Georgian Scientists

ქართველი მეცნიერები

Vol. 4 Issue 5, 2022

https://doi.org/10.52340/gs.2022.04.05.01

TGF-β რეფრაქტერული იმუნური თრომბოციტოპენის მქონე პაციენტებში

სოფიო მეტრეველი[1], ნინო ნანავა[1], ირინე კვაჭაძე[2], თინათინ ჩიქოვანი[1], ნონა ჯანიკაშვილი[1]

[1]იმუნოლოგიის დეპარტამენტი, თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, თბილისი, საქართველო

[2]ფიზიოლოგიის დეპარტამენტი, თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტი, თბილისი, საქართველო

აბსტრაქტი

აუტოიმუნური დაავადებების, მათ შორის - იმუნური თრომბოციტოპენიის (ითპ), პათოგენეზში წამყვანი ანთების რეგულაციას დარღვევა და იმუნური ტოლერანტობის დაკარგვაა. მატრანსფორმირებელი ზრდის ფაქტორი ბეტა (TGF-β) წარმოადგენს მრავალფუნქციური, მარეგულირებელი ციტოკინების ოჯახს, რომელიც ახდენს როგორც ჰელპერული T-უჯრედების (Th1, Th2) დიფერენციაციის დათრგუნვას, ასევე, პერიფერიული Treg უჯრედების წარმოქმნასა და აქტივაციას. წინამდებარე კვლევაში შესწავლილია TGF-β-ს დონე პლაზმაში ითპ-ს მქონე იმ პაციენტებში, რომლებსაც პირველი რიგის მკურნალობაზე რეზისტენტულობის გამო ჩაუტარდათ სპლენექტომია მეორე რიგის თერაპიის სახით. ასევე, წარმოდგენილია TGF-β-ს კორელაციური ანალიზი სისტემური ანთების ბიომარკერებთან (NLR, PLR, PMR, SII, dNLR) სისხლში. სისხლის პლაზმაში TGF-β კონცენტრაცია განისაზღვრა ELISA მეთოდით eBioscience, USA პროტოკოლის მიხედვით. სტატისტიკური ანალიზი შესრულდა Prism Graph Pad - Mann Whitney U ტესტის გამოყენებით. კორელაციური ანალიზისთვის გამოყენებულია სპირმანის ტესტი, SPSS პროგრამაში. კვლევის შედეგების მიხედვით, რეფერაქტერული ითპ-პაციენტების პლაზმაში TGF-β-ს დონე მნიშვნელოვნად დაქვეითებულია როგორც ჯანმრთელ ასაკობრივ საკონტროლო ჯგუფთან, ასევე, სპლენექტომირებულ საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით (სადაც სპლენექტომიის მიზეზს არ წარმოადგენდა აუტოიმუნური, ან ავთვისებიანი ჰემატოლოგიური დაავადება). ამასთან, TGF-β-ს კონცენტრაცია არ კორელირებს სისტემური ანთების შესწავლილ ბიომარკერებთან სისხლში.

