

**INTERFERON GAMMA EN EL MANEJO DE LA ENFERMEDAD
GRANULOMATOSA CRONICA EN EL PACIENTE PEDIATRICO.**

REVISIÓN SISTEMÁTICA DE LA LITERATURA.

DIANA CAROLINA MEDINA RAMOS

ANDRES BOHORQUEZ GARNICA

Universidad del Rosario

Postgrado en pediatría

Bogotá, Colombia

**INTERFERON GAMMA EN EL MANEJO DE LA ENFERMEDAD
GRANULOMATOSA CRONICA EN EL PACIENTE PEDIATRICO. REVISION
SISTEMATICA DE LA LITERATURA.**

DIANA CAROLINA MEDINA RAMOS

ANDRES BOHORQUEZ GARNICA

Revisión sistemática presentada como requisito de grado:

Especialista en Pediatría

Tutores:

Dra. Martha Isabel Álvarez, Infectóloga Pediatra

Dr. Carlos Olmos, Inmunólogo y Reumatólogo Pediatra

Dr. Jaime Alberto Patiño, Infectólogo Pediatra

Universidad del Rosario

Facultad de medicina, Postgrado en pediatría

Bogotá, Colombia

2012

RESUMEN

Antecedentes: La enfermedad granulomatosa crónica aumenta el riesgo de infecciones. El interferón gamma se ha venido utilizando como parte del tratamiento; sin embargo, su eficacia no ha sido explorada por una revisión sistemática.

Objetivo: Determinar y analizar la eficacia del uso del interferón gamma en el manejo de pacientes en edad pediátrica con diagnóstico de enfermedad granulomatosa crónica.

Metodología: Se realizó una revisión sistemática de la literatura. La búsqueda se hizo en cuatro bases de datos y un registro público de ensayos clínicos. Se realizó un enfoque cualitativo y cuantitativo. Para variables cualitativas se emplearon como indicadores el riesgo relativo y para las cuantitativas la diferencia del promedio.

Resultados: Se incluyeron tres estudios, dos de ellos estudios no aleatorizados. Un solo ensayo clínico de buena calidad mostró evidencia sobre la utilidad del uso del interferón en la reducción de la infección severa.

Conclusión: Es posible que el uso del interferón gamma se relacione con mejoría de varios desenlaces clínicos del paciente. Es necesario realizar más ensayos clínicos controlados de buena calidad que permitan explorar la eficacia del tratamiento en esta indicación.

Palabras clave: Enfermedad granulomatosa crónica, interferón gamma, revisión sistemática como tópico.

ABSTRACT

Background: Chronic granulomatous disease increases the risk of infections. Interferon gamma has been used as part of its treatment. However, its effectiveness has not been explored by a systematic review.

Objectives: To identify and analyze the effectiveness of the use of interferon gamma in the management of pediatric patients diagnosed with chronic granulomatous disease.

Methodology: We conducted a systematic review of the literature. The search was conducted on four databases and a public registry of clinical trials. We conducted a qualitative and quantitative approach. We used as indicators for qualitative variables, the relative risk and, for quantitative variables, the average difference of mean.

Results: Three studies were included, two of them were nonrandomized. A clinical trial of good quality displayed on the utility of the use of interferon in the reduction of severe infection.

Conclusion: It is possible that the use of interferon gamma be related to improvement of several patient clinical outcomes. Additional clinical trials with good quality are needed to explore the efficacy of this treatment in this condition.

Keywords: Chronic Granulomatous Disease, gamma interferon, systematic review.

***DEDICADO A NUESTROS PACIENTES CON INMUNODEFICIENCIAS
PRIMARIAS***

AGRADECIMIENTOS A NUESTROS TUTORES TEMÁTICOS

Dra. Martha Isabel Álvarez, Infectóloga Pediatra

Dr. Carlos Olmos, Inmunólogo y Reumatólogo Pediatra

Dr. Jaime Alberto Patiño, Infectólogo Pediatra

Tabla de contenido

RESUMEN.....	3
ABSTRACT	4
<i>DEDICATORIA</i>	5
AGRADECIMIENTOS	6
LISTA DE TABLAS	9
LISTA DE FIGURAS.....	10
1. JUSTIFICACION.....	11
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
3. OBJETIVOS.....	13
3.1 OBJETIVO GENERAL.....	13
3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	13
4. MARCO TEÓRICO.....	14
5. METODOLOGIA	22
5.1 CRITERIOS PARA LA INCLUSIÓN DE ESTUDIOS.....	22
5.1.1 Tipos de estudios	22
5.1.2 Tipos de pacientes	23
5.1.3 Tipos de desenlaces.....	23
5.1.4 Comparaciones.....	23
5.2 BUSQUEDA DE LA EVIDENCIA CIENTÍFICA.....	24
5.2.1 Palabras clave y estrategias de búsqueda.....	24
5.2.2 Bases de datos	26
5.2.3 Otras fuentes de búsqueda	26
5.3 ANALISIS E INTERPRETACION DE LA EVIDENCIA.....	26
5.3.1 Selección de los estudios.....	27
5.3.2 Clasificación de los estudios	27
5.3.3 Extracción y manejo de la información	28

5.3.4 Calificación del riesgo de sesgo	28
5.3.5 Medición del efecto del tratamiento.....	29
5.3.6 Manejo de la información pérdida.....	29
5.4. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	29
5.5 CONSIDERACIONES ÉTICAS	30
6. RESULTADOS	31
6.1 BÚSQUEDA E IDENTIFICACIÓN DE LA EVIDENCIA	31
6.2 RIESGO DE SESGO EN LOS ESTUDIOS INCLUIDOS	36
6.3 EFECTO DEL TRATAMIENTO	38
7. DISCUSIÓN.....	43
7.1 BÚSQUEDA E IDENTIFICACIÓN DE LA EVIDENCIA	43
7.2 RIESGO DE SESGO EN LOS ESTUDIOS INCLUIDOS	44
7.3 EFECTO DEL TRATAMIENTO	44
7.4 LIMITACIONES DE ESTA REVISIÓN	45
8. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	47
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Resultados de las estrategias de búsqueda.....	34
Tabla 2. Características de los estudios elegibles.....	35
Tabla 3. Características del estudio del International Chronic Granulomatous disease Study Group.....	35
Tabla 4. Características del estudio de Bemiller LS 1995.....	36
Tabla 6. Desenlaces y efecto del tratamiento en el estudio de Bemiller LS 1995..	39
Tabla 7. Desenlaces y efecto del tratamiento en el estudio de Martire B 2008.	40
Tabla 8. Desenlaces, efecto del tratamiento, comparación interferón gamma versus placebo.	41

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de flujo PRISMA de la revisión.....	33
Figura 2. Riesgo de sesgo.	37
Figura 3. Resumen del riesgo de sesgo.....	38

1. JUSTIFICACIÓN

Aunque la frecuencia con que ocurre la enfermedad granulomatosa crónica (EGC) no es alta, el impacto que produce sobre la calidad de vida de los pacientes y de su familia es tan negativo que justifica cualquier intento de búsqueda de nuevas herramientas terapéuticas para su tratamiento (1).

