimáticos. Desde un punto de vista estructural la mayor parte de estas moléculas pertenecen al grupo de los hidroxamatos (ferricromos y ferricrocina en *A. fumigatus*²⁰), o al de los policarboxilatos (rizoferrina en los Mucorales^{23,60}). Sin embargo, se ha comprobado que algunos de estos sideróforos propios son relativamente ineficientes a la hora de quelar y transportar el hierro del medio, tal y como ocurre con la rizoferrina de *Rhizopus oryzae*⁶⁰. Por este motivo ciertos hongos han

- desarrollado la capacidad de aprovechar los quelantes producidos por otros microorganismos (las ferrioxaminas bacterianas, por ejemplo), denominándose en tal caso xenosideróforos⁴⁰.
- c) Una gran parte de las reservas de hierro en los mamíferos se encuentran en forma de grupo hemo. Por ello algunos hongos, como *C. albicans*, han desarrollado sistemas enzimáticos con actividad homóloga a la de la hemooxigenasa humana (codificados en el gen *CaHmx1*), que son capaces de liberar el hierro de la hemoglobina tras la lisis eritrocitaria^{67,71}. La reciente identificación de secuencias génicas similares en *R. oryzae* podría explicar el bien conocido carácter angioinvasivo de la mucormicosis^{47,62}.
- d) Por último, se ha sugerido que algunos hongos pueden obtener el hierro gracias a la acidificación del medio en condiciones anaerobias. La consiguiente formación de hidrogeniones libres desplazaría al elemento de su unión con la transferrina sérica, permitiendo así su captación fúngica³⁹. Este mecanismo puede ser clínicamente relevante, por ejemplo, en la mucormicosis rinocerebral de la cetoacidosis diabética^{5,47}. El pH ácido induciría la liberación del hierro libre desde las proteínas transportadoras, favoreciendo el crecimiento fúngico. A su vez, la proliferación e invasión endovascular y tisular se ven promovidas por los defectos fagocitarios del huésped, ya sean de naturaleza cuantitativa (neutropenia) o funcional (por acción de la corticoterapia o de la hiperglucemia y la cetoacidosis). La adherencia y la lesión de las células endoteliales por el hongo permite la máxima angioinvasión y trombosis vascular, con las subsecuentes necrosis tisular y diseminación al sistema nervioso central a través de los senos venosos cerebrales y de los senos paranasales^{62,79}.

Quelación del hierro e infección fúngica

En esencia, un quelante es una sustancia capaz de formar complejos estables no tóxicos con un metal pesado. Estos complejos, o quelatos, compiten con los metales en su forma libre por los grupos reactivos fisiológicos, disminuyendo su efecto tóxico sobre el organismo y facilitando su movilización desde los depósitos viscerales y su excreción biliar¹³. El primer quelante del hierro disponible en la práctica clínica fue la deferoxamina (DFO), derivado del *Streptomyces pilosus* y aprobado en 1968⁶⁴. La observación, a lo largo de la década de 1980, de que los pacientes en hemodiálisis sometidos a tratamiento con DFO presentaban una mayor incidencia de IFI, particularmente mucormicosis⁹, motivó la realización de diversos estudios *in vitro* y sobre modelos animales con el objetivo de clarificar el papel ejercido por este fármaco^{8,10}. En condiciones

fisiológicas el suero humano ejerce un efecto fungistático sobre los Mucorales, como demostraron Boelaert et al.⁸ tras aportar concentraciones crecientes de suero a los cultivos de *Rhizopus microsporus*. Dicho efecto inhibitorio está mediado por la capacidad de la transferrina sérica de fijar y retirar el hierro libre existente en el medio, impidiendo su captación por el hongo, y se hace ya patente a concentraciones relativamente bajas de suero ($\leq 10\%$). Sin embargo, la adición al medio de mínimas cantidades (del orden de $1 \mu\text{M}$) de Fe-DFO (el quelato de la DFO) produce una marcada abolición de este efecto fungistático y favorece el crecimiento exponencial de *Rhizopus microsporus*, hasta el punto de que se precisarían concentraciones de hierro libre 1.000 veces superiores para alcanzar el mismo efecto⁸. Este resultado tan llamativo sobre el crecimiento fúngico solo puede justificarse asumiendo que la DFO actúa como un sideróforo exógeno (o xenosideróforo) para *Rhizopus* spp., que potencia su capacidad de captación del hierro presente en el medio. Por tanto, si bien la DFO se comporta como un quelante del hierro en el humano, en el caso de *Rhizopus* y de otros Mucorales actúa como un donador de este oligoelemento que facilita su crecimiento.

Esta actividad como xenosideróforo de la DFO parece ser relativamente específica para los Mucorales y no se ha demostrado con la misma intensidad en otras especies fúngicas. La adición de Fe-DFO en los medios de cultivo no tiene un efecto apreciable sobre el crecimiento de *C. albicans* e incrementa tan solo de forma modesta el de *A. fumigatus*⁸. De este modo, la administración de hierro libre y DFO disminuye significativamente la supervivencia en modelos animales de mucormicosis y de aspergilosis, pero no presenta un efecto relevante en modelos de candidiasis^{8,10}.

Nuevos quelantes del hierro y mucormicosis

Además del comentado incremento del riesgo de IFI, la DFO presenta otros inconvenientes que limitan su empleo como quelante al cabo de 40 años de uso clínico, entre los que destacan su administración parenteral y elevado precio⁶. Esta circunstancia ha motivado el desarrollo de nuevas moléculas estructuralmente diferentes de la DFO (fig. 3). Actualmente están comercializados la deferiprona (DFP), desarrollada a partir de un sideróforo presente en cepas mutantes de *Salmonella typhimurium*⁵⁴, y el deferasirox (DFX), derivado de un potente quelante producido por *Streptomyces antibioticus*³⁶. Estos fármacos fueron aprobados en 2006 y 2005, respectivamente, por la Food and Drug Administration, para el tratamiento de los estados de sobrecarga férrica en pacientes con anemia

