2026 ATP Adenozin Metabolizmasının Düzenlenmesinde IL-9 Sitokinin Potansiyel Rollerinin İncelenmesi MUHAMMED ALİ KIZMAZ

BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ATP-ADENOZİN METABOLİZMASININ DÜZENLENMESİNDE IL-9 SİTOKİNİN POTANSİYEL ROLLERİNİN İNCELENMESİ

MUHAMMED ALİ KIZMAZ

TIP FAKÜLTESİ

İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

Bursa 2026

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIP FAKÜLTESİ
İMMÜNOLOJİ ANA BİLİM DALI

ATP-ADENOZİN METABOLİZMASININ DÜZENLENMESİNDE IL-9 SİTOKİNİN POTANSİYEL ROLLERİNİN İNCELENMESİ

Muhammed Ali KIZMAZ

(DOKTORA TEZİ)

DANIŞMAN:

Prof. Dr. Ferah BUDAK ŞENER

THIZ-2024-1854 – BUÜ BAP

BURSA-2026

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK BEYANI

Doktora tezi olarak sunduğum "**ATP Adenozin Metabolizmasının Düzenlenmesinde IL-9 Sitokinin Potansiyel Rollerinin İncelenmesi**" adlı çalışmanın, proje safhasından sonuçlanmasına kadar geçen bütün süreçlerde bilimsel etik kurallarına uygun bir şekilde hazırlandığını ve yararlandığım eserlerin kaynaklar bölümünde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir ve beyan ederim.

Muhammed Ali KIZMAZ
Tarih ve İmza

TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU

…/…/….

Adı Soyadı: Muhammed Ali KIZMAZ

Anabilim Dalı: İmmünoloji

Tez Konusu: ATP Adenozin Metabolizmasının Düzenlenmesinde IL-9 Sitokinin Potansiyel Rollerinin İncelenmesi

ÖZELLİKLER	**UYGUNDUR**	**UYGUN DEĞİLDİR**	**AÇIKLAMA**
Tezin Boyutları	■	❑	
Dış Kapak Sayfası	■	❑	
İç Kapak Sayfası	■	❑	
Kabul Onay Sayfası	■	❑	
Sayfa Düzeni	■	❑	
İçindekiler Sayfası	■	❑	
Yazı Karakteri	■	❑	
Satır Aralıkları	■	❑	
Başlıklar	■	❑	
Sayfa Numaraları	■	❑	
Eklerin Yerleştirilmesi	■	❑	
Tabloların Yerleştirilmesi	■	❑	
Kaynaklar	■	❑	

DANIŞMAN ONAYI

Prof. Dr. Ferah BUDAK ŞENER

İmza:

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN……II
TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU ..... Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
İÇİNDEKİLER III
TÜRKÇE ÖZET VI
İNGİLİZCE ÖZET VII
TEZ KONUSUNUN KÜRESEL SÜRDÜRÜLEBİLİR KALKINMA HEDEFLERİ İLE İLİŞKİSİ VIII
1. GİRİŞ..... 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. İmmünometabolizma..... 3
2.2. ATP-adenozin metabolizması 4
2.2.1. ATP 5
2.2.2. Adenozin 9
2.2.3. ATP-adenozin metabolizmasında ektonükleotidazların rolü 11
2.2.4. ATP-adenozin dengesinin immün yanıtlar üzerindeki etkileri ve patolojik sonuçları 12
2.3. T Lenfositler..... 13
2.3.1. $CD4^+$ T lenfositler 14
2.3.1.1. Th1 lenfositler 15
2.3.1.2. Th2 lenfositler 16
2.3.1.3. Th9 lenfositler 17
2.3.1.4. Th17 lenfositler 17
2.3.1.5. Th22 lenfositler 18
2.3.1.6. Tfh lenfositler..... 19
2.3.1.7. $CD4^+$ Treg 19
2.3.2. $CD8^+$ T lenfositler..... 21
2.3.2.1. Tc1 lenfositler 22
2.3.2.2. Tc2 lenfositler 23
2.3.2.3. Tc9 lenfositler 23
2.3.2.4. Tc17 lenfositler 24
2.3.2.5. Tc22 lenfositler 24
2.3.2.6. Tfc lenfositler..... 25
2.3.2.7. $CD8^+$ Treg 25
2.4. IL-9 sitokini..... 26
3. GEREÇ VE YÖNTEM 31
3.1. Gönüllülerin çalışmaya dahil edilmesi..... 31
3.2. Çalışma tasarımı..... 32
3.3. AHÖ ile T hücre yüzey moleküllerinin ekspresyon seviyelerinin ölçümü 33
3.4. AHÖ ile Treg hücre alt gruplarının analizi 34
3.5. AHÖ ile T hücrelerin sitokin ve efektör molekül üretim seviyelerinin tespiti ... 35
3.6. T hücre proliferasyonunun değerlendirilmesi 37
3.7. Kültür ortamındaki ATP ve adenozin seviyelerinin sandwich ELISA metodu ile saptanması..... 38