El uso del interferón gamma como parte del tratamiento de los pacientes con EGC ha mostrado disminuir la incidencia de infecciones u otras complicaciones que se traducen en un alto costo para los sistemas de salud; por este motivo se sugiere que el uso de este medicamento podría asumirse como costo efectivo (2). Sin embargo, la eficacia del interferón para esta indicación aún no ha sido explorada a través de una revisión sistemática de la literatura.

Los resultados que arroja esta revisión sistemática sirven como punto de partida para nuevos trabajos de investigación. Dichos resultados también pueden ser útiles para el análisis del tratamiento de los pacientes con EGC.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La EGC produce altos costos derivados de tratamientos directos, manejo de complicaciones de la enfermedad y, en algunos casos, con la muerte sobrevienen además los costos derivados de la pérdida de años de vida trabajables y efectos en calidad de vida (3).

El interferón gamma junto con los antibióticos de uso terapéutico y profiláctico dirigidos contra la infección, ha permitido mejorar la morbi-mortalidad de los pacientes con ésta patología, especialmente si se trata de pacientes en edad pediátrica (4). No obstante, aunque el interferón ya viene siendo utilizado previamente como parte de las medidas terapéuticas, es necesario aclarar la eficacia y utilidad de su uso.

Teniendo en cuenta las condiciones de la enfermedad se intentó dar respuesta a la siguiente pregunta de investigación:

¿Con la mejor evidencia disponible en la actualidad, es posible afirmar que el uso del interferón gamma en pacientes menores de 18 años mejora desenlaces clínicos de importancia como mortalidad, infecciones severas y días de hospitalización?

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Caracterizar la evidencia científica disponible y determinar la eficacia del uso del interferón gamma en el manejo de pacientes en edad pediátrica con enfermedad granulomatosa crónica.

3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

Realizar una búsqueda sistemática de la evidencia científica existente sobre la eficacia del uso del interferón en pacientes con enfermedad granulomatosa crónica.

Clasificar los estudios según su diseño metodológico.

Calificar el riesgo de sesgos y calidad de cada uno de los estudios incluidos.

Determinar y analizar los indicadores de eficacia presentados en el estudio.

Analizar el efecto del tratamiento.

4. MARCO TEÓRICO

EPIDEMIOLOGIA

La enfermedad granulomatosa crónica (EGC) fue descrita inicialmente por Janeway en 1954 (4). Es una enfermedad rara, con una frecuencia estimada de 1:200.000/nacidos vivos (4-6). Según la Asociación Latinoamericana de Inmunodeficiencias Primarias (LAGID), en 1998, los desórdenes fagocitarios correspondían al 9% de todas las inmunodeficiencias en Latinoamérica y, en Colombia, de acuerdo a los datos de la Universidad de Antioquia entre 1994 y el 2002 representaban el 4% (7). Dos tercio de los casos son producidos por mutaciones ligadas a X, afectando principalmente a los varones sin diferencias interraciales o étnicas (5).

La mortalidad es alta en las primeras dos décadas de vida y un 50% de los pacientes sobreviven hasta la tercera década. En una serie de casos (328) en los Estados Unidos, se reportó una mortalidad del 17.6%, siendo mayor en pacientes con trastorno ligado a X con 21.2% versus las formas autosómicas recesivas con 8.6% (4), mientras en una serie española la mortalidad reportada es del 30% (8). La frecuencia de aspergilosis invasiva en niños con EGC es de 15-40%, siendo ésta la causa más frecuente de muerte (6, 9).

FISIOPATOLOGIA

Las mutaciones de la NADPH resultan de la pérdida o inactivación funcional de una de las subunidades del complejo NADPH oxidasa, formado por 5 proteínas, divididas en 2 componentes, un heterodímero anidado en la membrana, llamado citocromo b-558 compuesto por las glicoproteínas gp91phox y p22phox, y las proteínas del citosol, p47phox, p67phox y p40phox. La activación y ensamblaje de la oxidasa funcional requiere también la participación de la subunidad Rac2, una GTPasa (4).

Después de la fagocitosis de un microorganismo se activan mecanismos de señalización intracelular, se fosforilan las proteínas citosólicas p47phox y p67phox, lo cual provoca cambios conformacionales que favorecen la unión del p40phox al citocromo b558 en la membrana celular. Al final ocurre la activación y la unión de la subunidad Rac2, la cual activa la NADPH oxidasa provocando la transferencia de electrones a moléculas de oxígeno para formar radicales libres, evento conocido como estallido respiratorio (4). El ión superóxido resultante, actúa directamente como microbicida o mediante la activación de las proteasas para la digestión de microorganismos fagocitados (4).

La mutación en cualquiera de los cinco genes que codifican para cada una de las proteínas del complejo NADPH oxidasa causa la EGC. Existen 4 formas recesivas y una ligada a X, ésta última dada por mutación del gen CYBB para la proteína

gp91phox o NOX2 (9), que corresponde al 65-70% de los casos (5, 6) y, el porcentaje restante corresponde a los desórdenes autosómicos recesivos secundarios a la mutación de las otras subunidades. Pueden ocurrir también mutaciones de novo (9).

El test de azul de tetrazolium (NBT) es anormal en mujeres portadoras del gen CYBB, debido a la inactivación aleatoria de uno de los cromosomas X, fenómeno conocido como lyonización que favorece la expresión de los cromosomas X no mutados en enfermedades ligadas a X (9).

MANIFESTACIONES CLINICAS

Típicamente la EGC se manifiesta por infecciones recurrentes graves por bacterias y hongos con formación de granulomas, evidentes durante el primer año de vida en la variedad ligada a X mientras en las formas recesivas, las manifestaciones suelen ser tardías; en general el diagnóstico se hace antes de los cinco años en el 76% de los casos (2,3).

Los pacientes presentan infecciones por gérmenes catalasa positivos tipo *S. aureus*, *B. cepacia*, *S. marcescens* y *Aspergillus*, que ocasionan procesos repetidos y graves a nivel pulmonar. Los niños afectados cursan con neumonía, siendo ésta la manifestación más frecuente en el 80% de pacientes, causada por *Aspergillus fumigatus* y *nidulans* (41%), seguido de *Staphylococcus aureus* (11%), *Burkholderia cepacia* (7%) y *Nocardia spp* (6%); la neumonía se complica con

empiema, abscesos pulmonares, invasión a pleura y costillas en un tercio de los casos (8); la segunda infección más común es la linfadenitis supurativa de predominio cervical en el 60% de los casos, seguida de abscesos hepáticos en el 25-50%, cuya etiología es en su mayoría debida a *Staphylococcus aureus*; osteomielitis en el 25% de los afectados con predominio de *Serratia marcescens* y *Aspergillus*. Las bacteremias son poco frecuentes y las principales causas de muerte son neumonía o sepsis por *Aspergillus* o *Burkholderia cepacia* (4, 8).

