

СИНДРОМ *IPEX* – ПРИКАЗ БОЛЕСНИКА

Недељко РАДЛОВИЋ¹, Драгана ЈАНИЋ¹, Силвија САЈИЋ¹,
Срђа ЈАНКОВИЋ¹, Маја ЈЕШИЋ¹, Зоран ЛЕКОВИЋ¹, Рада ПЕТРОВИЋ²

¹Универзитетска дечја клиника, Београд; ²Здравствени центар, Чачак

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Синдром *IPEX*, односно наследна (*X*-везана) имунодисрегулација с аутоимуном полиендокринопатијом и ентеропатијом као основним манифестацијама, јесте ретко и изузетно тешко обољење. Настаје услед мутације гена одговорног за синтезу специфичног протеина (*FOXP3*), који диференцијацијом и активацијом *CD4⁺CD25⁺* регулаторних Т-лимфоцита има кључну улогу у индукцији и одржавању периферне толеранције сопствених ткива.

Приказ болесника Приказано је мушко одојче с класичном клиничком сликом синдрома *IPEX*, који се испољио крајем првог месеца по рођењу најпре дијабетес мелитусом тип 1 и хроничном дијарејом праћеном дехидратацијом и поремећајем напредовања, а потом екцемом на лицу и лабораторијским знацима тиреоидитиса без тиреоидне дисфункције (антитиреоглобулинска антитела 1:5500, антимиџозомна антитела 1:40). Ниво имуноглобулина Е (*IgE*) у плазми био је висок (517 IU/l), док су антитела на ткивну трансглутаминазу била повишена (*IgA 7,5 U/ml*); антиглаткомишићна и анти-ДНК антитела нису забележена. На основу типичне клиничке слике и лабораторијских налаза постављена је дијагноза синдрома *IPEX*, што је затим потврђено доказом мутације *IVS7+5G>A* на гену за *FOXP3*. Лечење инсулином уз примену пронозона и комбиноване парентералне и семиелементарне исхране довело је до клиничког опоравка болесника. У узрасту од девет месеци, упркос примени пронозона и хипоалергене исхране, поново је дошло до тешке и упорне дијареје праћене дехидратацијом, губитком телесне тежине и погоршањем општег стања детета. Уз потпуну парентералну исхрану, као и остале мере, у лечење је уведен азатиоприн, али без жељеног ефекта. У узрасту од дванаест и по месеци, услед бактеријемije и дисеминоване интраваскуларне коагулације као компликације, долази до смртног исхода.

Закључак Синдром *IPEX* треба имати у виду у свим случајевима удружене појаве дијабетес мелитуса тип 1 и хроничне дијареје код мушког новорођенчета или одојчета. Иако су резултати лечења засад скромни, сасвим је извесно да ће они у скорашњој будућности бити знатно бољи.

Кључне речи: синдром *IPEX*; *FOXP3*; деца

УВОД

Синдром *IPEX* (имунодисрегулација, полиендокринопатија, ентеропатија, наслеђивање везано за *X*-хромозом) одликује се аутоимуним оштећењем неколико органских система, при чему најчешће преовлађују ентеропатија услед атрофије слузокоже црева, дијабетес мелитус тип 1 услед страдања β -ћелија Лангерхансових острваца панкреаса, хипотиреоидизма, аутоимунна анемија и тромбоцитопенија, појачана склоност ка инфекцијама, као и хронични дерматитис [1]. Синдром је први описао Пауел (*Powell*) 1982. године [2]. Тачна инциденција синдрома *IPEX* није позната, јер се сматра да значајан број болесника који пате од блажег облика ове болести измиче постављању дијагнозе [1].