3.8. İstatistiksel analizler 38
4. BULGULAR 40
4.1. IL-9 içeren mikroçevre, T hücrelerde IL-9 üretimini destekler 40
4.2. IL-9, ATP ve adenozin seviyelerini düzenler 41
4.3. IL-9, $CD4^+$ T hücrelerde CD39 ve CD73 ekspresyonunu güçlendirir 43
4.4. IL-9, $CD8^+$ T hücrelerde CD39 ve CD73 ekspresyonunu destekler 45
4.5. rIL-9 muamelesi, $CD3^+$ T hücrelerde CD39 ve CD73 ekspresyon yoğunluğunu artırır 47
4.6. IL-9, T hücre aktivasyonu ve bitkinliği arasında CD39/CD73 bağımlı bir denge kurar 48
4.7. IL-9'un T hücre proliferasyonu üzerindeki etkileri CD39/CD73 aktivitesine bağımlıdır 51
4.8. Treg hücre alt popülasyonlarındaki IL-9 kaynaklı artış, CD39/CD73 inhibisyonuyla tersine döner 54
4.9. IL-9, $CD25^{high}FoxP3^+$ Treg hücrelerinde CD39 ekspresyonunu teşvik eder 56
4.10. IL-9, Treg ve efektör hücrelerde antienflamatuvar fonksiyonları destekler 57
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 63
6. KAYNAKLAR 70
7. SİMGELER VE KISALTMALAR 85
8. EKLER 87
9. TEŞEKKÜR 89
10. ÖZGEÇMİŞ 90

TÜRKÇE ÖZET

Hücresel enerji döngüsünün önemli bir parçası olan adenozin trifosfat (ATP), aynı zamanda doku hasarı ve enflamasyon gibi durumlarda önemli bir sinyal molekülü olarak görev yapar. ATP'nin hücre dışına salınımı ve CD39 ile CD73 gibi ektonükleotidazlar aracılığıyla adenozine dönüştürülmesi, immün yanıtların düzenlenmesinde kritik bir metabolik yolak oluşturur. Bu çalışmada, IL-9'un ATP-adenozin metabolizması üzerindeki düzenleyici potansiyeli ve bu etkinin özellikle T hücre yanıtları üzerindeki yansımalarının sistematik olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

Sağlıklı bireylerden izole edilen periferik kan mononükleer hücreleri (PKMH), IL-9'un neden olduğu fenotipik, fonksiyonel ve metabolik değişiklikleri karakterize etmek ve altta yatan mekanizmaları araştırmak amacıyla Akan Hücre Ölçer (AHÖ) ve Enzim Bağımlı İmmünosorbent Yöntem (ELISA) teknikleriyle analiz edildi.

Bulgularımız, IL-9'un ana T hücre popülasyonlarının frekansını değiştirmemesine karşın, CD39 ve CD73 ekspresyonunu artırarak ATP'nin adenozine dönüşümünü hızlandırdığını göstermiştir. Bu mekanizma, özellikle regülatör T (Treg) hücrelerde immünosüpresif bir mikroçevre oluşumuna katkı sağlamıştır. IL-9 ayrıca proenflamatuvar sitokin üretimini baskılarken, antienflamatuvar sitokinleri artırmış ve T hücre proliferasyonunu sınırlamıştır. Eksojen ATP'nin varlığında Treg frekansında azalma olmasına rağmen IL-9'un etkileri korunmuş olup Treg gelişimini teşvik etmiştir. Kültür ortamındaki ATP düzeyleri IL-9 ile azalırken, adenozin artış eğilimi göstermiştir. Bu etkilerin büyük çoğunluğu CD39/CD73 ektonükleotidaz aktivitelerinin inhibisyonuyla tersine çevrilmiştir.

Sonuç olarak çalışmamız, IL-9'un CD39 ve CD73 ektonükleotidazları aracılığıyla ATP–adenozin metabolizmasını modüle edebildiği ve bu yolla gelişen pürinerjik sinyallemenin T hücre yanıtlarını şekillendirebildiğine dair literatüre özgün bir katkı sunmaktadır. Elde edilen bulgular, IL-9'un özellikle kronik enflamasyon, otoimmün hastalıklar ve kanser gibi patolojilerde, immünoterapötik yaklaşımların geliştirilmesine yönelik hedeflenebilecek potansiyel bir molekül olduğunu ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: ATP-Adenozin metabolizması, CD39, CD73, IL-9, İmmünometabolizma, pürinerjik sinyalizasyon

İNGİLİZCE ÖZET

INVESTIGATION OF THE POTENTIAL ROLES OF IL-9 CYTOKINE IN THE REGULATION OF ATP ADENOSINE METABOLISM

Adenosine triphosphate (ATP), which is an important component of the cellular energy cycle, also functions as a key signaling molecule under conditions such as tissue damage and inflammation. The release of ATP into the extracellular space and its conversion into adenozine through ectonucleotidases such as CD39 and CD73 constitutes a critical metabolic pathway in the regulation of immune responses. In this study, it was aimed to systematically investigate the regulatory potential of IL-9 on ATP–adenosine metabolism and the reflections of this effect, particularly on T cell responses.