Aquellos pacientes con antecedente de vacunación con BCG en el periodo neonatal pueden desarrollar infección local conocida como BCGitis, o forma diseminada por BCG en cualquier momento de la vida. Los pacientes con EGC tienen mayor susceptibilidad a infección por otras micobacterias (4,10, 11).

Las manifestaciones en tracto gastrointestinal pueden comprometer desde la boca hasta el ano, pudiéndose manifestar como retardo en el vaciamiento gástrico, enfermedad inflamatoria intestinal, síndrome de malabsorción y abscesos intrabdominales o perianales (4, 8,12).

Se han descrito complicaciones no infecciosas como los granulomas asépticos, denominadas así porque no se logra aislamiento microbiológico y son lesiones que responden a inmunomoduladores y no a los antibióticos (3). Estas lesiones se encuentran predominantemente en vía urinaria o intestinal, causando cuadros de

obstrucción (4,8). La EGC se ha relacionado también con mayor incidencia de enfermedades autoinmunes, dehiscencia de suturas de heridas quirúrgicas sin proceso infeccioso asociado y falla en el desarrollo pondoestatural (8).

DIAGNÓSTICO

Similar a otras inmunodeficiencias primarias, el diagnóstico se basa en la sospecha clínica, el antecedente de infecciones severas a repetición a temprana edad. El tipo de germen aislado y la posibilidad de establecer un patrón de herencia ligado a X o autosómico recesivo apoyarán en la sospecha de la enfermedad.

Las pruebas diagnósticas disponibles actualmente incluyen: (1) la prueba de nitroazul de tetrazolio (NBT) con falsos negativos elevados, (2) el análisis por quimioluminiscencia de los neutrófilos, permite detectar la ausencia de citocromo b-558, (3) se ha utilizado también la reducción de citocromo c, por citometría de flujo que permite identificar la producción del ión superóxido, y (4) la prueba de citometría de flujo para identificación de la oxidación de la dihidrorrodamina (DHR), considerada el “gold standard”, basada en la reducción de DHR en rodamina por los fagocitos activados produciéndose un compuesto fluorescente que permite contar los leucocitos con estallido respiratorio. Tiene la ventaja de que permite distinguir las mutaciones ligadas a X (no reducción de DHR) de las de herencia autosómica recesiva (pobre reducción) y el estado portador de la madre. (4)

TRATAMIENTO

La base del tratamiento es el diagnóstico temprano, evitar las infecciones a repetición y los daños subsecuentes mediante la profilaxis antibiótica y el tratamiento agresivo de las infecciones (4). Los pacientes deben reducir al máximo la exposición a agentes infecciosos y recibir todas las inmunizaciones rutinarias excepto la BCG por el riesgo de BCGitis o diseminación (13).

El manejo profiláctico implica el uso permanente de antibióticos y antifúngicos. El agente de elección es el TMP-SX por su amplio espectro y acción microbiciada intracelular (13, 14), que disminuye las infecciones bacterianas en el 75% en pacientes con ECG (2); la dosis recomendada es de 6-8 mg/kg/día en dos dosis (13). Para la profilaxis antimicótica se usa el itraconazol por su buena actividad contra el *Aspergillus spp*, a una dosis de 5 mg/kg/día para alcanzar niveles séricos a las 2 semanas (13).

El interferón gamma (INF γ) es una citoquina activante de macrófagos producida por células T y natural killer (13), que aumenta la producción de superóxido, la actividad bactericida y favorece la activación de células mononucleares (4). Un estudio mostró que un subgrupo de pacientes con la variante X de la EGC, con mutaciones de sitio splice, respondieron mejor al INF γ (2). Se aplica a dosis de 50 mcg/m²/3 veces por semana en pacientes con SC > 0.5 y 1.5 mcg/kg en SC < 0.5, con efectos secundarios como cefalea y fiebre (2). Se sugiere interrupción

de la profilaxis en episodios de fiebre alta, en el postoperatorio de cirugías mayores y 4 semanas antes del trasplante de células hematopoyéticas porque aumenta la expresión de moléculas de HLA (13).

El INFY puede ser usado por tiempo prolongado para la profilaxis en pacientes con EGC y sus ventajas incluyen infecciones bacterianas y micóticas menos graves, más tiempo libre de infecciones, menor tiempo de hospitalización, disminución de los granulomas intestinales y pulmonares (4,15).

TRATAMIENTO DE LAS INFECCIONES AGUDAS

La clave del éxito del tratamiento de las infecciones es la terapia oportuna y prolongada con los antibióticos parenterales apropiados, inicialmente empíricos y posteriormente guiados por el antibiograma. Se deben cubrir bacterias como la *Burkholderia spp*, *S. aureus* y *Nocardia spp*. La falla de respuesta a las 48 horas sin identificación de germen es indicación de antimicótico adicional. Como las infecciones responden lentamente, el antibiótico debe continuarse vía oral por varios meses (16).

La terapia antifúngica va dirigida al manejo de *Aspergillus spp* (*A. fumigatus* seguido del *A. nidulans*), por su asociación con enfermedad invasiva y neumonía (41%) en pacientes con EGC (4). El voriconazol es superior que la anfotericina B

en el tratamiento de aspergilosis invasiva (9,16). El posaconazol ha probado eficacia como terapia de salvamento en estos casos y la combinación de antimicóticos no ha demostrado ser superior a la monoterapia (13, 16). La terapia antimicótica debe ser prolongada (4-6 meses) (13).

OTROS TRATAMIENTOS

El trasplante de células hematopoyéticas HLA compatible es la terapia curativa, con buenos resultados en pacientes con riesgo estándar, que incluye uno o más episodios pasados de infecciones que amenazan la vida o enfermedad granulomatosa severa con disfunción progresiva de órgano. Pasa lo contrario con pacientes de alto riesgo que han tenido infección refractaria a la terapia (aspergilosis) o enfermedad granulomatosa dependiente de esteroides (colitis), ya que se recomienda el trasplante temprano en la vida, cuando hay pocas secuelas de la enfermedad (15). El trasplante con donante de hermano compatible tiene una tasa de mortalidad asociada a trasplante del 5% y, para donante no relacionado del 15% (13). Aunque controversial, la transfusión de leucocitos se ha usado en casos de infecciones bacterianas y fúngicas que amenazan la vida. La terapia génica como monoterapia es aún un objetivo lejano. Las complicaciones inflamatorias no infecciosas requieren uso inmunosupresor cuidadoso (13).

5. METODOLOGIA

En esta sección se presentan los métodos empleados para la realización de esta revisión sistemática de la literatura.

5.1 CRITERIOS PARA LA INCLUSIÓN DE ESTUDIOS

En esta sección se presentan los criterios de inclusión empleados en esta revisión sistemática.

