



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
SECRETARÍA DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA

**“EFICACIA Y SEGURIDAD DEL USO DE INTERFERÓN GAMMA EN
ENFERMEDAD GRANULOMATOSA CRÓNICA: REVISIÓN
SISTEMÁTICA.”**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

ESPECIALISTA EN

PEDIATRÍA

PRESENTA:

DRA. NORMA YVETT GONZÁLEZ BOBADILLA

TUTOR:

DR. SAÚL OSWALDO LUGO REYES



CIUDAD DE MEXICO.

2017



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**“ EFICACIA Y SEGURIDAD DEL USO DE INTERFERÓN GAMMA EN
ENFERMEDAD GRANULOMATOSA CRÓNICA: REVISIÓN SISTEMÁTICA.”**

*DR. ALEJANDRO SERRANO SIERRA
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN EN PEDIATRÍA*

*DR. JOSE N. REYNES MANZUR
DIRECTOR DE ENSEÑANZA*

*DR. MANUEL ENRIQUE FLORES LANDERO
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PRE Y POSGRADO*

TUTOR:
DR. LUGO REYES SAÚL OSWALDO

Algunos agradecimientos:

A mis padres hoy quiero darles el más sentido agradecimiento por haber estado presentes siempre, dedicándome su apoyo. Por ese aguante, esas horas donde sentía que mis fuerzas estaban disminuidas, en las que mi ánimo, muchas veces necesitó del amor de ustedes.

Gracias por ser llevarme de la mano en mi camino y mi ser mi sostén para mi desarrollo profesional, por el tenaz acompañamiento que siempre han estado preparados para brindarme, sólo por quererme tanto y por desear que la vida siempre me sonría.

Gracias por todo su amor incondicional y sus sabios consejos

A Javier Neri uno de los principales impulsores de mis sueños, que entre muchos vaivenes de la vida nunca soltó mi mano, gracias por estar siempre convencido de que tengo la capacidad de lograr mis objetivos, aunque no siempre pueda visualizarlo. Gracias por vivir este episodio de mi vida a mi lado

A Andrea , quiero expresarle mi gratitud por tomarme de la mano cuando más lo necesite, en esos días nublados, donde muchas veces el camino se hizo árido, adivinando quizás cómo me sentía, haciéndome sentir importante, siempre apoyandome, gracias por cada momento que me has regalado

A Saul Lugo, mi tutor de tesis, le dedico unas cortas pero sentidas líneas, con el más profundo respeto y admiración, por esa manera de trabajar tan curiosa que tiene, tan única, por todo el tiempo queme dedicó y me presto atención, por esa manera de ver la vida que tiene, estoy muy agradecida y le admiro muchísimo.

Y a todos mis amigos sencillamente gracias

ÍNDICE DE CONTENIDO

ANTECEDENTES	5
1. DEFINICIÓN DE ENFERMEDAD GRANULOMATOSA CRÓNICA	5
2. FISIOPATOLOGÍA	5
3. CUADRO CLÍNICO	6
4. DIAGNÓSTICO	7
5. PRONÓSTICO	7
6. TRATAMIENTO	8
Interferón Gamma en Enfermedad Granulomatosa Crónica	
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	11
JUSTIFICACIÓN	11
OBJETIVOS	12
HIPÓTESIS	12
MÉTODOS	13
CRITERIOS DE SELECCIÓN	
INCLUSIÓN	
EXCLUSIÓN	
DESENLACES A ESTUDIAR	
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	14
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	17
RESULTADOS	18
CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA	19
PACIENTES TRATADOS SIN INTERFERÓN	20
PACIENTES TRATADOS CON INTERFERÓN	21
REACCIONES ADVERSAS A INTERFERÓN	22
CONCLUSIONES	24
BIBLIOGRAFÍA	24

ANTECEDENTES

1. ENFERMEDAD GRANULOMATOSA CRÓNICA (DEFINICIÓN)

La Enfermedad Granulomatosa Crónica (EGC), es una inmunodeficiencia primaria con una base genética heterogénea, que en general se caracteriza por infecciones bacterianas y fúngicas recurrentes, que amenazan la vida y condiciona la formación de granulomas¹.

Es causada por una alteración en la producción del anión superóxido de los fagocitos (neutrófilos, macrófagos, eosinófilos), que resulta en una incapacidad para destruir ciertas bacterias y hongos generalmente catalasa-positivos, con formación de granulomas inflamatorios en los tejidos ¹ y probablemente un riesgo incrementado de desarrollar enfermedades autoinmunes ². El diagnóstico se realiza mediante pruebas de función de los neutrófilos, y se determina por genotipo el defecto exacto.

Comprende cinco defectos genéticos en las subunidades proteicas del complejo enzimático Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato (NADPH) oxidasa, cuya función es generar especies reactivas de oxígeno (ROS) a partir de la fagocitosis de microorganismos, que, entre otros mecanismos microbicidas, liberan y activan proteasas de gránulos azurófilos de proteasas (catepsina G y elastasa) ³.

Mutaciones en cualquiera de estos 5 genes que codifican para el complejo NADPH oxidasa, causan EGC, la cual tiene una incidencia aproximada de 1:250,000 recién nacidos vivos ⁴. En alrededor del 70% de los casos se encuentran defectos recesivos ligados al cromosoma X en NOX2 (gen *CYBB*, locus *Xp21.1*) y son los más severamente afectados; En el 20-33% de los casos, se encuentran defectos autosómicos recesivos en *p47^{phox}* (gen *NCF1* locus 7q11.23) en los cuales parecen tener una mejor supervivencia (49.6 años vs 37.8 años en EGC ligada a X); y el porcentaje restante para defectos en *p22^{phox}* (*CYBA*: 16q24) y *p67^{phox}* (*NCF2*, 1q25), que son muy raros (aproximadamente 5% cada uno).

2. FISIOPATOLOGÍA

El “estallido respiratorio” incluye la conversión catalítica del oxígeno molecular al radical libre superóxido (O_2^-), que a su vez origina peróxido de hidrógeno (H_2O_2), ácido hipocloroso ($HOCl$), y radical hidroxilo (OH^\cdot), los cuales juegan un papel importante en la destrucción de bacterias y hongos patógenos. La enzima que cataliza el estallido respiratorio es NADPH oxidasa, y la producción de superóxido puede mediar la defensa intracelular del anfitrión indirectamente mediante la activación de proteasas en los neutrófilos ⁵. El flujo de electrones a los fagosomas es compensado por el flujo de cationes a través de la membrana del

fagosoma resultando en alcalinización y cambios tónicos al interior de la vacuola, lo que es en sí mismo deletéreo para los microorganismos fagocitados.

El incremento iónico permite la solubilidad y activación de los gránulos, como la Elastasa de los neutrófilos y la Cathepsina G, lo que conduce a la formación de una matriz de proteoglicanos aniónica en los gránulos primarios. En la EGC dicha matriz de gránulos no se forma después de la fusión con el fagosoma. Los neutrófilos también liberan proteínas citolíticas y granulares como la cromatina (histonas), que se mezclan para formar trampas extracelulares de neutrófilos (NETs), las cuales actúan contra bacterias y hongos. En la EGC los neutrófilos son deficientes en la formación de NET's, lo cual se resuelve después de terapia génica en pacientes con X-EGC y Aspergilosis pulmonar refractaria a tratamiento ⁶.

Algunos estudios recientes sugieren un papel adicional de la NADPH oxidasa en el proceso de depuración de neutrófilos activados e infectados mediado por macrófagos. Se ha encontrado disminución de PPAR γ , que se caracteriza por la regulación positiva de las proteinasas de los macrófagos involucradas en la apoptosis celular ⁷. Los esteroides sistémicos se utilizan en el tratamiento debido a que previenen la producción de TNF- α y promueven la fagocitosis de neutrófilos activados ⁸.