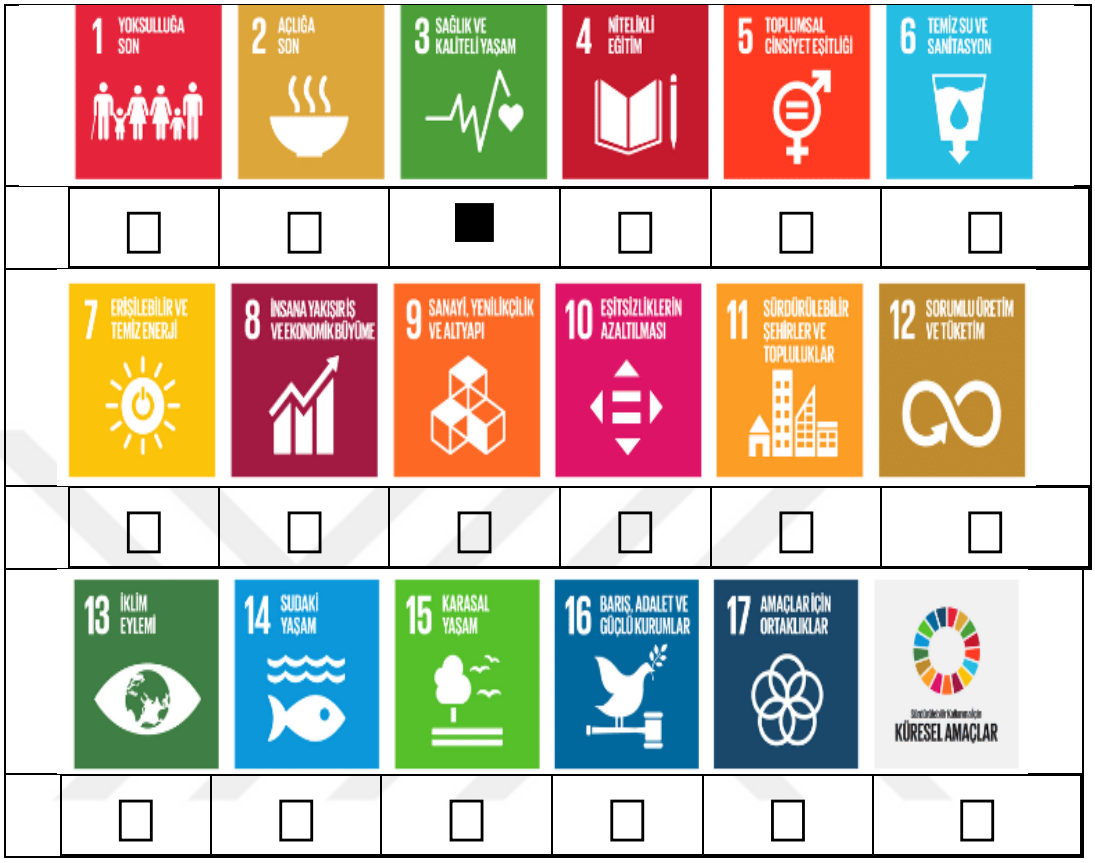
Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) isolated from healthy individuals were analyzed using Flow Cytometry (FCM) and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) techniques in order to characterize the phenotypic, functional, and metabolic changes induced by IL-9 and to investigate the underlying mechanisms.

Our findings demonstrated that although IL-9 did not alter the frequency of major T cell populations, it enhanced the conversion of ATP to adenosine by increasing CD39 and CD73 expression. This mechanism contributed to the formation of an immunosuppressive microenvironment, particularly within regulatory T (Treg) cells. IL-9 also suppressed proinflammatory cytokine production while increasing anti-inflammatory cytokines and limiting T cell proliferation. Although a decrease in Treg frequency was observed in the presence of exogenous ATP, the effects of IL-9 were preserved and promoted Treg development. While ATP levels in the culture medium decreased with IL-9 treatment, adenosine levels showed a tendency to increase. The majority of these effects were reversed by inhibition of CD39/CD73 ectonucleotidase activities.

In conclusion, our study provides an original contribution to the literature by demonstrating that IL-9 can modulate ATP–adenosine metabolism through CD39 and CD73 ectonucleotidases, and that the resulting purinergic signaling can shape T cell responses. The obtained findings reveal that IL-9 is a potential molecule that may be targeted for the development of immunotherapeutic approaches, particularly in pathologies such as chronic inflammation, autoimmune diseases, and cancer.

Keywords: ATP–adenozine metabolism, CD39, CD73, IL-9, Immunometabolism, purinergic signaling,

BUÜ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEZ KONUSUNUN KÜRESEL SÜRDÜRÜLEBİLİR KALKINMA HEDEFLERİ İLE İLİŞKİSİ



Doktora/ Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum **"ATP Adenozin Metabolizmasının Düzenlenmesinde IL-9 Sitokinin Potansiyel Rollerinin İncelenmesi"** başlıklı tez **3.** Küresel Sürdürülebilir Kalkınma Hedefleri ile ilişkilidir.

Anahtar kelimeler aşağıdaki bağlantı üzerinden https://incites.help.clarivate.com/Content/Resources/Docs/SDG2023.xlsx seçilmelidir.