5.1.1 Tipos de estudios

Se incluyeron ensayos clínicos controlados aleatorizados, estudios cuasi-experimentales, estudios experimentales no aleatorizados publicados en cualquier año en idiomas inglés y español.

5.1.2 Tipos de pacientes

Pacientes de cualquier raza y género con diagnóstico de enfermedad granulomatosa crónica con edades entre 0 y 18 años al momento de la inclusión en el estudio.

5.1.3 Tipos de desenlaces

Se clasificaron en primario y secundarios

Desenlace primario

Mortalidad relacionada con la enfermedad

Desenlaces secundarios

Infecciones de cualquier etiología

Calidad de vida

Estancia hospitalaria

Eventos adversos

5.1.4 Comparaciones

Se incluyeron estudios en los cuales se tuvieron en cuenta las siguientes intervenciones:

1. Interferón
2. Interferón versus placebo
3. Interferón mas otro tratamiento (antibiótico profiláctico) versus placebo mas otro tratamiento (antibiótico profiláctico)
4. Interferón mas otro tratamiento (antibiótico profiláctico) versus otro tratamiento (antibiótico profiláctico).

5.2 BUSQUEDA DE LA EVIDENCIA CIENTÍFICA

En esta sección se presentan los métodos empleados para la búsqueda de la evidencia científica.

5.2.1 Palabras clave y estrategias de búsqueda

En la búsqueda se emplearon las palabras clave MeSH que tienen concordancia con la pregunta de investigación PICO mostrada anteriormente:

Población: 1. Chronic granulomatous disease, 2. Phagocyte bactericidal dysfunction, 3. Children

Intervención/comparación: 4. Gamma-Interferon, 5. Interferon

Desenlaces: 6. Infection, 7. Bacterial infection, 8. Quality of life

Para la base de datos Pubmed se emplearon las siguientes estrategias:

1. (chronic granulomatous disease OR phagocyte bactericidal dysfunction OR children) AND gamma-interferon AND (mortality OR infection OR mycoses OR bacterial infection OR quality of life)
2. (chronic granulomatous disease OR phagocyte bactericidal dysfunction OR children) AND interferon AND (mortality OR infection OR mycoses OR bacterial infection OR quality of life)
3. Chronic granulomatous disease AND gamma-interferon

Para la base de datos OVID se emplearon las siguientes estrategias

1. (chronic granulomatous disease OR phagocyte bactericidal dysfunction OR children) AND gamma-interferon AND (mortality OR infection OR mycoses OR bacterial infection OR quality of life)
2. (chronic granulomatous disease OR phagocyte bactericidal dysfunction OR children) AND interferon AND (mortality OR infection OR mycoses OR bacterial infection OR quality of life)
3. Chronic granulomatous disease AND gamma-interferon

Para la base de datos Bireme se emplearon las siguientes estrategias

1. (chronic granulomatous disease OR phagocyte bactericidal dysfunction OR children) AND gamma-interferon AND (mortality OR infection OR mycoses OR bacterial infection OR quality of life)
2. (chronic granulomatous disease OR phagocyte bactericidal dysfunction OR children) AND interferon AND (mortality OR infection OR mycoses OR bacterial infection OR quality of life)

3. Chronic granulomatous disease AND gamma-interferon

Para la base de datos EMBASE se empleó la estrategia de búsqueda:

1. Chronic granulomatous disease AND gamma-interferon

5.2.2 Bases de datos

La búsqueda se realizó en las bases de datos Pubmed, Ovid, Bireme, Embase.

5.2.3 Otras fuentes de búsqueda

Se realizó una búsqueda adicional mediante la revisión de las referencias bibliográficas de los estudios incluidos (estrategia bola de nieve) y a través de la búsqueda por el registro de ensayos clínicos del Instituto Nacional de Salud de Estados Unidos (clinicaltrials.gov).

5.3 ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LA EVIDENCIA

En esta sección se presentan los métodos a través de los cuales se realizó el análisis de la información presentada en los estudios incluidos.

5.3.1 Selección de los estudios

Se revisaron los títulos y resúmenes de los resultados de la búsqueda para determinar si en ellos se cumplían los criterios de inclusión mencionados anteriormente. Para los estudios incluidos se procedió a descargar el artículo completo. Para los estudios en los cuales a pesar de analizar la información del título o resumen aún no existía claridad sobre su inclusión se procedió a descargar el documento completo para determinar si este debía ser incluido o no.

5.3.2 Clasificación de los estudios

Los estudios fueron clasificados según el tipo de diseño metodológico en ensayos clínicos controlados aleatorizados y ensayos clínicos no aleatorizados.

5.3.3 Extracción y manejo de la información

Para cada estudio se extrajo la información sobre autores, año de publicación, revista de publicación, tipo de diseño metodológico, número de participantes del estudio, intervenciones, comparadores, desenlaces. La información fue procesada empleando el programa REVMAN versión 5.0 para Windows.

5.3.4 Calificación del riesgo de sesgo

El análisis del riesgo de sesgo y calidad fue realizado teniendo en cuenta la propuesta de la Colaboración Cochrane para su evaluación (18). Esta evaluación se hace teniendo en cuenta seis aspectos de la calidad de los estudios:

- Método de aleatorización
- Enmascaramiento o cegamiento de la asignación
- Cegamiento de los participantes
- Pérdidas y seguimiento de los sujetos de estudio
- Reporte de los desenlaces presentados
- Otras fuentes de error

Para cada estudio se revisaron cada uno de estos aspectos y fueron calificados con tres categorías:

- Bajo riesgo
- Indeterminado: no es posible realizar calificación
- Alto riesgo.

Cualquier estudio con una calificación de alto en riesgo en cualquier ítem era clasificado como de alto riesgo de sesgo y baja calidad metodológica.

Por el número de estudios incluidos no se realizó aproximación al sesgo de publicación.

5.3.5 Medición del efecto del tratamiento

La heterogeneidad clínica fue medida mediante una aproximación cualitativa del diseño y tipo de estudio. En este caso se empleó un análisis por subgrupos (estudios). Otras aproximaciones a la heterogeneidad no fueron tenidas en cuenta dado el volumen de evidencia identificado.

El efecto del tratamiento se midió teniendo en cuenta el tipo de variable de estudio. Para variables o desenlaces cualitativos se estimaron riesgos relativos y sus respectivos intervalos de confianza al 95%. Para variables o desenlaces cuantitativos se estimaron diferencias de promedio y sus intervalos de confianza al 95%.

5.3.6 Manejo de la información perdida

En los casos en los cuales existían correos electrónicos de contacto de los autores se intentó la comunicación con el autor para tratar de obtener la información perdida. Se esperó un plazo de 20 días.

5.4. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Se excluyeron los estudios con más del 50% de pérdidas de la información sobre los desenlaces (bajo nivel de calidad).

Se excluyeron estudios en los cuales más del 50% de la muestra correspondiera a pacientes adultos.

