



**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA“ DIN BUCUREȘTI**



Str. Dionisie Lupu 37, sector 2, București, 020021, România, www.umfd.ro, email: rectorat@umfd.ro

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
DOMENIUL MEDICINĂ**

**Evaluarea trombocitului în Trombocitopenia imună
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. ANA MARIA VLĂDĂREANU

Student-doctorand:

HERȚUC CĂSĂT. MITITELU ALINA

2024

UMFCD: cod fiscal: 4192910, cont: RO57TREZ70220F330500XXXX, banca: TREZORERIE sect. 2

tel: +40.21 318.0719; +40.21 318.0721; +40.21 318.0722

Cuprins

PARTEA GENERALĂ

Capitolul 1. Trombocitul si implicarea în răspunsul imun.....	1
1.1.Fiziologia trombocitului.....	1
1.2.Rolurile trombocitului.....	2
1.3.Funcția hemostatică a trombocitului	3
1.4.Funcția non-hemostatică a trombocitului.....	3
1.4.1. Implicarea directă a trombocitului în răspunsul imun.....	4
1.4.2. Rolul imunomodulator al trombocitului.....	5
1.4.2.1.Interacțiunile trombocit-APC.....	6
1.4.2.2.Interacțiunea trombocit-limfocit T.....	6
1.4.2.3.Interacțiunea cu NK si cu celulele tumorale.....	7
1.4.2.4.Interacțiunea trombocit-limfocit B.....	7
1.4.2.5.Axa CD40-CD40L.....	8
1.4.2.6.Microparticulele trombocitare.....	9
Capitolul 2. Trombocitopenia imună.....	10
2.1.Definiție.....	10
2.2.Epidemiologie.....	10
2.3. Etiopatogeneză.....	10
2.3.1.Stimularea raspunsului imun în ITP.....	11
2.3.2.Răspunsul imun umoral si celular in ITP.....	12
2.3.3 Căi implicate în distrucția trombocitară.....	16
2.3.4.Megakariopoieza.....	16
2.3.5.Rolul trombocitului în patogeneza ITP.....	17
2.4.Diagnostic pozitiv.....	18
2.5.Managementul pacientilor cu ITP.....	23
2.6 Dificultati in managementul pacientilor cu ITP : Tratamentul pacienților refractari, multiplu recăzuți	30
CONTRIBUȚII PERSONALE	
Capitolul 3. Ipoteza de lucru și obiective generale	33
Capitolul 4. Evaluarea factorilor predictivi pentru cronicizare pornind de la trombocit.....	34
(rezultate in curs de publicare)	
4.1.Ipoteza de lucru și obiective specifice.....	34

4.2.Pacienți și metode.....	34
4.3.Rezultate.....	35
4.3.1.Caracteristici lot.....	43
4.3.2.Date demografice.....	45
4.3.3.Evaluarea initiala a pacientului.....	46
4.3.4.Caracteristici ale tratamentului.....	59
4.3.5.Particularități ale tratamentului în prima linie de tratament.....	65
4.3.6.Factori predictivi ai răspunsului la tratament.....	68
4.3.7.Analiza trombocitului ca factor predictiv de cronicizare.....	68
4.3.8.Analiza riscului de sângerare la pacienții cu ITP	72
4.3.9.Analiza factorilor cu potențial predictiv pentru cronicizare la pacienții cu ITP	74
4.3.10.Indentificarea unui scor de predicție al cronicizării (rezultat in curs de publicare).....	84
4.3.11.Sarcina ca factor de predicție al cronicizării (in curs de publicare)	86
4.4.Discuții.....	87
Capitolul 5. Screening-ul proteomic multianalit prin metoda dot-blot a pacientilor cu ITP (rezultate in curs de publicare)	97
5.1.Introducere (ipoteza de lucru și obiective specifice).....	97
5.2.Pacienți și metode.....	97
5.3.Rezultate.....	100
5.3.1 Caracteristici lot.....	100
5.3.2. Citokine.....	105
5.3.4. Chemokine.....	107
5.3.5. Receptori solubili.....	108
5.3.6 Factori de crestere.....	109
5.3.7. Hormoni.....	110
5.3.8 Proteine implicate în inflamație și răspunsul imun.....	111
5.4. Discuții.....	111
5.4.1 Evaluarea proteomica între faze evolutive diferite ale ITP.....	112

5.4.2 Implicarea trombocitelor ca celule imune.....	132
Capitolul 7. Concluzii și contribuții personale.....	137
Bibliografie.....	140

Lista cu lucrările științifice publicate

1. Current management of relapsed/refractory immune thrombocytopenia

Autori: **Alina Mititelu**, Minodora Onisâi, Anca Nicolescu, Ioachim Preda-Naumescu, Ana Maria Vlădăreanu

publicat in revista Hematolog- Oncolog,ISSN 2066-8716

DOI: 10.26416/OnHe.64.3.2023.8777

<https://www.medichub.ro/reviste-de-specialitate/oncolog-hematolog-ro/current-management-of-relapsed-refractory-immune-thrombocytopenia-id-8777-cmsid-68>

Capitolul din care a fost realizata lucrarea– capitolul 1

2. Current Understanding of Immune Thrombocytopenia: A Review of Pathogenesis and Treatment Options"

Autori: **Mititelu A**, Onisâi MC, Roșca A, Vlădăreanu AM.

Int J Mol Sci. 2024 Feb 10;25(4):2163. doi: 10.3390/ijms25042163. PMID: 38396839;

PMCID: PMC10889445

Impact factor ISI 5.6

<https://www.mdpi.com/1422-0067/25/4/2163>

Capitolul din care a fost realizata lucrarea – capitolul 5

3. Refractory immune thrombocytopenia - case presentation

Autori: Iuliana Iordan, Andreea Neculcea, Stejara Mihai, Diana Bonea, Andreea Spinu, **Alina Mititelu**, Claudiu Popescu, Raluca Truican, Anca Nicolescu, Ana Maria Vladareanu
Oncolog-Hematolog, 2022. 59(2): 29-32.

<https://www.medichub.ro/reviste-de-specialitate/oncolog-hematolog-ro/refractory-immune-thrombocytopenia-case-presentation-id-6541-cmsid-68?srsIid=AfmBOop-Y2mwUbFXxfyTscg3yriMqp4wKzUPIsTtsuTJx0r9Lxqa8BnU>

Lucrări publicate la congrese sau conferinte de tip poster sau prezentări orale

1. Trombocitopenia imuna in practica curenta in Clinica de Hematologie SUUB

Autori: Anca NICOLESCU, Minodora ONISĂI, **Alina MITITELU**, Andreea SPÎNU, Andreea NECULCEA, Ana-Maria VLĂDĂREANU

Prezentare tip Poster

Conferința Aniversară Spitalul Universitar de Urgență București – 45 de ani

Medicină. Interdisciplinaritate. Excelență.

