

Níveis elevados de IgA e IL-10 na doença inflamatória intestinal de início muito precoce secundária à deficiência do receptor de IL-10

Elevated IgA and IL-10 levels in very-early-onset inflammatory bowel disease secondary to IL-10 receptor deficiency

Natascha Silva Sandy^a , Lia Furlaneto Marega^b , Giane Dantas Bechara^b ,
Adriana Gut Lopes Riccetto^b , Carmen Bonfim^c , Maria Marluce dos Santos Vilela^b ,
Antonio Fernando Ribeiro^b , Maria De Fatima Servidoni^b , Elizete Aparecida Lomazi^{b,*} 

RESUMO

Objetivo: Relatar os casos de duas pacientes com doença inflamatória intestinal de início muito precoce (em inglês VEOIBD) secundária a mutações do receptor de interleucina 10 (*IL-10R*), explorar dados de imunofenotipagem e perfil de citocinas plasmáticas nesses casos em comparação com indivíduos saudáveis e descrever o fenótipo de mutações *IL-10/IL-10R* com base em uma revisão da literatura.

Descrição do caso: Duas lactentes do sexo feminino foram encaminhadas ao nosso centro terciário, ambas com dez meses no momento do encaminhamento, com doença colônica e perianal grave, bem como desnutrição significativa, tendo uma resposta limitada aos agentes de terapia usuais de doença inflamatória intestinal (DII). No primeiro caso, o sequenciamento completo do exoma revelou mutação homocigótica (c. 537G>A/p.T179T) no exon 4 do gene *IL-10RA*, enquanto no segundo caso heterozigosidade composta foi identificada também no gene *IL-10RA* [chr11: 117.859.199 — variante A>G/p.Tyr57Cys e chr11: 117.860.335 — variante G>T/p.Val123Leu]. Ambas as pacientes foram submetidas a Transplante de Células-Tronco Hematopoiéticas. A investigação imunológica das pacientes revelou aumento dos níveis plasmáticos de IL-10 e aumento da IgA.

Comentários: Nossos relatos de casos descrevem novos achados no perfil de citocinas plasmáticas na deficiência de IL-10R, e relatamos o fenótipo grave da deficiência de *IL-10/IL-10R* que deve ser reconhecido pelos médicos.

Palavras-chave: Doenças inflamatórias intestinais; Sequenciamento completo do exoma; Técnicas genéticas; Doenças da imunodeficiência primária; Criança.

ABSTRACT

Objective: To report two patients with very-early-onset inflammatory bowel disease (VEOIBD) secondary to interleukin-10 receptor (*IL-10R*) mutations, explore immunophenotyping data and plasma cytokine profile on these cases compared to healthy controls, and describe the phenotype of *IL-10/IL-10R* mutations based on a literature review.

Case description: We report on two female infants referred to our tertiary center at the age of ten months, with severe colonic and perianal disease, as well as significant malnutrition, who had shown limited response to usual inflammatory bowel disease (IBD) therapy agents. In the first case, whole-exome sequencing (WES) revealed a homozygous (c.537G>A/p.T179T) mutation in exon 4 of the *IL-10RA* gene, while in the second patient, compound heterozygosity was identified, also in the *IL-10RA* gene (chr11:117.859.199 variant A>G/p.Tyr57Cys and chr11: 117.860.335 variant G>T/p.Val123Leu). Both patients underwent hematopoietic cell transplantation (HCT). Immunological work-up of these patients revealed increased IL-10 plasma levels and increased IgA.

Comments: Our case reports disclose novel findings on plasma cytokine profile in *IL-10R* deficiency, and we describe the severe phenotype of *IL-10/IL-10R* deficiency that should be recognized by physicians.

Keywords: Inflammatory bowel diseases; Whole exome sequencing; Genetic techniques; Primary immunodeficiency diseases; Child.

*Autor correspondente. E-mail: lomazi22@unicamp.br (E. A. Lomazi).

^aUniversity of Toronto, Toronto, ON, Canada.

^bUniversidade de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

^cHospital Pequeno Príncipe, Curitiba, PR, Brasil.