5.5 CONSIDERACIONES ÉTICAS

Teniendo en cuenta la resolución 8430 del año 1993 que fija las normas científicas, técnicas y administrativas para la realización de investigaciones en Colombia se considera que este estudio, al ser una revisión sistemática que emplea fuentes de información secundaria, y no interviene sobre variables fisiológicas, psicológicas, mentales o sociales de las personas, es una **INVESTIGACIÓN SIN RIESGO.**

6. RESULTADOS

Se realizó una revisión sistemática de la literatura para determinar la eficacia del uso del interferón gamma en el manejo de la enfermedad granulomatosa crónica. En esta sección se presentan los resultados de esta revisión.

6.1 BÚSQUEDA E IDENTIFICACIÓN DE LA EVIDENCIA

La búsqueda a través de bases de datos permitió identificar un total de 8699 resultados. Por otras fuentes de búsqueda se identificaron 7 estudios adicionales. Luego de eliminar los resultados duplicados quedaron un total de 8704 estudios que fueron explorados por criterios de inclusión. De ellos, cinco estudios fueron considerados elegibles, dos de ellos fueron eliminados por las siguientes razones: pacientes mayores de 18 años y exploración de otros desenlaces no clínicos que no fueron contemplados en esta revisión. De esta manera se incluyeron finalmente tres estudios. La figura 1 presenta el diagrama de flujo PRISMA de la revisión.

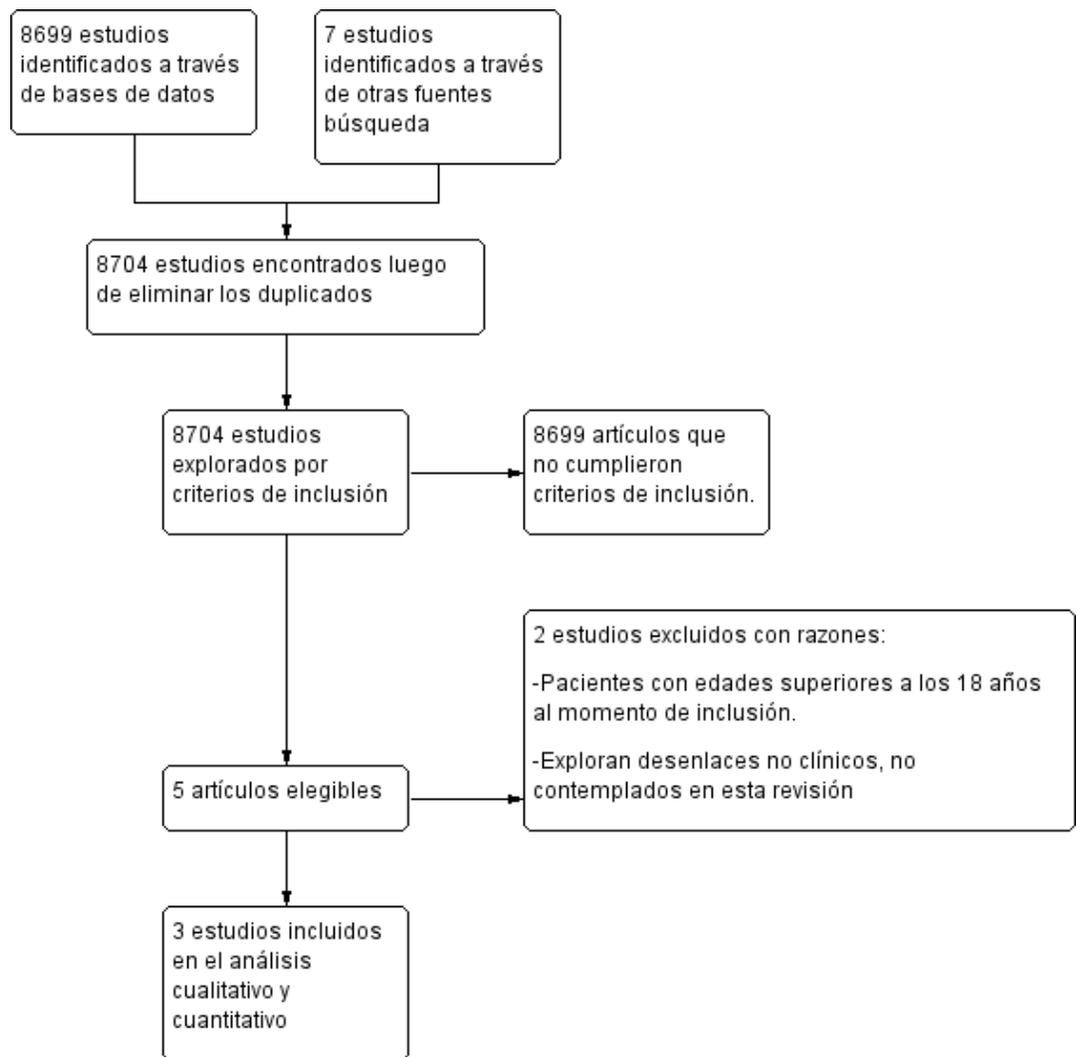


Figura 1. Diagrama de flujo PRISMA de la revisión.

Se presentaron variaciones en los resultados para cada una de las bases de datos incluidas. La tabla 1 muestra los resultados según la estrategia de búsqueda empleada y la base de datos consultada.

Tabla 1. Resultados de la estrategias de búsqueda

Estrategia	pubmed
(chronic granulomatous disease OR phagocyte bactericidal dysfunction OR children) AND gamma-interferon AND (mortality OR infection OR mycoses OR bacterial infection OR quality of life)	1641
(chronic granulomatous disease OR phagocyte bactericidal dysfunction OR children) AND interferon AND (mortality OR infection OR mycoses OR bacterial infection OR quality of life)	2921
Chronic granulomatous disease AND gamma-interferon	322
	OVID
(chronic granulomatous disease OR phagocyte bactericidal dysfunction OR children) AND gamma-interferon AND (mortality OR infection OR mycoses OR bacterial infection OR quality of life)	188
(chronic granulomatous disease OR phagocyte bactericidal dysfunction OR children) AND interferon AND (mortality OR infection OR mycoses OR bacterial infection OR quality of life)	2738
Chronic granulomatous disease AND gamma-interferon	36
	BIREME
(chronic granulomatous disease OR phagocyte bactericidal dysfunction OR children) AND gamma-interferon AND (mortality OR infection OR mycoses OR bacterial infection OR quality of life)	0
(chronic granulomatous disease OR phagocyte bactericidal dysfunction OR children) AND interferon AND (mortality OR infection OR mycoses OR bacterial infection OR quality of life)	0
Chronic granulomatous disease AND gamma-interferon	23
	EMBASE
Chronic granulomatous disease AND gamma-interferon	830
	CLINICAL TRIALS
Chronic granulomatous disease AND gamma-interferon	7

Las características básicas de los estudios incluidos y excluidos se presentan en la tabla 2.