3 .CUADRO CLÍNICO

La disregulación de los linfocitos Th-17 controladores condiciona infecciones severas recurrentes e inflamación, ocasionando formación de granulomas ⁹, a pesar del progreso significativo en antibioticoterapia y antifúngicos. Grandes estudios han demostrado un rango de infecciones de 0.15 a 0.3 por paciente al año ¹⁰. Los sitios de infección más frecuentes son: piel, ganglios linfáticos, pulmón e hígado. Ocasionalmente los pacientes pueden presentar fiebre de bajo grado e incluso estar asintomáticos, por lo que en estos casos se utilizan estudios de imagen para el monitoreo y marcadores de inflamación como PCR y VSG.

En Norteamérica y Europa predominan los siguientes microorganismos: *Staphylococcus aureus* 30% (linfadenitis, absceso hepático), *Burkholderia spp* (neumonía necrosante, sepsis), *Serratia marcescens* (úlceras en piel, osteomielitis y sepsis), *Nocardia* y *Aspergillus spp* 26% (neumonía, diseminación a cerebro y hueso), y *Salmonella* 16% ¹¹. En China, Irán y América Latina se encuentran además infecciones por micobacterias (asociadas sobre todo a la aplicación rutinaria de la vacuna *Bacille Calmete-Guerin* y *M. tuberculosis*) ¹². En el Mediterráneo se ha observado la presencia de síndrome hemofagocítico asociado a Leishmania y Burkholderia ¹³.

En Europa la afección pulmonar se presenta en 66%, principalmente por *Aspergillus spp.*; en piel 53%, en nódulos linfáticos 50%, en el tracto gastrointestinal 48% y en el hígado 32% ¹⁴. En EUA 30% de los pacientes padecen absceso hepático y el 25% cursan con el más de una vez, no suele utilizarse el drenaje percutáneo como tratamiento debido a que el absceso puede

presentar múltiples localizaciones. Las infecciones de la piel y nódulos linfáticos han disminuido y constituyen aproximadamente 20% de las infecciones ¹⁵.

El 53% de los pacientes presentan abscesos en piel principalmente por *S. aureus*. Los pacientes que cuentan con la vacuna de BCG presentan como reacción adversa linfadenitis o becegeitis. En el mayor registro de EUA solo se aisló en el 8% micobacterias¹⁶, donde no se administra de manera rutinaria la vacuna BCG; mientras que en Francia, donde la BCG se aplicaba obligatoriamente al nacimiento hasta hace pocos años, la frecuencia alcanzaba un 22%.

Hay algunos aislamientos que prácticamente son definitorios de EGC, en especial *Burkholderia cepacia*, ya que prácticamente no se observa en otras inmunodeficiencias. Los patógenos emergentes en pacientes con EGC incluyen Gram negativos (*Granulibacter bethesdensis*, que causa linfadenitis) ¹⁷, Gram positivos (*Actinomyces spp*, que causa actinomicosis severa) ¹⁸, y hongos (*Neosartorya adagawae*) ¹⁹.

En los últimos 10 años en EUA, 80% de los pacientes con EGC que cursaban con neumonía fueron sometidos a procedimientos diagnósticos por biopsia con aguja y lavado alveolar. De estos procedimientos, en el 52% de los casos se identificó la presencia de algún agente etiológico, en menos del 10% se encontró coinfección bacteriana y fúngica, y las infecciones virales se encontraron en rangos similares a la población general ¹⁵.

4. DIAGNÓSTICO

La edad media del diagnóstico es 5.4 años ¹⁵. El diagnóstico provisional se realiza mediante las pruebas de reducción de Nitroazul de tetrazolio (NBT) con microscopía de luz; o la prueba de oxidación de 1,2,3-dihidrorhodamina (DHR), mediante citometría de flujo el cual demuestra un estallido respiratorio disfuncional.

La DHR entra libremente al fagocito y es oxidada intracelularmente a Rodamina por el peróxido de hidrogeno, difusible después de la estimulación fagocítica. La NBT es una tinción amarilla que es cofagocitada con partículas de microorganismos, cuando el superóxido la reduce se observa una tinción azulada en los fagosomas. Los pacientes con EGC clásica no presentan formación de Formazán, sin embargo el ensayo de NBT es subjetivo y está basado en la inspección de un número limitado de células.

La prueba de DHR puede dar falsos negativos, lo cual puede ser interpretado como una variante de la deficiencia de NADPH oxidasa.

El diagnóstico definitivo se realiza mediante Westernblot demostrando la ausencia de uno de los componentes de NADPH, y por secuenciación de DNA.

5. PRONÓSTICO

La EGC era conocida como Granulomatosis fatal de la infancia, porque era uniformemente fatal y los pacientes rara vez llegaban a la adolescencia. A partir

de la profilaxis con antibióticos, la supervivencia media es de 30 años ²⁰. La expectativa de vida en Europa es de 37.8 años para la enfermedad ligada al cromosoma X, y 49.6 años en pacientes con formas Autosómicas recesivas.

La principal causa de muerte es por aspergilosis pulmonar destructiva, refractaria a antifúngicos. En un estudio realizado en Europa se encontró una mortalidad del 20%, principalmente secundaria a infecciones como neumonía y sepsis. En esta última, el principal patógeno aislado fue *Burkholderia cepacia*. ²¹.

6. TRATAMIENTO

El único tratamiento curativo de EGC, disponible a partir de 1973, es el trasplante de médula ósea; el cual se ha realizado en los últimos 10 años, y la supervivencia ha mejorado con el advenimiento de regímenes no mieloablativos como fludarabina, ciclofosfamida y Globulina antitimocito (ATG) o Alemtuzumab ²². Los pacientes sometidos a este tratamiento tienen una supervivencia de 71-80% en Norteamérica, y de 90-96% en Europa en pacientes con trasplante alogénico ²³. La terapia génica se ha utilizado con éxito notable en Zurich por el grupo de J. Reichenbach pero aún no ha superado su condición experimental.

La profilaxis antibacteriana (Trimetoprim/Sulfametoxazol) es utilizada en 93% de los casos y la antifúngica en 68% (itraconazol en 55%, posaconazol en 30%, voriconazol 15%). En caso de intolerancia o alergia a las sulfas, se utiliza Trimetoprim solo, cefalosporinas o quinolonas. Se presenta toxicidad en 36% de los pacientes: 15% corresponde a fotosensibilidad, principalmente asociado a voriconazol. En 1990 Margolis *et al* en Bethesda reportaron una disminución en la frecuencia de infecciones no fúngicas de 7.1 a 2.4 por 100 meses-paciente, en pacientes con EGC autosómica recesiva, y de 15.8 a 6.9 infecciones por 100 meses-paciente, en EGC ligada al X.

En infecciones agudas se debe iniciar antibioticoterapia según los agentes infecciosos más probables, antes de los resultados de cultivos incluyendo *S. aureus*, *Burkholderia*, *S. marcescens* y *Nocardia*. En caso de absceso hepático, se requiere valorar drenaje quirúrgico y antibióticos durante uno a dos meses, cuando el drenaje está contraindicado se utilizan esteroides a 1 mg/kg/d más los antibióticos ²⁴.

Interferón Gamma en Enfermedad Granulomatosa Crónica

En la década de 1980 el potencial curativo del INF- γ comenzó a investigarse como agente terapéutico en EGC. Estudios preliminares *in vitro* e *in vivo* demostraron que administrar INF- γ recombinante (rINF- γ) incrementó significativamente la producción de O₂⁻ y la capacidad fagocítica contra *Staphylococcus aureus*. En dos pacientes con EGC ligada al X, el tratamiento con rINF- γ se asoció también con incremento de los niveles de citocromo b₅₅₈ en los neutrófilos.