У основи синдрома *IPEX* лежи мутација гена смешеног на перицентромеричном локусу *X*-хромозома (*Xp11.23-q13.3*), који кодира протеин означен као *FOXP3* [3]. Реч је о протеину из породице модификатора генске транскрипције са виљушкастим, односно крилатим хеличним доменом (енгл. *forkhead/winged helix*). Животињски модел синдрома *IPEX* је миши сој назван "*scurfy*", настао спонтаном мутацијом хомологног гена *FOXP3*, што доводи до опадања крзна, анемије, тромбоцитопеније са честим обилним крварењем из дигестивног тракта, хипогонадизма, учесталих инфекција, дијареје, кахексије и утинућа до треће

или четврте недеље живота [4]. Главну улогу у развоју имунодисрегулације изазване мутацијом гена *FOXP3* имају *CD4⁺* помоћни Т-лимфоцити [5]. Показано је да оштећење *FOXP3* чини *CD4⁺* помоћне Т-лимфоците склонијим олакшаној и претераној активацији након препознавања антигена помоћу Т-ћелијског рецептора, будући да се *FOXP3* везује за секвенце ДНК у близини промотора за транскрипционе факторе *NFAT* и *NF- κ B*, супримирајући синтезу интерлеукина 2 (*IL-2*) и следствену ћелијску активацију и пролиферацију посредовану наведеним транскрипционим факторима [6]. Осим тога, *FOXP3* супримира синтезу многих цитокина [6]. Међутим, клинички и експериментални подаци говоре у прилог томе да је главни поремећај имуног система, како код "*scurfy*" миша, тако и код људи са синдромом *IPEX*, поремећај диференцијације *CD4⁺CD25⁺* регулаторних Т-лимфоцита, за коју је неопходан функционалан *FOXP3*. Изостанак регулаторних Т-лимфоцита доводи до поремећаја процеса стварања периферне толеранције на сопствене антигене, што има за последицу бројне и разноврсне аутоимуне манифестације које одликују синдром *IPEX* [7, 8]. У складу с тим показано је да релативно мали број интактних регулаторних Т-ћелија превенира појаву синдрома [8].

Код већине болесника синдром се дијагностикује у првој години по рођењу, има рапидно прогресиван ток и завршава се фатално у року од годину дана од постављања дијагнозе, мада су описани и блажи об-

лици синдрома с продуженим преживљавањем. До сад је описано 20 различитих мутација гена *FOXP3* које су удружене са синдромом *IPEX* [8]. Наслеђивање је везано за X-хромозом по стандардном менделијанском моделу, при чему дечади оболевају, док су женске особе носиоци обољења [7].

Код болесника са синдромом *IPEX* обично се не испољавају изражени знаци имунодефицијенције, премда је учесталост септикемије и других инфекција повећана. Имунолошки тестови по правилу не откривају грубе поремећаје, али често показују благо повећање односа *CD4* и *CD8* субпопулација лимфоцита, еозинофилију, појачану активацију Т-лимфоцита и променљиво повећање нивоа *IgE* у плазми [9]. Разноврсна аутоантитела, против β -ћелија острваца панкреаса, компоненти цревних ресица, ткива штитасте жлезде и других ткива, могу постојати или не, мада је уочено да се њихово појављивање временом повећава [1].

Терапија имуносупресивним лековима по правилу даје слабе резултате [1]. Код неких болесника циклоспорин А и такролимус довели су до привременог повлачења аутоимуних појава и њихових клиничких последица, док је експериментална примена сиролимуса показала охрабрујући резултат [10]. Трансплантација матичне ћелије хематопоезе је покушавана са скромним успехом услед честих фаталних компликација, али у даљој перспективи ипак остаје метод лечења који обећава [11-13].

ПРИКАЗ БОЛЕСНИКА

Мушко одојче старо четири месеца и десет дана упућено је из регионалног здравственог центра на Универзитетску дечју клинику у Београду због дијабетес мелитуса тип 1 и хроничне дијареје с поремећајем напредовања. Трудноћа је била терминска, уредног тока, а порођај нормалан; дете је рођено дугачко 56 *cm* и тешко 3600 *g* (Апгар скор 9). Примило је *BCG* вакцину без компликација.