1. GİRİŞ

Hücresel enerji döngüsünün önemli bir parçası olan ATP, aynı zamanda doku hasarı ve enflamasyon gibi durumlarda önemli bir sinyal molekülü olarak görev yapar. ATP, mitokondride oksidatif fosforilasyon yoluyla üretilir ve normalde hücre içi enerji metabolizmasında görev alır (Khakh, & Burnstock, 2009). Bununla birlikte, hücre ölümü, stres veya iyon kanalları aracılığıyla ATP ekstrasellüler boşluğa salındığında, immün sistem yanıtları için kritik bir sinyal molekülü olarak görev yapar. Hücre dışı ATP, pürinerjik P2 reseptörlerden iyonotropik P2X reseptörleri ve G proteinine bağlı metabotropik P2Y reseptörleri aracılığıyla hedef hücrelerde sinyal iletimini başlatır ve proenflamatuvar yanıtları tetikler (Idzko, Ferrari, & Eltzschig, 2014). Ayrıca, ATP bir dizi ektonükleotidaz aracılığıyla enzimatik reaksiyona tabi tutulur ve bu süreçte CD39 (ekzonükleozid trifosfat difosfat hidrolaz 1; NTPDase 1) enzimi ATP'yi AMP'ye, CD73 (Ekto-5′-nükleotidaz; ekto-5′-NT) ise AMP'yi adenozine dönüştürerek hücre dışı adenozin üretimini sağlar (Allard, Allard, Buisseret, & Stagg, 2020). Bu kanonik yolak, T hücreleri başta olmak üzere birçok immün hücrede adenozin reseptörlerinin (A_1, A_2A, A_2B ve A_3) aktivasyonunu sağlar. T hücrelerindeki A_2A reseptörü, düşük adenozin seviyelerinde bile duyarlı olup, bu reseptörün uyarılması immün baskılayıcı sinyallerin tetiklenmesine yol açar ve sonucunda T hücre proliferasyonu baskılanır, yardımcı T (Th) hücreler arasındaki Th1/Th2 dengesi Th2 yönüne kayar ve regülatör T (Treg) hücreleri aktive olur (Wang ve ark., 2021). Bu mekanizma, ATP-adenozin dengesinin sağlanmasında kritik öneme sahiptir ve adenozin metabolizmasındaki bozulmalar, otoimmün hastalıklar, kanser ve kronik enflamatuvar durumlarda patolojik sonuçlara neden olabilir (Vijayan, Young, Teng, & Smyth, 2017). Bu nedenle, ATP-adenozin metabolizmasını hedefleyen terapötik stratejiler giderek artan bir öneme sahiptir.

İnterlökin-9 (IL-9), pleiotropik etkileri olan bir sitokindir ve başta T hücreleri olmak üzere mast hücreleri, doğal lenfoid 2 hücreleri (ILC2), Treg hücreleri ve bellek B hücreleri tarafından üretilir (Angkasekwinai, & Dong, 2021). IL-9, janus kinaz (JAK) / sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü (STAT) sinyal yolaklarını aktive ederek çeşitli hücrelerin fonksiyonlarını düzenler. Özellikle T hücrelerinde IL-9, proliferasyonu, farklılaşmayı ve sitokin üretimini etkilerken, B hücrelerinde antikor üretimini, mast hücrelerinde de degranülasyonu ve kemotaksisi modüle eder

(Benevides ve ark., 2019). IL-9'un rolü, immün yanıtların yönlendirilmesinde hem enflamatuvar hem de immünsüpresif etkiler içerir. Bazı durumlarda tümör progresyonunu destekleyebilirken, bazı solid tümörlerde antitümör yanıtı güçlendirdiği gösterilmiştir (Purwar ve ark., 2012; Tan ve ark., 2017). Bildiğimiz kadarıyla literatürde IL-9'un ATP-adenozin metabolizması üzerindeki etkilerini araştıran bir çalışma yer almamaktadır. Bu bilgi boşluğu, çalışmamızın özgün değerini ve bilimsel katkısını ortaya koymaktadır.

Bu çalışmada, sağlıklı bireylerden izole edilen PKMH, insan rekombinant IL-9 (rIL-9) ve anti-IL-9 antikoru ile kültüre alınarak IL-9'un ATP-adenozin metabolizması üzerindeki etkileri ve T hücre fonksiyonları incelenmiştir. Bu kapsamda, IL-9 varlığında ve yokluğunda CD39/CD73 yolu, adenozin üretimi, T hücre proliferasyonu ve farklılaşması değerlendirilmiştir.