საკვანძო სიტყვები: *იმუნური თრომბოციტოპენია, TGF-β, ანთების ბიომარკერები.*

შესავალი

იმუნური თრომბოციტოპენია (ითპ, ასევე, იდიოპათიური თრომბოციტოპენიური პურპურა) წარმოადგენს შეძენილ თრომბოციტოპენიას, რომელიც ხასიათდება თრომბოციტების რაოდენობის შემცირებით (<100 მიკრო/ლ), რაც განპირობებულია აუტოანტისხეულების მიერ თრომბოციტების დესტრუქციით [1] . ყოველწლიურად 100,000 მოზრდილში 2,6-6,6 ითპ-ს შემთხვევა აღიწერება [2][3]. ითპ-ის პათოგენეზში წამყვანი როლი თრომბოციტების მემბრანის გლიკოპროტეინი GPIIb/IIIa-ს წინააღმდეგ მიმართულ აუტოანტისხეულებს ენიჭება [4], ხოლო დაავადების მიმდინარეობასა და მის კლინიკურ გამოსავალში კარდინალური მნიშვნელობა აქვს ანთებითი და იმუნოსუპრესორული მედიატორების ბალანსს. მათგან ბოლოდროინდელი კვლევების ფოკუსში მოექცა T-უჯრედები და მათი პროდუქტები - ციტოკინები და ქემოკინები, რომლებიც იმუნურ ნიშებში უჯრედ-უჯრედული ურთიერთქმედების მიკროგარემოს აყალიბებენ [5]. მიმდინარე კვლევებით დასტურდება მარეგულირებელი T უჯრედების (Treg) მნიშვნელობა ითპ პათოგენეზში რომელთა ფუნქციასა და აქტივაციაში დიდი როლი მატრანსფორმირებელ ზრდის ფაქტორ ბეტას (TGF-β) ენიჭებაა [6].

TGF-β წარმოადგენს მრავალფუნქციურ ციტოკენების ოჯახს, რომელიც მონაწილეობს სხვადასხვა უჯრედის პროლიფერაციაში, დიფერენციაციაში, ადჰეზიასა და მიგრაციაში. განარჩევენ TGF-β-ს სამ ფორმას, TGF-β1, TGF-β2 და TGF-β3. [7] რომელთაგან TGF-β1 განსაკუთრბით მნიშვნელოვანია იმუნური სისტემის ბალანსში. [8] TGF-β-ს გავლენით, ერთი მხრივ, ხდება CD4+ T ლიმფოციტების ეფექტორულ Th1 და Th2 უჯრედებად დიფერენცირების დათრგუნვა [9][10], მეორე მხრივ კი აქტიურდება Treg უჯრედების წარმოქმნა [11][12].

მიუხედავად იმისა, რომ TGF-β-ს სასიგნალო გზა ბოლომდე შესწავლილი არ არის, ცნობილია მისი როლი სხვადასხვა აუტოიმუნური და ანთებითი დაავადების პათოგენეზში [11][13][14]. თუმცა, ჯერ კიდევ მწირია იმფორმაცია TGF-β როლის შესახებ იმუნური თრომბოციტოპენიის მქონე პაციენტებში. Zheng-Ju Zhou et al. კვლევაში TGF-β დონე მნიშვნელოვნად განსხვავდება ითპ-პაციენტების პერიპერიულ სისხლში საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით, ამავე კვლევაში საყურადღებოა TGF-β დადებითი კორელაცია თრომბოციტებთან პერიფერიულ სისხლში [15].

წინამდებარე კვლევის მიზანს წარმოადგენდა TGF-β-ის დონის განსაზღვრა ითპ-ს მქონე იმ პაციენტებში, რომლებსაც კორტიკოსტეროიდებზე რეზისტენტობის გამო

ჩაუტარდათ სპლენექტომია, როგორც მეორე რიგის თერაპია, ასევე, მისი კორელაციის დადგენა სისტემური ანთების სისხლის ბიომარკერებთან.

კვლევის მასალა და მეთოდები

კვლევა შესრულდა ჰელსინკის 1975 წლის დეკლარაციის მოთხოვნის პირობების მიხედვით. კვლევით გათვალისწინებული ყველა პროცედურა მიღებული და დამტკიცებული იყო თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნუვერსიტეტის ბიოეთიკის კომისიის მიერ.

კვლევის ფარგლებში შესწავლილია იმუნური თრომბოციტოპენიით დაავადებული 9 პაციენტი, რომელთაც კორტიკოსტეროიდებით მკუნალობაზე პასუხი ვერ მიიღეს და ჩაუტარდათ სპლენექტომია, როგორც მეორე რიგის თერაპია. ორი საკონტროლო ჯგუფიდან

ერთს (ჯგუფი 1) წარმოადგენდა ასაკით შესაბამისი ჯანმრთელი 22 პაციენტი, რომელთაც ჩაიტარეს რუტინული ლაბორატორიული შემოწმება, ხოლო მეორე ჯგუფს (ჯგუფი 2) - შესაბამისი ასაკის 9 სპლენექტომირებული პაციენტი, სადაც სპლენექტომიის მიზეზი არ იყო აუტოიმუნური, ან ავთვისებიანი ჰემატოლოგიური დაავადება.