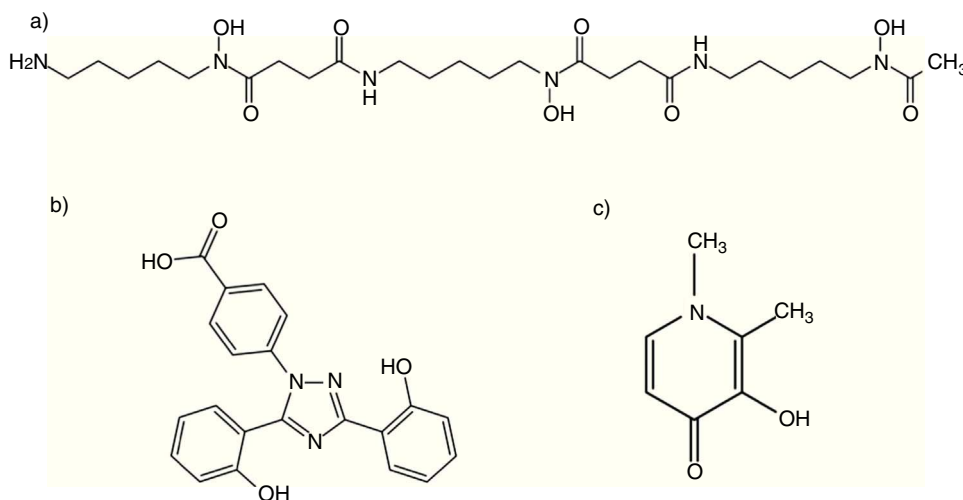


Figura 3. Fórmulas estructurales de los quelantes deferoxamina (a), deferasirox (b) y deferiprona (c). Fuente: PubChem Public Chemical Database, 2012.

Tabla 1

Vías de administración y toxicidad de los quelantes del hierro actualmente disponibles

Molécula y nombre comercial	Vía de administración	Posología habitual	Toxicidad	Comercialización
Deferoxamina mesilato (EFG)	Parenteral	20–60 mg/Kg/día (infusión SC lenta) ^a	Hipotensión, rubefacción, urticaria, alteraciones visuales, anafilaxia	Mundial
Deferasirox (Exjade®)	Oral	5 mg/Kg/día (IV) ^b 10–30 mg/Kg/día ^a	Síntomas gastrointestinales, artralgias, neutropenia (5%), agranulocitosis (0,5%)	Europa e India
Deferiprona (Ferriprox®)	Oral	20 mg/Kg/8 h	Síntomas gastrointestinales, insuficiencia renal, hepatitis, hemorragia digestiva	EE. UU. y Europa

EFG: especialidad farmacéutica genérica; IV: por vía intravenosa; SC: subcutánea.

^a Requiere ajuste de dosis en función de los niveles de ferritina sérica.^b Se debe administrar como infusión lenta al final de cada sesión de hemodiálisis.

y dependencia transfusional. La [tabla 1](#) resume las vías de administración, la posología y el perfil de toxicidad de los 3 quelantes⁶⁴.

La mucormicosis es un tipo de IFI causada por hongos filamentosos pertenecientes al orden de los Mucorales (subdivisión *Mucoromycotina*), dentro de los cuales *Rhizopus* constituye el género más frecuentemente identificado en muestras clínicas^{59,75}. Esta infección afecta de forma casi exclusiva a pacientes con factores predisponentes (neoplasias hematológicas, TPH, diabetes mellitus o traumatismo grave), y las últimas décadas han asistido a un incremento en su incidencia paralelo al experimentado por estas condiciones, especialmente la inmunosupresión iatrogénica^{34,47}. Muchos de los estados patológicos que incrementan el riesgo de mucormicosis se caracterizan por un aumento de las concentraciones de hierro libre en el medio ([tabla 2](#)). La principal opción terapéutica actualmente disponible es la anfotericina B liposomal (AmB-L) asociada al desbridamiento quirúrgico agresivo. El posaconazol y, en menor medida, las equinocandinas suelen reservarse como tratamiento de rescate, habitualmente en el contexto de regímenes combinados con AmB-L. Sus tasas de mortalidad siguen siendo inaceptablemente elevadas, pues oscilan entre el 11 y el 50% en función de la enfermedad de base^{59,75}, aproximándose al 100% en las formas diseminadas³⁴.

A diferencia de la DFO, los nuevos quelantes orales del hierro (DFP y DFX) no se comportan como xenosideróforos para los Mucorales. Esta discrepancia podría explicarse por sus diferentes relaciones estequiométricas en el proceso de quelación⁶⁴. La molécula de DFO tiene un peso molecular elevado y se une a la molécula de hierro en una relación 1:1 ([fig. 3](#)); sin embargo, para quelar una molécula de hierro son necesarias 2 moléculas de DFX (estequiometría 2:1) y 3 de DFP (estequiometría 3:1). Es posible que estos últimos adquieran una configuración espacial que impida el acceso del hongo a la molécula de hierro o que formen enlaces de naturaleza más estable.

En modelos experimentales porcinos de mucormicosis por *R. microsporus* y *R. arrizus* la administración concomitante de DFO se asoció a una menor supervivencia, efecto que no se demostró con la administración de DFP³⁸. Tanto la captación de hierro *in vitro* como la velocidad de crecimiento de *R. oryzae* aumentaron

en presencia de DFO pero no de DFP¹⁰. De hecho, DFP ejerció un efecto fungostático frente a este hongo a las 24 h de incubación, y fungicida al cabo de 48 h⁴³. El DFX también ha mostrado ser fungicida a las 24 h de incubación para diferentes Mucorales, incluyendo *R. oryzae* y especies del género *Mucor*, y a concentraciones inferiores a las obtenidas con las dosis habitualmente empleadas en los estados de sobrecarga férrica⁴⁵ ([tabla 3](#)). Esta acción fungicida del DFX desapareció al añadir al medio de cultivo concentraciones equimolares de hierro libre capaces de saturar su capacidad de quelación⁴⁵.

En modelos de IFI por *R. oryzae* con ratones y cobayas sin sobrecarga de hierro, la DFP aumentó la supervivencia con respecto a placebo^{10,43}. Además se ha mostrado tan efectivo como la AmB-L a dosis elevadas (15 mg/Kg/24 h) tanto en la disminución de la mortalidad como en la reducción de la carga fúngica en muestras histológicas de tejido cerebral. De forma análoga a lo observado con el DFX, la saturación de los enlaces libres de la DFP tras la adición de cloruro férrico libre en el medio revertía por completo esta acción⁴³.