Sin embargo, estudios subsecuentes encontraron poca evidencia acerca del incremento en la producción de O₂⁻ asociada a cambios en el citocromo b₅₅₈ después del tratamiento con INF- γ recombinante ²⁵. En algunos pacientes esta

terapia se asoció con leve incremento de monocitos circulantes NBT positivos (1 a 20%), sugiriendo un posible mecanismo por el cual rINF- γ podría beneficiar a los pacientes con EGC, mediante la corrección parcial de los defectos en la cascada respiratoria en monocitos.²⁶

Clínicamente, el INF γ demostró en 1991 ser efectivo como profilaxis contra infecciones, en el único estudio adecuadamente diseñado que demostró una reducción considerable de las infecciones serias: el del Grupo Internacional de Estudio Cooperativo de EGC (ICGDCSG). Se trata de un ensayo clínico aleatorizado doble ciego placebo controlado en 128 pacientes de 15 centros en 4 países (Estados Unidos y Europa), estudiados a lo largo de un año. La frecuencia de infecciones en el grupo placebo, que recibió sólo profilaxis antimicrobiana, fue mayor que en el grupo que recibió además IFNG (9.7 vs 3.6 infecciones en 100 meses/paciente). El número total de infecciones serias durante el estudio fue de 20 en el grupo IFNG contra 56 en el grupo placebo ($p < 0.0001$). De 63 pacientes asignados a IFNG, 14 tuvieron infecciones serias, comparados con 30 de 65 pacientes en el grupo placebo ($p = 0.0006$).

Este estudio fue cuestionado en una Carta al Editor²⁷ por un grupo de inmunólogos en París y Zurich, a quienes les pareció excesiva e inexplicable la frecuencia de infecciones al año reportadas por los autores del ensayo clínico: excesiva, porque los pacientes europeos, en la experiencia de sus médicos, se infectan menos frecuentemente que incluso el grupo que recibió IFNG; esto es, 2.0 y 1.8 infecciones serias por 100 meses/paciente en el Hôpital Necker Enfants Malades y en la Universitäts Kinderklinik, respectivamente. Inexplicable, porque sus pacientes reciben el mismo antibiótico profiláctico (trimetoprim/sulfametoxazol) que los pacientes del estudio, y no había diferencias demográficas o una mayor proporción de casos ligados al X en los pacientes del estudio comparados con los suyos. Además, los pacientes de los centros europeos dentro del Grupo Internacional (en Amsterdam y otras ciudades) no redujeron significativamente el número de infecciones serias en el estudio multicéntrico.

La respuesta del Grupo Internacional²⁸, fue señalar que los pacientes con EGC en Europa tienen una mortalidad más elevada en los primeros años de vida, reportada en 26%, y que podrían estar hablando de un subgrupo de pacientes con una enfermedad más leve. Además, en el sistema de Salud de Estados Unidos suelen ser más agresivos al establecer el tratamiento inicial de un episodio infeccioso, lo que podría influir en el criterio de infección seria, definida como aquella que amerita hospitalización y tratamiento con antibiótico endovenoso.

El resto de los estudios clínicos disponibles son anecdóticos, de un solo paciente^{26,29}, algunas series de casos³⁰, y algunos cuasi-experimentales de Antes-después. Algunos otros reportan efectos adversos atribuidos al INF- γ ³¹, o ninguna mejoría a pesar de su uso³². Un estudio de seguimiento en 76 pacientes con EGC que recibieron rINF- γ mostró seguridad a largo plazo y disminución de infecciones graves y mortalidad³³.

En el INP, Aristóteles Alvarez revisó los expedientes de 20 pacientes con

EGC, y comparó aquéllos tratados de manera temprana con IFNG (desde el momento del diagnóstico o antes de 6 meses), contra aquéllos tratados con IFNG de manera tardía (6 meses o más, después del diagnóstico). No encontró diferencias significativas en la frecuencia de episodios infecciosos, pero sí un mayor riesgo (51% más) de presentar cualquier infección en el grupo tardío. Los pacientes en el grupo “temprano”, sin embargo, tenían menor edad.³⁴

El defecto inmunitario en la EGC consiste en una NADPH oxidasa incapaz de producir suficiente superóxido.³⁵ No hay en EGC una deficiencia de Interferón gamma. Por el contrario, hay un desequilibrio de la inmunidad celular y la producción de citocinas hacia Th1, con niveles séricos elevados de IgG, IFN γ y TNF γ , lo que favorece complicaciones como granulomas, enfermedad intestinal inflamatoria y manifestaciones autoinmunes

Aunque parece que la mejoría con el tratamiento de rINF- γ no se debe al incremento de la actividad de NADPH oxidasa en neutrófilos, el mecanismo responsable es desconocido. Estudios recientes buscando la expresión del citocromo b₅₅₈ en Japón³⁶, encontraron un incremento en los niveles de RNAm en las células de pacientes con EGC, sugiriendo que el rINF- γ corrige parcialmente el defecto en el núcleo celular.

Un pequeño subgrupo de pacientes con EGC ligada a X con mutaciones del tipo *splice-site* que condiciona errores de edición en *CYBB*, podría responder adecuadamente al IFN γ ³⁷. Se podría especular entonces un mecanismo de acción diferencial, que ayudaría sobre todo, o quizá exclusivamente, a un subgrupo de pacientes con EGC: aquéllos con mutaciones del tipo *splicing*, que afectan los sitios canónicos de edición del transcripto.

Se han reportado efectos adversos hasta en un 13% de los pacientes, los principales son fiebre, mialgias e irritabilidad. El inserto de Immukin© incluye, como efectos adversos “posibles”, Lupus eritematosos sistémico (LES) y “otras enfermedades autoinmunes”, y ha habido reportes anecdóticos de efectos adversos serios en pacientes que recibían crónicamente IFNG.³⁸ Desde 1985 se han reportado efectos adversos como desarrollo de autoanticuerpos y enfermedades autoinmunes en pacientes bajo tratamiento crónico con interferón, principalmente alfa, pero también gamma, incluyendo: anticuerpos antinucleares, tiroiditis autoinmune³⁹, esclerosis múltiple y lupus eritematoso.

Cualquier tratamiento adyuvante debería demostrar su eficacia a nivel molecular, ya sea en modelos animales o en células *in vitro* o *ex vivo*. Los esfuerzos en este sentido fueron negativos o contradictorios al principio.

El tratamiento a largo plazo con rINF- γ es costoso y amerita grandes dosis y uso prolongado para alcanzar máximos resultados, por lo que no se utiliza de forma rutinaria en el tratamiento profiláctico de EGC en Europa⁴⁰. En Estados Unidos de América (EUA) casi 3 de cada 4 pacientes (73%) con EGC reciben IFN γ ⁴¹, mientras que en Europa sólo es 1 de cada 3 (33%)⁴². En Japón la proporción aproximada es 2 de cada 3 (60.9%)⁴³, y en México, gracias a una generosa donación de Boehringer-Ingelheim, 4 de cada 5 pacientes (81.5%) diagnosticados

con EGC recibe Immukin tres veces por semana. Para el resto de Latinoamérica el costo del IFN γ es inaccesible ⁴⁴.

En Europa no se reporta una frecuencia de enfermedades autoinmunes mayor que en la población general (6%), sin embargo en Estados Unidos se le considera un factor de riesgo para desarrollar autoinmunidad (prevalencia del 10 al 30%)⁴⁵.

En Europa los pacientes con EGC parecen tener buena respuesta sólo con profilaxis antimicrobiana y vigilancia. En México, a pesar del tratamiento con IFN γ los pacientes siguen falleciendo al llegar a la adolescencia por Aspergillosis pulmonar invasiva, pero además desarrollan complicaciones autoinmunes durante su seguimiento.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las infecciones en los pacientes con EGC se asocian con una mortalidad incrementada desde los primeros años de vida, y una supervivencia limitada a partir de la adolescencia, mientras que las complicaciones infecciosas como destrucción pulmonar, y las no infecciosas como enfermedad intestinal inflamatoria, granulomas obstructivos, autoinmunidad y cáncer condicionan una alta morbilidad y mortalidad reduciendo la calidad de vida de los pacientes.

El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas y la terapia génica son los únicos tratamientos potencialmente curativos. El tratamiento crónico incluye antibióticos profilácticos e interferón gamma recombinante humano subcutáneo (rIFN γ) 3 veces por semana, para prevenir infecciones.