Tabla 2. Características de los estudios elegibles.

Autor principal	Año	Categoría	Referencia
International GDC Study Group	1991	Incluido	19
Bemiller LS	2005	Incluido	20
Martire B	2008	Incluido	21
Mühlebach TJ	1992	Excluido	22
Ahlin A	1997	Excluido	23

Fueron tres los estudios incluidos. Uno de ellos un ensayo clínico aleatorizado multicéntrico y dos de ellos estudios experimentales en humanos no aleatorizados, sin grupo control, con ciertas limitaciones en su calidad que serán exploradas en la próxima sección.

El estudio del grupo internacional de enfermedad Granulomatosa fue un ensayo clínico aleatorizado, multicéntrico, controlado con placebo. Sus características básicas se exponen en la tabla 3.

Tabla 3. Características del estudio del International Chronic Granulomatous Disease Study Group.

Métodos	Ensayo clínico aleatorizado, multicéntrico, controlado con placebo
Participantes	128 pacientes con enfermedad granulomatosa crónica.
Intervenciones	Interferon: n=63, edad promedio 14.3 +/-10.1, 81% hombres, 71% herencia ligada a X, 89% uso de antibióticos profilácticos. Placebo: n=65, edad promedio 15.0 +/-9.6, 82% hombres, 63% herencia ligada a X, 85% uso de antibióticos profilácticos.
Desenlaces	Incidencia de infecciones severas Condiciones clínicas crónicas.

El estudio de Bemiller LS 1995 fue un ensayo clínico de fase IV con un único grupo de tratamiento. Sus características se presentan en la tabla 4.

Tabla 4. Características del estudio de Bemiller LS 1995.

Métodos	Ensayo clínico fase IV
Participantes	30 pacientes (25 hombres, 5 mujeres) con diagnóstico de enfermedad granulomatosa crónica. Edad promedio 12.8+/-9.8 años (7 de ellos adultos). 77% herencia ligada a X, 23% autosómica recesiva. 93% de uso de antibióticos profilácticos.
Intervenciones	Interferón gamma.
Desenlaces	Incidencia de infecciones. Incidencia de eventos adversos

El estudio de Martire B 2008 fue un ensayo clínico multicéntrico con un único brazo de estudio. Las características del estudio se presentan en la tabla 5.

Tabla 5. Características del estudio de Martire

Métodos	Ensayo clínico no aleatorizado, multicéntrico
Participantes	60 Pacientes con enfermedad granulomatosa crónica. 65% herencia ligada a X. 58 hombres, 2 mujeres. Edad promedio de 2.5 años rango de 0 a 38 años.
Intervenciones	Interferón gamma.
Desenlaces	Incidencia de infecciones severas Manifestaciones clínicas de la enfermedad.

6.2 RIESGO DE SESGO EN LOS ESTUDIOS INCLUIDOS

Se analizó el riesgo de sesgo para cada uno de los tres estudios incluidos en esta revisión sistemática. En general, el riesgo de sesgo en los estudios incluidos fue alto por motivos tales como la ausencia de grupo control, el no cegamiento de la intervención y la medición de resultados.

La figura 2 presenta la frecuencia con que fueron clasificadas las calificaciones de las categorías de evaluación del riesgo de sesgo.

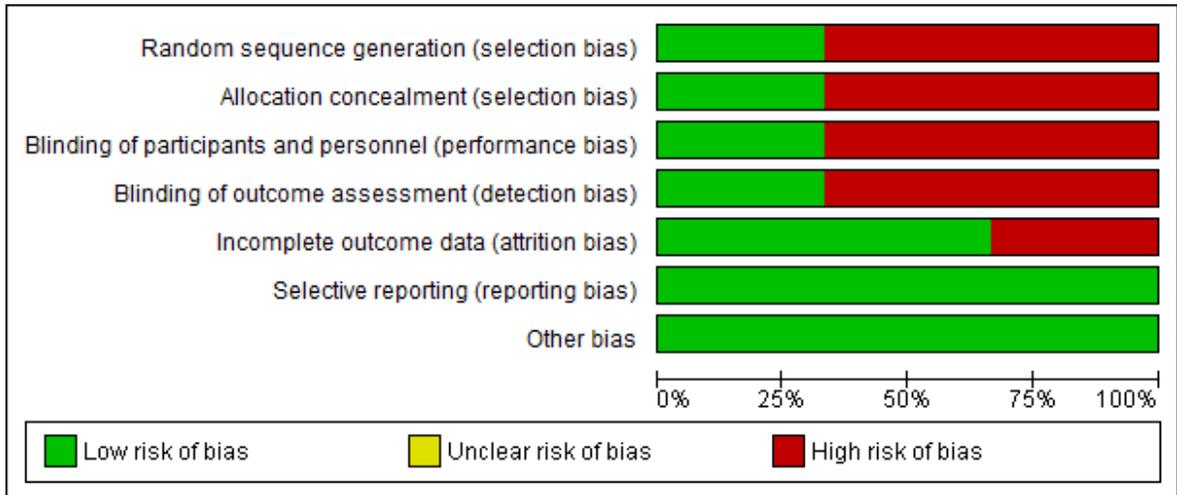


Figura 2. Riesgo de sesgo.

Como puede verse la calidad de los estudios fue mala en cuatro categorías y buena en dos categorías.

El resumen de calificación para cada estudio de cada una de las categorías se presenta en la figura 3.

	Random sequence generation (selection bias)	Allocation concealment (selection bias)	Blinding of participants and personnel (performance bias)	Blinding of outcome assessment (detection bias)	Incomplete outcome data (attrition bias)	Selective reporting (reporting bias)	Other bias
Bemiller LS 1995	-	-	-	-	+	+	+
IC GRANULOM GROUP 1991	+	+	+	+	+	+	+
Martire B 2008	-	-	-	-	-	+	+

Figura 3. Resumen del riesgo de sesgo.

Se aprecia que los dos estudios no aleatorizados fueron los que tuvieron una mala calificación en la mayoría de los ítems evaluados.

6.3 EFECTO DEL TRATAMIENTO

Dado el tipo de diseño de dos de los estudios incluidos no fue posible realizar un análisis combinado de los resultados reportados. En primer lugar se presentarán los resultados de los estudios no controlados y al final se expondrán los resultados del estudio controlado con placebo.

El estudio de Bemiller LS 1995 estimó incidencias de desenlaces clínicos relevantes en los pacientes con la enfermedad. La tabla 6 presenta el resumen de los desenlaces presentados.

Tabla 6. Desenlaces y efecto del tratamiento en el estudio de Bemiller LS 1995.

Desenlace	Indicador	Resultado
Infecciones serias	Pacientes año	0.13
Pacientes con al menos una infección	Prevalencia	10%
Días de hospitalización	Mediana	23
RAM-Fiebre	Prevalencia	23%
RAM-Diarrea	Prevalencia	13%
RAM-Manifestaciones similares-gripa	Prevalencia	13%
Infecciones no severas	Pacientes año	0.68

Se aprecian resultados de los desenlaces explorados en este estudio; sin embargo, su apreciación es compleja dado que no existe un grupo control que permita una comparación.