IL-9'un ATP-adenozin metabolizması üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bu çalışmadan elde edilen veriler, immün sistemin metabolik regülasyonu hakkında yeni bilgiler sağlayarak immünoterapi yaklaşımları için yenilikçi stratejilerin geliştirilmesine olanak tanıyabilecektir. Ayrıca bu araştırma, IL-9'un hem enflamatuvar hem de immünsüpresif etkilerini metabolik bağlamda anlamamıza olanak sağlayarak, T hücre yanıtlarını modüle etmeyi hedefleyen terapötik müdahalelerin tasarımına rehberlik edebilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İmmünometabolizma

İmmünometabolizma, hücresel metabolik yolaklar ile immün sistem hücreleri arasındaki karşılıklı etkileşimleri ve bu etkileşimlerin immün sistem hücrelerinin fonksiyonel özellikleri üzerindeki düzenleyici etkilerini araştıran disiplinlerarası bir araştırma alanıdır. Hızla gelişmekte olan bu alan, hem sağlık durumunun sürdürülmesinde hem de enflamasyon, otoimmünite ve kanser gibi çeşitli patolojik durumlarda farklı bir bakış açısı ortaya koymaktadır (Hu ve ark., 2024; O'Neill, & Pearce, 2016; Saravia, Raynor, Chapman, Lim, & Chi, 2020). İmmün sistem hücreleri, çevresel uyarıcılara yanıt olarak fonksiyonel aktivitelerini desteklemek adına metabolik yeniden programlama sürecine girerler ve bu süreç hücreler için sadece basit bir enerji üretimi ve biyosentetik öncüller üretmenin daha da ötesinde, hücresel sinyal yollarını ve enflamatuvar yanıtların yönünü belirleyen kontrol mekanizması olarak işlev görür (O'Neill, & Pearce, 2016; Pålsson-McDermott, & O'Neill, 2020; Voss ve ark., 2021).

Glikoliz, oksidatif fosforilasyon (OXPHOS), yağ asidi oksidasyonu ve amino asit metabolizması, immün hücrelerin kullandığı temel metabolik yollardır. (Hu ve ark., 2024; Lee, Wollam, & Olefsky, 2018). Dinlenme hâlindeki hücreler, enerji ihtiyaçlarını verimli bir şekilde karşılamak için daha yavaş gerçekleşen fakat yüksek verimlilikte ATP sağlayan OXPHOS ve yağ asidi oksidasyonunu (FAO) tercih ederler (Ma ve ark., 2024). Aktivasyon sırasında efektör T hücreleri, M1 makrofajlar ve aktive dendritik hücre (DH)'ler, proliferasyon ve sitokin salgılanması için hızlı enerji ve biyosentetik ara ürünlere ihtiyaç duyar. Bu bağlamda hücreler Warburg etkisi olarak adlandırılan aerobik glikoliz, yani oksijen varlığında bile glikolize yönelir (Palsson-McDermott, & O'Neill, 2013). Bu süreç, hızlı ATP üretimiyle birlikte nükleotid, lipid ve aminoasit sentezi için gerekli yapıtaşlarını da sağlar. Diğer yandan Treg hücreleri ve M2 makrofajlar gibi hücreler, immünosüpresif fonksiyonlarını devam ettirebilmek için OXPHOS ve FAO yolunu tercih ederler (Kornberg, 2020). Amino asit metabolizması da protein sentezinin yanı sıra hücre aktivasyonu ve farklılaşmasını düzenleyen önemli sinyal moleküllerdir. Glutamin, T hücre proliferasyonu ve rapamisinin mekanistik hedefi (mechanistic Target of Rapamycin; mTOR) aktivasyonu için kritik öneme sahiptir (Waickman, & Powell, 2012). Arjinin, M1

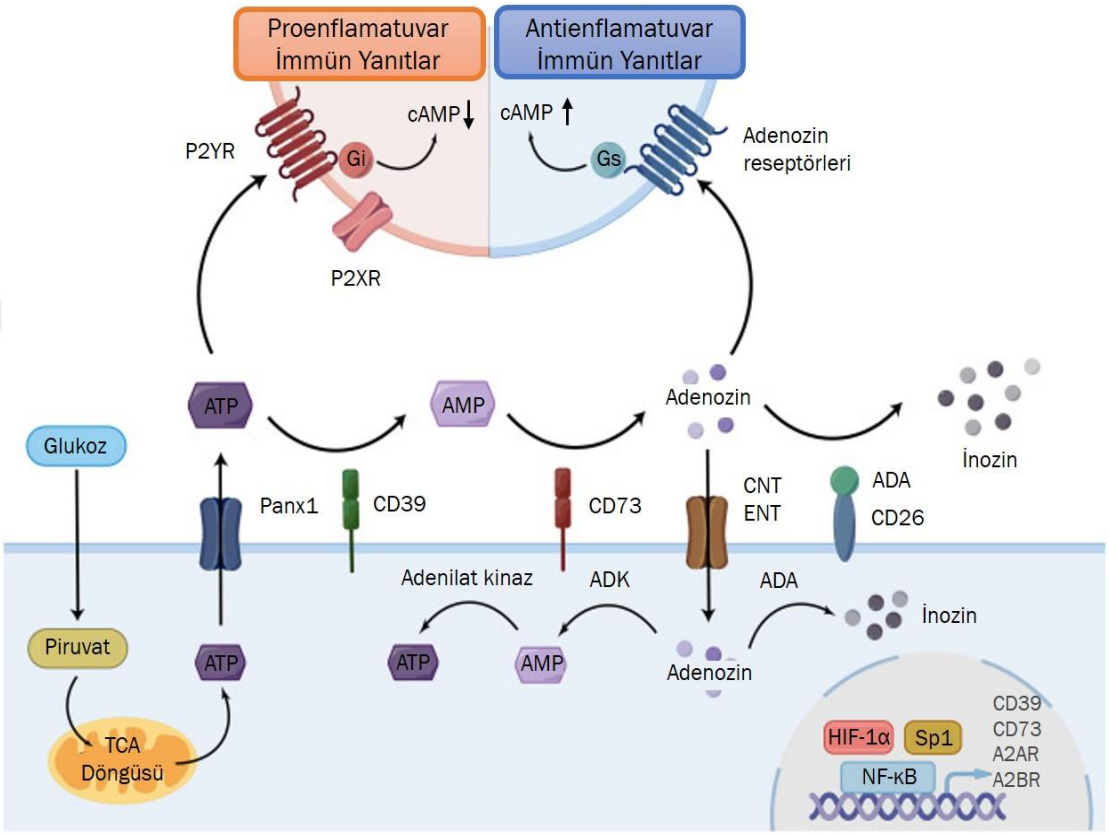
makrofajlar tarafından indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) enzimi aracılığıyla sitotoksik nitrik oksit (NO) üretimine katılırken, M2 makrofajlar tarafından arjinaz aracılığıyla ornitin ve üreye metabolize edilerek immün baskılayıcı ve doku onarıcı fenotiplerin oluşumunu destekler (Yang, & Ming, 2014). Diğer yandan indolamin 2,3-dioksijenaz (IDO) enzimi, triptofanı kinürenine dönüştürerek triptofan tükenmesine neden olur ve bu durum T hücrelerde anerjiyi tetikleyerek proliferasyonu baskılar. Kinürenin, immünosüpresif bir metabolit olarak, efektör T hücrelerini baskılarken Treg hücrelerinin genişlemesini teşvik eder (Oberholtzer, Quinn, Chakraborty, & Mehrotra, 2022). Bu metabolik yeniden programlamalar, hücrelerin proliferasyon, farklılaşma ve fonksiyonel aktivitelerini doğrudan şekillendirebilmektedir.