Sin embargo la evidencia clínica sobre la eficacia del IFN γ en EGC es escasa. El IFN γ se utiliza rara vez en Europa (33%), donde los pacientes parecen tener una adecuada sobrevida sólo con profilaxis antimicrobiana oral (trimetoprim/sulfametoxazol e itraconazol); mientras que en EUA la mayoría de los pacientes son manejados con IFN γ (73%).

Debido a esta discrepancia en tratamientos y a que el tratamiento con IFN γ a largo plazo es costoso, reevaluamos su eficacia y seguridad clínica.

Acerca de su seguridad a largo plazo, se ha asociado con reportes de Lupus eritematoso sistémico y otras manifestaciones de autoinmunidad, complicaciones mucho más frecuentes en pacientes americanos con EGC (10-26%) cuando se compara con la población general (5%) y con los pacientes europeos con EGC (6%).

JUSTIFICACIÓN

La EGC es una inmunopatía congénita con una susceptibilidad incrementada a bacterias, hongos y micobacterias, desde edades tempranas. Lo que resulta en infecciones oportunistas, severas, recurrentes y persistentes que llevan a una supervivencia limitada y calidad de vida reducida.

Los tratamientos crónicos disponibles incluyen profilaxis antimicrobiana oral, y la administración de IFN γ subcutáneo tres veces por semana, lo cual incrementa los costos de atención; además de que la evidencia acerca de la eficacia clínica y la seguridad a largo plazo del IFN γ no es suficiente y es contradictoria.

La información obtenida nos puede ayudar a mejorar la toma de decisiones en cuanto al tratamiento crónico ambulatorio de los pacientes de nuestro hospital, con implicaciones económicas y de salud para el paciente, ya que estos pacientes se beneficiarán con un manejo que reduzca el número de infecciones y complicaciones asociadas, lo que resulta en un mejor pronóstico y una mejor calidad de vida, así como un ahorro considerable en los recursos destinados a su atención; además de generar nuevas hipótesis y futuros estudios: con los datos obtenidos de esta revisión sistemática se plantea seleccionar a los pacientes más probables de beneficiarse con el uso crónico de IFN γ .

OBJETIVOS

GENERAL

Evaluar la eficacia y seguridad del INF γ recombinante subcutáneo como tratamiento agregado a la profilaxis antimicrobiana, en comparación con el uso de la profilaxis antimicrobiana exclusivamente, en pacientes con EGC.

PARTICULARES

1. Comparar el riesgo relativo de número de infecciones graves con IFN γ comparado a antimicrobianos orales sin IFN γ , en pacientes con EGC.
2. Comparar la diferencia de medias entre el tiempo de estancia intrahospitalaria (DEIH) en pacientes tratados con IFN γ , comparado con aquéllos tratados con sólo antimicrobianos orales (sin IFN γ), en pacientes con EGC.
3. Comparar la *razón de riesgo (hazard ratio)* del tiempo libre de eventos en pacientes tratados con IFN γ comparado con antimicrobianos orales sin IFN γ en pacientes con EGC.
4. Comparar el riesgo relativo de muerte con IFN γ comparado a antimicrobianos orales sin IFN γ en pacientes con EGC.
5. Comparar el riesgo relativo de fiebre y manifestaciones autoinmunes con IFN γ comparado a antimicrobianos orales sin IFN γ en pacientes con EGC.

HIPÓTESIS

El uso de INF γ en el tratamiento de Enfermedad Granulomatosa Crónica es eficaz en términos de reducción del riesgo en un 50% de infecciones graves, eventos adversos, tiempo libre de eventos, disminución de estancia hospitalaria y mortalidad comparado con la profilaxis antimicrobiana más placebo.

El uso de IFN γ como tratamiento agregado de la EGC es igual de seguro en términos de riesgo de fiebre y manifestaciones autoinmunes (autoanticuerpos séricos, Lupus y otras enfermedades), comparado con la profilaxis antimicrobiana.

MÉTODOS

TIPO DE ESTUDIO: Revisión Sistemática de la literatura

CRITERIOS DE SELECCIÓN:

INCLUSIÓN:

Pacientes de cualquier edad y sexo, reportados en la literatura con diagnóstico de EGC basado en una historia clínica compatible y un estudio confirmatorio (NBT, DHR Inmunofluorescencia, y/o diagnóstico genético) , manejados con interferón gamma recombinante subcutáneo agregado al tratamiento crónico habitual con profilaxis antimicrobiana, comparado con la profilaxis antimicrobiana exclusiva.

Se formaron los subgrupos de pacientes: por edad (adultos y niños); por tipo de herencia: (ligada al X y Autosómica-recesiva).

TIPOS DE ESTUDIOS: Principalmente ensayos clínicos y cuasi-experimentales, sin restricción de tiempo ni lenguaje. En su defecto, analizaremos estudios observacionales.

EXCLUSIÓN:

Pacientes reportados con trasplante previo, uso reciente de interferón gamma y esteroides (2 semanas previas), terapia génica, y estudios retrospectivos.

DESENLACES A ESTUDIAR :

PRIMARIOS

- Riesgo de infecciones graves (lifadenitis, absceso hepático, osteomielitis)
- Riesgo de eventos adversos (alergia, hepatopatía)
- Tiempo libre de infecciones
- Riesgo de muerte

SECUNDARIOS

- Tiempo de estancia hospitalaria
- Riesgo de fiebre
- Frecuencia de manifestaciones autoinmunes

MÉTODOS DE BUSQUEDA:

Se realizó una búsqueda de los siguientes términos MeSH:

*“Chronic granulomatous disease” AND “interferon gamma” OR interferongamma
Antibiotics, Placebo, No therapy, Clinical trial, trial.*

La búsqueda se realizó en las bases de datos: MEDLINE, EMBASE, LILACS, WHO, CENTRAL, *The Cochrane Library*, y además en registros de congresos y asociaciones: ESID, LASID, CIS, AAAAI, PAGID, ASCIA, RAPID, de 1976 a 2015.

MÉTODOS:

1. Estandarización de los evaluadores en apreciación crítica, para evaluar primero el tipo de diseño de cada estudio incluido de manera sistemática y uniforme. Se consideró:

Ensayo clínico: es aquel diseño en que se introduce una maniobra en un grupo y se compara contra otro grupo testigo que no es expuesto a dicha maniobra.

Estudio cuasi-experimental: aquellos estudios que realicen una maniobra pero no incluyan condiciones controladas y/o grupo de comparación. Por ejemplo, los estudios antes-después, en los que se comparan parámetros de un mismo grupo antes y después de haber introducido una maniobra.

Cohorte: Estudio en el que existe un seguimiento y registro de parámetros en un grupo expuesto, en el que no se controlan las condiciones ni se introduce una maniobra (por ejemplo, médicos adultos que por su cuenta y riesgo acostumbran tomar una aspirina todos los días; o bien, sobrevivientes de un accidente industrial nuclear); comparados con otro grupo no expuesto.

2. Estandarización de los evaluadores en riesgo de sesgo. Se realizaron varias sesiones de tipo seminario para capacitar a los observadores en la evaluación de riesgo de sesgo. Se realizó un ejercicio piloto de 5 estudios y se obtuvo su consistencia medida a través del índice de concordancia Kappa para evaluar el grado de acuerdo entre los evaluadores.

Para evaluar el riesgo de sesgo de los estudios utilizamos las herramientas:

Para ensayos clínicos y cuasi-experimentales, la herramienta sugerida por la Colaboración Cochrane: Risk of Bias (RIB), y para los estudios observacionales, la herramienta STROBE

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

No se pudo realizar un meta-análisis debido a la heterogeneidad importante ($Q < 0.10$ o una $I^2 > 30\%$), por lo que se realizará un modelo de efectos aleatorios por el método de DerSimonian Lair por cada subgrupo con la finalidad de disminuir la heterogeneidad entre los estudios.

- Para variables dicotómicas se obtendrá riesgo relativo e intervalo de confianza al 95% (RR; CI95%).