სისხლის ნიმუშების შეგროვება: კვლევაში ჩართული პაციენტებიდან 5-7 მლ პერიფერიულ სისხლის მიღება ხორციელდებოდა უშუალოდ სპლენექტომიამდე, იდაყვის ვენიდან EDTA-ს შემცველ სინჯარაში. მასალა ცენტრიფუგირდებოდა 30 წთ-ის განმავლობაში 1500-2000 rpm ბრუნზე, გამოყოფილი პლაზმა ინახებოდა -80^{0}C-ზე საკუთღივ იმუნოფერმენტული კვლევის ჩატარებამდე.

იმუნოფერმენტული ანალიზი: სისხლის პლაზმაში არსებული TGF-β განისაზღვრა იმუნოფერმენტული ანალიზისთვის განკუთვნილი ELISA ნაკრებით, მწარმოებლის (eBioscience, USA) პროტოკოლის მიხედვით.

სისტემური ანთებითი მარკერების განსაზღვრა:

პაციენტების სისხლის საერთო ანალიზიდან განისაზღვრებოდა/იანგარიშებოდა სისტემური ანთებითი მარკერები, უჯრედების - ლეიკოციტების (L), ნეიტროფილების (N), თრომბოციტების (P), მონოციტების (M) - თანაფარდობანი (R): NLR, PLR, PMR, ასევე, სისტემური ანთების ინდექსი - SII და ნეიტროფილ-ლიმფოციტის ფარდობის წარმოებული - dNLR.

ანთებითი მარკერების - NLR, PLR, PMR, - გამოსათვლელად ერთმანეთს ეფარდებოდა შესაბამისი უჯრედების აბსოლუტური რაოდენობაა, მაგალითად, NLR - ნეიტროფილების აბსოლუტური რაოდენობის ფარდობა ლიმფოციტების აბსოლუტურ რაოდენობასთან.

dNLR გამოითვლებოდა ფორმულით:

dNLR=ნეიტროფილი/(ლეიკოციტი-ნეიტროფილი);

SII-ის გამოსათვლელად გამოიყენებოდა ფორმულა:

SII=მონოციტი X თრომბოციტი/ლიმფოციტი.

მონაცემთა სტატისტიკური ანალიზი: სტატისტიკური ანალიზი შესრულდა Prism Graph Pad გამოყენებით. მონაცემთა შორის მნიშვნელოვანი განსხვავების სანახავად გამოყენებული იყო არაპარამეტრული Mann Whitney U ტესტი; სხვადასხვა პარამეტრებს შორის კორელაციის შესაფასებლად გამოყენებულია სპირმანის ტესტი; მონაცემები დამუშავდა SPSS პროგრამებში.

მიღებული შედეგები და განხილვა:

ბოლო წლებში რამდენიმე მასშტაბური კვლევა გამოქვეყნდა ითპ-პაციენტებში Treg უჯრედების სიხშირისა და ფუნქციის შესახებ. თუმცა, მწირია კვლევები ამ პაციენტების პლაზმაში იმუნოსუპრესორული ციტოკინების, მათ შორის - TGF-β-ს, როგორც იმუნური მიკროგარემოს კომპონენტის შესახებ.