Двадесет петог дана по рођењу код детета се испољила акутна дехидратација праћена помућењем свести. Ниво гликемије је био 55 *mmol/l*, инсулинемије 3 *mU/l*, а *C*-пептида у серуму 0,25 *mmol/l*, те је постављена дијагноза дијабетес мелитуса тип 1. Уз лечење инсулином успостављена је контрола гликемије, али се убрзо јавила и хронична неинфективна осмотско-секреторна дијареја праћена анорексијом, губитком телесне тежине, апатијом и застојем у моторном развоју детета. Поред континуиране интравенске надокнаде губитка течности и електролита, било је потребно применити и комбиновану семиелементарну и парентералну исхрану детета. Болест се у даљем току компликовала екцемом на лицу и тешким инфекцијама дисајних органа. Додатним испитивањем утврђени су повишен ниво имуноглобулина Е (*IgE*) у плазми (517 *IU/ml*) и висок титар антитиреоглобулинских (1:5500)

и антимицрозомних антитела (1:40). Вредност *FT4* у плазми била је нормална (11,4 *pmol/l*), што је указивало на то да нема тиреоидне дисфункције. Доказана су и антитела на ткивну трансглутаминазу (*IgA* 7,5 *U/ml*), као и антиглијадинска антитела (*IgA* 30 *U/ml*, *IgG* 18,4 *U/ml*), док антиглуткомисићна и антитела на дволанчану ДНК нису забележена. На основу клиничке слике (дијабетес мелитус, хронична осмотско-секреторна дијареја, екцем), лабораторијских резултата и тока болести постављена је дијагноза синдрома *IPEX*, што је затим потврђено налазом мутације *IVS7+5G>A* на гену за *FOXP3* молекуларногенетском анализом која је обављена у Дечјој болници „Ана Мејер” Универзитета „Дегли студи” у Фиренци, у Италији. Увођењем пронизона у лечење (7,5 *mg* дневно) стабилизовала се функција дигестивних органа, а опште стање детета се постепено побољшало.

Током два месеца болничког лечења дете је, уз инсулин, пронизон и комбиновану семиелементарну и парентералну исхрану, удвостручило телесну тежину (са 2700 *g* на пријему на 5700 *g* при отпусту). Лечење дијабетеса настављено је инсулином (приближно 1,5 јединица по килограму телесне масе дневно, подељено у четири дозе), док је доза пронизона, ради превенције рецидива дијарејног поремећаја, сведена на 2,5 *mg* дневно. Примењена терапија је довела до стабилизације функција дигестивних органа, одговарајућег оралног уноса и задовољавајуће контроле гликемије.

Око четири месеца касније, тј. у узрасту од девет месеци, дошло је до рецидива упорне дијареје, дехидратације, губитка на телесној тежини и погоршања општег стања детета. Уз пронизон, у имуносупресивну терапију укључен је и азатиоприн, али без жељених резултата. Дијареја, осмотско-секреторног типа, постала је све тежа, те је код детета поново започета примена потпуне парентералне исхране. У склопу тешке исцрпљености организма и имуносупресивне терапије развија се бактеријемја. Прва појава ове компликације, чији је узрочник био *Staphylococcus aureus*, санирана је, али се убрзо, у узрасту од дванаест и по месеци, јавља нова, коју је изазвала *Klebsiella*. Она се у даљем току компликује дисеминованом интраваскуларном коагулацијом и смртним исходом.

ДИСКУСИЈА

Пут ка препознавању синдрома *IPEX*, као генетског, имунопатолошког и клиничког ентитета, није био једноставан. Пресудну улогу у дефинисању овог ретког, али веома инструктивног, поремећаја регулације унутар имуног система играло је изналажење везе између истраживања изведених на „*scurfy*” мишевима и јављања полиендокринопатије и ентеропатије код људи, по правилу у узрасту одојчета и предшколског детета [14, 15]. Кључни елемент за склапање потпуније слике о синдрому *IPEX*, која наставља

да се развија кроз откривање нових чињеница, представљало је циљно испитивање гена *FOXP3* код људи, који је хомологан гену *Foxp3* код мишева [16]. За последњи ген је претходно недвосмислено показано да је укључен у диференцијацију и функцију регулаторних Т-ћелија [17].