- Para variables continuas: diferencia de medias estandarizada con su intervalo de confianza (SMD; CI95%).
- Se calculará el sesgo de publicación a través de gráficos de embudo (*funnel plot*).
- La heterogeneidad se calculará a través de la prueba χ^2 de Mantel-Hanzel (Q de Cochran) y se expresará de forma porcentual a través de la I^2 .
- Se expresará el meta-análisis a través de gráfico de bosque (*forest plot*).

Llevaremos a cabo un análisis estadístico utilizando el programa Review Manager (RevMan). Usaremos el modelo de efectos fijos para datos combinados en ausencia de heterogeneidad significativa sólo si los estudios son suficientemente similares. Si encontramos una heterogeneidad significativa, se identificará la fuente de heterogeneidad ; y se realizará el meta análisis a través de un modelo de efectos aleatorios; así mismo se realizará un análisis de sensibilidad para cada uno de los subgrupos.

Datos dicotómicos

Para los datos dicotómicos, presentaremos los resultados como riesgo relativo con intervalo de confianza de 95%.

Datos continuos

Para los datos continuos, usaremos la media diferencial si los resultados son medidos de la misma manera en los estudios. Utilizaremos la media estandarizada para combinar los estudios que miden los mismos resultados, aunque usen diferentes métodos. Si hay evidencia de sesgo de datos será reportado.

Análisis de las publicaciones

Estudios con grupos aleatorizados. Incluimos estudios aleatorios de grupos en el análisis, junto con estudios aleatorizados individuales. Ajustaremos el tamaño de las muestras usando los métodos descritos en *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* utilizando un estimado de Coeficiente de Correlación Intragrupo (ICC), derivado del estudio (si es posible), de un estudio similar o de un estudio de población similar.

Si usamos ICCs de otras fuentes, lo reportaremos y conduciremos análisis de sensibilidad a investigar el efecto de variación en el ICC. Si identificamos ambos estudios aleatorios de grupos e individuales, planeamos sintetizar la información relevante. Consideraremos razonable combinar los resultados de ambos si hay una pequeña heterogeneidad entre los diseños del estudio y la interacción entre el efecto de intervención y la elección de la unidad de aleatorización se considera improbable.

También reconoceremos la heterogeneidad en la unidad de aleatorización y desarrollo de un análisis de subgrupo para investigar los efectos de la unidad de aleatorización.

Procesamiento de los datos faltantes

Para los estudios incluidos, documentaremos los niveles de desgaste. Investigaremos el impacto de incluir estudios con altos niveles de datos perdidos en la evaluación total del efecto al tratamiento mediante análisis de sensibilidad.

Para todos los resultados, llevaremos a cabo un análisis por intención de tratar, tanto como sea posible, es decir, intentaremos incluir a todos los participantes aleatorizados a cada grupo, y todos los participantes serán analizados en el grupo al cual fueron asignados, a pesar de haber recibido o no la intervención asignada. El denominador para resultado en cada estudio será el número aleatorizado sin incluir participantes cuyo resultado se conozca perdido.

Cuando los datos no estén reportados para algunos resultados o grupos, intentaremos contactar a los autores del estudio para obtener mayor información.

Evaluación de la heterogeneidad

Evaluaremos la heterogeneidad entre los estudios, si es apropiado, usando las pruebas estadísticas T^2 , I^2 y Chi^2 . Estimaremos la heterogeneidad como substancial si I^2 es mayor que 30% y T^2 es mayor que cero, o hay un valor bajo de P (menor a 0.10) en la prueba Chi^2 para heterogeneidad. Estudiaremos la heterogeneidad mediante análisis de subgrupo. Usaremos el efecto fijo del meta-análisis como un resumen total si se considera apropiado.

Evaluación del reporte de sesgos

Donde sospechemos un reporte de sesgos, intentaremos contactar a los autores del estudio pidiéndoles los resultados de los datos perdidos. Cuando no sea posible, y los datos perdidos introduzcan sesgos serios, el impacto al incluir tales estudios en la valoración total de resultados, será estudiado con un análisis de sensibilidad.

Cuando sospechemos sesgo de publicación (es decir, cuando sólo haya reporte de resultados estadísticamente significativos) usaremos gráficos de embudo (Higgins 2011). Incluiremos éste proceso estadístico en la interpretación del análisis. Evaluaremos la asimetría visual de los gráficos de efectos y usaremos pruebas formales. Para las variables continuas utilizaremos la prueba propuesta por Egger 1997, para variables dicotómicas utilizaremos la prueba propuesta por Harbord 2006. Si se detecta asimetría en cualquiera de estas pruebas o es sugestiva de valoración visual, desarrollaremos análisis exploratorios para investigarlo.

Síntesis de datos

Realizaremos análisis estadísticos usando el programa Review Manager (RevMan). Usaremos el modelo de efectos fijos para datos combinados en los cuales es razonable asumir que los estudios se estiman sobre la misma línea de tratamiento, es decir, donde los estudios examinan la misma intervención, y las poblaciones y métodos son juzgados como suficientemente similares. Si hay heterogeneidad clínica suficiente para esperar que el tratamiento de los efectos

subyacentes difieran entre los estudios, o si se detecta heterogeneidad estadística sustancial usaremos el modelo de efectos-aleatorios para producir un resumen total si un efecto del tratamiento promedio de los estudios es considerado clínicamente significativo. El resumen de los efectos aleatorios será tratado como el rango promedio de posibles efectos del tratamiento y discutiremos las implicaciones clínicas de los efectos del tratamiento que difieren entre los estudios. Si el efecto del tratamiento promedio no es clínicamente significativo, no combinaremos los estudios.

Si usamos el análisis de efectos aleatorios, presentaremos los resultados como el efecto promedio del tratamiento con 95% de intervalos de confianza, y el estimado de T^2 e I^2 .

Análisis de subgrupos e investigación de la heterogeneidad

La heterogeneidad fue sustancial, por lo que la investigaremos usando análisis de subgrupos y análisis de sensibilidad. Consideraremos si el resultado total es significativo, usaremos análisis de efectos aleatorizados para producirlo.

Planeamos llevar a cabo los siguientes análisis de subgrupos:

1. Niños y adultos.
2. Variedad genética (XL o AR)

El análisis de subgrupos se restringirá a los resultados primarios. Evaluaremos diferencias entre subgrupos mediante interacción de pruebas.

Análisis de sensibilidad

Si se identifican suficientes estudios, planeamos conducir análisis de sensibilidad como sigue.

- Los estudios aleatorizados controlados con alta calidad metodológica (estudios clasificados como Bajo riesgo de sesgo, sobre aquellos identificados como Alto riesgo de sesgo) (Higgins 2011).
- Sesgo de exclusión, como un estimado del porcentaje de participantes perdidos durante el seguimiento. Estudios con rango total de eliminación mayor a 30% o cuando las diferencias entre los grupos excedan 10% - o ambos – serán excluidos del meta-análisis, pero los incluiremos en la revisión.
- El cegamiento en la evaluación de los datos vs la evaluación de los datos sin cegamiento.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