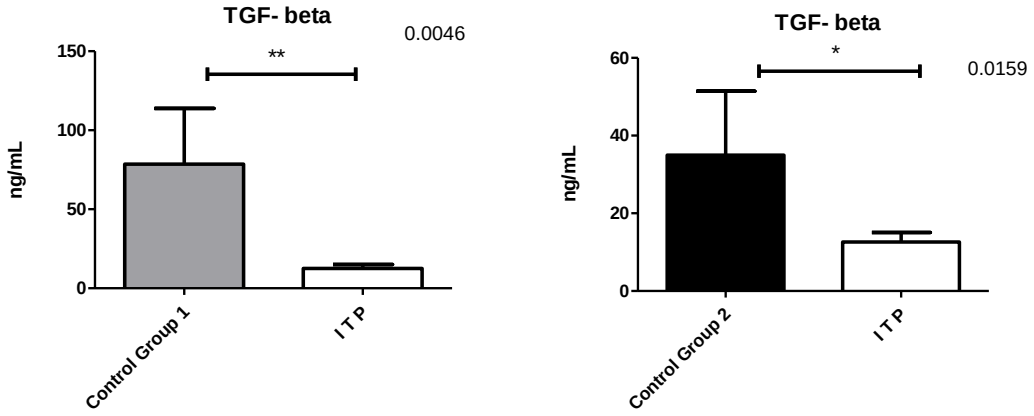
როგორც ცხრილი 1-დან ჩანს, წინამდებარე კვლევაში ჩართული, კორტიკოსტეროიდებით მკურნალობაზე რეფრაქტერული ითპ-პაციენტების პლაზმაში TGF- β დონე მნიშვნელოვნად დაქვეითებულია შესაბამისი ჯანმრთელი კონტროლის (ჯგუფი 1) მონაცემებსა და სპლენექტომირებულ (ჯგუფი 2) კონტროლთან შედარებით (ითპ - 12.60 ± 2.46, ჯგუფი 1 – 75.54 ± 35.28; P=0.0046, ჯგუფი 2 - 26.5 ± 19.8, P=0.0159).

ცხრილი 1. TGF- β დონე ითპ-პაციენტებისა და საკონტროლო ჯგუფების პლაზმაში

	ითპ	ჯანმრთელი კონტროლი (ჯგუფი 1)	სპლენექტომირე-ბული კონტროლი (ჯგუფი 2)	P (ჯგუფი 1/ითპ)	P (ჯგუფი 2 /ითპ)
TGF-β (ნგ/მლ)	12.60±2.46	75.54±35.28	26.46±19.82	=0.0046	=0.0159

ითპ- იმუნური თრომბოციტოპენია

სურათი 1. TGF- β დონე ითპ პაციენტებისა და საკონტროლო ჯგუფების პლაზმაში



* - სარწმუნო განსხვავება, როდესაც P ≤ 0.05.

** - სარწმუნო განსხვავება, როდესაც P ≤ 0.01.

TGF-beta - მატრანსფორმირებელი ზრდის ფაქტორი ბეტა

Control group1 - ასაკით შესაბამისი ჯანმრთელი კონტროლი

Control group 2 - სპლენექტომირებული კონტროლი

ITP - იმუნური თრომბოციტოპენია

ჩვენს მიერ გამოქვეყნებულ ბოლოდროინდელ კვლევაში ნაჩვენებია, რომ სისტემური ანთების მარკერები - NLR და dNLR - მნიშვნელოვნად მომატებულია პაციენტებში იმუნური თრომბოციტოპენიით, ხოლო PLR, PMR და SII მაჩვენებელი სარწმუნოდ დაქვეითებულია, ჯანმრთელ საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით [16]. წინამდებარე კვლევაში განვსაზღვრეთ პლაზმაში TGF-β კონცენტრაციის კორელაცია სისტემური ანთების აღნიშნულ

ბიომარკერებთან (NLR, PLR, PMR, SII, dNLR). როგორც ცხრილი 2-დან ჩანს, TGF-β არც ერთ ამ მარკერთან არ კორელირებს (P>0.05).