El DFX también incrementa, frente a placebo, la supervivencia en infecciones por *Rhizopus* en modelos animales con cetoacidosis sin sobrecarga férrica y, en menor medida, con neutropenia. Al igual que DFP, tiene una eficacia comparable a la de la AmB-L a dosis elevadas y presenta un efecto sinérgico cuando se asocia a esta⁴⁵. En este estudio los ratones tratados con DFX presentaron niveles más elevados de citoquinas proinflamatorias (factor de necrosis tumoral α e interferón γ) y de linfocitos Th1 y Th2 en muestras de tejido esplénico y renal, en comparación con los que recibieron placebo o DFX saturado con hierro. De este modo, el DFX parece ejercer, además, un efecto inmunomodulador, potenciando la respuesta del huésped frente a la infección⁴⁵.

Por último, un estudio reciente basado en un modelo murino de cetoacidosis inducida por estreptozocina con IFI por *R. oryzae* evaluó la eficacia de una terapia triple con DFX, AmB-L y micafungina⁴⁶. Esta combinación obtuvo una supervivencia a los 28 días (40%) superior al placebo o a los regímenes en monoterapia y biterapia (supervivencias entre el 0 y el 10%), además de disminuir la carga fúngica en muestras de tejido renal y cerebral. Inesperadamente, los animales que recibieron la asociación de micafungina y DFX presentaron una mayor carga fúngica en comparación con los

Tabla 2

Factores de riesgo para el desarrollo de mucormicosis y su relación con el metabolismo férrico

Factor	Mecanismo implicado de sobrecarga férrica
Cetoacidosis diabética	Acidosis metabólica
Tratamiento con DFO	Comportamiento como xenosideróforo
TPH y EICH	Politransfusión
Quimioterapia	Lisis celular
Desnutrición	Disminución de la transferrina sérica
Corticoterapia	Ninguno
Neutropenia	Ninguno

DFO: deferoxamina; EICH: enfermedad de injerto contra huésped; TPH: trasplante de progenitores hematopoyéticos.

Tabla 3

Actividad comparada frente a Mucorales de los diferentes quelantes del hierro

Molécula	24 h		48 h	
	CMI (μ g/mL)	CMF (μ g/mL)	CMI (μ g/mL)	CMF (μ g/mL)
Deferoxamina	> 100	> 100	> 100	> 100
Deferasirox	3,12–12,5	3,12–12,5	3,12–6,25	3,12–6,25
Deferiprona	3,12	100	6,25	6,25

CMF: concentración mínima fungicida; CMI: concentración mínima inhibitoria. Adaptada de Ibrahim et al.⁴³ e Ibrahim et al.⁴⁵.

tratados con cualquiera de estos fármacos en monoterapia, sugiriendo un posible antagonismo entre ambos⁴⁶.

Si bien el DFX es generalmente bien tolerado, hasta la tercera parte de los pacientes con sobrecarga férrica que recibieron este fármaco en el seno de los ensayos pivotaes presentaron un deterioro al menos moderado de la función renal, de carácter dependiente de la dosis^{18,85}. Esta elevación parece ser reversible una vez finalizado el tratamiento, aunque se desconoce si su administración conjunta con otro nefrotóxico como es la AmB-L en pacientes sin sobrecarga férrica podría incrementar la toxicidad renal, limitando así su utilización clínica como antifúngico. No obstante, en una experiencia preliminar con 8 pacientes con mucormicosis tratados con AmB-L y DFX no se observó la aparición de toxicidades relevantes de naturaleza renal, hepática o hematológica⁷⁸.

En base a la experiencia acumulada *in vitro* y en modelos animales, el DFX ha sido administrado como tratamiento de rescate en pacientes con mucormicosis, con resultados aparentemente favorables^{15,68,78}, aunque también se han comunicado fracasos terapéuticos⁷⁷. A fin de proporcionar una evidencia más definitiva, en 2010 finalizó un ensayo clínico en fase 2 de diseño doble ciego y multicéntrico, denominado *Deferasirox-AmBisome Therapy for Mucormycosis – DEFEAT Mucor*⁸⁰. Un total de 20 pacientes con diagnóstico de mucormicosis probable o probada fueron aleatorizados a recibir AmB-L (≥ 5 mg/Kg/24 h al menos 3 veces por semana) en combinación con DFX (20 mg/Kg/24 h) o placebo durante 14 días, además de ser sometidos a desbridamiento quirúrgico. No se observaron diferencias en la frecuencia de efectos adversos entre ambos grupos, si bien la mortalidad a los 30 y 90 días fue mayor en el brazo de DXF (45 y 82%) que en el de placebo (11 y 22%, respectivamente). La mayor parte de las muertes fueron atribuidas a fracaso terapéutico o progresión de la enfermedad de base, sin evidencia de toxicidad grave. Estos decepcionantes resultados contrastan con los comunicados hasta el momento en modelos animales y en casos aislados de tratamiento de rescate con DFX. No obstante, es preciso señalar que, por su lento ritmo de reclutamiento, el ensayo DEFEAT Mucor vio limitada su potencia estadística. El proceso de aleatorización dio lugar a desequilibrios notables entre grupos, pues las enfermedades oncohematológicas y la neutropenia fueron más frecuentes en los pacientes que recibieron DFX, así como las formas pulmonares de mucormicosis⁸⁰. Tal y como recuerdan los autores, la mayor parte de la experiencia previa con DFX proviene de modelos animales de cetoacidosis con formas rinoorbitarias, escenario que se asocia a un mejor pronóstico que las formas pulmonares en presencia de neutropenia como factor predisponente^{59,69}. Desgraciadamente, el diseño de nuevos ensayos clínicos que analicen el papel del tratamiento combinado en la mucormicosis se enfrentará a importantes obstáculos tanto logísticos (su incidencia anual estimada es de un caso por cada 200.000 habitantes)⁴² como financieros (se requeriría reclutar 200-300 pacientes para obtener una potencia estadística adecuada)⁸¹.