26 – 27 – 28 Septembrie 2023

2. Particularități în tratamentul trombocitopeniei imune cronice – experiența Clinicii de Hematologie a Spitalului Universitar de Urgență București

Autori Anca Nicolescu , **Alina Mititelu** , Diana Cisleanu Minodora Onisai, Mihaela Gaman, Irina Voican, Daniela Vasile, Cristina Ciufu, Cristina Marinescu, Ana Maria Neagu , Elena Lupoiaia – Andrus, Simina Vidroiu , Lilia Osipov , Ana Maria Vladareanu

A VIII-a Conferința Națională de Hemostază și Tromboză, 09-11 Noiembrie 2023 (comunicare orală; rezumat - Caiet de Rezumate al Congresului – studii cu rezumate publicate. Fără ISBN/ISSN)

3. Tendințe actuale în ITP- mai mult decât o singură afecțiune

Autori Ana Maria Vladareanu, **Alina Mititelu**

Congresul Universității de Medicină și Farmacie Carol Davila București- ediția XI-a, 26-28 noiembrie 2023 (comunicare orală; rezumat - Caiet de Rezumate al Congresului – studii cu rezumate publicate. Fără ISBN/ISSN)

Problema fundamentală

Tema proiectului de cercetare științifică care a stat la baza acestei teze de doctorat se referă la evaluarea trombocitului în Trombocitopenia imună primară, nu neapărat ca metodă de investigație directă, ci mai degrabă, ca analiză a implicării lui în tabloul clinic și serologic, dar și din punct de vedere al implicării imune în tabloul patogenic general al bolii.

Se consideră că funcția principală a trombocitului stă la baza mecanismelor de hemostază și tromboză. În lumina ultimelor cercetări din domeniu, se conturează din ce în ce mai mult capacitatea trombocitului de a modula răspunsul imun în procese fiziologice și patologice, atât în mod direct, cât și indirect, prin intermediul biomoleculelor depozitate la nivelul granulelor sau sintetizate la nivel trombocitar.

În ceea ce privește Trombocitopenia imună primară, aceasta reprezintă o patologie autoimună, de graniță, cu implicații multidisciplinare, considerată benignă.

Diagnosticul presupune prezența unei trombocitopenii periferice la pacienți fără patologii asociate sau fără o cauză directă răspunzătoare pentru trombocitopenie.

Mecanismul etiopatogenic central al bolii este reprezentat de distrucția trombocitară periferică de către anticorpi anti-trombocitari ce vizează glicoproteine de la suprafața trombocitului, proces susținut de o dereglare a imunității celulare la nivelul limfocitelor T cu creșterea răspunsului inflamator de tip Th1 și a limfocitelor T citotoxice. Menținerea autoreactivității este posibilă prin scăderea mecanismelor de control imun periferic, reprezentate de limfocitele T reglatorii. La distrucția periferică participă și afectarea megakariopoiezei, megakariocitele fiind vizate, similar trombocitelor, prin exprimarea aceluiași glicoproteine.[1]

Subiectul central al acestei patologii o reprezintă trombocitopenia și riscul de sângerare asociat.

Complexitatea bolii și a managementului acestei afecțiuni derivă din faptul că diagnosticul este unul de excludere, evoluția spre faza cronică este necunoscută iar riscul de sângerarea variază foarte mult la pacienți cu același număr de trombocite, fără a putea fi cuantificat concret. În ceea ce privește tratamentul, acesta se bazează, în mare parte pe corticoterapie, care, cel puțin pentru o parte din pacienți, reușește să controleze bine boala rezultând în răspunsuri complete, susținute în timp. Deși răspunsul inițial la corticoterapie este de 60-80%, doar 30-50% rămân în remisiune [2], în timp ce peste 50% din pacienții adulți progresează spre faza cronică. Acest lucru subliniază faptul că mecanismul sau mecanismele fiziopatogenice sunt cel mai probabil multiple, fiind necesar un tratament combinat care să vizeze mai multe căi patogenice. [1]

Lipsa unui biomarker în ceea ce privește diagnosticul de certitudine, imposibilitatea cuantificării clinice a mecanismelor fiziopatogenice dominante implicate în patogeneza bolii la nivel individual, determină o responsivitate scăzută la tratament încă din prima linie și o progresie spre faza cronică care poate fi grevată de multiple recăderi și un control inefficient al bolii, indiferent de terapia recomandată.

Se cunoaște faptul că o terapie mai țintită, mai agresivă, se poate concretiza în rezultate durabile.[3]

Aprofundarea și mai mult a cunoașterii despre fiziopatologia bolii și a mecanismelor care duc la menținerea autoreactivității se poate traduce în terapii moleculare noi care să vizeze un tratament individualizat în funcție de nevoile reale ale pacientului cu scopul obținerii unui răspuns durabil, fără recăderi.

Implicarea trombocitului pare să fie una mult mai profundă și mai complexă decât ceea ce a fost subliniat până acum în studiile din literatură de specialitate și pare să adune patologia acestei afecțiuni înspre mecanisme în care el pare a fi pilonul principal.

Ipoteza de lucru

La momentul actual trombocitopenia imună, pe cât de simplă este în definiție, pe atât de complexă este în ceea ce privește diagnosticul, evoluția și responsivitatea la tratament. Deși este considerată o patologie autoimună, benignă, care răspunde la un tratament recomandat empiric tuturor celor cu acest diagnostic la care se impune, ea reprezintă încă, la peste 250 de ani de la descoperirea ei, o adevărată provocare în practică clinică a hematologului.

Cel puțin 3 probleme se mențin în centrul acestei patologii și anume riscul de sângerare și heterogenitatea sindromului hemoragic printre pacienți cu același număr de trombocite, riscul de cronicizare și imposibilitatea predicției responsivității la tratament. Toate 3 fac ca managementului pacientului cu ITP să fie unul extrem de complicat.

Lipsa unui biomarker pentru diagnosticul de certitudine, imposibilitatea stadializării pacienților pe grupe de risc, imposibilitatea cuantificării clinice a mecanismelor fizio-patologice dominante, lipsa cuantificării corecte în practică clinică a riscului de sângerare și a necesității inițierii tratamentului, alături de imposibilitatea predicției corecte a răspunsului la tratament sunt doar câteva dintre probele nerezolvate încă ale ITP.

Obiectivele principale s-au canalizat însă în 2 mari direcții.

Valorificarea datelor obținute în urma evaluării inițiale în vederea unei mai bune stadializări a pacienților și a predicției evoluției spre cronicizare cu scopul unui management corect din prima linie de tratament.

Evaluarea unor biomarkeri plasmatici și a expresiei lor între fazele evolutive ale ITP. Evaluarea unor proteine depozitate la nivelul trombocitului și modul în care intervin în promovarea răspunsului inflamator ce ar putea fi incriminat în menținerea în timp a autoreactivității imune responsabile de evoluția spre fazele cronice ale ITP.

În **Partea generală** a acestei lucrări s-a urmărit evidențierea unor aspecte relevante legate de nivelul actual al cunoașterii cu privire la tema aleasă.

Capitolul 1 abordează noțiuni fundamentale legate de originea și funcția trombocitului, detaliind noțiuni de fiziopatologie cu accent pe funcția non-hemostatică și a modului prin care trombocitul intervine în modularea răspunsului imun.

Capitolul 2 al tezei are în vedere detalierea noțiunilor teoretice ale bolii cu accent pe mecanismele fiziopatologice și impactul lor asupra tabloului clinico-biologic al pacientului, evaluarea clinico-biologica a pacientului și recomandările actuale de tratament.

Partea de **Contribuții personale** începe cu **capitolul 3** unde sunt prezentate ipoteza de lucru și obiectivele principale.

Capitolul 4 cuprinde ipoteza de lucru, obiectivele principale și metodologia de lucru, precum și rezultatele pentru primul studiu de cercetare care a avut ca obiectiv principat evaluarea factorilor predictivi pentru cronicizare plecând de la trombocit, urmărind și evaluarea riscului de sângerare și evaluarea factorilor predictivi ai răspunsului la tratamentul de prima linie.