Metabolik aktivitelerin bir sonucu olarak üretilen ATP, sadece hücre içerisinde enerji ihtiyacını karşılamakla kalmaz, aynı zamanda ekstrasellüler ortamda immün sistem hücreleri için sinyal molekülü olarak da görev yapar (Faas, Sáez, & De Vos, 2017). Apoptoz, nekroz, hücresel stres, hipoksi, akut veya kronik enflamasyon gibi durumlar hücre içi ATP'nin ekstrasellüler ortama salınmasına neden olur (Feng, Cai, Zhu, Xing, & Wang, 2020; Kobayashi ve ark., 2021). Ekstrasellüler ATP (eATP), immün sistem hücreleri, kanser hücreleri ve endotel hücrelerinde eksprese edilen başlıca ekto-enzimler olan CD39 ve CD73 gibi ektonükleotidaz enzimleri aracılığıyla adenozine dönüştürülür (Feng ve ark., 2020). Böylece enerji metabolizması ve immün yanıtlar arasındaki etkileşim, ATP ve adenozin aracılığıyla pürinerjik sinyalizasyonlar üzerinden de sağlanır. Bu bilgiler immünometabolizmanın yalnızca hücre içi yollarla sınırlı kalmadığı, bununla birlikte metabolik aktiviteler sonucu üretilen ATP ve metabolitler tarafından oluşturulan mikroçevredeki immün sistem hücrelerinin kaderini belirlediğini ortaya koymaktadır.

2.2. ATP-Adenozin Metabolizması

İmmünometabolizmanın sağlık ve hastalıktaki rolüne dair bilgilerimiz giderek artmakta olup, özellikle ATP üreten yolların ve ATP'nin adenozine metabolize edilmesindeki bozulmaların tümör gelişimi, enerji homeostazı ve immün yanıtlar üzerindeki etkileri büyük ilgi görmektedir (Boison, & Yegutkin, 2019). ATP–adenozin metabolizması ise, eATP'nin ardışık olarak enzimler tarafından adenozin difosfat (ADP), adenozin monofosfat (AMP) ve sonunda immün yanıtları düzenleyen

adenozine dönüştürüldüğü biyokimyasal süreçtir (Şekil 1) (Shi ve ark., 2024). ATP ve adenozin, önemli hücresel biyolojik süreçlerde rol oynayan hem hücre dışı hem de hücre içi alanlarda bulunan ve pürinerjik sinyalizasyonların temel bileşenleri olan güçlü immünomodülatör moleküllerdir (Wang ve ark., 2021).



Şekil 1. ATP-adenozin metabolizması (Wang ve ark., 2024)

2.2.1. ATP

ATP, hücresel metabolizmanın temel enerji kaynağı olmasının yanı sıra, çeşitli hücresel süreçlerde rol oynayan kritik bir sinyal molekülüdür. ATP biyosentezi, glikozun katabolizmasıyla başlayan ve glikoliz, trikarboksilik asit (TCA) döngüsü ile oksidatif fosforilasyonu içeren çok basamaklı bir süreçtir (Bonora ve ark., 2012). Glikoliz sitozolde sınırlı miktarda ATP üretirken, TCA döngüsünden elde edilen indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid (nicotinamide adenine dinucleotide – reduced form; NADH) ve indirgenmiş flavin adenin dinükleotid (flavin adenine dinucleotide – reduced form; $FADH_2$)'in mitokondri iç zarındaki elektron taşıma zincirinde oksidasyonu, ATP sentaz aracılığıyla hücredeki başlıca enerji kaynağı olan

ATP'nin büyük bir bölümünü oluşturur (Tarasov, Griffiths, & Rutter, 2012). Bu süreçte oluşan proton gradyanı, ADP'nin fosforilasyonu için gerekli enerjiyi sağlar ve sentezlenen ATP, adenin nükleotit translokaz (ANT) aracılığıyla mitokondriden sitozole taşınır (Patergnani vd., 2014).