Nuevos quelantes del hierro y aspergilosis invasiva

Aspergillus es un hongo filamentosos de distribución ubicua. Al igual que se ha comentado en el caso de la mucormicosis, la incidencia de aspergilosis invasiva (AI) ha experimentado un incremento sostenido en las últimas décadas⁶⁶, si bien los triazoles de espectro extendido han demostrado su eficacia en la prevención en los pacientes de alto riesgo^{22,61}. No obstante, esta estrategia se ve amenazada por la aparición de cepas de *A. fumigatus* con sensibilidad disminuida a triazoles⁷⁶ y por la emergencia de especies resistentes, como *Aspergillus calidoustus*²⁶. A pesar de la mejoría en el pronóstico de la AI comunicada en los últimos años, las tasas de mortalidad siguen superando el 40% en pacientes con leucemia mieloide aguda^{55,66}.

A. fumigatus recurre a dos formas diferentes para la captación del hierro: un mecanismo reductivo (mediado por un complejo reductasa-permeasa denominado FtrA/FetC) y un sistema de sideróforos de tipo hidroxamato (codificados por los genes *sidC*, *sidD*, *sidF* y *sidG*)¹. La síntesis de lactoferrina por parte de los leucocitos polimorfonucleares ejerce un efecto deletéreo sobre el desarrollo de las conidias de *A. fumigatus* a través del secuestro del hierro libre del medio⁸⁸. Sin embargo, y contrariamente a lo observado en la mayoría de los hongos, su crecimiento no es inhibido por el suero humano. De hecho, la adición al medio de cultivo de suero humano o fetal al 10%, lejos de ejercer un efecto fungistático, aumenta hasta 4 veces su velocidad de crecimiento³³. Este hallazgo puede ser explicado por la mediación de los 2 sideróforos mayoritarios (ferricrocina y N',N'',N'''-triacetilfusarinina C), que son capaces de obtener el hierro directamente de la transferrina sérica. Además, *A. fumigatus* puede secretar proteinasas en fases estacionarias de su crecimiento que degradan la transferrina y permiten la liberación del hierro transportado por esta molécula³⁷. Por otra parte, la inactivación de la permeasa de alta afinidad FtrA no reduce la virulencia del hongo en un modelo murino de AI, por lo que el mecanismo reductivo de asimilación no parece desempeñar un papel destacado en su patogenicidad⁷².

Recientemente ha sido identificado el gen que regula la síntesis de los sideróforos de *A. fumigatus* y *Aspergillus nidulans*, denominado *sidA*. Este gen codifica la enzima L-ornitina N⁵-oxigenasa, que interviene en el primer paso de la biosíntesis de los sideróforos de tipo hidroxamato^{1,27}. Las cepas de *Aspergillus* deficientes para este gen (cepas Δ *sidA*) carecen de la capacidad de crecimiento en medios de suero humano pobres en hierro, a diferencia de lo que ocurre en las cepas salvajes. Esta inhibición se revierte incorporando al cultivo los sideróforos deficitarios (ferricrocina y N',N'',N'''-triacetilfusarinina C), hallazgo que confirma que son estos los encargados de quelar el hierro ligado a la transferrina humana. Así, las cepas Δ *sidA* presentan una casi absoluta ausencia de virulencia en modelos murinos, evidenciando que este gen juega un papel relevante en la patogenia de la AI *in vivo*^{1,27}. También se ha comprobado que estos sideróforos intervienen en la modulación de la respuesta inmune innata frente a *A. fumigatus*, pues las cepas Δ *sidA* no inducen la síntesis de factor de necrosis tumoral en cultivos de líneas celulares de macrófagos, contrariamente a lo que ocurre en presencia de cepas salvajes⁷³. Dado que las células humanas no producen sideróforos, algunos de estos genes (particularmente *sidA* y *sidC*) podrían constituir dianas terapéuticas prometedoras¹.

A diferencia de lo observado en los hongos filamentosos del grupo de los Mucorales⁶⁰, la concentración de hierro libre no supone un factor limitante para el crecimiento de *A. fumigatus*. No obstante, diversas observaciones tanto experimentales como clínicas sugieren que los estados de sobrecarga férrica se asocian a un incremento de la incidencia de AI^{17,87}. García-Vidal et al. demostraron que la concentración sérica de ferritina superior a 2.000 ng/ml, como marcador subrogado de los depósitos corporales totales de hierro, constituía un factor de riesgo independiente para el desarrollo de IFI por hongos filamentosos en una amplia cohorte de receptores de TPH alogénico³². En otro estudio realizado igualmente en pacientes con neoplasia hematológica sometidos a TPH, hasta el 70% presentaba una concentración hepática de hierro superior a 100 μ mol/g de tejido seco, y cerca de la mitad, un índice hepático de hierro por encima de 1,9 (que es el punto de corte establecido como criterio diagnóstico de la HH), sin diferencias significativas entre trasplantes autólogos y alogénicos. Se demostró la presencia de AI en el estudio necrópsico en el 37% de los pacientes con sobrecarga férrica (concentración hepática de hierro ≥ 150 μ mol/g de tejido seco) frente al 12% de los pacientes sin sobrecarga ($p=0,035$), sin que existiera una asociación similar con la candidiasis⁴. Un tercer estudio basado en la evaluación

retrospectiva de la concentración de hierro en biopsias de médula ósea comparó 33 pacientes con leucemia mieloide aguda, sometidos a TPH alogénico que desarrollaron AI, con una cohorte de 33 controles sin tal complicación. El 70% de los pacientes con AI presentaron datos de sobrecarga medular de hierro (score ≥ 3 en una escala semicuantitativa) frente al 16% de los controles ($p < 0,0001$). La sobrecarga férrica se mantuvo como un factor de riesgo independiente para el desarrollo de AI en el análisis multivariante⁵⁶.

A la vista de estos hallazgos algunos estudios han abordado la utilidad potencial de los quelantes del hierro en el tratamiento de la AI, si bien la experiencia es más limitada que con la mucormicosis. La combinación de DFP con ketoconazol o fluconazol ejerce un efecto sinérgico en la inhibición *in vitro* del crecimiento de conidias de *A. fumigatus*⁸⁸. El DFX exhibe una menor actividad frente a *Aspergillus* que frente a *Rizhopus*, a pesar de lo cual ha demostrado que incrementa de forma modesta frente a placebo la supervivencia de ratones neutropénicos con AI. Además, su asociación con AmB-L prolonga la supervivencia y disminuye la carga fúngica en tejido pulmonar, en comparación con ambos fármacos en monoterapia y con placebo⁴⁴. En el citado estudio de Ibrahim et al.⁴⁶, la triple terapia con DFX, AmB-L y micafungina en ratones inmunodeprimidos con AI mejoró la supervivencia a los 28 días frente a placebo (70 y 31%, respectivamente) o a AmB-L, pero no frente a la monoterapia con micafungina o DFX. La asociación de micafungina y DFX se asoció a una mayor mortalidad respecto a la monoterapia con micafungina, de forma similar a lo observado en el modelo de mucormicosis⁴⁶. Hasta la fecha no se ha comunicado ninguna experiencia clínica del empleo de quelantes en el tratamiento de pacientes con AI.