Recebido em 3 de novembro de 2020; aprovado em 21 de março de 2021.

INTRODUÇÃO

A doença inflamatória intestinal de início muito precoce (VEOIBD) é definida como doença inflamatória intestinal (DII) que se apresenta em idade inferior a seis anos.¹ A importância desta classificação está relacionada ao fato de que pacientes pediátricos com DII têm muitas características dependentes da idade, tais como: probabilidade de etiologia monogênica subjacente, localização anatômica da doença, gravidade e resposta à terapia.¹⁻³ Embora a VEOIBD represente uma fração relativamente pequena de DII pediátrica — cerca de 15%⁴ —, é considerado o subgrupo de crescimento mais rápido em incidência.⁵ A VEOIBD geralmente se apresenta com pancolite, desnutrição/deficiência de crescimento e doença grave e refratária,⁶ que pode estar associada a histórico familiar/antecedentes genéticos conhecidos ou ser uma doença monogênica *de novo*. Vários mecanismos foram identificados na VEOIBD, incluindo, mas não se limitando a: disfunção da barreira epitelial, defeitos nos fagócitos, células B e T, desregulação imunológica, defeitos de sinalização relacionados à IL-10 e distúrbios hiperinflamatórios.⁷ A desregulação do sistema imunológico do intestino é um elemento importante na patogênese da DII:⁸ o desequilíbrio entre as citocinas pró- e anti-inflamatórias é um dos principais elementos fisiopatológicos para o início, progressão e resolução da inflamação.^{9,10} O papel das citocinas na DII como potencial marcadores e/ou alvos terapêuticos pode fornecer uma abordagem eficaz para o controle em longo prazo desta inflamação.^{9,10}

Um número crescente de genes tem sido implicado em formas monogênicas da VEOIBD,¹¹ e as técnicas de sequenciamento de última geração realmente revolucionaram seu diagnóstico. Infelizmente, a disponibilidade limitada dessa tecnologia e a complexidade do curso da VEOIBD geralmente resulta em um atraso significativo no início da terapia específica/dirigida, levando a um aumento da morbidade. Mais de 200 *loci* de susceptibilidade foram conectados com a patogênese de genes idênticos por descendência (IBD) em variância poligênica,¹² com mais de 50 envolvidos em fenótipos semelhantes aos IBDs monogênicos,¹ incluindo interleucina-10 (IL-10), receptor de IL-10 (IL-10R), inibidor de apoptose ligado ao X (proteína XIAP) e genes FOXP3.^{7,13}

Nosso objetivo foi relatar os primeiros dois pacientes com VEOIBD e mutações IL-10R diagnosticados em nossa instituição, explorar dados de imunofenotipagem e perfil de citocinas plasmáticas nesses casos e descrever o fenótipo de mutações IL-10/IL-10R com base em uma revisão da literatura.

RELATO DE CASO

Relatamos os casos de duas pacientes com diagnóstico de mutação no IL-10R atendidos no Departamento de Pediatria do Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Campinas,

submetidos ao transplante de células hematopoéticas (TCH) no Serviço de Transplante de Medula Óssea do Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR). Os dados foram adquiridos com base em uma revisão retrospectiva de seus registros médicos, documentação clínica e laboratorial prospectiva, incluindo dados demográficos, dados clínicos e achados endoscópicos e laboratoriais. Em ambos os casos, os responsáveis legais (pais) concordaram em participar e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Todos os métodos foram realizados de acordo com as normas e regulamentações do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) de nossa instituição: o estudo foi aprovado por nosso CEP sob protocolo 3.655.828.