În acest scop a fost selectat un lot de 118 pacienți, cu o mediană a vârstei situată la 41 de ani, aflați în evidență Clinicii de Hematologie SUUB, pacienți cu trombocitopenie în diferite grade și diagnostic pozitiv de Trombocitopenie imună primară. Perioada medianei de monitorizare din momentul stabilirii diagnosticului a fost de 4 ani. Au fost utilizate date din fișele medicale electronice de la debutul patologiei și dar și din evoluția ulterioară a pentru pacienții cu forme cronice.

Obiectivele ale acestui studiu au fost:

1. Evaluarea trombocitului ca factor predictiv pentru cronicizare
2. Evaluarea riscului de sângerare asociat sindromului hemoragic
3. Identificarea altor factori predictivi pentru cronicizare
4. Analiza datelor clinice, biologice și tabloul imunoserologic al pacienților cu ITP
5. Evaluarea tratamentului, reacțiilor adverse și răspunsul terapeutic raportat la riscul de cronicizare cu scopul de a identifica posibili factori de predicție ai răspunsului la tratament

Rezultatele acestui studiu subliniază:

1. Distribuția pacienților în lotul de studiu a evidențiat o afectare predominantă a sexului feminin, cu un raport femei: bărbați de 3:1, cu un maxim de 5:1 pentru perioada de vartă 20-40 de ani. Mediana vârstei s-a situat la 41.5.
2. Evaluarea trombocitului din punct de vedere predictiv se poate face în practică clinică în primul rând din perspectiva trombocitopeniei. Astfel, analiza severității trombocitopeniei a evidențiat faptul că aproximativ 89% din pacienții (105 din 118) incluși în studiu au prezentat trombocitopenie severă (număr trombocite $<50 \times 10^3/uL$). Dintre aceștia, 58 au prezentat valori sub $10 \times 10^3/uL$, cu o pondere mai mare a pacienților cu un singur episod de ITP.
3. Legat de evaluarea trombocitului ca factor predictiv al cronicizării, analiza statistica efectuată a subliniat că o valoare a trombocitelor peste $10 \times 10^3/uL$ se corelează cu un risc mai mare de evoluție spre faza cronică. Deși este cunoscut faptul că o valoare mai mică a trombocitelor se asociază cu un risc hemoragic mai mare, rezultatul analizei statistice a fost semnificativ doar la comparația în perechi, având semnificație statistică doar pentru perechile 0 vs 1 ($p=0.000$) și 0 vs 2 ($p=0.000$). Riscul hemoragic a fost cuantificat conform scalei WHO de evaluare a

sângerării, unde 0 reprezintă absența sângerării, 1 prezenta sindromului hemoragipar și 2 prezenta sindromului hemoragic ușor. Între valoarea trombocitelor la diagnostic și valoarea MPV a fost identificată o corelație statistică pozitivă, cu un $p=0.034$, în sensul în care, un număr de trombocite mai mare asociază un MPV mai mare, semn sugestiv pentru turn-overul trombocitar crescut observat în ITP.

4. Evaluarea statistică a riscului de sângerare la pacienții cu ITP a inclus date despre prezența sindromului hemoragipar, analiza individuală a elementelor care au stat la baza clasificării WHO (tipurile de manifestări tegumentare, afectarea mucoaselor, prezența sângerărilor de organ), prezența comorbidităților, în mod particular a infecțiilor la diagnostic, date epidemiologice (vârstă, sex) dar și paraclinice din evaluarea inițială. Deși analiza univariată a evidențiat câteva elemente cu semnificație statistică și anume prezența infecțiilor la diagnostic (0.026), modificări ale eritrocitelor (0.002), modificări ale limfocitelor (0.007), trombociteopenia $<10 \times 10^3/uL$ (0.00), efectuarea ulterioară a curbelor ROC au plasat variabilele sub intervalul de referință. În ceea ce privește manifestările hemoragice exprimate prin scorul WHO se remarcă că acestea sunt mai bine reprezentate în categoria de pacienți cu un singur episod de ITP. Cu alte cuvinte, s-a observat faptul că pacienții cu 1 singur episod de ITP prezintă un număr de trombocite $<10 \times 10^3/uL$ și asociază un sindrom hemoragic mult mai bine exprimat. Riscul evoluției spre cronicizare crește în cazul pacienților care prezintă la debut număr de trombocite $>10 \times 10^3/uL$, în absența sindromului hemoragipar.

5. Pentru analiza statistică a factorilor cu potențial predictiv pentru cronicizare au fost evaluate date din fișa de evaluare inițială a pacientului, fiind selectate doar acele variabile care au obținut semnificație statistică în urma testelor individuale.

Variabile continue de tip vârstă, leucocite, mpv, crp, vsh, ldh, eritrocite, hemoglobina, trombocite, și nominale, reprezentate de, anticorpi anti-trombocitari, sex, scor WHO, dislipidemie au stat la analiza statistică ulterioară. Pentru o mai bună reprezentare statistică, scorul WHO a fost împărțit în 0-1 și >2 .

Un aspect de menționat în urma analizei individuale a variabilelor este acela că elemente particulare dintre cele care au stat la baza stratificării conform scalei WHO de evaluarea a sângerării au obținut un p semnificativ statistic: prezența gingivoragiilor ($p=0.007$) purpurei ($p=0.004$), echimozelor ($p=0.001$), epistaxisului ($p=0.007$).

Vârsta, sexul, prezența infecțiilor, a comorbidităților (afecțiuni autoimune, DZ, infecțiile la diagnostic, inclusiv *helicobacter pylori*), a tratamentului antiagregant sau anticoagulant nu s-a asociat statistic cu predicția spre cronicizare a pacienților cu ITP.

Un alt aspect interesant este dat prezența dislipidemie, semnificativă statistică la analiza univariată dar care necesită confirmare pe loturi mai mari de pacienți.

În mod neașteptat, sindromul inflamator nu s-a asociat cu evoluția spre cronicizare.

Rezultatele analizei statistice se regăsesc în tabelul de mai jos.

Tabel Factori de risc pentru cronicizare la pacienți adulți cu PTI

Variabila	Analiza univariata (95% CI)			Analiza multivariata (95% CI)			Odds ratio
	<i>p</i>	Min	Max	<i>p</i>	Min	Max	
Vârsta	0.219	0.327	0.54				
Leucocite	0.077	0.493	0.698				
MPV	0.269	0.444	0.702				
CRP	0.731	0.385	0.668				
VSH	0.885	0.339	0.686				
Eritrocite	0.035	0.508	0.757	0.022	1.14	6.591	2.741
Hgb	0.033	0.513	0.718	0.041	1.027	4.672	2.19
Trombocite	0.00	0.619	0.815	0.000	2.464	12.201	5.483
Sarcina	0.037	1.027	12.504				
Sex	0.184	0.236	1.326		0.236	1.326	0.56
Scor WHO>2	0.00			0.026	0.106	0.899	0.309
Dislipidemie	0.031	0.469	0.654				
Ac anti-trombocitari	0.907	0.19	6.492		0.19	6.492	1.111
LDH	0.429	0.137	1.343				

Confirmarea statistică a datelor obținute s-a făcut prin intermediul curbelor ROC, care au stabilit și riscurile relative și intervalele de încredere pentru fiecare variabilă în parte.

5. Combinarea elementelor clinice cu cele de la nivelul hemogramei, relevante din punct de vedere statistic, au stat la baza întocmirii unui **scor de predicție pentru cronicizare**, conform tabelului.

Tabel 4.25– Scorul predictiv al cronicizării

Variabile cu p statistic	Risc relativ	Puncte
RBC > 4.5 mil/uL	2.741	+1
HGB>13.5 g/dl	2.190	+1
Plt>10 X10 ³ /uL	5.483	+2
Scor WHO >=2	0.309	-1

Respectând o distribuție omogenă a calcului, am sugerat un punctaj acordat fiecărui parametru în parte, în funcție de valorile riscului relativ, conform tabelului. Totalul este dat de suma punctelor corespunzătoare întrunirii criteriilor.