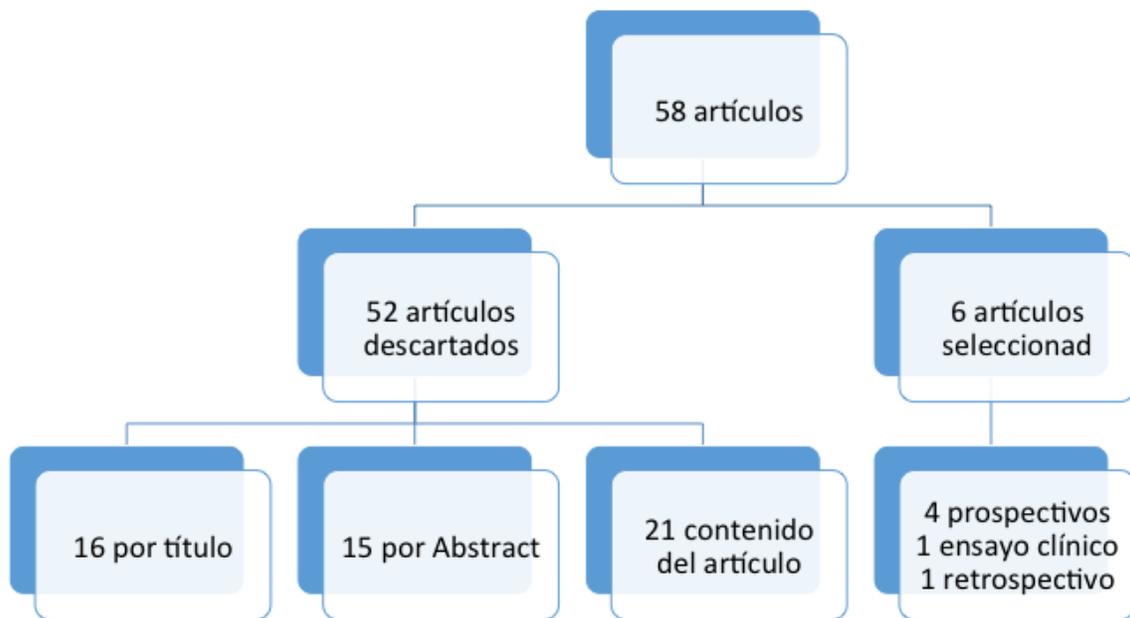
¿En pacientes con Enfermedad Granulomatosa Crónica, el uso de

Interferón Gamma como tratamiento agregado es eficaz en términos de reducción del riesgo de infecciones graves, eventos adversos, tiempo libre de eventos, disminución de estancia hospitalaria y muerte, comparado con la profilaxis antimicrobiana más placebo?

¿En pacientes con EGC el uso de IFN γ como tratamiento agregado es seguro en términos de riesgo de fiebre y manifestaciones autoinmunes (autoanticuerpos séricos, Lupus y otras enfermedades), comparado con la profilaxis antimicrobiana más placebo?

RESULTADOS

Encontramos 58 artículos, de los cuales se descartaron 52 artículos: 15 artículos por título, 15 artículos por Abstract, 21 artículos fueron descartados por contenido, seleccionamos 6 artículos 4 artículos prospectivos, 1 ensayo clínico, 1 artículo retrospectivo

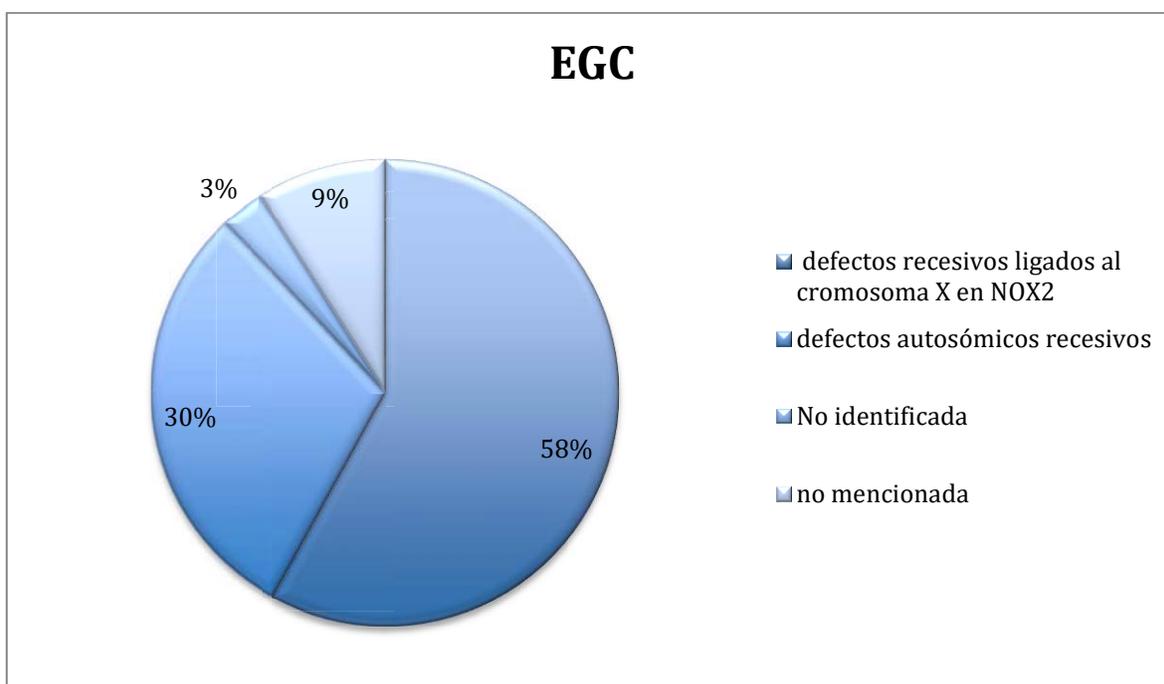


Características de la población estudiada

Se observaron 324 pacientes durante 319 meses dando alrededor de 688 pacientes año.

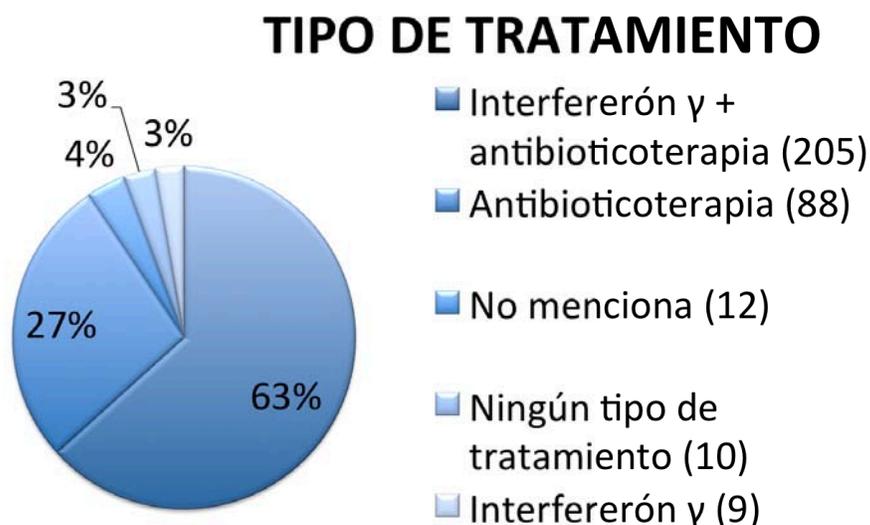
DATOS GENERALES						
AUTOR	AÑO	TAMAÑO DE MUESTRA	SIN PROFILAXIS	PROFILAXIS	SIN PROFILAXIS + INTERFERÓN γ	PROFILAXIS + INTERFERÓN γ
CGD	1991	128	10	55	7	56
Weening	1994	28				28
Bermiller	1995	30			2	28
Marciano	2004	76				76
Martire	2007	47		25		10
Kang	2015	15		8		7

De los 324 pacientes reportados en los estudios, en el 58% de los casos se encontraron defectos recesivos ligados al cromosoma X en NOX2 (gen CYBB, locus Xp21.1), 30% defectos autosómicos recesivos de los cuales 5% corresponden a defectos en el p22phox (CYBA: 16q24); en 3% de los pacientes no fue identificada la mutación, cabe mencionar que el 9% de los pacientes no se menciona el tipo de herencia



Tipo de tratamiento

Todos los estudios utilizaron misma dosis y vía de administración 50 µg/m² y para menores de <0.5m² de superficie corporal utilizaron 1.5 µg/kg vías subcutánea 3 veces por semana.