Mecanismos de captación del hierro en otras infecciones fúngicas

Son múltiples los estudios que han analizado los sistemas de captación de hierro implicados en otros tipos de IFI, como las producidas por *Candida*^{16,39,41,52,53,58,71} o *Cryptococcus*^{16,39,48,83}. Por desgracia, estos hongos parecen disponer de mecanismos redundantes e independientes para obtener este elemento del medio, circunstancia que limita su aprovechamiento terapéutico.

La candidiasis es la IFI más frecuente. En el curso de la infección y en medios deplecionados de hierro, *Candida* puede recurrir a diferentes mecanismos de captación en función de las fuentes disponibles^{39,52,71}. Así, se han caracterizado sistemas reductasa-permeasa capaces de obtener incluso el hierro ligado a la transferrina (codificados en el gen *FTR1*)⁵², receptores para sideróforos de la familia de los ferricromos (CaFtr1p)⁴¹ y receptores de alta afinidad para grupos hemo y hemoglobina^{16,39,71}. Sin embargo, ninguno de ellos, de manera individual, parece ser indispensable para el desarrollo y la virulencia del hongo. Algún estudio *in vitro* ha demostrado que el uso combinado de azoles y lactoferrina podría tener un efecto fungistático sinérgico⁵⁸ que desaparece con la adición de hierro libre al medio de cultivo, lo que sugiere que la actividad antifúngica de la lactoferrina depende, en parte, de su acción como quelante de hierro⁵³. En esta línea, Fiori y van Dijk han demostrado que doxiciclina, un antibiótico del grupo de las tetraciclinas, potencia el efecto antifúngico de fluconazol frente a *C. albicans* de forma dependiente de dosis, disminuyendo la concentración mínima inhibitoria y transformando en fungicida su actividad habitualmente fungostática. Esta sinergia aparece mediada por la actividad quelante de la doxiciclina y su interferencia en la síntesis del ergosterol de la membrana fúngica, pues la adición de suplementos de hierro al medio restaura el crecimiento fúngico aun en presencia de fluconazol y doxiciclina²⁹.

La criptococosis es la forma más frecuente de meningoencefalitis fúngica. La adquisición de hierro es un paso importante para el

crecimiento de *Cryptococcus* y para la formación de su cápsula polisacárida de glucuronoxilomanano, responsable en gran parte de la virulencia del hongo gracias a su capacidad antifagocitaria⁸². *Cryptococcus* posee diferentes mecanismos basados en reductasas³⁹, receptores para xenosideróforos de tipo hidroxamato (ferrioxamina B)⁸³ y sistemas de captación del hierro en forma hemo (manoproteína extracelular Cig1)¹⁶. Sin embargo, y al igual que ocurre en el caso de *Candida*, no parece que ninguno de estos procesos actúe individualmente como un factor limitante para el desarrollo del hongo, por lo que su utilidad como diana antifúngica resulta limitada.

Conclusiones

Los estados de sobrecarga férrica aumentan el riesgo de IFI al incrementar la concentración de hierro libre, elemento necesario para el crecimiento fúngico y para el desarrollo de sus mecanismos de patogenicidad. Además, el exceso de hierro ejerce un efecto deletéreo sobre la respuesta inmune del huésped, particularmente a nivel de la capacidad fagocitaria de los neutrófilos. Los Mucorales son más dependientes de la disponibilidad de hierro libre en el medio que *Aspergillus*, ya que este género dispone de mecanismos más eficientes para su captación a partir de la transferrina sérica. No obstante, la sobrecarga de hierro también se ha revelado como un factor relevante en la virulencia de la AI.

A diferencia de la DFO, la nueva generación de quelantes de hierro (DFP y DFX) constituye un abordaje potencialmente útil en el tratamiento de la IFI. No obstante, la mayor parte de la experiencia acumulada con estos fármacos se limita a datos preclínicos (modelos *in vitro* y animales) y a estudios no controlados con un reducido número de pacientes. Con las limitaciones antes señaladas, el único ensayo clínico realizado hasta la fecha (DEFEAT Mucor) ha puesto en entredicho el papel del tratamiento combinado con DFX y AmB-L, al menos en pacientes neutropénicos con mucormicosis pulmonar. La eficacia de esta estrategia debería ser evaluada en un mayor número de pacientes, preferentemente con formas rinoorbitarias en el contexto de cetoacidosis diabética, antes de poder extraer conclusiones definitivas. Por desgracia, la investigación en este campo se verá previsiblemente condicionada por los resultados negativos de este estudio preliminar y por dificultades logísticas y financieras, tal y como han señalado en un reciente editorial Donnelly y Lahav²⁵. En cualquier caso, la quelación del hierro ofrece una alternativa prometedora no solo en el tratamiento, sino, tal vez, en la prevención de la infección fúngica y por otros microorganismos en pacientes con sobrecarga férrica.

Financiación

Mario Fernández Ruiz disfruta actualmente de un Contrato de Formación en Investigación Río Hortega (CM11/00187) del Ministerio de Economía y Competitividad (Instituto de Salud Carlos III).

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Abad A, Fernández-Molina JV, Bikandi J, Ramírez A, Margareto J, Sendino J, et al. What makes *Aspergillus fumigatus* a successful pathogen? Genes and molecules involved in invasive aspergillosis. *Rev Iberoam Micol.* 2010;27:155–82.
2. Akbar AN, Fitzgerald-Bocarsly PA, de Sousa M, Giardina PJ, Hilgartner MW, Grady RW. Decreased natural killer activity in thalassemia major: A possible consequence of iron overload. *J Immunol.* 1986;136:1635–40.
3. Alexander J, Limaye AP, Ko CW, Bronner MP, Kowdley KV. Association of hepatic iron overload with invasive fungal infection in liver transplant recipients. *Liver Transpl.* 2006;12:1799–804.