Para analisar o perfil de citocinas, foram conduzidos ensaios multiplex com base em 4 mm de amostras de sangue anticoagulado com ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) coletadas de 5 controles saudáveis — já que os laboratórios de cada centro devem estabelecer seus próprios valores de referência — e plasma por centrifugação (1500 × g, 10 min) de ambas as pacientes com IL-10RA. Os níveis plasmáticos de IL-2, IL-5, IL-6, IL-8 (CXCL8) e IL-10 foram analisados pelo painel de células T de alta sensibilidade humana MILLIPLEX MAP, Immunology Multiplex Assay® (Merck – Darmstadt, Alemanha), de acordo com as instruções do fabricante. As amostras foram processadas em duplicata usando o software Bio-Plex Manager, versão 6.0 (Bio-Rad®). Os 5 controles eram pacientes saudáveis, com idades entre 10 e 15 anos, selecionados por conveniência, uma vez que os níveis dessas citocinas estudadas não diferem entre crianças e adolescentes.¹⁴

CASO 1

Uma paciente do sexo feminino de dez meses foi encaminhada pela primeira vez para a especialidade Cirurgia Pediátrica com o diagnóstico de malformação anorretal. O histórico médico anterior era relevante, pois havia se submetido a uma colostomia aos dois meses de idade por alergia à proteína do leite de vaca (APLV) e infecções recorrentes, incluindo múltiplos episódios de sepse secundários a infecções do trato urinário, infecções de pele e Síndrome de Fournier. À avaliação, estava pálida, taquicárdica e gravemente desnutrida; o exame anorretal revelou estenose anal e uma fístula perianal ativa. Os dados laboratoriais de referência mostraram anemia grave (hemoglobina de 6,2 g/dL), marcadores inflamatórios persistentemente elevados e trombocitose. A calprotectina fecal foi de 3.300 µg/g.

Foi internada para tratamento de suporte, investigação adicional e reabilitação nutricional. A colonoscopia demonstrou pancolite crônica compatível com DII. Foi iniciado tratamento com corticoide, seguido de azatioprina e infliximabe, com resposta limitada. O sequenciamento do exoma completo (WES) revelou uma mutação homozigótica (c.537G> A, p.T179T) no exon 4

do gene IL-10RA. A mesma mutação foi encontrada em heterozigidade em ambos os pais, caracterizando herança autossômica recessiva. A paciente foi encaminhada para TCH com 6 anos de idade, embora ainda gravemente desnutrida (peso 12,8 kg) e com infecção cronicamente ativa na pele ao redor da colostomia.

Foi submetida a um transplante de medula óssea compatível (12/12) de um doador compatível não relacionado, de 25 anos de idade, CMV negativo. O regime preparativo mieloablativo incluiu busulfan 18 mg/kg, fludarabina 160 mg/m² e ATG de coelho (timoglobulina®) 6 mg/kg. Foi utilizada profilaxia da doença do enxerto contra hospedeiro (DECH) com ciclosporina e micofenolato de mofetil (MMF). As doses totais de células nucleadas e CD34 infundidas foram 5,7 × 10⁸/kg e 3,9 × 10⁶/kg, respectivamente. No dia +7 pós-TCH, apresentou sintomas de infecção respiratória superior, e um esfregaço nasofaríngeo testou positivo para parainfluenza (negativo para COVID-19). Mucosite grau II foi detectada no dia +10. O enxerto de neutrófilos foi observado no dia +14 e o enxerto de plaquetas no dia +26. A análise de quimerismo revelou inicialmente um quimerismo misto (dia +35 — doador total: 79%; CD3: 33%; CD33: 90%), a imunossupressão foi mantida com níveis adequados de ciclosporina e análises repetidas mostraram quimerismo progressivo do doador (dia +90 — doador total: 88%; CD3: 61%; CD19: 100%; CD33: 96%). Atualmente, encontra-se em excelentes condições clínicas, sem complicações relacionadas à doença de base ou ao TCH.

Na investigação imunológica desta paciente, observamos linfócitos CD8⁺ periféricos elevados, com razão de inversão CD4⁺/CD8⁺ e redução de CD19⁺ e CD16⁺CD56⁺. Além disso, identificamos níveis plasmáticos elevados de IL-8, IL-6 e IL-10, níveis plasmáticos de IL-2 diminuídos e níveis elevados de IgA.