El estudio de Martire B 2008 tampoco tuvo grupo de control que permitiera una fácil y adecuada evaluación de los datos; sin embargo, en la tabla 7 se presentan los resultados.

Tabla 7. Desenlaces y efecto del tratamiento en el estudio de Martire B 2008.

Desenlace	Indicador	Resultado
Neumonía	Prevalencia	47%
Absceso subcutáneo	Prevalencia	20%
Linfadenitis	Prevalencia	45%
Osteomielitis	Prevalencia	10%
Probabilidad de supervivencia a 10 años	Probabilidad (desviación estándar)	0,97 (0,03)
Probabilidad de supervivencia a 20 años	Probabilidad (desviación estándar)	0,83 (0,09)

Interferón gamma versus placebo

Un estudio (International Chronic Granulomatous Disease Study Group), exploró esta comparación. Como se apreciará en la siguiente tabla, el uso del interferón se relacionó con mejores desenlaces clínicos pero también con una mayor frecuencia de reacciones adversas.

Tabla 8. Desenlaces, efecto del tratamiento, comparación interferón gamma versus placebo.

Desenlace	No. Pacientes	Indicador	Resultado
1.1 Infecciones severas	128	Riesgo Relativo, IC95%	0,48 [0,28, 0,82]
1.2 Promedio de porcentaje de pacientes libres de	128	Diferencia promedios IC95%	17,00 [16,82, 17,18]

infección a los 6 meses			
1.3 Promedio de porcentaje de pacientes libres de infección a 1 año	128	Diferencia promedios, IC95%	44,00 [43,85, 44,15]
1.4 Infecciones recurrentes	128	Riesgo Relativo IC 95%	0,43 [0,16, 1,15]
1.5 Proporción de pacientes hospitalizados por mas de 28 días	128	Riesgo Relativo IC95%	0,48 [0,19, 1,17]
1.6 Infecciones que requirieron hospitalización	512	Riesgo Relativo IC95%	0,28 [0,15, 0,52]
1.6.1 Infección pulmonar	128	Riesgo Relativo IC95%	0,60 [0,25, 1,43]
1.6.2 Adenitis	128	Riesgo Relativo IC95%	0,19 [0,04, 0,81]
1.6.3 Infeccion genitourinaria	128	Riesgo Relativo IC95%	0,21 [0,02, 1,72]
1.6.4 Absceso o celulitis	128	Riesgo Relativo IC95%	0,13 [0,03, 0,54]
1.7 Reacciones adversas	1152	Riesgo Relativo IC95%	2,48 [1,97, 3,11]
1.7.1 Fiebre	128	Riesgo Relativo IC95%	1,92 [1,42, 2,59]
1.7.2 Cefalea	128	Riesgo Relativo IC95%	3,78 [1,97, 7,25]
1.7.3 Rash	128	Riesgo Relativo IC95%	2,92 [1,23, 6,93]
1.7.4 Escalofríos	128	Riesgo Relativo	29,91 [1,82, 490,89]

		IC95%	
1.7.5 Eritema en sitio de inyección	128	Riesgo Relativo IC95%	7,22 [1,71, 30,50]
1.7.6 Diarrea	128	Riesgo Relativo IC95%	1,20 [0,60, 2,40]
1.7.7 Fatiga	128	Riesgo Relativo IC95%	1,31 [0,65, 2,67]
1.7.8 Vómito	128	Riesgo Relativo IC95%	2,68 [1,02, 7,09]
1.7.9 Náusea	128	Riesgo Relativo IC95%	5,16 [1,18, 22,62]

7. DISCUSIÓN

Se realizó una revisión sistemática de la literatura científica que permitió identificar la mejor evidencia disponible hasta la actualidad sobre el uso del interferón gamma en el manejo de los pacientes en edad pediátrica con enfermedad granulomatosa crónica. En esta sección se presenta la discusión de los resultados documentados.

7.1 BÚSQUEDA E IDENTIFICACIÓN DE LA EVIDENCIA

Se realizó una búsqueda sistemática de la literatura para tratar de identificar la mayor evidencia posible. Dado que esta es la primera revisión sistemática realizada en este tema no existen referentes teóricos previos que permitan contrastar los resultados obtenidos con otros datos previos.

Se incluyeron varias bases de datos relevantes para la búsqueda. Esto permitió reducir la probabilidad de no encontrar la mejor evidencia disponible. La búsqueda a través del registro de ensayos clínicos permitió indagar por estudios previos o estudios en proceso de publicación que no hubieran sido publicados. La inclusión de la búsqueda a través de este registro permite reducir el riesgo de pérdidas de literatura gris, especialmente cuando se trata de ensayos clínicos ya que se presume la necesidad del registro del ensayo en esta base de datos pública, para la realización del mismo.

7.2 RIESGO DE SESGO EN LOS ESTUDIOS INCLUIDOS

Dos estudios fueron de muy baja calidad y alto riesgo de sesgos y uno de ellos (International Chronic granulomatous disease Study Group) fue de buena calidad metodológica. Dado que los otros estudios no eran aleatorizados y no tenían grupo control es evidente que la calificación del riesgo de sesgo se vio seriamente impactada por este motivo. El alto riesgo de sesgo de estos estudios limita las recomendaciones que puedan emanar de esta revisión.

La ausencia de un grupo control en estos dos estudios limitó además la posibilidad de realizar comparaciones que permitieran apreciar el efecto real del tratamiento.

La introducción de sesgos en los estudios puede conducir a una sobreestimación del efecto por lo cual las conclusiones de esta revisión deben ser asumidas con cautela.

7.3 EFECTO DEL TRATAMIENTO

El mecanismo de acción del INF aun se encuentra en discusión. Sin embargo, se ha demostrado que genera un aumento de la producción de superóxido, reducción de nitroazul de tetrazolio y mejoría de la actividad bactericida. El aumento de la función fagocítica estaría también relacionada con incremento de la producción de oxido nítrico en los polimorfonucleares, lo cual favorecería las vías independientes de radicales libres. También se cree que podría favorecer el incremento de las poblaciones de monocitos con actividad normal de reducción de nitroazul de tetrazolio y, por último, por llevar a la estimulación de moléculas de

superficie y el aumento de la concentración de calcio intracelular para una mejoría en la activación de los macrófagos (4).

Un estudio realizado en roedores, sugiere que el uso de interferón gamma promueve la función de los macrófagos con deficiencia de gp91phox, logrando normalizar el proceso de apoptosis celular y a través de éste mecanismos reducir los procesos inflamatorios crónicos que se producen en la enfermedad (24).