Mitokondriyal matristeki serbest kalsiyum (Ca^{2+}) düzeyi, ATP üretiminin temel düzenleyici faktörlerinden biridir (Rizzuto, R., De Stefani, D., Raffaello, A., & Mammucari, C. 2012). Sitoplazmik Ca^{2+} artışı, mitokondriye Ca^{2+} akışını teşvik eder ve sonucunda pirüvat dehidrojenaz, izositrat dehidrojenaz ve 2-oksoglutarat dehidrojenaz enzimlerini aktive ederek NADH ve $FADH_2$ üretimini artırır ve bu durum ATP üretimini destekler (Tarasov ve ark., 2012). Hücresel enerji üretiminin bir diğer önemli sensörü olan AMP ile aktive olan protein kinaz (AMPK), artan AMP/ATP oranına yanıt olarak protein ve lipid sentezi gibi enerji tüketen süreçleri inhibe ederken, glikoliz ve yağ asidi oksidasyonu gibi ATP üreten metabolik yolları uyararak enerji homeostazını destekler (Hardie, 2015).

Fizyolojik koşullarda eATP düzeyi düşüktür, bu nedenle küçük miktarlarda bile hücre dışına ATP salınımı, ekstrasellüler alandaki derişimin katlanarak artmasına yol açar. Hücre içi ve hücre dışı alanlar arasındaki belirgin derişim ve elektriksel gradyan farkı, membran bütünlüğündeki minimal hasarlarda bile hızlıca ATP salınımına yol açar. Salınan ATP, yüksek hidrofilik özelliği sayesinde ekstrasellüler alanda hızla yayılır ve birçok hücre türünde bulunan pürinerjik reseptörleri aktive eder (Di Virgilio, Vultaggio-Poma, Falzoni, & Giuliani, 2023). eATP, genellikle doku hasarına veya patojen varlığına işaret eden hasarla ilişkili moleküler patern (damage-associated molecular patterns; DAMP)'lerden biridir (Galluzzi ve ark., 2018).

Ekstrasellüler alana ATP salınımı farklı yollar üzerinden gerçekleşebilmektedir. Hücresel nekroz veya ileri apoptoz evrelerinde plazma zarının bütünlüğünün bozulması sonucu büyük miktarda ATP, kontrolsüz bir şekilde hücre dışına salınabilir. Diğer yandan ATP'nin kontrollü salınımı, canlı hücreler tarafından membran kanalları ve ekzositoz/veziküler salınım yolları aracılığıyla gerçekleştirilir (Dahl, 2015). Özellikle pürinerjik $P2X_7$ reseptör aktivasyonu veya intrasellüler Ca^{2+} artışları gibi uyaranlarla aktive olan Pannexin-1 kanalları, ATP'nin hücre dışına taşınmasında merkezi bir role üstlenir ve apoptoz sürecinde "beni bul sinyali" (find-me signal) olarak görev yapan ATP salınımına aracılık eder. (Boyce, & Swayne, 2017; Chekeni

ve ark., 2010; Dahl, 2015). Konneksin hemikanalları (özellikle Cx43) da Pannexin-1'e benzer şekilde hücre dışı alana ATP difüzyonunu destekler (Lohman, & Isakson, 2014). Bunun yanı sıra, veziküler salınım mekanizmaları, özellikle nöronlar, mast hücreleri ve trombositler gibi salgı aktivitesi yüksek hücrelerde sıklıkla kullanılır ve salgı vezikülleri içinde depolanan ATP, ekzositoz yoluyla hızlı şekilde hücre dışına aktarılır. Veziküller içindeki ATP birikimi, veziküler nükleotit taşıyıcısı (VNUT/SLC17A9) aracılığıyla sağlanır (Moriyama, Hiasa, Sakamoto, Omote, & Nomura, 2017). Böylece, eATP salınımı yalnızca hücre hasarının pasif bir sonucu değil, aynı zamanda immün yanıtlar, enflamasyon ve hücreler arası iletişimde aktif olarak düzenlenen çok sayıda mekanizmayı içerir.

eATP, etkilerini başlıca pürinerjik P2 reseptörleri aracılığıyla gerçekleştirir. Bu reseptörler yapısal ve işlevsel özelliklerine göre iyonotropik P2X ve metabotropik P2Y olmak üzere iki ana alt grupta incelenir. İnsanlarda yedi P2X ($P2X_1$–$P2X_7$) ve sekiz P2Y ($P2Y_1$, $P2Y_2$, $P2Y_4$, $P2Y_6$, $P2Y_{11}$–$P2Y_{14}$) reseptör alt tipi tanımlanmıştır (Di Virgilio, Sarti, Falzoni, De Marchi, & Adinolfi, 2018; Dou, Chen, Cowan, & Chen, 2018).