4. Altes A, Remacha AF, Sarda P, Sancho FJ, Sureda A, Martino R, et al. Frequent severe liver iron overload after stem cell transplantation and its possible association with invasive aspergillosis. *Bone Marrow Transplant*. 2004;34:505–9.
5. Artis WM, Fountain JA, Delcher HK, Jones HE. A mechanism of susceptibility to mucormycosis in diabetic ketoacidosis: Transferrin and iron availability. *Diabetes*. 1982;31:1109–14.
6. Bentur Y, McGuigan M, Koren G. Deferoxamine (desferrioxamine). New toxicities for an old drug. *Drug Saf*. 1991;6:37–46.
7. Blake PA, Merson MH, Weaver RE, Hollis DG, Heublein PC. Disease caused by a marine vibrio. Clinical characteristics and epidemiology. *N Engl J Med*. 1979;300:1–5.
8. Boelaert JR, de Locht M, van Cutsem J, Kerrels V, Cantinieux B, Verdonck A, et al. Mucormycosis during deferoxamine therapy is a siderophore-mediated infection. In vitro and in vivo animal studies. *J Clin Invest*. 1993;91:1979–86.
9. Boelaert JR, Fenves AZ, Coburn JW. Deferoxamine therapy and mucormycosis in dialysis patients: Report of an international registry. *Am J Kidney Dis*. 1991;18:660–7.
10. Boelaert JR, van Cutsem J, de Locht M, Schneider YJ, Crichton RR. Deferoxamine augments growth and pathogenicity of *Rhizopus*, while hydroxypyridinone chelators have no effect. *Kidney Int*. 1994;45:667–71.
11. Borgna-Pignatti C, Rugolotto S, de Stefano P, Piga A, di Gregorio F, Gamberini MR, et al. Survival and disease complications in thalassemia major. *Ann NY Acad Sci*. 1998;850:227–31.
12. Bothwell TH. Overview and mechanisms of iron regulation. *Nutr Rev*. 1995;53:237–45.
13. Brittenham GM. Iron-chelating therapy for transfusional iron overload. *N Engl J Med*. 2011;364:146–56.
14. Bullen JJ, Rogers HJ, Spalding PB, Ward CG. Natural resistance, iron and infection: A challenge for clinical medicine. *J Med Microbiol*. 2006;55:251–8.
15. Busca A, Marmont F, Locatelli F, Limerutti G, Sorrentino MT, Barbui A, et al. Combined antifungal therapy, iron chelation and surgical resection as treatment of hepatic zygomycosis in a patient with haematological malignancy. *Mycoses*. 2010;53:275–8.
16. Cadieux B, Lian T, Hu G, Wang J, Biondo C, Teti G, et al. The mannoprotein Cig1 supports iron acquisition from heme and virulence in the pathogenic fungus *Cryptococcus neoformans*. *J Infect Dis*. 2013;207:1339–47.
17. Caira M, Mancinelli M, Leone G, Pagano L. Invasive aspergillosis in acute leukemias: Old and new risk factors and epidemiological trends. *Med Mycol*. 2011;49 Suppl 1:S13–6.
18. Cappellini MD, Cohen A, Piga A, Bejaoui M, Perrotta S, Agaoglu L, et al. A phase 3 study of deferasirox (ICL670), a once-daily oral iron chelator, in patients with beta-thalassemia. *Blood*. 2006;107:3455–62.
19. Caroline L, Rosner F, Kozinn PJ. Elevated serum iron, low unbound transferrin and candidiasis in acute leukemia. *Blood*. 1969;34:441–51.
20. Charlang G, Ng B, Horowitz NH, Horowitz RM. Cellular and extracellular siderophores of *Aspergillus nidulans* and *Penicillium chrysogenum*. *Mol Cell Biol*. 1981;1:94–100.
21. Chow JK, Werner BG, Ruthazer R, Snyderman DR. Increased serum iron levels and infectious complications after liver transplantation. *Clin Infect Dis*. 2010;51:e16–23.
22. Cornely OA, Maertens J, Winston DJ, Perfect J, Ullmann AJ, Walsh TJ, et al. Posaconazole vs. fluconazole or itraconazole prophylaxis in patients with neutropenia. *N Engl J Med*. 2007;356:348–59.
23. De Locht M, Boelaert JR, Schneider YJ. Iron uptake from ferrioxamine and from ferrirhizoferrin by germinating spores of *Rhizopus microsporus*. *Biochem Pharmacol*. 1994;47:1843–50.
24. De Sousa M. Immune cell functions in iron overload. *Clin Exp Immunol*. 1989;75:1–6.
25. Donnelly JP, Lahav M. Deferasirox as adjunctive therapy for mucormycosis. *J Antimicrob Chemother*. 2012;67:519–20.
26. Egli A, Fuller J, Humar A, Lien D, Weinkauff J, Nador R, et al. Emergence of *Aspergillus calidoustus* infection in the era of posttransplantation azole prophylaxis. *Transplantation*. 2012;94:403–10.
27. Eisendle M, Oberegger H, Zadra I, Haas H. The siderophore system is essential for viability of *Aspergillus nidulans*: Functional analysis of two genes encoding l-ornithine N 5-mono-oxygenase (*sidA*) and a non-ribosomal peptide synthetase (*sidC*). *Mol Microbiol*. 2003;49:359–75.
28. Farmakis D, Giakoumis A, Polymeropoulos E, Aessopos A. Pathogenetic aspects of immune deficiency associated with β thalassemia. *Med Sci Monit*. 2003;9:RA19–22.
29. Fiori A, van Dijk P. Potent synergistic effect of doxycycline with fluconazole against *Candida albicans* is mediated by interference with iron homeostasis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56:3785–96.
30. Fleming RE, Ponka P. Iron overload in human disease. *N Engl J Med*. 2012;366:348–59.
31. Foster LA. Utilization and cell-surface binding of hemin by *Histoplasma capsulatum*. *Can J Microbiol*. 2002;48:437–42.
32. Garcia-Vidal C, Upton A, Kirby KA, Marr KA. Epidemiology of invasive mold infections in allogeneic stem cell transplant recipients: Biological risk factors for infection according to time after transplantation. *Clin Infect Dis*. 2008;47:1041–50.
33. Gifford AH, Klippenstein JR, Moore MM. Serum stimulates growth of and proteinase secretion by *Aspergillus fumigatus*. *Infect Immun*. 2002;70:19–26.
34. Gleissner B, Schilling A, Anagnostopoulos I, Siehl I, Thiel E. Improved outcome of zygomycosis in patients with hematological diseases? *Leuk Lymphoma*. 2004;45:1351–60.