Након неколико деценија трајања контроверзног мишљења о супресији имуног одговора на нивоу $CD4^+$ помоћних Т-ћелија од стране одређене субпопулације Т-лимфоцита, путативних „Т- супресора”, под окриљем бројних резултата научних истраживања на различитим моделима данас је преовладало гледиште да контролу активације $CD4^+$ помоћних Т-лимфоцита у смислу превенције аутоимуности превасходно врше $CD4^+CD25^+$ регулаторне Т-ћелије, управо оне чије је стварање и деловање зависно од протеина *FOXP3* [18], за који се претпоставља да се својим „виљушкастим” доменом везује за одређена места у геному Т-лимфоцита, модификујући експресију једног или више још увек непознатих гена и тиме диктирајући диференцијацију ка регулаторним Т-ћелијама [19]. Овоме у прилог говоре налази о томе да мутације гена за *FOXP3* код којих је делимично очуван „виљушкasti” домен доводе до блажих облика синдрома *IPEX* [8].

Могућности лечења овог синдрома су, нажалост, и даље веома ограничене. Имуносупресивна терапија може да доведе до побољшања, али је оно по правилу пролазно [20]. Лош терапијски одговор на примену кортикостероида и незадовољавајући, премда нешто бољи, одговор на примену циклоспорина А и такролимуса могу да буду делимично објашњени специфичним поремећајима преноса унутарћелијског сигнала код изостанка функционалног *FOXP3*, где је, према подацима неких експерименталних студија, умањена улога калмодулин-калцијумског пута у индукцији експресије гена [1, 10, 21]. С овом претпоставком је у сагласности запажање о добром терапијском одговору на сиролимус, новији имуносупресивни агенс који не делује преко калцијум-калмодулинског пута [10]. Имуносупресивна терапија, међутим, код већине болесника са синдромом *IPEX* даје мало или нимало изгледа за трајну контролу имунопатолошких и клиничких манифестација, те се велике наде полажу у трансплантацију матичне ћелије хематопоезе, утолико пре што је показано да и релативно мала стабилна популација $CD4^+CD25^+$ регулаторних Т-ћелија успешно успоставља контролу над активацијом Т-лимфоцита и спречава јављање аутоимуних манифестација. Лечење трансплантацијом је засад оправдало ове наде по питању постизања ремисије обољења после успостављања химеричне реконституције имуног система. Наде су, међутим, још остале неиспуњене у погледу дугорочне животне прогнозе, коју ограничавају тешке компликације које прате саму трансплантацију [11-13, 20]. Неизвестан исход лечења наглашава колико је битно да педијатар препозна синдром *IPEX*, као и важност благовременог потврђивања дијагнозе молекуларногенетским методама, како би се омо-

гућило адекватно саветовање породице и пренатална дијагностика у наредној трудноћи.

Многа нова сазнања о детаљима везаним за јављање, развој и ток синдрома *IPEX* су, без обзира на тешкоће у трагању за делотворним и безбедним терапијским приступом који би омогућио поуздано лечење оболеле деце, подарила лекарима и истраживачима нови увид у фину мрежу међузависности унутар имуног система, где се у интеракцији генетских чинилаца с разноврсним чиниоцима средине може тражити кључ за разумевање многих поремећаја хомеостазе имуног система и организма у целини.