Pacientes no tratados con interferón

De los 6 estudios 3 estudios cuentan con grupo control no tratado con interferón gamma (CGD 1991, Martire 2007, Kang 2015)

Total de infecciones

2 estudios mencionan 237 infecciones totales mencionando una incidencia promedio de infecciones/año de 0.036 (CGD 1991, Martire 2007)

Solo 1 estudio reporta el porcentaje de pacientes que presentó por lo menos 1 infección correspondiente al 46%. (CGD 1991)

Total de infecciones severas

Los 3 estudios mencionan un total de 191 infecciones severas en un total de 98 pacientes dando un índice promedio de infección severa/ año de 0.85 (CGD 1991, Martire 2007, Kang 2015)

RESULTADOS EN INFECCIÓN SIN INTERFERÓN γ				
AÑO	# INFECCIONES (#PACIENTES)	INFECCIONES / AÑO	# INFECCIONES SEVERAS	INFECCIONES SEVERAS /AÑO
1991	154 (46)	0.012	55	1.1
2007	83 .	0.06	19	0.01
2015			117	1.16

Pacientes Tratados con interferón

Total de infecciones

Solo el estudio (Martire 2007) menciona la incidencia de infecciones por paciente año del 0.03

Total de infecciones no severas

4 estudios mencionan que en promedio el 54% de los pacientes tratados presentaron al menos 1 infección no severa (CGD 1991, Bermiller 1995, Marciano 2004, Martire 2007,)

Total de infecciones severas

Se presentaron un total de 177 infecciones severas en 214 pacientes

4 estudios mencionan que el 24% de los pacientes presentaron al menos 1 infección severa (32 /131 pacientes) (CGD 1991, Weening 1994 Bermiller 1995, Martire 2007)

Dando un índice promedio de infecciones severas/paciente- año de 0.45

(CGD 1991, Weening 1994 Bermiller 1995, Marciano 2004, Martire 2007, Kang 2015)

RESULTADOS EN INFECCIÓN CON INTERFERÓN γ			
AÑO	# DE PACIENTES CON INFECCIÓN NO SEVERA	# INFECCIONES SEVERAS (#PACIENTES)	INFECCIONES SEVERAS /AÑO
1991	46	20 (14)	0.38
1994		17 (12)	0.4
1995	21	7 (3)	0.13
2004	27	98 .	0.3
2007	7	3 (3)	0.01
2015		35 .	1.49

Reacciones adversas a interferón

Weening 1994 y Marciano 2004 mencionan que se presenta al menos 1 reacción adversa al medicamento en el 54.7% de los pacientes

3 estudios mencionan que 4 pacientes tuvieron que dejar el estudio por eventos adversos correspondiente al 2.3% de los pacientes tratados con interferón (CGD 1991, Weening 1994, Marciano 2004)

Se encontraron 5 eventos adversos principales: fiebre, eventos similares a gripe, cefalea y rash, la mayoría e los cuales mejoraban con la administración de paracetamol.

5 estudios mencionan un promedio de mortalidad del 5.2% durante el estudio, ninguno de estos eventos atribuibles al uso de interferón

(CGD 1991, Weening 1994 Marciano 2004, Martire 2007, Kang 2015)

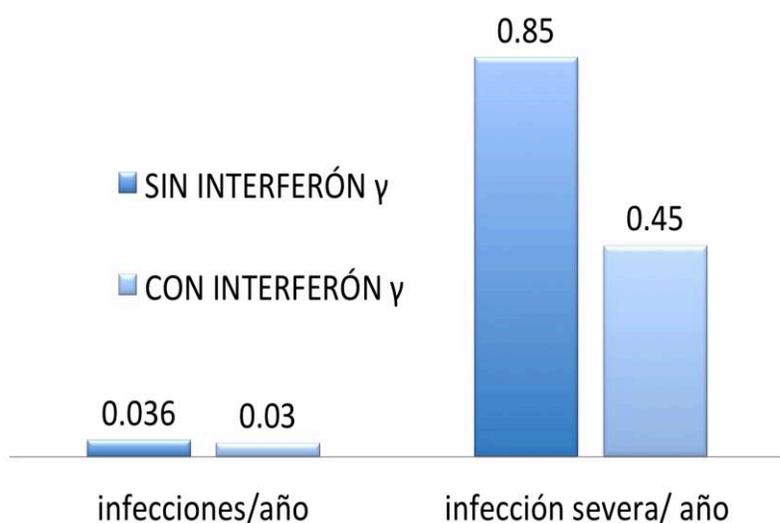
Bermiller 1995 y Marciano 2004 encontraron que no hay alteraciones en el crecimiento o desarrollo en el uso de interferón gamma a largo plazo

3 de los 6 estudios mencionan en sus conclusiones que el uso de interferon gamma es efectivo y reduce infecciones (CGD 1991, Weening 1994 Marciano 2004)

4 de los 6 estudios mencionan en sus conclusiones que el uso de interferon gamma es seguro (CGD 1991, Weening 1994 Bermiller 1995, Marciano 2004)

Los resultados recabados son positivos con efectos adversos infrecuentes. El riesgo de sesgo y la heterogeneidad fue elevado. Se anexa tabla con resultados preliminares.

AÑO	MORTALIDAD	REDUCE INFECCIONES	EFFECTIVO	SEGURO
1991	0	SI	SI	SI
1994	0	SI	SI	SI
1995	ND	SI	SI	SI
2004	6.6	SI	SI	SI
2007	13%	NO		
2015	6.6	CONTROVERSIAL		



CONCLUSIONES

En la literatura se menciona mayor incidencia de infecciones severas en pacientes con enfermedad ligada al X, sin embargo en el estudio de Kang 2015 en el que todos los pacientes son autosómicos recesivos se observa una incidencia casi 4 veces mayor de infecciones severas comparada con el resto de los estudios lo que eleva mucho el índice promedio de infecciones severas/paciente- año restando este grupo controversial la incidencia se reduce prácticamente al 50% dando un índice de infecciones severas/paciente de 0.244, esto concuerda con la teoría del Doctor que un pequeño subgrupo de pacientes con EGC ligada a X con mutaciones del tipo *splice-site* que condiciona errores de edición en *CYBB*, podría responder adecuadamente al IFN γ

El IFN γ se utiliza poco en Europa (33%), comparado con EUA(73%). En Europa los pacientes parecen tener una adecuada sobrevida sólo con profilaxis antimicrobiana y se ha observado un menor riesgo de autoinmunidad comparados con la experiencia en EUA y México. Debido a esta discrepancia y al costo del IFN γ , es importante reevaluar su eficacia y seguridad clínica. Se necesitan más estudios bien diseñados para poder emitir recomendaciones sobre el uso de IFN γ . Proponemos realizar un ensayo clínico prospectivo en pacientes mexicanos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ahlin, A., Elinder, G. & Palmblad, J. Dose-dependent enhancements by interferon-gamma on functional responses of neutrophils from chronic granulomatous disease patients. *Blood* **89**, 3396–3401. (1997).
2. Condino-neto, A. *et al.* Effect of therapy with recombinant human interferon-gamma on the release of nitric oxide by neutrophils and mononuclear cells from patients with chronic granulomatous disease. *J Interf. Cytokine Res.* **16**, 357–364 (1996).
3. Dinauer, M. & Ezekowitz, R. Interferon-gamma and chronic granulomatous disease. *Curr. Opin. Immunol.* **3**, 61–64 (1991).
4. Ezekowitz, R. Chronic granulomatous disease: an update and a paradigm for the use of interferon-gamma as adjunct immunotherapy in infectious diseases. *Curr Top Microbiol Immunol.* **181**, 283–292 (1992).
5. Ezekowitz, R. *et al.* Restoration of phagocyte function by interferon-gamma in X-linked chronic granulomatous disease occurs at the level of a progenitor cell. *Blood* **76**, 2443–2448 (1990).
6. Gallin, J. Interferon-gamma in the management of chronic granulomatous disease. *Rev. Infect. Dis.* **13**, 973–978 (1991).
7. Newburger, P. & Ezekowitz, R. Cellular and molecular effects of recombinant interferon gamma in chronic granulomatous disease. 1988;2(2):267-76.