ცხრილი 2. TGF- β დონის კორელაცია სისტემური ანთების სისხლის ბიომარკერებთან პაციენტებში იმუნური თრომბოციტოპენიით

ცვლადები		NLR	PLR	PMR	SII	dNLR
TGF- β	კორელაციის კოეფიციენტი	-.447	0.000	.447	-.447	-.447
	სარწმუნობა (P)	.553	1.000	.553	.553	.553

NLR – ნეიტროფილ-ლიმფოციტების თანაფარდობა
PLR -თრობოციტ-ლიმფოციტების თანაფარდობა
PMR – თრომბოციტ-მონოციტების თანაფარდობა
SII - სისტემური ანთების ინდექსი
dNLR –ნეიტროფილ-ლიმფოციტის ფარდობის წარმოებული

მატრანსფორმირებელი ზრდის ფაქტორი ბეტა წარმოადგენს მრავალფუნქციურ ციტოკინს, ჩართულს როგორც მასუპრესირებელ, ასევე, ანთებით იმუნურ პასუხში. ის ჰემოპოეზის მნიშვნელოვანი მარეგულირებელია, ახდენს T-უჯრედების სელექციას, აინჰიბირებს ციტიტოქსიურ T-უჯრედებს (CTL), მონაწილეობს Th1 და Th2 უჯრედების დიფერენციაციაში, პერიფერიაზე მარეგულირებელი T-უჯრედების (Treg), ასევე, TH17, Th9, და TfH უჯრედების ექსპრესიას უწყობს ხელს. მისი როლი მნიშვნელოვანია როგორც B-ლიმფოციტების პროლიფერაციასა და აქტივაციაში, ასევე, ბუნებრივი იმუნური უჯრედების (მაკროფაგები, ბუნებრივი მკვლელი უჯრედები (NK), დენდრიტული უჯრედები და გრანულოციტები) ფუნქციასა და განვითარებაში [11].

TGF- β როლი იმუნური უჯრედების წარმოქმნასა და რეგულაციაში კომპლექსურია. ის სპეციფიკურად ასუპრესირებს ციტოტოქსიურ T-ლიმფოციტებს (TCL). ასევე, ის, ერთი მხრივ, ტრანსკრიფციული ფაქტორების (T-bet და GATA-3) ექსპრესიის ინჰიბირებით ახდენს T-ჰელპერული უჯრედებს (Th1 და Th2) სუპრესიას [17], მეორე მხრივ კი იწვევს გულუბრყვილო CD4 T ლიმფოციტებში Foxp3 ექსპრესიის გააქტიურებას, პერიფერიული Treg უჯრედების დიფერენციაციას და მათში იმუნოსუპრესორული ფუნქციის გაძლიერება [18][19].

სხვადასხვა კვლევის შედეგების მიხედვით, TGF-β ეფექტი აუტოიმუნური დაავადებების მიმდინარეობაში განსხავებულია. რევმატოიდული ართრიტის (RA) ვირთაგვას მოდელში TGF-β ინიექცია სახსარში იწვევდა სინოვიურ ანთებას და სახსრის შეშუპებას, რაც კავშირში იყო მაკროფაგულ ინფილტაციასა და IL-1b ექსპრესიის გაზრდასთან [20]; იგივეს ადასტურებს სხვა კვლევა, სადაც TGF-β მაბლოკირებელი ანტისხეულის შეყვანის ფონზე აღინიშნებოდა ართრიტის სიმპტომების შემსუბუქება [21].

ნაჩვენებია განსხვავებული ეფექტიც: Kuruvilla et al. და Thorbecke et al. კვლევებით თაგვებში სისტემური TGF-β სიგნალი, პირიქით, ამსუბუქებდა დაავადების განვითარებას და ამცირებდა ართრიტის სიმპტომებს [22][23].

საინტერესოა კვლევები თაგვებში სისტემური წითელი მგლურით (SLE) (ქრონიკული აუტოიმუნური დაავადება, აუტოანტისხეულების წარმოქმნით და მრავალი ორგანოს დაზიანებით), სადაც TGF-β ვექტორის შეყვანით დაავადების სიმპტომები მსუქბუქდებოდა, რაც TGF-β დამცველობით ფუნქციას განსაზღვრავდა [24].