CASO 2

Paciente do sexo feminino de dez meses foi encaminhada para a clínica de Gastroenterologia Pediátrica com história de diarreia não sanguinolenta e deficiência de crescimento a partir dos três meses de idade. Apresentava anemia grave (hemoglobina: 7,3 g/dL) e desnutrição crônica (albumina 1,7 g/dL). A calprotectina fecal foi de 5.288 µg/g. Uma endoscopia baixa demonstrou colite ativa grave; no entanto, o exame foi limitado ao sigmoide, onde um segmento estenótico estava presente e não podia ser transposto. Havia sido iniciada terapia com esteroides, com melhora sintomática mínima. WES identificou duas mutações heterozigotas no gene IL-10RA (chr11: 117.859.199 — variante A>G, resultando em p.Tyr57Cys e chr11: 117.860.335 — variante G>T, resultando em p.Val123Leu). A primeira variante foi identificada na mãe da paciente, enquanto a segunda não foi encontrada nos pais e, portanto, foi caracterizada como *de novo*. A paciente foi encaminhada para avaliação de TCH.

Antes do TCH, recebeu antibióticos sistêmicos por 10 dias devido a uma infecção relacionada a uma fístula retovaginal e heparina de baixo peso molecular por 14 dias para tratamento de trombose relacionada ao cateter venoso central. Foi submetida ao TCH aos 23 meses de idade, também gravemente desnutrida (peso 6,5 kg). Foi utilizado o mesmo regime preparativo mieloablativo descrito no caso 1. A fonte de células-tronco foi o sangue do cordão compatível com ABO, CMV positivo e não relacionado (9/10, incompatibilidade de *locus* B), e as doses totais de células nucleadas e CD34 infundidas foram 17 × 10⁷/kg e 3,5 × 10⁵/kg, respectivamente. O curso pós-TCH foi complicado por mucosite grau II (observada no dia +13) e cistite hemorrágica negativa para BK (no dia +20). O enxerto de neutrófilos foi observado no dia +18 e o enxerto de plaquetas no dia +40. O quimerismo do doador no dia +30 mostrou 100% das células do doador. Devido a uma doença perianal ativa em andamento e ao risco de infecção, a paciente foi submetida a uma colostomia de desvio aproximadamente um mês após o TCH, o que permitiu a cura de sua doença perianal. Teve melhora gradual da colite subjacente e a diarreia crônica foi curada. Não teve outras complicações relacionadas à doença de base ou ao TCH.

A imunofenotipagem dessa paciente mostrou redução dos linfócitos CD8⁺ do sangue periférico, enquanto a análise do perfil de citocinas plasmáticas mostrou níveis elevados de IL-10. Além disso, os níveis de IgA estavam elevados e foi observada neutrofilia.

Um resumo da informação genética e caracterização imunológica dos dois casos aqui relatados, bem como uma comparação com dados de um caso previamente descrito na literatura,¹⁵ está apresentado na Tabela 1.

DISCUSSÃO

Desde o relatório inicial de Glocker *et al.* em 2009¹⁶, cerca de 100 relatórios dispersos sobre mutações de IL-10 ou IL-10R relacionadas à VEOIBD foram documentados; entretanto, os relatos na América do Sul são escassos.¹⁷⁻¹⁹ A via da IL-10 foi bem estabelecida como central para a modulação da inflamação no trato gastrointestinal. IL-10 é uma citocina multifuncional produzida por diferentes subtipos de leucócitos (em resposta a vários estímulos); tem efeitos tecido-específicos exercidos por receptores tetraméricos específicos, determinando principalmente a ativação da cascata IL-10/JAK1/STAT3.^{20,21}

IL-10R tem duas unidades, alfa (IL-10RA) e beta (IL-10RB), e defeitos de receptor são relatados em ambas as subunidades: mais frequentemente na subunidade alfa;¹⁷ no entanto, mutações heterozigóticas compostas de receptor (IL-10RA/IL-10RB) e mutações homozigóticas de IL-10RB também foram descritas.^{17,22,23} A deficiência de IL-10R, ou mesmo seu comprometimento funcional, leva à sinalização anormal, determinando um fenótipo de deficiência de IL-10.²⁴ Mutações em IL-10 e seu receptor foram

Tabela 1 Informações genéticas e dados laboratoriais.