Astfel, stadializarea pacienților la diagnostic se face în 2 categorii de risc:

Risc scăzut - Total <2 puncte

Risc înalt – Total 2-4 puncte

Validarea scorului s-a făcut la nivelul lotului inclus în studiu. Calcularea riscului și a intervalelor de încredere 95%CI confirma validarea statistică a scorului predictiv propus. Astfel, pacienții cu risc înalt, cu scorul de risc situat între de 2-4, prezintă un risc de 4.768 de evoluție spre faza cronică, cu un interval de încredere 95%CI cuprins între 2.092-10.867, și un p semnificativ statistic ($p=0,00$).

Tabel 4.26 Validarea statistică a scorului propus în lotul de pacienți

		Nou diagnosticat	Cronic	
Grupa de risc	Risc scăzut	39	11	50
	Risc înalt	29	39	68
Total		68	50	118

Conform împărțirii pe grupe de risc, ar rezulta că din totalul de 118 pacienți, 68 au risc înalt de a croniciza, în timp ce 50 dintre aceștia se situează în clasa de risc scăzut.

Conform împărțirii pacienților din lotul de studiu la momentul întocmirii bazei de date, din totalul de 118 pacienți, 62 au prezentat evoluție spre faza cronică (12 pacienți fiind deja în faza cronică încă de la diagnostic). Rezultatul se apropie de împărțirea pe grupe de risc care prevede un număr de 68 de pacienți cu risc înalt de cronicizare. Diferența până la 68 ar putea fi dată de faptul că o parte din pacienții nou diagnosticați în cursul anului 2024, au prezentat recădere în primele 3 luni de la diagnostic, existând posibilitatea să progreseze spre fazele persistenta și cronică în evoluție.

6. Un aspect particular, deosebit de interesant, rezultat din analiza statistică a fost dat de **prezența sarcinii**. Din punct de vedere statistic, prezenta sarcinii s-a evidențiat ca factor predictiv pentru cronicizării cu un $p= 0.037$, un risc relativ de 3.583 și un interval de încredere CI 95% situat între 1.027 – 12.504.

Fiind însă un lot foarte mic de paciente, am considerat că nu este semnificativ pentru a fi luat în calcul la scorul de predicție al cronicizării propus în capitolul anterior.

7. Legat de particularitățile tratamentului de prima linie, în lotul nostru de pacienți, un număr de 106 pacienți au avut indicație de tratament de prima linie care a constat în corticoterapie.

În ceea ce privește tratamentul efectuat în prima linie de tratament pacienților incluși în studiu, nu există diferențe semnificative din punct de vedere statistic în ceea ce privește prezentarea clinică și paraclinica, incidenta infecțiilor, comorbiditățile opțiunile de tratament, timpul de obținere a răspunsului și durata menținerii răspunsului.

Rata de răspuns complet (trombocite peste $100 \times 10^3/uL$) a fost de 67% pentru tot lotul. Din cei 106 pacienți, 52 au prezentat ulterior, recădere. Timpul de răspuns a avut o mediană de 7 zile pentru pacienții cu ITP ND și 9 zile pentru pacienții cronici ($p=0.076$, nesemnificativ statistic). Mediana până la recădere a fost situată la 6.26 luni.

Variabile ca vârstă, sex, comorbidități, valoarea trombocitelor și a MPV-ului la diagnostic, scorul WHO al sângerării, prezenta markerilor virali (AgHbs, antiHCV, ac anti HIV), anemia, nivelul CRP, LDH au fost incluse în analiza statistică pentru identificarea unor factori predictivi ai răspunsului la tratament.. Rezultatul a fost semnificativ doar în cazul valorilor **trombocitelor (p 0.014)**.

Capitolul 6 cuprinde al doilea studiu al tezei și modul în care urmărește să răspundă ipotezei de lucru formulată. Studiul își propune evaluarea proteomica a pacienților cu ITP aflați în diferite faze ale bolii (nou diagnosticat vs cronic) cu scopul principal de a evalua, în ansamblu, modificările la nivelul unor proteine aparținând claselor de citokine, chemokine, factori de creștere, receptori solubili, hormoni și altor proteine și a modului în care intervin în configurarea răspunsului imun .

În același timp s-a urmărit expresia proteinelor cu proveniența trombocitară și implicare lor în tabloul imun al acestor categorii de pacienți.

Scopul principal al studiului a fost identificarea unor proteine cu potențial de biomarkeri plasmatici utili în cuantificarea clinică a mecanismelor fiziopatogene la nivelul fazelor evolutive ale ITP, urmată de dozarea ulterioară individuală a acestora în categoriile de pacienți pentru confirmare individuală și stabilirea utilității în practică clinică.

Pentru aceasta, au fost selectați 30 de pacienți diagnosticați cu Trombocitopenie imună, aflați în monitorizare în cadrul Clinicii de Hematologie a Spitalului Universitar de Urgență, București în perioada martie 2024 - iunie 2024.

Loturile de lucru au fost divizate în funcție de faza actuală a bolii: PTI nou diagnosticat (pool 1), PTI faza cronică care nu au efectuat tratament în ultimii 5 ani, unii deloc pe parcursul evoluției bolii (pool 2), PTI faza cronică aflați în tratament, majoritatea urmând tratament cronic cu agoniști de trombopoietina (pool 3) și populația martor - (pool martor).

Pentru efectuarea testului s-au recoltat sânge venos de la fiecare pacienți, proba fiind ulterior procesată în vederea obținerii de plasmă deplachetată. Analiză fost efectuată pool-uri de plasmă, rezultatele fiind specifice grupelor de boală.

Cele mai importante modificări evidențiate de acest studiu se regăsesc la nivelul următoarelor clase de molecule (confirm **figurii**):

- Citokine proinflamatorii : TNF- α
- Citokine antiinflamatorii: GDF-15
- Chemokine: CXCL-5, CXCL-11, CXCL-12; CCL-11, CCL-17
- Receptori solubili: CD14, CD30, IL-1R4
- Factori de creștere: EGF, FGF, G-CSF, CM-CSF, M-CSF, TGF- α
- Hormoni: GH, leptina, relaxina
- Proteine implicate în inflamație și răspuns imun: Crypto-1, FasL, Flt-3 ligand

În timp ce implicația unora din acestea au fost deja subliniate în diferite studii de specialitate, în cazul altora, nu se cunoaște încă utilitatea clinică sau implicarea în patogeneză ITP.