Приказани болесник је, према нашем знању, први болесник у Србији код којег је генском анализом потврђена дијагноза синдрома *IPEX*. Код њега се крајем првог месеца по рођењу испољио класичан клинички облик ове болести, најпре дијабетес мелитусом тип 1 и хроничном дијарејом праћеном дехидрацијом и поремећајем напредовања, а потом екцемом на лицу и лабораторијским знацима тиреоидитиса [1, 2, 15, 20]. Нажалост, болест је веома тешка и сложена, а резултати њеног лечења засад прилично скромни [1, 10, 20].

Иако се сврстава у изузетно ретка обољења, на синдром *IPEX* треба мислити у свим случајевима удружене појаве дијабетес мелитуса тип 1, хроничне дијареје и ексема код мушког новорођенчета или одојчета. Лечење овог изузетно сложеног и тешког патолошког стања и даље даје доста скромне и привремене резултате, али се може очекивати да ће они већ у скорашњој будућности бити далеко бољи.

ЗАХВАЛНИЦА

Захваљујемо проф. др Светиславу Нецићу на критичкој ревизији рада, као и колегама у Дечјој болници „Ана Мајер” Универзитета „Дегли студи” у Фиренци (Италија) на молекуларногенетској потврди овог обољења.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wildin RS, Smyk-Peterson S, Filipovich AH. Clinical and molecular features of the immunodysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked (*IPEX*) syndrome. *J Med Genet* 2002; 39:537-45.
2. Powell B, Buist N, Stenzel P, et al. An X-linked syndrome of diarrhea, polyendocrinopathy, and fatal infection in infancy. *J Pediatr* 1982; 100:731-7.
3. Bennett CL, Yoshioka R, Kiyosawa H, et al. X-linked syndrome of polyendocrinopathy, immune dysfunction, and diarrhea maps to Xp11.23-Xq13.3. *Am J Hum Genet* 2000; 66:461-8.
4. Brunkow ME, Jeffery EW, Hjerrild HA, et al. Disruption of a new forkhead/winged-helix protein, scurfin, results in the fatal lymphoproliferative disorder of the scurfy mouse. *Nature Genetics* 2001; 27:68-73.
5. Blair PJ, Bultman SJ, Haas JC, et al. $CD4^+CD8^-$ T cells are the effector cells in disease pathogenesis in the scurfy (*sf*) mouse. *J Immunol* 1994; 153:3764-74.
6. Schubert LA, Jeffery E, Zhang Y, et al. Scurfin (*foxp3*) acts as a repressor of transcription and regulates T cell activation. *J Biol Chem* 2001; 276:37672-9.
7. Wildin RS, Freitas A. *IPEX* and *FOXP3*: Clinical and research

- perspectives. *J Autoimmun* 2005; 25:56-62.
8. Le Bras S, Geha RS. IPEX and the role of FOXP3 in the development and function of human Tregs. *J Clin Invest* 2006; 16:1473-5.
 9. Bakke AC, Pultzer MZ, Wildin RS. Prospective immunological profiling in a case of immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX). *Clin Exp Immunol* 2004; 137:373-8.
 10. Bindl L, Torgerson T, Perroni L, et al. Successful use of the new immune suppressor sirolimus in IPEX (immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome). *J Pediatr* 2005; 147:256-9.
 11. Baud O, Goulet O, Canioni D, et al. Treatment of the immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) by allogeneic bone marrow transplantation. *NEJM* 2001; 344:1758-62.
 12. Mazzolari E, Forino C, Fontana M, et al. A new case of IPEX receiving bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transpl* 2005; 35:1033-4.
 13. Rao A, Kamani N, Filipovich A, et al. Successful bone marrow transplantation for IPEX syndrome after reduced-intensity conditioning. *Blood* 2007; 109:383-5.
 14. Mavrogiannis LA, Antonopoulou I, Baxova A, et al. X-linked neonatal diabetes mellitus, enteropathy and endocrinopathy syndrome is the human equivalent of mouse scurfy. *Nature Gen* 2001; 27:18-20.
 15. Torgerson TR, Ochs HD. Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome: a model of immune dysregulation. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2002; 2:481-7.
 16. Ochs HD, Ziegler SF, Torgerson TR. FOXP3 acts as a rheostat of the immune response. *Immunol Rev* 2005; 203:156-64.
 17. Zahorsky-Reeves JL, Wilkinson JE. A transgenic mouse strain with antigen-specific T cells (RAG1KO/sf/OVA) demonstrates that the scurfy (sf) mutation causes a defect in T-cell tolerization. *Comp Med* 2002; 52:58-62.
 18. Bacchetta R, Passerini L, Gambineri E, et al. Defective regulatory and effector T cell functions in patients with FOXP3 mutations. *J Clin Invest* 2006; 116:1713-22.
 19. Lopes JE, Torgerson TR, Schubert LA, et al. Analysis of FOXP3 reveals multiple domains required for its function as a transcriptional repressor. *J Immunol* 2006; 177:3133-42.
 20. Ruemmele MF, Brousse N, Chatenoud L, et al. Clinical outcome of IPEX syndrome: survey of 11 consecutive boys. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004; 39(Suppl):S87 (abstract).
 21. Tanaka H, Tsugawa K, Masanobu K, et al. Low-dose cyclosporin A in a patient with X-linked immune dysregulation, polyendocrinopathy and enteropathy. *Eur J Pediatr* 2005; 164:779-8.