ასევე, საყურადღებოა Ohtsuka et al. მიერ ჩატარებული კვლევა, სადაც SLE პაციენტებში TGF-β-ის დონე, ჯანმრთელ საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით, დაქვეითებული იყო, ხოლო ჰოსპიტალიზირებულ პაციენტებში აქტიური დაავადებით - კიდევ უფრო დაბალი, რაც მიანიშნებდა TGF-β პროდუქციის კავშირს დაავადების სიმძიმესთან [25].

ამრიგად, წინამდებარე კვლევა ამტკიცებს, რომ რეფრაქტერული ითპ-ის მქონე პაციენტების პლაზმაში TGF-β დონე მნიშვნელოვნად დაქვეითებულია. ამასთან, საინტერესოა, რომ TGF-β პლაზმური კონცენტრაცია არ კორელირებს ჩვენს მიერ აქამდე შესწავლილ სისტემური ანთების ბიომარკერებთან სისხლში.

ჩვენი და სხვათა კვლევებით დასტურდება, რომ TGF-β როლი აუტოიმუნურ დაავადებებში, მათ შორის - ითპ-ში მნიშვნელოვანია, რაც განსაზღვრავს ამ ფაქტორის, როგორც მკურნალობის პოტენციური სამიზნის უფრო მასშტაბურ კვლევებს ითპ-ის სხვადასხვა ფორმის და მართვის განსხვავებული სტრატეგიების გათვალისწინებით.

გამოყენებული ლიტერატურა:

[1] D. Nugent, R. McMillan, J. L. Nichol, and S. J. Slichter, “Pathogenesis of chronic immune thrombocytopenia: Increased platelet destruction and/or decreased platelet production,” *Br. J. Haematol.*, vol. 146, no. 6, pp. 585–596, 2009, doi: 10.1111/j.1365-2141.2009.07717.x.

[2] H. Frederiksen and K. Schmidt, “The incidence of idiopathic thrombocytopenic purpura in adults increases with age,” *Blood*, vol. 94, no. 3, pp. 909–913, 1999, doi: 10.1182/blood.v94.3.909.415k02_909_913.

[3] J. B. Segal and N. R. Powe, “Prevalence of immune thrombocytopenia: Analyses of administrative data,” *J. Thromb. Haemost.*, vol. 4, no. 11, pp. 2377–2383, 2006, doi: 10.1111/j.1538-7836.2006.02147.x.

[4] S. Audia *et al.*, “Splenic TFH expansion participates in B-cell differentiation and antiplatelet-antibody production during immune thrombocytopenia,” *Blood*, vol. 124, no. 18, pp. 2858–2866, 2014, doi: 10.1182/blood-2014-03-563445.

[5] S. Audia, M. Mahévas, M. Samson, B. Godeau, and B. Bonnotte, “Pathogenesis of immune thrombocytopenia,” *Autoimmun. Rev.*, vol. 16, no. 6, pp. 620–632, 2017, doi: 10.1016/j.autrev.2017.04.012.

[6] J. A. Turner *et al.*, “Regulatory T Cell-Derived TGF-β1 Controls Multiple Checkpoints Governing Allergy and Autoimmunity,” *Immunity*, vol. 53, no. 6, pp. 1202-1214.e6, Dec. 2020, doi: 10.1016/j.immuni.2020.10.002.

[7] G. C. Blobe, W. P. Schiemann, and H. F. Lodish, “Role of Transforming Growth Factor β in Human Disease,” *New England Journal of Medicine*, vol. 342, no. 18. pp. 1350–1358, 2000, doi:

10.1056/nejm200005043421807.

[8] J. P. Annes, J. S. Munger, and D. B. Rifkin, "Making sense of latent TGFbeta activation," *J. Cell Sci.*, vol. 116, no. Pt 2, pp. 217–224, Jan. 2003, doi: 10.1242/JCS.00229.