35. Grady RW, Akbar AN, Giardina PJ, Hilgartner MW, de Sousa M. Disproportionate lymphoid cell subsets in thalassemia major: The relative contributions of transfusion and splenectomy. *Br J Haematol*. 1985;59:713–24.
36. Hershko C, Konijn AM, Nick HP, Breuer W, Cabantchik ZI, Link G. ICL670A: A new synthetic oral chelator: Evaluation in hypertransfused rats with selective radioiron probes of hepatocellular and reticuloendothelial iron stores and in iron-loaded rat heart cells in culture. *Blood*. 2001;97:1115–22.
37. Hissen AH, Chow JM, Pinto LJ, Moore MM. Survival of *Aspergillus fumigatus* in serum involves removal of iron from transferrin: The role of siderophores. *Infect Immun*. 2004;72:1402–8.
38. Hissen AH, Wan AN, Warwas ML, Pinto LJ, Moore MM. The *Aspergillus fumigatus* siderophore biosynthetic gene *sidA*, encoding L-ornithine N5-oxygenase, is required for virulence. *Infect Immun*. 2005;73:5493–503.
39. Howard DH. Acquisition, transport, and storage of iron by pathogenic fungi. *Clin Microbiol Rev*. 1999;12:394–404.
40. Howard DH. Iron gathering by zoopathogenic fungi. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2004;40:95–100.
41. Hu CJ, Bai C, Zheng XD, Wang YM, Wang Y. Characterization and functional analysis of the siderophore-iron transporter CaArn1p in *Candida albicans*. *J Biol Chem*. 2002;277:30598–605.
42. Ibrahim AS, Edwards Jr JE, Bryant R, Spellberg B. Economic burden of mucormycosis in the United States: Can a vaccine be cost-effective? *Med Mycol*. 2009;47:592–600.
43. Ibrahim AS, Edwards Jr JE, Fu Y, Spellberg B. Deferiprone iron chelation as a novel therapy for experimental mucormycosis. *J Antimicrob Chemother*. 2006;58:1070–3.
44. Ibrahim AS, Gebremariam T, French SW, Edwards Jr JE, Spellberg B. The iron chelator deferasirox enhances liposomal amphotericin B efficacy in treating murine invasive pulmonary aspergillosis. *J Antimicrob Chemother*. 2010;65:289–92.
45. Ibrahim AS, Gebremariam T, Fu Y, Lin L, Hussein MI, French SW, et al. The iron chelator deferasirox protects mice from mucormycosis through iron starvation. *J Clin Invest*. 2007;117:2649–57.
46. Ibrahim AS, Gebremariam T, Luo G, Fu Y, French SW, Edwards Jr JE, et al. Combination therapy of murine mucormycosis or aspergillosis with iron chelation, polyenes, and echinocandins. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55:1768–70.
47. Ibrahim AS, Spellberg B, Edwards Jr J. Iron acquisition: A novel perspective on mucormycosis pathogenesis and treatment. *Curr Opin Infect Dis*. 2008;21:620–5.
48. Jacobson ES, Goodner AP, Nyhus KJ. Ferrous iron uptake in *Cryptococcus neoformans*. *Infect Immun*. 1998;66:4169–75.
49. Johnson EE, Wessling-Resnick M. Iron metabolism and the innate immune response to infection. *Microbes Infect*. 2012;14:207–16.
50. Karp JE, Metz WG. Association of reduced total iron binding capacity and fungal infections in leukemic granulocytopenic patients. *J Clin Oncol*. 1986;4:216–20.
51. Khan FA, Fisher MA, Khakoo RA. Association of hemochromatosis with infectious diseases: Expanding spectrum. *Int J Infect Dis*. 2007;11:482–7.
52. Knight SA, Vilairé G, Lesuisse E, Dancis A. Iron acquisition from transferrin by *Candida albicans* depends on the reductive pathway. *Infect Immun*. 2005;73:5482–92.
53. Kobayashi T, Kakeya H, Miyazaki T, Izumikawa K, Yanagihara K, Ohno H, et al. Synergistic antifungal effect of lactoferrin with azole antifungals against *Candida albicans* and a proposal for a new treatment method for invasive candidiasis. *Jpn J Infect Dis*. 2011;64:292–6.
54. Kontogiorgos GJ, Aldouri MA, Sheppard L, Hoffbrand AV. 1,2-Dimethyl-3-hydroxypyrid-4-one, an orally active chelator for treatment of iron overload. *Lancet*. 1987;1:1294–5.
55. Kontoyannis DP, Bodey GP. Invasive aspergillosis in 2002: An update. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2002;21:161–72.
56. Kontoyannis DP, Chamilos G, Lewis RE, Giral S, Cortes J, Raad II, et al. 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.
57. Kosman DJ. Molecular mechanisms of iron uptake in fungi. *Mol Microbiol*. 2003;47:1185–97.
58. Kuipers ME, de Vries HG, Eikelboom MC, Meijer DK, Swart PJ. Synergistic fungistatic effects of lactoferrin in combination with antifungal drugs against clinical *Candida* isolates. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999;43:2635–41.
59. Lanternier F, Dannaoui E, Morizot G, Elie C, Garcia-Hermoso D, Huerre M, et al. A global analysis of mucormycosis in France: The RetroZygo Study (2005–2007). *Clin Infect Dis*. 2012;54 Suppl 1:S35–43.
60. Lewis RE, Lortholary O, Spellberg B, Roilides E, Kontoyannis DP, Walsh TJ. How does antifungal pharmacology differ for mucormycosis versus aspergillosis? *Clin Infect Dis*. 2012;54 Suppl 1:S67–72.
61. Marks DI, Pagliuca A, Kibbler CC, Glasmacher A, Heussel CP, Kantecki M, et al. Voriconazole versus itraconazole for antifungal prophylaxis following allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *Br J Haematol*. 2011;155:318–27.
62. Morace G, Borghi E. Invasive mold infections: Virulence and pathogenesis of mucorales. *Int J Microbiol*. 2012;2012:349278.
63. Morrissey JA, Williams PH, Cashmore AM. *Candida albicans* has a cell-associated ferric reductase activity which is regulated in response to levels of iron and copper. *Microbiology*. 1996;142:485–92.