IPEX SYNDROME – CASE REPORT

Nedeljko RADLOVIĆ¹, Dragana JANIĆ¹, Silvija SAJIĆ¹,
Srdja JANKOVIĆ¹, Maja JEŠIĆ¹, Zoran LEKOVIĆ¹, Rada PETROVIĆ²

¹University Children's Hospital, Belgrade; ²Health Centre, Čačak

INTRODUCTION IPEX syndrome, namely, a hereditary (X-linked) immunodysregulation with autoimmune polyendocrinopathy and enteropathy, as the basic manifestations, presents a rare and exceptionally severe disease. It develops due to gene mutation responsible for the synthesis of a specific protein (FOXP3), which, by differentiation and activation of regular T-lymphocytic CD4⁺CD25⁺, has the key role in the induction and maintenance of the peripheral tolerance of one's own tissue.

CASE OUTLINE We present a male infant with classic clinical features of IPEX syndrome, which manifested by the end of the first month after birth, first with type 1 diabetes mellitus and chronic diarrhoea followed by dehydration and disordered development, and then with facial eczema and laboratory signs of thyroiditis without thyroid dysfunction (antithyroglobulin antibodies 1:5500, antimicrosomal antibodies 1:40). In addition, plasma IgE level was high (517 IU/l), while antibodies to tissue transglutaminase were mildly increased (IgA 7.5 U/ml), and anti-smooth muscle and anti-DNA antibodies were absent. Based on the typical clinical features, as well as the laboratory findings, IPEX syndrome was diagnosed, which was further confirmed by proved IVS7+5G>A mutations in the FOXP3 gene. Therapy with insulin and Pronison,

combined with parenteral and semielementary nutrition resulted in the patient's clinical improvement. At the age of 9 months, despite Pronison and hypoallergenic nutrition, the child had a relapse of severe and persistent diarrhoeal disorder followed by dehydration, weight loss and deterioration of general condition. Beside the complete parenteral nutrition, as well as other measures, azathioprine was introduced into the treatment, but without the desired effect. At the age of 12.5 months, due to bacteraemia and disseminated intravascular coagulation as complications, the patient ended lethally.

CONCLUSION IPEX syndrome should be kept in mind in all the cases of associated type 1 diabetes mellitus and chronic diarrhoea in male neonates or infants. Although treatment results have still been modest, it is quite certain they will be far better in the near future.

Key words: IPEX syndrome; FOXP3; children

Nedeljko RADLOVIĆ
Univerzitetska dečja klinika
Tiršova 10, 11000 Beograd
Tel.: 011 2060 697
E-mail: vladar@beotel.net