- Hematol Oncol Clin North Am* **2**, 267–276 (1988).
8. Goddard, E., Hughes, E., Duys, P., Hoffman, E. & Beatty, D. Treatment of chronic granulomatous disease with recombinant gamma interferon. *S Afr Med J.* **81**, 81–83 (1992).
 9. Romani, L., Fallarino, F., De Luca, A., Montagnoli, C. & D'Angello, C. Defective Tryptophan catabolism underlies inflammation in mouse chronic granulomatous disease. *Nature* **451**, 211–215 (2008).
 10. Martire, B. *et al.* Clinical features, long-term follow-up and outcome of a large cohort of patients with Chronic Granulomatous Disease: an Italian multicenter study. *Clin Immunol* **126**, 155–164 (2008).
 11. Van den Berg, J. *et al.* Chronic Granulomatous disease: The European experience. *PLoS One* **4**, e5234 (2009).
 12. Lee, P., Chan, K. & Jiang, L. Susceptibility to mycobacterial infections in children with X-linked chronic granulomatous disease: a review of 17 patients living in a region endemic for tuberculosis. *Pediatr Infect Dis J.* **27**, 224–230 (2008).
 13. Martin, A., Marques, L. & Soler-Palacin, P. Visceral leishmaniasis associated hemophagocytic syndrome in patients with chronic granulomatous disease. *Pediatr Infect Dis J.* **28**, 753–754 (2009).
 14. Pasic, S., Abinun, M. & Pistignjat, B. Aspergillus osteomyelitis in chronic granulomatous disease: treatment with recombinant gamma-interferon and itraconazole. *Pediatr Infect Dis J* **15**, 833–834 (1996).
 15. Kang, E. *et al.* Chronic granulomatous disease: Overview and hematopoietic stem cell transplantation. *J. Allergy Clin. Immunol.* **127**, 1319–1326 (2011).
 16. Winkelstein, J. *et al.* Chronic granulomatous disease . Report on a national registry of 368 patients. *Med. Balt.* **79**, 155–169 (2000).
 17. Greenberg, D., Shoffner, A. & Zelazny, A. Recurrent Granulibacter bethesdensis infections and chronic granulomatous disease. *Emerg Infect Dis.* **16**, 1341–1348 (2010).
 18. Reichenbach, J., Lopatin, U. & Mahlaoui, N. Actinomyces in chronic granulomatous disease: an emerging and unanticipated pathogen. *Clin Infect Dis.* **49**, 1703–1710 (2009).
 19. Vinh, D. *et al.* Invasive aspergillosis due to Neosartorya udagawae. *Clin Infect Dis* **49**, 102–111 (2009).
 20. Seger, R. Chronic granulomatous disease: recent advances in pathophysiology and treatment. *J. Med.* **68**, 334–340 (2010).
 21. Lugo-Reyes, S. *et al.* Variant of X-Linked Chronic Granulomatous Disease Revealed by a Severe Burkholderia cepacia Invasive Infection in an Infant. *Case reports Immunol.* **2013**, 1–5 (2013).
 22. Horwitz, M. *et al.* Treatment of chronic granulomatous disease with nonmyeloablative conditioning and a T-cell-depleted hematopoietic allograft.

- N Engl J Med* **344**, 881–888 (2001).
23. Soncini, E. *et al.* Haematopoietic stem cell transplantation for chronic granulomatous disease—a single-centre experience. 2008;41(suppl):S28. *Bone Marrow Transplant.* **41**, S28 (2008).
 24. Spencer, D. & Darbyshire, P. Resolution of hepatic abscess after interferon gamma in chronic granulomatous disease. *Arch Dis Child* **70**, 356 (1994).
 25. Woodman, R., Erickson, R., Rae, J., Jaffe, H. & Curnutte, J. Prolonged recombinant interferon-gamma therapy in chronic granulomatous disease: evidence against enhanced neutrophil oxidase activity. *Blood* **79**, 1558–1562 (1992).
 26. Touza Rey, F. *et al.* The clinical response to interferon-gamma in a patient with chronic granulomatous disease and brain abscesses due to *Aspergillus fumigatus*. *An Med Interna* **17**, 86–87 (2000).
 27. Mouy, R. *et al.* Interferon gamma for chronic granulomatous disease. *N. Engl. J. Med.* **325**, 1516–7 (1991).
 28. Weening, R., Leitz, G. & Seger, R. Recombinant human interferon-gamma in patients with chronic granulomatous disease--European follow up study. *Eur J Pediatr* **154**, 295–298 (1995).
 29. Kourtis, A., Abramowsky, C., Ibegbu, C. & Kobrynski, L. Enlargement of the thymus in a child with chronic granulomatous disease receiving interferon gamma therapy. *Arch Pathol Lab Med* **122**, 562–565 (1998).
 30. Ahlin, A., Larfars, G., Elinder, G., Palmblad, J. & Gyllenhammar, H. Gamma interferon treatment of patients with chronic granulomatous disease is associated with augmented production of nitric oxide by polymorphonuclear neutrophils. *Clin Diagn Lab Immunol* **6**, 420–424 (1999).
 31. Halamish, A., Klar, A., Shoseyov, D., Blinder, G. & Hurvitz, H. Corticosteroid therapy reversed progressive chronic granulomatous lung disease following deterioration on interferon-gamma treatment. *Pediatr Pulmonol* **32**, 257–260 (2001).
 32. Mühlebach, T. J. *et al.* Treatment of patients with chronic granulomatous disease with recombinant human interferon-gamma does not improve neutrophil oxidative metabolism, cytochrome b558 content or levels of four anti-microbial proteins. *Clin. Exp. Immunol.* **88**, 203–6 (1992).
 33. Marciano, B. *et al.* Long-term interferongamma therapy for patients with chronic granulomatous disease. *Clin Infect Dis* **39**, 692–699 (2004).
 34. Cardona, A. A. Estudio comparativo del tratamiento combinado con antibióticos profilácticos e Interferón gamma vs. antibióticos profilácticos para el manejo de los procesos infecciosos en la Enfermedad Granulomatosa Crónica en el INP. (tesis, 2010).
 35. De Oliveira-Junior, EB Bustamante, J., Newburger, P. & Condino-Neto, A. The Human NADPH Oxidase: Primary and Secondary defects Impairing the Respiratory Burst Function and the Microbicidal Ability of Phagocytes. *Scand*

- J. Immunol.* **73**, 420–427 (2011).
36. Ishibashi, F. *et al.* Improved superoxide-generating ability by interferon gamma due to splicing pattern change of transcripts in neutrophils from patients with a splice site mutation in CYBB gene. *Blood* **98**, 436–441 (2001).
 37. Sechler, J., Malech, H., White, C. & Gallin, J. Recombinant human interferon-gamma reconstitutes defective phagocyte function in patients with chronic granulomatous disease of childhood. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **85**, 4874–4878 (1988).
 38. Badolato, R., Notarangelo, L., Plebani, A. & Roos, D. Development of systemic lupus erythematosus in a young child affected with chronic granulomatous disease following withdrawal of treatment with interferon-gamma. *Rheumatol.* **42**, 804–805 (2003).
 39. Bhakri, H., Sriskandan, K., Davis, T., Pettingale, K. & Tee, D. Recombinant gamma interferon and autoimmune thyroid disease. *Lancet* **2**, 452–457 (1985).
 40. Assari, T. Chronic Granulomatous Disease; fundamental stages in our understanding of CGD. *Med. Immunol.* **5**, 1–8 (2006).
 41. Winkelstein, J. A. *et al.* Chronic granulomatous disease. Report on a national registry of 368 patients. *Medicine (Baltimore).* **79**, 155–69 (2000).
 42. van den Berg, J. M. *et al.* Chronic granulomatous disease: the European experience. *PLoS One* **4**, e5234 (2009).
 43. Kobayashi, S. *et al.* Clinical features and prognoses of 23 patients with chronic granulomatous disease followed for 21 years by a single hospital in Japan. *Eur. J. Pediatr.* **167**, 1389–94 (2008).
 44. Agudelo-Flórez, P. *et al.* Chronic granulomatous disease in Latin American patients: clinical spectrum and molecular genetics. *Pediatr. Blood Cancer* **46**, 243–52 (2006).