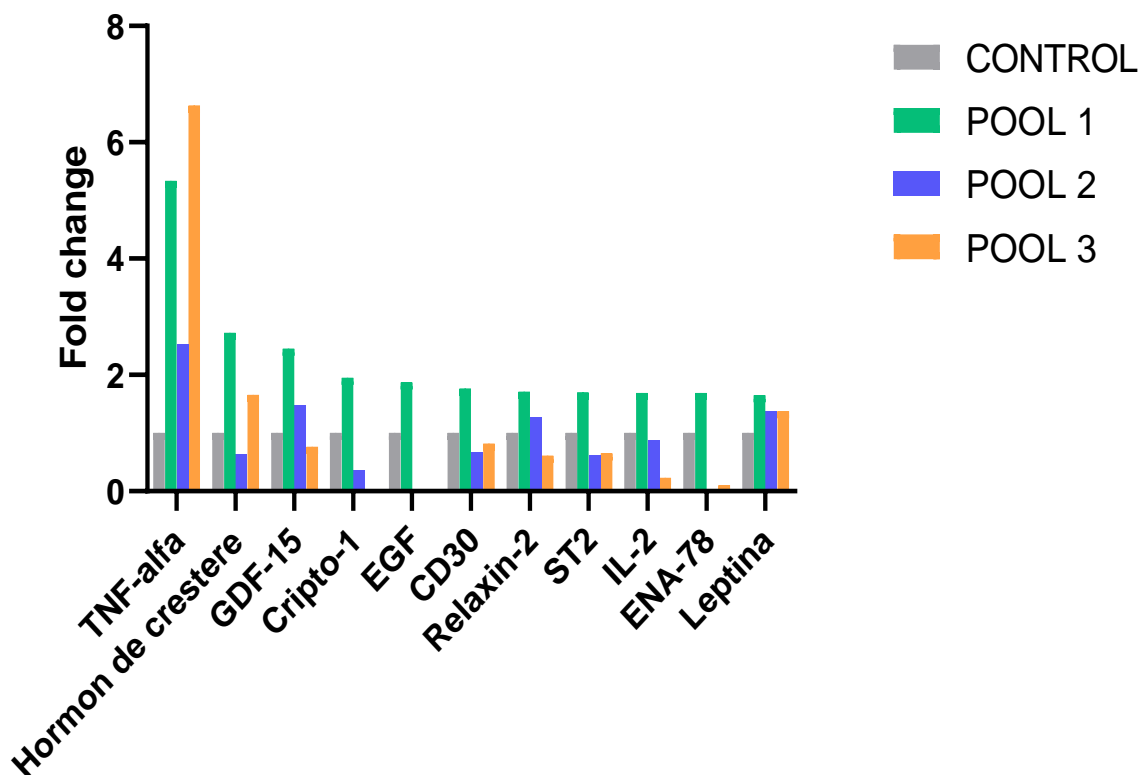


Figura 5.4 – Distribuția analizelor în funcție de expresivitatea la nivel

Proteinele cu nivel de expresie crescut (de cel puțin 1.5 FC) în probele de plasmă obținute de la pacienții cu trombocitopenie imună în faza acută (pool 1) comparativ cu subiecții sănătoși și modul în care expresia acestora se modifică la celelalte categorii de pacienți (pool 2 și pool 3)

Rezultatele obținute, subliniază câteva aspecte importante.

1. În ceea ce privește expresia **citokinele proinflamatorii**, studiul de față a identificat valori mult crescute la nivelul **TNF alfa** (TNF- α) la nivelul tuturor celor 3 categorii de pacienți. Acest lucru este în concordanță cu datele din literatură de specialitate și susține predominanța **răspunsului de tip pro-inflamator** în patogeneză ITP, promovat la nivelul limfocitelor de tip Th1.[1,4]

Faptul că valoarea se menține și în categoria de pacienți cu ITP cronic, în tratament, unii având mai multe linii de tratament de-a lungul evoluției bolii subliniază faptul că cronicizarea pacienților cu ITP are la baza cel mai probabil menținerea autoreactivității la un anumit nivel, încă nedeslușit, în cursul evoluției bolii.

În ceea ce privește **IL-2**, aceasta prezintă o expresie crescută în categoria de pacienți cu ITP nou diagnosticat. La pacienții cu ITP cronic, aflați în tratament, IL-2 scade sub valoarea de referință, lucru care ar putea însemna reversarea, cel puțin parțială, a efectului pro-inflamator, odată cu tratamentul. Dat fiind însă că majoritatea pacienților incluși în studiu se află în tratament cu TPO-RA, o corelație între

scăderea IL-2 ar putea fi legată de tratament. Categoria de pacienți cu ITP cronic, fără tratament, are valori normale ale IL-2.

Un alt aspect interesant este faptul că valorile **IFN- γ** sunt normale în toate cele 3 categorii de pacienți. O posibilă explicație pentru valorile normale ale IFN- γ și IL-4 ar putea fi dată de numărul mic de pacienți incluși în lot și de neomogenitatea loturilor. O explicație mai îndrăzneată ar fi însă aceea, că mecanismul patogen principal, în ceea ce privește lotul nostru de pacienți, nu ar implica direct limfocitul Th1.

Dat fiind faptul că TNF α este produsă mai ales la nivelul macrofagelor activate, în timp ce IFN- γ este produsă de limfocitele activate, am putea sugera că persistenta autoimunității ar fi corelată cu disfuncții la nivelul celulelor prezentatoare de antigen

Studii recente au identificat axa **IL-17/IL-23** ca fiind un element cheie în inflamație fiind implicată în rasunsul imun împotriva infecțiilor fungice și bacteriene dar și în afecțiunile autoimune [5]

În studiul de față, modificările prezentate la nivelul axei IL-17/ IL-23 sunt minore în toate categoriile de pacienți examinați. IL-17A are valori la limita inferioară a normalului în categoria de pacienți cronici, în timp ce IL-23 a prezentat expresie sub normal în categoriile de pacienți cronici. Acest lucru este în contradicție cu celelalte studii care au evidențiat creșterea nivelului pentru aceste citokine, demonstrând incriminarea lor în patogeneza ITP.

O posibilă explicație ar putea fi dată de faptul că modificarea balanței Th1/Th2 observată la pacienții cu ITP variază în funcție de faza bolii. În timp ce în faza acută predomina creșterea răspunsului de tip pro-inflamator, de tip Th1 care sintetizează citokine ca IFN γ și TNF α . Aceste citokine promovează activarea macrofagelor și a celulelor T citotoxice (CTL) producând distrucția trombocitară, în paralel cu scăderea răspunsului de tip Th2. În evoluția naturală a bolii însă, poate exista o modificare în faza persistentă în sensul unei creșteri mixte a celor 2 tipuri de răspuns. În timp ce răspunsul proinflamator promovat de Th1 rămâne activ, apare și o creștere a răspunsului de tip Th2. După instalarea fazei cronice, însă, există posibilitatea că răspunsul de tip Th2, reprezentat prin nivelul de IL-4 și IL-10 să fie mai proeminent. IL-4 poate inhiba răspunsul de tip Th1, simultan cu promovarea diferențierii clonelor B autoreactive și producția de anticorpi anti-trombocitari.[4]

IL-22 este legată în principal de activitatea secretorie a limfocitelor Th22, putând fi sintetizată și la nivelul NK, având proprietăți deopotrivă pro și anti-inflamatorii.[6]

Aceasta prezintă o expresie scăzută în cele două grupe de pacienți cu ITP cronic, și normală la pacienții cu ITP nou diagnosticat

Majoritatea studiile efectuate pe citokinele aparținând familiei de IL-12 au raportat creșterea expresiei pentru toate subtipurile evaluate (IL-12, IL-23, IL-27 și IL-35) la pacienții cu ITP cronic [6], contrar studiului de față care raportează valori scăzute la această categorie de pacienți atât pentru IL-23, cât și pentru IL-27 (lotul de pacienți cronic în tratament). Valorile IL-12 și IL-17A fiind normale în lotul nostru de pacienți examinați

Balanța dintre **IL-18 și inhibitorul sau IL-18-binding protein (IL-18BP)** este implicată în progresia ITP cu asociază nivele crescute ale IL-18 și scăzute ale IL-18BP. Acestea se corelează în mod pozitiv cu persistența răspunsului de tip Th1 din ITP. Activitatea IL-18 poate fi inhibată în mod natural de către IL-18BP care prezintă o afinitate crescută pentru IL-18.[7]

Studiul actual a dozat nivelul de expresie doar pentru IL-18 BPa, care, contrar așteptărilor, prezintă valori normale în toate cele 3 categorii de pacienți. Simultan și valorile IL-12 sunt normale pentru categoriile de pacienți examinate. Acest lucru sugerează că, cel puțin în cazul pacienților incluși în analiza, axa IL-18-IL-12 nu este implicată în favorizarea unui anumit tip de răspuns.