En nuestra revisión sistemática de la literatura, encontramos dos estudios que no permiten la comparación del efecto del tratamiento contra un control por lo cual se hace difícil la interpretación de los resultados. Un tercer estudio que comparó el efecto del interferón con el placebo mostró efectos significativos positivos relacionados con el uso del medicamento. Se considera que la información sobre los desenlaces para esta comparación es válida y puede ser recomendable su uso. Lamentablemente no se ha reproducido ni comparado el efecto del tratamiento contra el placebo u otra intervención, con lo cual lograría confirmarse el criterio de causalidad de consistencia.

7.4 LIMITACIONES DE ESTA REVISIÓN

Esta revisión tuvo varias limitaciones. Una de estas limitaciones deriva de la restricción de idiomas de los estudios a ser incluidos, lo cual podría haber reducido el número de estudios seleccionados. Sin embargo, durante la realización de la búsqueda no se identificaron estudios escritos en otro idioma que hubieran podido ser incluidos.

Otra de las limitaciones de esta revisión deriva de la calidad misma de los estudios incluidos. Dado que dos estudios eran de baja calidad se compromete la posibilidad de realizar afirmaciones contundentes sobre la eficacia del interferón. Un solo ensayo clínico de buena calidad mostró evidencia de la eficacia del uso del interferón en esta condición clínica; sin embargo, esto limita parcialmente la posibilidad de dar una respuesta contundente sobre la eficacia del medicamento.

8. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Existe evidencia sobre el uso del interferón gamma en pacientes en edad pediátrica con enfermedad granulomatosa crónica; sin embargo, ésta es limitada.

La mejor evidencia disponible hasta la actualidad sugiere que el interferón gamma es eficaz y reduce la mortalidad y la incidencia de infecciones severas.

El uso del interferón se relaciona con la aparición de eventos adversos que en la mayoría de los casos no supone un alto riesgo para la vida de los pacientes.

Un estudio económico permitiría dar luces sobre el costo beneficio del uso de éste medicamento en niños con enfermedad granulomatosa crónica.

Es necesario realizar investigación de evidencia científica que incluya estudios con todos los niveles de evidencia (desde estudios descriptivos hasta ensayos clínicos aleatorizados) para responder con certeza la pregunta sobre la eficacia del interferón gamma en estos pacientes.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rieber N, Hector A, Kuijpers T, Roos D, Hartl D. Current concepts of hyperinflammation in chronic granulomatous disease. *Clin Dev Immunol*. 2012; 2012: 252460
2. Bolinger AM, Taeubel MA. Recombinant interferon gamma for treatment of chronic granulomatous disease and other disorders. *Clin Pharm* 1992; 11 (10):834-50.
3. Segal BH, Veys P, Malech H, Cowan MJ. Chronic granulomatous disease: lessons from a rare disorder. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011; 17 (1 Suppl): S123-31.
4. Alvarez-Cardona A, Yamazaki-Nakashimada MA, Espinosa-Padilla SE. Chronic granulomatous disease. *Rev Alerg Mex* 2009; 56 (5): 165-174.
5. http://www.uptodate.com/contents/chronic-granulomatous-disease-pathogenesis-clinical-manifestations-anddiagnosis?source=search_result&selectedTitle=1%7E60
6. Winkelstein JA, Marino MC, Johnston RB, Boyle J et al. Chronic Granulomatous Disease: Report on a National Registry of 368 Patients. *Medicine (Baltimore)* 2000;79(3):155-69.
7. Fonseca-Gutierrez A, Patiño-Cuervo D, Ortega-López M. Guía para el diagnóstico de las inmunodeficiencias primarias en el laboratorio clínico. *Universitas Scientiarum* 2006
8. Towbin AJ, Chaves I. Chronic granulomatous disease. *Pediatr Radiol* 2010; 40:657–668.11(2): 5-21.
9. Schäppi MG, Jaquet V, Belli DC, Krause KH. Hyperinflammation in chronic granulomatous disease and anti-inflammatory role of the phagocyte NADPH oxidase. *Semin Immunopathol* 2008;30:255–271.

10. Bustamante J, Aksu G, Vogt G, de Beaucoudrey L, Genel F et al. BCG-osis and tuberculosis in a child with chronic granulomatous disease. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120:32-8.
11. Kawashima H, Hasegawa D, Nakamura M, Mochizuki S et al. Hazards of early BCG vaccination: BCGitis in a patient with chronic granulomatous disease. *Pediatrics International* 2007;49:418–419.
12. Marciano BE, Rosenzweig SD, Kleiner DE, Anderson VL et al. Gastrointestinal Involvement in Chronic Granulomatous Disease. *Pediatrics* 2004; 114: 462-468.
13. Seger RA. Modern management of chronic granulomatous disease. *British Journal of Haematology* 2008; 140: 255–266.
14. Martire B, Rondelli R, Soresina A, Pignata C et al. Clinical features, long-term follow-up and outcome of a large cohort of patients with Chronic Granulomatous Disease: An Italian multicenter study. *Clinical Immunology* 2008; 126:155–164.
15. Marciano BE, Wesley R, De Carlo ES, Anderson VL et al. Long-Term Interferon-g Therapy for Patients with Chronic Granulomatous Disease. *Clin Infect Dis* 2004; 39:692-99.
16. Hatziagorou E, Walsh TJ, Tsanakas JN, Roilides E. Aspergillus and the paediatric lung. *Paediatric Respiratory Reviews* 2009; 10: 178–185.
17. Seger RA. Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Chronic Granulomatous Disease. *Immunol Allergy Clin N Am* 2010; 30:195–208.
18. Higgins JPT, Green S. Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions 5.0.2 [updated September 2009]. En: The Cochrane Library. The Cochrane Collaboration, 2009.
19. The International Chronic Granulomatous Disease Cooperative Study Group. A controlled trial of interferon gamma to prevent infection in chronic granulomatous disease. *N Engl J Med* 1991; 324 (8): 509-516.

20. Bemiller LS, Roberts DH, Starko KM, Curnutte JT. Safety and effectiveness of long-term interferon gamma therapy in patients with chronic granulomatous disease. *Blood Cells Molec Dis* 1995; 21 (24): 239-247.
21. Martire B, Rondelli R, Soresina A, Pignata C, Broccoletti T, Finocchi A, 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* 2008; 126: 155-164.
22. Mühlebach TJ, Gabay J, Nathan CF, Erny C, Dopfer G, Schroten H, 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* 1992; 88: 203-206.
23. Ahlin A, Göran E, Palmblad J. Dose-dependent enhancements by interferon- γ on functional responses of neutrophils from chronic granulomatous disease patients. *Blood* 1997; 89: 3396-3401.
24. Fernandez-Boyanapalli R, McPhillips KA, Frasch SC, Janssen WJ, Dinauer MC, Riches DWH, et al. Impaired Phagocytosis of Apoptotic Cells by Macrophages in Chronic Granulomatous Disease Is Reversed by IFN- γ in a Nitric Oxide-Dependent Manner. *J Immunol* 2010; 185: 4030-4041