[9] L. Gorelik, P. E. Fields, and R. A. Flavell, "Cutting Edge: TGF-β Inhibits Th Type 2 Development Through Inhibition of GATA-3 Expression," *J. Immunol.*, vol. 165, no. 9, pp. 4773–4777, Nov. 2000, doi: 10.4049/JIMMUNOL.165.9.4773.

[10] J. T. Lin, S. L. Martin, L. Xia, and J. D. Gorham, "TGF-β1 Uses Distinct Mechanisms to Inhibit IFN-γ Expression in CD4+ T Cells at Priming and at Recall: Differential Involvement of Stat4 and T-bet," *J. Immunol.*, vol. 174, no. 10, pp. 5950–5958, May 2005, doi: 10.4049/JIMMUNOL.174.10.5950.

[11] S. Sanjabi, S. A. Oh, and M. O. Li, "Regulation of the Immune Response by TGF-β: From Conception to Autoimmunity and Infection," *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, vol. 9, no. 6, p. a022236, Jun. 2017, doi: 10.1101/CSHPERSPECT.A022236.

[12] M. G. Strainic, E. M. Shevach, F. An, F. Lin, and M. E. Medof, "Absence of signaling into $CD4^+$ cells via C3aR and C5aR enables autoinductive TGF-β1 signaling and induction of $Foxp3^+$ regulatory T cells," *Nat. Immunol.*, vol. 14, no. 2, pp. 162–171, Feb. 2013, doi: 10.1038/NI.2499.

[13] J. J. Letterio and A. B. Roberts, "REGULATION OF IMMUNE RESPONSES BY TGF-β*," *http://dx.doi.org/10.1146/annurev.immunol.16.1.137*, vol. 16, pp. 137–161, Nov. 2003, doi: 10.1146/ANNUREV.IMMUNOL.16.1.137.

[14] K. Nakamura *et al.*, "TGF-β1 Plays an Important Role in the Mechanism of CD4+CD25+ Regulatory T Cell Activity in Both Humans and Mice," *J. Immunol.*, vol. 172, no. 2, pp. 834–842, Jan. 2004, doi: 10.4049/JIMMUNOL.172.2.834.

[15] Z. J. Zhou, Y. S. Zhang, C. X. Liang, and Z. Y. Yang, "Role of Th9, Th17, Treg Cells levels and IL-9, IL-17 and TGF-β Expression in Peripheral Blood of Patients with ITP in Pathogenesis of ITP," *Zhongguo shi yan xue ye xue za zhi*, vol. 27, no. 1, pp. 180–184, 2019, doi: 10.7534/j.issn.1009-2137.2019.01.029.

[16] S. Metreveli, I. Kvachadze, N. Kikodze, T. Chikovani, and N. Janikashvili, "PERIPHERIAL BLOOD BIOMARKERS IN PATIENTS WITH REFRACTORY IMMUNE THROMBOCYTOPENIA.," *Georgian Med. News*, no. 302, pp. 45–49, May 2020, Accessed: Sep. 27, 2022. [Online]. Available: https://europepmc.org/article/med/32672688.

[17] L. Gorelik, S. Constant, and R. A. Flavell, "Mechanism of Transforming Growth Factor [illegible] – induced Inhibition of T Helper Type 1 Differentiation," vol. 195, no. 11, pp. 0–6, 2002, doi: 10.1084/jem.20012076.

[18] S. Yamagiwa, J. D. Gray, S. Hashimoto, and D. A. Horwitz, "A Role for TGF-β in the Generation and Expansion of CD4+CD25+ Regulatory T Cells from Human Peripheral Blood," *J. Immunol.*, vol. 166, no. 12, pp. 7282–7289, Jun. 2001, doi: 10.4049/JIMMUNOL.166.12.7282.