64. Neufeld EJ. Update on iron chelators in thalassemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2010;2010:451–5.
65. Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T. Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem*. 2001;276:7806–10.
66. Pemán J, Salavert M. Epidemiología general de la enfermedad fúngica invasora. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012;30:90–8.
67. Pendrak ML, Chao MP, Yan SS, Roberts DD. Heme oxygenase in *Candida albicans* is regulated by hemoglobin and is necessary for metabolism of exogenous heme and hemoglobin to alpha-biliverdin. *J Biol Chem*. 2004;279:3426–33.
68. Reed C, Ibrahim A, Edwards Jr JE, Walot I, Spellberg B. Deferasirox, an iron-chelating agent, as salvage therapy for rhinocerebral mucormycosis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50:3968–9.
69. Roden MM, Zaoutis TE, Buchanan WL, Knudsen TA, Sarkisova TA, Schaufele RL, et al. Epidemiology and outcome of zygomycosis: A review of 929 reported cases. *Clin Infect Dis*. 2005;41:634–53.
70. Sahlstedt L, Ebeling F, von Bonsdorff L, Parkkinen J, Ruutu T. Non-transferrin-bound iron during allogeneic stem cell transplantation. *Br J Haematol*. 2001;113:836–8.
71. Santos R, Buisson N, Knight S, Dancis A, Camadro JM, Lesuisse E. Haemin uptake and use as an iron source by *Candida albicans*: Role of CaHMX1-encoded haem oxygenase. *Microbiology*. 2003;149:579–88.
72. Schrettel M, Bignell E, Kragl C, Joechl C, Rogers T, Arst Jr HN, et al. Siderophore biosynthesis but not reductive iron assimilation is essential for *Aspergillus fumigatus* virulence. *J Exp Med*. 2004;200:1213–9.
73. Seifert M, Nairz M, Schroll A, Schrettel M, Haas H, Weiss G. Effects of the *Aspergillus fumigatus* siderophore systems on the regulation of macrophage immune effector pathways and iron homeostasis. *Immunobiology*. 2008;213:767–78.
74. Skaar EP. The battle for iron between bacterial pathogens and their vertebrate hosts. *PLoS Pathog*. 2010;6:e100094.
75. Skiada A, Pagano L, Groll A, Zimmerli S, Dupont B, Lagrou K, et al., European Confederation of Medical Mycology Working Group on Zygomycosis. Zygomycosis in Europe: Analysis of 230 cases accrued by the registry of the European Confederation of Medical Mycology (ECMM) Working Group on Zygomycosis between 2005 and 2007. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17:1859–67.
76. Snelders E, van der Lee HA, Kuijpers J, Rijs AJ, Varga J, Samson RA, et al. Emergence of azole resistance in *Aspergillus fumigatus* and spread of a single resistance mechanism. *PLoS Med*. 2008;5:e219.
77. Soummer A, Mathonnet A, Scatton O, Massault PP, Paugam A, Lemiale V, et al. Failure of deferiasirox, an iron chelator agent, combined with antifungals in a case of severe zygomycosis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008;52:1585–6.
78. Spellberg B, Andes D, Perez M, Anglim A, Bonilla H, Mathisen GE, et al. Safety and outcomes of open-label deferiasirox iron chelation therapy for mucormycosis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53:3122–5.
79. Spellberg B, Edwards Jr J, Ibrahim A. Novel perspectives on mucormycosis: Pathophysiology, presentation, and management. *Clin Microbiol Rev*. 2005;18:556–69.
80. Spellberg B, Ibrahim AS, Chin-Hong PV, Kontoyiannis DP, Morris MI, Perfect JR, et al. The Deferiasirox-AmBisome Therapy for Mucormycosis (DEFEAT Mucor) study: A randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. *J Antimicrob Chemother*. 2012;67:715–22.
81. Spellberg B, Ibrahim A, Roilides E, Lewis RE, Lortholary O, Petrikos G, et al. Combination therapy for mucormycosis: Why, what, and how? *Clin Infect Dis*. 2012;54 Suppl 1:S73–8.
82. Stearman R, Yuan DS, Yamaguchi-Iwai Y, Klausner RD, Dancis A. A permease-oxidase complex involved in high affinity iron uptake in yeast. *Science*. 1996;271:1552–7.
83. Tangen KL, Jung WH, Sham AP, Lian T, Kronstad JW. The iron- and cAMP-regulated gene SIT1 influences ferrioxamine B utilization, melanization and cell wall structure in *Cryptococcus neoformans*. *Microbiology*. 2007;153:29–41.
84. Van Asbeck BS, Marx JJ, Struyvenberg A, Verhoef J. Functional defects in phagocytic cells from patients with iron overload. *J Infect*. 1984;8:232–40.
85. Vichinsky E. Clinical application of deferiasirox: Practical patient management. *Am J Hematol*. 2008;83:398–402.
86. Walker Jr EM, Walker SM. Effects of iron overload on the immune system. *Ann Clin Lab Sci*. 2000;30:354–65.
87. Zarembler KA, Cruz AR, Huang CY, Gallin JI. Antifungal activities of natural and synthetic iron chelators alone and in combination with azole and polyene antibiotics against *Aspergillus fumigatus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53:2654–6.
88. Zarembler KA, Sugui JA, Chang YC, Kwon-Chung KJ, Gallin JI. Human polymorphonuclear leukocytes inhibit *Aspergillus fumigatus* conidial growth by lactoferrin-mediated iron depletion. *J Immunol*. 2007;178:6367–73.
89. Zurlo MG, de Stefano P, Borgna-Pignatti C, di Palma A, Piga A, Melevendi C, et al. Survival and causes of death in thalassaemia major. *Lancet*. 1989;2:27–30.