	Caso 1		Valores de referência para crianças de 2 a 6 anos	Caso 2	Valores de referência para crianças de 2 anos	Caso 3 ¹⁵	Valores de referência
Sexo	F			F		M	
Terapia cirúrgica	Colostomia			Colostomia		Ileostomia	
Mutação	Thr179Thr			Tyr57Cys e Val123Leu		Tyr57Cys	
Mãe	Thr179Thr			Tyr57Cys			
Pai	Thr179Thr						
Idade ao exame	3 anos	5 anos		1 ano			
Plaquetas (×10 ³)	628	358	150–400	747	150–450		
Leucócitos/μL (×10 ³)	10,4	10,32	4–10	21,9	4–10		
Neutrófilos/μL	5730	6250	2000–8000	17820	2000–8000		
Monócitos/μL	832	320	200–800	610	200–800		
Linfócitos/μL	3796	3690	2210–5804	3360	3245–6981		
CD19 ⁺ /mm ³	657	49	328,2–1079,5	706	648–2072,3	610	200–2100
CD19 ⁺ (%)	14,5	1,4	13,3–26,7	30,3	15,6–32,2	18	14–44
CD3 ⁺ /mm ³	3348	3431	1498,4–3815,7	1079	1906,9–4313,9	2390	900–4500
CD3 ⁺ (%)	73,9	97,2	57,1–71,7	46,3	52,6–69,4	70	43–76
CD3 ⁺ CD4 ⁺ /mm ³	2173	1163	786,2–2085,5	665	957,2–2727,1	1430	500–2400
CD3 ⁺ CD4 ⁺ (%)	64,9	33,9	27,7–46,3	61,6	26,1–47,0	42	23–48
CD3 ⁺ CD8 ⁺ /mm ³	803	2059	452,3–1700,5	350	563,3–1753,2	890	300–1800
CD3 ⁺ CD8 ⁺ (%)	24	60	15,7–33,8	32,4	14,4–27,5	26	14–33
CD16 ⁺ CD56 ⁺ /mm ³	435	25	134,6–600,8	536	153,0–702,9	340	100–1000
CD16 ⁺ CD56 ⁺ (%)	9,6	0,7	7,8–16,1	23	3,3–14,6	10	4–23
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ /mm ³	157	130		32			
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ (%)	4,7	3,8		3			
Razão CD4/CD8	2,70	0,56	>1,5	1,9	>1,5	1,6	0,9–2,9
TCRab ⁺ CD3 ⁺ CD4 ⁻ CD8 ⁻ (%)	1	n/a	<1,5	n/a	<1,5		
IgM (mg/dL)	141	202	24–276	149	28–173	130	50–220
IgA (mg/dL)	731	815	33–308	178	24–184	250	30–120
IgG (mg/dL)	1770	1500	630–2000	507	410–1630	874	310–1380
IgE (IU/mL)	30,2	n/a		n/a			
IL-10 (pg/mL) #		54,58		51,2	25,2 (22,6–41,2)		
IL-6 (pg/mL) #		19,3		3,31	2,4 (0,7–8,4)		
IL-8 (pg/mL) #		31,17		5,83	5,1 (3–7,1)		
IL-2 (pg/mL) #		*0,28		1,34	0,7 (0,6–1,6)		
IL-5 (pg/mL) #		12,49		10,06	9,8 (7,0–13,5)		

CD: cluster de diferenciação; Ig: imunoglobulina. IL: interleucina; n/d: não disponível; μL: microlitros; mm³: milímetros cúbicos; mg/dL: miligramas por decilitro; pg/mL: picograma por decilitro; UI/mL: unidades internacionais por mililitro. *valor fora do intervalo (abaixo do limite de detecção do ensaio), exigindo cálculo de extrapolação. #Mesmos valores de referência para ambos os casos.

relatadas principalmente na Europa, América do Norte e Ásia. Antes desta publicação, em nossa revisão de literatura, pudemos identificar apenas um caso no Brasil (mutação IL-10RA), relatado como parte de uma colaboração internacional.²³