[19] R. Shanmugasundaram and R. K. Selvaraj, "In vitro human TGF-β treatment converts CD4+CD25– T cells into induced T regulatory like cells," *Vet. Immunol. Immunopathol.*, vol. 137, no. 1–2, pp. 161–165, Sep. 2010, doi: 10.1016/J.VETIMM.2010.04.017.

[20] J. B. Allen, C. L. Manthey, A. R. Hand, K. Ohura, L. Ellingsworth, and S. M. Wahl, "Rapid onset synovial inflammation and hyperplasia induced by transforming growth factor beta," *J. Exp. Med.*, vol. 171, no. 1, p. 231, Jan. 1990, doi: 10.1084/JEM.171.1.231.

[21] S. M. Wahl, J. B. Allen, G. L. Costa, H. L. Wong, and J. R. Dasch, "Reversal of acute and chronic synovial inflammation by anti-transformlng growth factor β," *J. Exp. Med.*, vol. 177, no. 1, pp. 225–230, 1993, doi: 10.1084/jem.177.1.225.

[22] A. P. Kuruvilla, R. Shah, G. M. Hochwald, H. D. Liggitt, M. A. Palladino, and G. J. Thorbecke, "Protective effect of transforming growth factor beta 1 on experimental autoimmune diseases in mice.," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 88, no. 7, p. 2918, Apr. 1991, doi: 10.1073/PNAS.88.7.2918.

[23] G. J. Thorbecke, R. Shah, C. H. Leu, A. P. Kuruvilla, A. M. Hardison, and M. A. Palladino, "Involvement of endogenous tumor necrosis factor alpha and transforming growth factor beta during induction of collagen type II arthritis in mice," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 89, no. 16, pp. 7375–7379, 1992, doi: 10.1073/PNAS.89.16.7375.

[24] E. Raz *et al.*, "Modulation of disease activity in murine systemic lupus erythematosus by cytokine gene delivery," *Lupus*, vol. 4, no. 4, pp. 286–292, 1995, doi: 10.1177/096120339500400409.

[25] K. Ohtsuka, J. D. Gray, M. M. Stimmler, and D. A. Horwitz, "The relationship between defects in lymphocyte production of transforming growth factor-beta1 in systemic lupus erythematosus and disease activity or severity," *Lupus*, vol. 8, no. 2, pp. 90–94, 1999, doi: 10.1191/096120399678847489.

TGF-β in patients with refractory immune thrombocytopenia

Sophio Metreveli [1], Nino Nanava [1], Irine Kvachadze[2], Tinatini Chikovani[1] and Nona Janikashvili[1]

[1] *Department of Immunology, Tbilisi State Medical University, Tbilisi, Georgia*

[2] *Department of Physiology, Tbilisi State Medical University, Tbilisi, Georgia*

Abstract

In the pathogenesis of autoimmune diseases, including immune thrombocytopenia (ITP), maintenance of inflammation and the loss of immune tolerance is essential. Transforming growth factor-beta (TGF-β) is a regulatory cytokine with pleiotropic function. TGF-β inhibits differentiation of T helper (Th1, Th2) cells and promotes the development of peripheral Tregs. The aim of our study was to explore the plasma levels of TGF-β and to perform its correlative analyses with peripheral blood biomarkers of systemic inflammation (NLR, PLR, PMR, SII, dNLR) in patients with ITP who did not respond to the first line treatment and had splenectomy as a second line therapy. The concentrations of TGF-β in plasma was quantified using ELISA kits by eBioscience. Statistical analyses was performed using Graph Pad Prism - Mann Whitney U test; for the correlation analyses we used spearman rank correlation by SPSS program. Our study revealed that the level of TGF-β in patients with refractory ITP is significantly diminished compared to the healthy subjects or patients undergoing splenectomy for other reasons than autoimmune or malignant hematological pathologies. There was no correlation observed between the plasma concentrations of TGF-β and the peripheral blood biomarkers of systemic inflammation.

Keywords: *Immune thrombocytopenia, TGF-β, Inflammation biomarkers.*