IL-1 β este o citokina pro-inflamatorie importantă produsă mai ales la nivelul limfocitelor, macrofagelor, monocitelor în timpul răspunsului antimicrobian. În timpul răspunsului imun, PPR și TLR devin exprimați și determină creșterea expresiei IL-1 β . Aceasta stimulează limfocitele CD4+ și diferențierea lor în limfocite Th17. Efectul stimulator al IL-1 poate fi inhibat sau suprimat de către IL-1ra. Acesta este sintetizat la nivelul neutrofilelor, macrofagelor și monocitelor și hepatocitelor cu scopul scăderii inflamației.[8]

Studiul de față a evidențiat o expresie a IL-1 β este mult sub limita de referință, mai ales în categoria de pacienți cu ITP nou diagnosticat sau cronic, fără tratament.

IL-33 prezintă valori scăzute doar în categoria de pacienți cu ITP cronic, fără tratament, în timp ce IL-1ra este sub limita de referință doar în categoria de pacienți cu ITP cronic, fără tratament.

Similar studiului nostru, și Zhang et al[9], a raportat valori scăzute în ITP ale citokinelor IL-1 β și IL-33.

Principalul depozit al IL-1 β se regăsește la nivelul trombocitului. [8]În urma distrucției trombocitare importante din timpul fazelor acute de ITP, nivelul plasmatic scade, și odată cu acest lucru, și funcțiile în care este implicat. Similar, în faza cronică, la pacienții fără tratament, numărul mai mic de trombocite poate asocia valori mai mici ale IL-1 β .

În ceea ce privește expresia IL-33, o posibilă explicație poate fi dată de faptul că IL-33 se asociază cu răspunsul de tip Th2 care este, per ansamblu, scăzut la pacienții cu ITP.

Un aspect interesant rezultat din studiul actual este reprezentat de **expresia mult crescută a IL-34** în categoriile de pacienți cronici.

IL-34 (factor al celulei stem) aparține clasei III de liganzi ai receptorului de tirozin kinaza, alături de factorul de al coloniilor de macrofage (CSF1/M-CSF), ligandul kit și Flt3 (FLT3LG), fiind citokine implicate în activarea căii de semnalizare prin legarea de receptorul M-CSF (M-CSFR). Intervin în mielopoieza, având rol în proliferarea, diferențierea și funcționalitatea celulelor polimorfonucleare (monocite, macrofage). M-CSF este produs la nivelul monocitelor, macrofagelor și a celulelor dendritice, celulelor endoteliale, fibroblastice, și limfocite T și B activate. IL-34 are roluri similare M-CSF în ceea ce privește creșterea, supraviețuirea și diferențierea monocitelor în macrofage. În ceea ce privește

asocierea cu afecțiunile autoimune, nivelele crescute au fost raportate în poliartrita reumatoidă, lupusul sistemic, sdr Sjogren. [10]

Contrar expresiei IL-34, M-CSF și FLT3L prezintă o expresie scăzută în ambele grupuri de pacienți cu PTI-cronic. Studiile care au urmărit nivelul M-CSF la pacienții cu ITP au raportat creșteri ale acesteia. Rezultatele discordante din studiul actual ar putea avea la baza suprasaturarea M-CSFR de către IL-34, rezultând, în final, tot o suprastimulare a diferențierii macrofagelor, cel mai probabil cu rol în promovarea autoimunității prin menținerea răspunsului pro-inflamator.

Evaluarea **răspunsului anti-inflamator** în studiu de față a fost creionat prin evaluarea expresiei interleukinelor specifice limfocitelor Th2 – IL-4, IL-5, IL-6 care au prezentat valori normale la toate cele 3 categorii de pacienți examinate. Au fost evaluate și IL-10, IL-13 care au prezentat, contrar așteptărilor, o scădere a expresiei în în categoriile de pacienți cu ITP cronic, fără tratament, respectiv, cu tratament.

GDF-15 aparține familiei de citokine a factorilor de transformare TGF- β și se regăsește la nivelul tuturor țesuturilor. Este sintetizat de către macrofage în urma unui stimul inflamator, ca de exemplu TNF- α și IL-1 β , determinând inhibarea producției de TNF- α de la nivelul macrofagelor.[11] În felul acesta intervine în imunosupresia proceselor inflamatorii. Alte studii au corelat implicarea citokinei în inhibarea funcțiilor unor celule ca neutrofile, macrofage, celule dendritice, NK și limfocite T. Recent, și-a găsit rol ca biomarker în multiple afecțiuni cronice ca bolile cardiovasculare, mitocondriale, diabet zaharat, declin cognitiv, îmbătrânire, și în investigarea cancerului unde pare că are potența dublă - antitumorogena pro-metastatică.[12–14]

Intervine de asemenea în răspunsurile anti-infecțioase. Afectează funcția NK în timpul infecției sistemice și reglează polarizarea macrofagelor de la nivelul țesuturilor adipoase. Supraproducția de GDF-15 crește severitatea infecției cu rinovirusul uman, se asociază cu progresia spre sepsis. Pacienții cu COVID-19 au raportat creșterea GDF-15 sugerând că ar fi o corelație cu severitatea bolii. [13]

Nu se cunosc implicații directe ale creșterii GDF-15 în patogeniza ITP, dar ar putea reprezenta un mecanism de contrabalansare al scăderii TGF- β ca urmare a distrucției trombocitare, fiind un lucru cunoscut faptul că [15]

2. La nivelul clasei de chemokine, cea mai importantă modificare în această clasă s-a remarcat la nivelul expresiei CXCL 5 (**ENA-78**) care a prezentat o expresie crescută la pacienții cu faza activă a bolii și o valoare scăzută la ambele categorii de pacienți cronici.

Participa la procesul de chemotaxie a neutrofilele la locul inflamației și în diferențierea Th2, prin acțiunea asupra CXCR2.[10] Reprezintă unul din putinele mecanisme anti-inflamatorii identificate la nivelul studiului, iar variația valorilor se poate corela cu o tendință de contrabalansare a răspunsului de tip Th1.

Modificări între pacienții cu ITP acut și cele 2 categorii cu ITP cronic au fost exprimate la nivelul chemokinelor CXCL11, CXCL12, CCL7 și CCL17. Acestea au prezentat o expresie normală în grupul de pacienți cu boala activă și o expresie scăzută în cele 2 categorii de pacienți cu ITP cronic.

3. Dintre receptorii solubili, s-a remarcat modificarea expresiei CD30 și ST2.

CD30 solubil a prezentat o expresie crescută în cazul pacienților cu ITP nou diagnosticat și valori normale la ambele categorii de pacienți cronici, în timp ce expresia CD26 a fost normală în cadrul tuturor categoriilor analizate.