Como nos dois casos relatados neste documento, os pacientes com mutações IL-10 ou IL-10R geralmente têm início extremamente precoce dos sintomas, colite e doença perianal graves, doenças infecciosas graves e deficiência acentuada de crescimento.^{17,23,25,26} Eczema, foliculite e úlceras orais também são comumente relatados.¹⁷ A resposta aos agentes de terapia de DII usuais, como agente único ou terapias combinadas, é geralmente fraca.^{17,26} O uso de esteroides, como em nossos dois pacientes, é comum nessa subpopulação de VEOIB, com mínimo alívio sintomático. A resposta a diferentes terapias médicas, se presente, muitas vezes não é sustentada.²³⁻²⁵ O manejo da doença perianal geralmente requer colectomia/ileostomia.²⁴ Até agora, o único tratamento definitivo/curativo relatado é o TCH^{16,23,25} e, portanto, essa foi a modalidade escolhida para os dois casos deste relato.

Divulgamos um novo achado de níveis elevados de IL-10, presente em ambos os casos quando comparados aos nossos controles e também aos dados de referência previamente descritos na literatura.¹⁴ Além disso, detectamos níveis aumentados de IgA, conforme descrito anteriormente por Engelhardt *et al.*¹⁵ Em nosso primeiro caso, observamos níveis elevados de IL-6 e IL-8, um achado que não foi relatado anteriormente em mutações IL-10/IL-10R. Como sabemos, a IL-10 é uma citocina pleiotrópica e importante imunorreguladora⁸ que tem sido associada à depuração viral ou persistência viral prejudicada,²⁷ enquanto IL-6 e IL-8 são citocinas pró-inflamatórias envolvidas na diferenciação e proliferação de uma variedade de células e no dano tecidual.⁸ Dados sobre mais pacientes com deficiência de IL-10/IL-10R, talvez de um estudo multicêntrico, seriam necessários para entender melhor o desequilíbrio entre citocinas pró- e anti-inflamatórias, pois podem ser biomarcadores relevantes. Além disso, as investigações sobre essas moléculas de sinalização intercelular críticas em variantes de IL-10 e IL-10RA podem fornecer informações importantes sobre a desregulação de citocinas.²⁸

Em conclusão, nossos relatos trazem novos achados no perfil de citocinas plasmáticas na deficiência de IL-10R, e descrevemos

o fenótipo grave da deficiência de IL-10/IL-10R, que deve ser reconhecido pelos médicos. Dentre as causas monogênicas da VEOIBD, buscamos conscientizar sobre o fenótipo de deficiência de IL-10/IL-10R, por serem os mais frequentemente identificados em associação com DII de início na infância.^{17,23} Conforme ilustrado nos casos, mesmo em situações sem histórico de consanguinidade ou familiar, mutações de IL-10 ou IL-10R podem ser herdadas em um padrão autossômico recessivo ou resultar de heterozigiosidade composta, incluindo mutações *de novo*. Com um alto índice de suspeita, uma análise direcionada visando a um diagnóstico específico é possível, heterozigiosidade composta permitindo uma redução significativa de custo em comparação com o WES.^{26,29} Mais investigações sobre a desregulação de citocinas e sua implicação fisiopatológica para a VEOIBD secundária à deficiência de IL-10/IL-10R são necessárias.

Financiamento

Este trabalho foi apoiado pelo subsídio no. 2016/25615-6, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). LFM é bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Contribuição dos autores

Desenho do estudo: Riccetto AG, Vilela MM, Lomazi EA. *Coleta de dados:* Sandy NS, Marega LF, Dantas G, Riccetto AG, Bonfim C, Vilela MM, Servidoni MF. *Análise dos dados:* Marega LF, Riccetto AG, Bonfim C, Vilela MM. *Redação do manuscrito:* Sandy NS, Marega LF, Riccetto AG, Vilela MM, Lomazi EA. *Revisão do manuscrito:* Sandy NS, Marega LF, Dantas G, Riccetto AG, Bonfim C, Vilela MM, Ribeiro AF, Servidoni MF, Lomazi EA. *Supervisão do estudo:* Riccetto AG, Bonfim C, Vilela MM, Ribeiro AF, Servidoni MF, Lomazi EA.

Declaração

O banco de dados que deu origem ao artigo está disponível com o autor correspondente.

REFERÊNCIAS

- Uhlir HH, Schwerdt T, Koletzko S, Shah N, Kammermeier J, Elkadri A, et al. The diagnostic approach to monogenic very early onset inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2014;147:990-1007. e1003. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.07.023>
- Silverberg MS, Satsangi J, Ahmad T, Arnott ID, Bernstein CN, Brant SR, et al. Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. *Can J Gastroenterol*. 2005;19 (Suppl A):5A-36A. <https://doi.org/10.1155/2005/269076>
- Levine A, Griffiths A, Markowitz J, Wilson DC, Turner D, Russell RK, et al. Pediatric modification of the Montreal classification for inflammatory bowel disease: the Paris classification. *Inflamm Bowel Dis*. 2011;17:1314-21. <https://doi.org/10.1002/ibd.21493>
- Heyman MB, Kirschner BS, Gold BD, Ferry G, Baldassano R, Cohen SA, et al. Children with early-onset inflammatory bowel disease (IBD): analysis of a pediatric IBD consortium registry. *J Pediatr*. 2005;146:35-40. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2004.08.043>

5. Benchimol EI, Bernstein CN, Bitton A, Carroll MW, Singh H, Otley AR, et al. Trends in Epidemiology of pediatric inflammatory bowel disease in Canada: distributed network analysis of multiple population-based provincial health Administrative Databases. *Am J Gastroenterol*. 2017;112:1120-34. <https://doi.org/10.1038/ajg.2017.97>
6. Al-Hussaini A, El Mouzan M, Hasosah M, Al-Mehaidi A, ALSaleem K, Saadah OI, et al. Clinical pattern of early-onset inflammatory bowel disease in Saudi Arabia: a multicenter national study. *Inflamm Bowel Dis*. 2016;22:1961-70. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000796>
7. Kelsen JR, Baldassano RN, Artis D, Sonnenberg GF. Maintaining intestinal health: the genetics and immunology of very early onset inflammatory bowel disease. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2015;1:462-76. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2015.06.010>
8. Trifunović J, Miller L, Debeljak Ž, Horvat V. Pathologic patterns of interleukin 10 expression—a review. *Biochem Med (Zagreb)*. 2015;25:36-48. <https://doi.org/10.11613/BM.2015.004>
9. Guan Q, Zhang J. Recent advances: the imbalance of cytokines in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Mediators Inflamm*. 2017;2017:4810258. <https://doi.org/10.1155/2017/4810258>
10. Strober W, Fuss IJ. Proinflammatory cytokines in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*. 2011;140:1756-67. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.02.016>
11. Uhlig HH, Booth C. A spectrum of genetic variants contributes to immune defects and pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*. 2018;154:2022-4. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.05.001>
12. de Lange KM, Moutsianas L, Lee JC, Lamb CA, Luo Y, Kennedy NA, et al. Genome-wide association study implicates immune activation of multiple integrin genes in inflammatory bowel disease. *Nat Genet*. 2017;49:256-61. <https://doi.org/10.1038/ng.3760>
13. Kelsen JR, Dawany N, Moran CJ, Petersen BS, Sarmady M, Sasson A, et al. Exome sequencing analysis reveals variants in primary immunodeficiency genes in patients with very early onset inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2015;149:1415-24. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.07.006>
14. Kleiner G, Marcuzzi A, Zanin V, Monasta L, Zauli G. Cytokine levels in the serum of healthy subjects. *Mediators Inflamm*. 2013;2013:434010. <https://doi.org/10.1155/2013/434010>
15. Engelhardt KR, Shah N, Faizura-Yeop I, Uygun DF, Frede N, Muise AM, et al. Clinical outcome in IL-10- and IL-10 receptor-deficient patients with or without hematopoietic stem cell transplantation. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;131:825-30. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2012.09.025>