Puține studii au căutat legătura dintre CD30 și ITP, însă se pare că sCD30 și sCD26 se corelează cu prezența afecțiunilor autoimune, fiind asociate cu răspunsul de tip Th1, respectiv Th2.[16]

Descoperită recent, **axa IL-33/ST2** este implicată în răspunsul imun mediat celular de tip Th2[17]. Investigarea funcției receptorului ST2 a demonstrat rolul său în procesele inflamatorii, participând în promovarea răspunsului de tip Th2 și a citokinelor de tip Th2. Are, de asemenea, rol de marker celular specific cu rol în diferențierea Th2 din Th1. [17]

S-a observat faptul îndepărtarea receptorului ST2 favorizează afecțiunilor autoimune mediate prin intermediul celulelor Th1/Th17. De asemenea, ștergerea axei ST2/IL-33 favorizează creșterea citotoxicității mediate de către NK și creșterea producției de IFN γ , IL-17 și TNF α . Studiul concluzionează că prezența axei ST2/IL-33 are rol în atenuarea mecanismelor pro- inflamatorii.[18]

În studiul actual, expresia ST2 este crescută dar în categoria de pacienți cu boala activă, nou-diagnosticați și nu se corelează cu expresia IL-33 care este scăzută la pacienții cu ITP cronic, aflați în tratament, lucru care poate fi interpretat ca un mecanism anti-inflamator, de contrabalansare a răspunsului de tip Th1.

Implicarea axei IL-33/ST2 în ITP nu este complet elucidată la momentul actual, însă în mod sigur reprezintă un subiect de interes în lumina acestor rezultate.

4. În ceea ce privește expresia hormonilor, s-au remarcat creșteri ale expresiei hormonului de creștere (GH), leptina și relaxina.

Creșterea expresiei **GH** la pacienții cu boala activă și cei cu ITP cronic, în tratament ar putea fi corelată cu proprietățile imune de tip pro-inflamator favorizate prin stimularea limfocitelor B și T și promovarea unui răspuns de tip Th1.[19]

De asemenea, [Yang Xu et al\[20\]](#), subliniază în studiul său capacitatea de a promova diferențierea la nivelul megakariopoiezei printr-un efect complementar și sinergic al ligandului c-Mpl exprimat de către megakariocite.

Legătura dintre **leptină** și ITP a fost mult mai intens analizată de-a lungul timpului. Studiile din literatură de specialitate au sugerat că ar avea un rol important în patogeneza bolii, creșterea nivelului leptinei fiind asociată cu scăderea numărului de trombocite. De asemenea s-a sugerat ca leptina funcționează ca un agenți anti-inflamator prin promovarea secreției de IL-10 de la nivelul monocitelor, reprezentând un bun biomarker de diagnostic.[21–23]

E explicație pentru valorile crescute ale **relaxinei** o subliniează **D. Bani et al [24]**, care a demonstrat într-un studiu la șoareci ca relaxina reduce numărul de trombocite circulante și scade eliberarea trombocitară de la nivelul megakariocitelor.

5. Alte proteine implicate în inflamație și răspunsul imun

În ultimul grup de analiti, s-a urmărit variația nivelului de expresie al altor proteine implicate în inflamație și răspunsul imun. Dintre acestea, o variație la pacienții cu ITP au reprezentat **Crypto1**.

Expresia Crypto1 a prezentat valori crescute la pacienții cu boala activă și scăzute la ambele categorii de pacienți cronici.

Crypto1 este o oncoproteina de interes care aparține clasei de factori de creștere EGF. Funcționează ca moleculă de semnalizare extracelulară, cu rol esențial în embriogeneza, fiind foarte bine exprimat la nivelul tumorilor unde promovează tumorigeneza.[25]

Acționează ca și co-receptor pentru TGF β , reducând asocierea dintre TGF β și receptorul sau, T β R1. În felul acesta suprimă activitatea de semnalizare a TGF β la nivel celular, diminuând-i efectele citostatice la nivelul celulelor epiteliale. [25]

Implicarea Crypto1 în patogeneza pacienților cu ITP nu este cunoscută la momentul actual dar ar putea face obiectul unor studii ulterioare, având în vedere că este din ce în ce mai mult subliniată de către literatura de specialitate a asocierii cu menținerea și progresia tumorală.

6. Evaluarea implicării trombocitului în patogeneza ITP a avut ca punct de plecare studiul lui Feng et al[26], subliniază faptul că CD40L, CXCL5, CCL5 și EGF sunt preponderent derivați de la nivelul granulelor trombocitare sugerând astfel implicarea trombocitului în răspunsul imun și în inflamație, dar și o posibilă explicație pentru scăderea tuturor factorilor de creștere în cele două categorii de pacienți cu ITP cronic.

O posibilă explicație pentru valorile crescute ale expresiei CXCL 5 în fazele acute ale bolii , urmată de scăderea în faza cronică ar putea fi reprezentată de gradul de activare trombocitară din cursul distrugerii imune. P

Nu se cunoaște clar mecanismul activării în fazele ITP, dar un turnover accelerat din faza acută poate implica o activare trombocitară crescută. Scăderea sau limitarea clearance-ului trombocitar din fazele cronice poate fi, o explicație pentru scăderea proteinelor cu proveniența trombocitară la nivelul studiului acesta.

Un rol central al proteinelor cu expresivitatea crescută în acest studiu despre care nu se cunoaște implicarea în patogeneza ITP pare să convergă, cumva, spre TGF β .

Un subiect de interes ar rămâne între asocierea Crypto1- TGF β 1 (trombocitară) în evoluția naturală a bolii.

Totodată, un loc aparte în studiul actual îl ocupa expresia GDF-15, membru al familiei de citokine a factorilor de transformare TGF- β și implicarea în patogeneza ITP. Un posibil rol al acestuia, sugerat

de studiul proteomic ar fi dat contrabalansarea mecanismelor imunosupresorii, mai ales în fazele acute ale ITP, când, odată cu scăderea trombocitelor scade mult și TGFβ.

Capitolul 6 reunește concluziile și contribuțiile personale rezultate din cele 2 studii, dovedind că o evaluarea cât mai minuțioasă a pacientului încă de la diagnostic, urmată de o stratificare pe grupe de risc, ar putea fi un început spre îmbunătățirea managementul terapeutic și al prognosticului, alături de utilizarea încă de la diagnostic a tehnicile moderne de investigații (examen citogenetic, secvențiere de noua generație, flowcitometrie, agregometrie) în vederea obținerii unui diagnostic cât mai clar formulat.

Studiul 2 evidențiază menținerea unui răspuns pro-inflamator în fazele cronice, cu atât mai mult în categoriile de pacienți care necesita terapie cronică, atât prin mecanisme cunoscute, cât și prin intermediul unor cai necercetate încă, subliniind totodată faptul că trombocitul pare a fi mai mult decât o moleculă vizată, mai multe modificări ale expresiei proteinelor din studiu convergând spre rolul lui imun.

Prin urmare, studii ample, individuale, sunt în continuare necesare în vederea identificării de biomarkeri accesibili în practică clinică care să ne ghideze în managementul corect al pacienților cu ITP, mai ales în cazul pacienților multiplu refractari, cu un risc de sângerare crescut.