16. Glocker EO, Kotlarz D, Boztug K, Gertz EM, Schäffer AA, Noyan F, et al. Inflammatory bowel disease and mutations affecting the interleukin-10 receptor. *N Engl J Med*. 2009;361:2033-45. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0907206>
17. Huang Z, Peng K, Li X, Zhao R, You J, Cheng X, et al. Mutations in interleukin-10 receptor and clinical phenotypes in patients with very early onset inflammatory bowel disease: a Chinese VEO-IBD collaboration group survey. *Inflamm Bowel Dis*. 2017;23:578-90. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000001058>
18. Oliveira e Silva N. Características clínicas e evolução de crianças com doenças inflamatórias intestinais de início muito precoce [Dissertação de Mestrado]. São Paulo (SP): Universidade Federal de São Paulo; 2016.
19. Brito SF, Silva DN, Domingues AS, Gusmão JF. Doença de crohn de aparecimento precoce: relato de caso. *J Coloproctol*. 2017;37:111-2. <https://doi.org/10.1016/j.jcol.2017.09.090>
20. Hutchins AP, Diez D, Miranda-Saavedra D. The IL-10/STAT3-mediated anti-inflammatory response: recent developments and future challenges. *Brief Funct Genomics*. 2013;12:489-98. <https://doi.org/10.1093/bfpg/elt028>
21. Williams L, Bradley L, Smith A, Foxwell B. Signal transducer and activator of transcription 3 is the dominant mediator of the anti-inflammatory effects of IL-10 in human macrophages. *J Immunol*. 2004;172:567-76. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.172.1.567>
22. Mao H, Yang W, Lee PP, Ho MH, Yang J, Zeng S, et al. Exome sequencing identifies novel compound heterozygous mutations of IL-10 receptor 1 in neonatal-onset Crohn's disease. *Genes Immun*. 2012;13:437-42. <https://doi.org/10.1038/gene.2012.8>
23. Kotlarz D, Beier R, Murugan D, Diestelhorst J, Jensen O, Boztug K, et al. Loss of interleukin-10 signaling and infantile inflammatory bowel disease: implications for diagnosis and therapy. *Gastroenterology*. 2012;143:347-55. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2012.04.045>
24. Lee CH, Hsu P, Nanan B, Wong M, Gaskin KJ, Leon RW, et al. Novel de novo mutations of the interleukin-10 receptor gene lead to infantile onset inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis*. 2014;8:1551-6. <https://doi.org/10.1016/j.crohns.2014.04.004>
25. Pigneur B, Escher J, Elawad M, Lima R, Buderus S, Kierkus J, et al. Phenotypic characterization of very early-onset IBD due to mutations in the IL10, IL10 receptor alpha or beta gene: a survey of the Genius Working Group. *Inflamm Bowel Dis*. 2013;19:2820-8. <https://doi.org/10.1097/O1.MIB.0000435439.22484.d3>
26. Beser OF, Conde CD, Serwas NK, Cokugras FC, Kutlu T, Boztug K, et al. Clinical features of interleukin 10 receptor gene mutations in children with very early-onset inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2015;60:332-8. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000000621>
27. Bagheri Y, Babaha F, Falak R, Yazdani R, Azizi G, Sadri M, et al. IL-10 induces TGF- β secretion, TGF- β receptor II upregulation, and IgA secretion in B cells. *Eur Cytokine Netw*. 2019;30:107-13. <https://doi.org/10.1684/ecn.2019.0434>
28. Brooks DG, Trifilo MJ, Edelmann KH, Teyton L, McGavern DB, Oldstone MB. Interleukin-10 determines viral clearance or persistence in vivo. *Nat Med*. 2006;12:1301-9. <https://doi.org/10.1038/nm1492>
29. Petersen BS, August D, Abt R, Alddafari M, Atarod L, Baris S, et al. Targeted gene panel sequencing for early-onset inflammatory bowel disease and chronic diarrhea. *Inflamm Bowel Dis*. 2017;23:2109-20. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000001235>