Bibliografie

1. Mititelu, A.; Onisâi, M.-C.; Roșca, A.; Vlădăreanu, A.M. Current Understanding of Immune Thrombocytopenia: A Review of Pathogenesis and Treatment Options. *International journal of molecular sciences* **2024**, *25*, doi:10.3390/ijms25042163.
2. Matzdorff, A.; Alesci, S.R.; Gebhart, J.; Holzhauser, S.; Hütter-Krönke, M.L.; Kühne, T.; Meyer, O.; Ostermann, H.; Pabinger, I.; Rummel, M.; et al. Expert Report on Immune Thrombocytopenia: Current Diagnostics and Treatment - Recommendations from an Expert Group from Austria, Germany, and Switzerland. *Oncology research and treatment* **2023**, *46 Suppl 2*, 5–44, doi:10.1159/000529662.
3. Swinkels, M.; Rijkers, M.; Voorberg, J.; Vidarsson, G.; Leebeek, F.W.G.; Jansen, A.J.G. Emerging concepts in immune thrombocytopenia. *Frontiers in Immunology* **2018**, *9*, doi:10.3389/fimmu.2018.00880.
4. Andreescu, M. The link between immune thrombocytopenia and the cytokine profile: a bridge to new therapeutic targets. *Frontiers in Hematology* **2023**, *2*, 1–12, doi:10.3389/frhem.2023.1191178.
5. Navarro-Compán, V.; Puig, L.; Vidal, S.; Ramírez, J.; Llamas-Velasco, M.; Fernández-Carballido, C.; Almodóvar, R.; Pinto, J.A.; Galíndez-Aguirreagoikoa, E.; Zarco, P.; et al. The paradigm of IL-23-independent production of IL-17F and IL-17A and their role in chronic inflammatory diseases. *Frontiers in Immunology* **2023**, *14*, 1–14, doi:10.3389/fimmu.2023.1191782.

6. Liu, Q.; Liu, Y. Role of IL-10 and IL-22 cytokines in patients with primary immune thrombocytopenia and their clinical significance. *Journal of clinical laboratory analysis* **2022**, *36*, e24573, doi:10.1002/jcla.24573.
7. Zhou, T.; Damsky, W.; Weizman, O.-E.; McGeary, M.K.; Hartmann, K.P.; Rosen, C.E.; Fischer, S.; Jackson, R.; Flavell, R.A.; Wang, J.; et al. IL-18BP is a secreted immune checkpoint and barrier to IL-18 immunotherapy. *Nature* **2020**, *583*, 609–614, doi:10.1038/s41586-020-2422-6.
8. Turner, M.D.; Nedjai, B.; Hurst, T.; Pennington, D.J. Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. *Biochimica et biophysica acta* **2014**, *1843*, 2563–2582.
9. Li, P.-P.; Zhang, X.-M.; Yuan, D.; Liu, X.; Li, Y.; Shan, N.-N. Decreased expression of IL-33 in immune thrombocytopenia. *International immunopharmacology* **2015**, *28*, 420–424, doi:10.1016/j.intimp.2015.06.035.
10. Levy, A.R.R.A.; Rojas-villarraga, A.; Levy, R.A. *Cancer and Autoimmunity*; 2000; ISBN 9789587383669.
11. Wischhusen, J.; Melero, I.; Fridman, W.H. Growth/Differentiation Factor-15 (GDF-15): From Biomarker to Novel Targetable Immune Checkpoint. *Frontiers in immunology* **2020**, *11*, 951, doi:10.3389/fimmu.2020.00951.
12. Pence, B.D. Growth Differentiation Factor-15 in Immunity and Aging. *Frontiers in Aging* **2022**, *3*, 1–7, doi:10.3389/fragi.2022.837575.
13. Corre, J.; Hébraud, B.; Bourin, P. Concise review: growth differentiation factor 15 in pathology: a clinical role? *Stem cells translational medicine* **2013**, *2*, 946–952, doi:10.5966/sctm.2013-0055.
14. Xu, W.-D.; Huang, Q.; Yang, C.; Li, R.; Huang, A.-F. GDF-15: A Potential Biomarker and Therapeutic Target in Systemic Lupus Erythematosus. *Frontiers in immunology* **2022**, *13*, 926373, doi:10.3389/fimmu.2022.926373.
15. Kapur, R.; Semple, J.W. Platelet TGF- β triggers immunosuppression in ITP. *Blood* **2024**, *144*, 7–8, doi:10.1182/blood.2024024825.
16. Wang, H.; Gu, X.; Li, H.; Yin, L.; Tao, W.; Yu, J.; Zhou, Q.; Mu, H.; Shen, Y.; Yao, J.; et al. Levels of Soluble CD30 and CD26 and Their Clinical Significance in Patients with Primary Immune Thrombocytopenia. *BioMed research international* **2020**, *2020*, 1279371, doi:10.1155/2020/1279371.
17. Kakkar, R.; Lee, R.T. The IL-33/ST2 pathway: therapeutic target and novel biomarker. *Nature reviews. Drug discovery* **2008**, *7*, 827–840, doi:10.1038/nrd2660.
18. Milovanovic, M.; Volarevic, V.; Radosavljevic, G.; Jovanovic, I.; Pejnovic, N.; Arsenijevic, N.; Lukic, M.L. IL-33/ST2 axis in inflammation and immunopathology. *Immunologic research* **2012**, *52*, 89–99, doi:10.1007/s12026-012-8283-9.
19. Olarescu, N.C.; Gunawardane, K.; Hansen, T.K.; Møller, N.; Jørgensen, J.O.L. Normal

- Physiology of Growth Hormone in Adults. In; Feingold, K.R., Anawalt, B., Blackman, M.R., Boyce, A., Chrousos, G., Corpas, E., de Herder, W.W., Dhatariya, K., Dungan, K., Hofland, J., Kalra, S., Kaltsas, G., Kapoor, N., Koch, C., Kopp, P., Korbonits, M., Kovacs, C.S., Kuohung, W., Laferrère, B., Levy, M., McGee, E.A., McLachlan, R., New, M., Purnell, J., Sahay, R., Shah, A.S., Singer, F., Sperling, M.A., Stratakis, C.A., Trence, D.L., Wilson, D.P., Eds.; South Dartmouth (MA), 2000.
20. Xu, Y.; Wang, S.; Shen, M.; Zhang, Z.; Chen, S.; Chen, F.; Chen, M.; Zeng, D.; Wang, A.; Zhao, J.; et al. hGH promotes megakaryocyte differentiation and exerts a complementary effect with c-Mpl ligands on thrombopoiesis. *Blood* **2014**, *123*, 2250–2260, doi:10.1182/blood-2013-09-525402.
 21. Thomas, I.; Panagoulas, I.; Aggeletopoulou, I.; Varvarigou, A.; Spiliotis, B.E.; Mouzaki, A. The Role of Leptin in Childhood Immune Thrombocytopenia (ITP): An Anti-Inflammatory Agent? *International journal of molecular sciences* **2021**, *22*, doi:10.3390/ijms22147636.
 22. Zhan, M.; Zhao, H.; Yang, R.; Han, Z.C. Serum leptin levels in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *European Journal of Haematology* **2004**, *72*, 348–352, doi:10.1111/j.1600-0609.2004.00231.x.
 23. Osman, A.M.; Abdelhameed, W.M.; Aziz, M.R.S.; Ismaeel, D.E. Role of leptin in immune thrombocytopenic purpura in children. *Minia Journal of Medical Research* **2024**, 0–0, doi:10.21608/mjmr.2024.310954.1775.
 24. Bani, D.; Bigazzi, M.; Masini, E.; Bani, G.; Sacchi, T.B. Relaxin depresses platelet aggregation: in vitro studies on isolated human and rabbit platelets. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology* **1995**, *73*, 709–716.
 25. Gray, P.C.; Shani, G.; Aung, K.; Kelber, J.; Vale, W. Cripto binds transforming growth factor beta (TGF-beta) and inhibits TGF-beta signaling. *Molecular and cellular biology* **2006**, *26*, 9268–9278, doi:10.1128/MCB.01168-06.
 26. Feng, X.; Scheinberg, P.; Samsel, L.; Rios, O.; Chen, J.; McCoy, J.P.J.; Ghanima, W.; Bussel, J.B.; Young, N.S. Decreased plasma cytokines are associated with low platelet counts in aplastic anemia and immune thrombocytopenic purpura. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH* **2012**, *10*, 1616–1623, doi:10.1111/j.1538-7836.2012.04757.x.