P2X reseptörleri, ATP'ye özgü ligand kapılı iyon kanallarıdır ve Na^+, K^+, Ca^{2+} geçişine aracılık ederek hızlı sinyal iletimini sağlarlar (Hattori, & Gouaux, 2012). P2X reseptörleri, genellikle düşük afiniteleri nedeniyle yakın mesafedeki ve yüksek düzeydeki ATP'ye duyarlıyken, P2Y reseptörleri uzak mesafedeki düşük ATP konsantrasyonlarında bile aktive olarak uzun süreli sinyal iletimini sağlayabilir (Khakh, 2001). $P2X_{1\text{-}4}$ reseptörleri mikromolar düzeyde afiniteye sahipken, $P2X_7$ reseptörü, yalnızca yüksek hücre dışı ATP konsantrasyonlarında (0.5 ila 1.0 mM) aktive olur. Bu nedenle $P2X_7$ reseptör aktivasyonu, genellikle enflamasyon veya hücresel hasar gibi yüksek düzeyde ATP salınımına yol açan patolojik koşullarda gerçekleşir ve nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon alanı benzeri reseptör ailesi, pirin alanı içeren 3 (nucleotide-binding oligomerization domain–like receptor family, pyrin domain containing 3; NLRP3) inflamazom oluşumunu tetikleyerek IL-1β ve IL-18 gibi proenflamatuvar sitokinlerin salınımıyla sonuçlanır (Engel, 2023; Andrejew ve ark., 2020).

P2Y reseptörleri ATP, ADP, üridin trifosfat (UTP) ve üridin difosfat (UDP) gibi mononükleotitlerin yanı sıra dinükleotidler ve nükleotid şekerleri tarafından aktive

edilen G protein kenetli reseptörlerdir. Gq protein kenetli reseptörler ($P2Y_{1,2,4,6,11}$) ve Gi protein kenetli reseptörler ($P2Y_{12-14}$) olmak üzere iki ana alt grupta sınıflandırılırlar (Jacobson ve ark., 2020). Gq/G11 proteinlerine bağlanan $P2Y_{1,2,4,6,11}$ alt tipleri fosfolipaz C'yi aktive ederek endoplazmik retikulumdan inozitol 1,4,5-trifosfat (IP_3) aracılı Ca^{2+} salınımını tetiklerken, Gi/o proteinlerine bağlanan $P2Y_{12,13,14}$ reseptörleri ise adenilat siklaz inhibisyonu ve siklik adenozin monofosfat (cAMP) azalması ile sinyal oluştururlar (Glaser, Resende, & Ulrich, 2013).

P2 reseptörleri, hücrelerin 1 nM ile 1 mM aralığında değişen ATP konsantrasyonlarının algılamasına aracılık ederek, doz ve maruziyet süresine bağımlı olarak farklı sinyal kaskadlarını başlatır. Düşük ATP konsantrasyonları P2Y reseptörleri aracılığıyla geçici Ca^{2+} sinyali ve nükleer faktör aktive T hücreleri sitoplazmik 1 (NFATc1) aktivasyonunu tetiklerken, yüksek ATP konsantrasyonları $P2X_7$ reseptörleri aracılığıyla uzun süreli sinyalizasyona ve gen ekspresyonu düzeyinde değişikliklere neden olur (Grol, Pereverzev, Sims, & Dixon, 2013).

P2 reseptör aktivasyonuyla başlatılan pürinerjik sinyalizasyonlar, immün yanıtların düzenlenmesinde kritik bir rol oynar. eATP, DAMP molekülü olarak P2 reseptörlerini aktive edebilir ve böylece makrofaj, nötrofil ve eozinofil gibi doğal immün sistem hücrelerinin kemotaksis, migrasyon, sitokin salgılanmasını ve reaktif oksijen türleri (ROS) ile NO üretimini teşvik eder (Bours, Dagnelie, Giuliani, Wesselius, & Di Virgilio, 2011). $P2X_7$ reseptörü başta olmak üzere P2 reseptörleri, makrofajlar ve DH'ler aracılığıyla NLRP3 inflamazom aktivasyonunu başlatarak, olgun IL-18 ve IL-1β salınımını artırır ve immün yanıtları güçlendirir (Englezou ve ark., 2015). Son çalışmalar antijen sunan hücrelerdeki $P2X_7$ reseptörünün uyarılmasının, kostimülatör moleküllerin ekspresyonunu artırarak ve çeşitli sitokinlerin salınımını endükleyerek T hücre aktivasyonunu desteklediğini ortaya koymaktadır (Acuña-Castillo ve ark., 2024). Enflamasyon bölgesinde salınan ATP, kemotaktik peptitlerin etkisiyle nötrofillerden de salınarak bir konsantrasyon gradyanı oluşturur ve bu ATP, $P2Y_2$ reseptörlerini aktive ederek kemotaksisi teşvik eder (Junger, 2011). $P2X_7$ reseptörü, tümör mikroçevresinde çift yönlü etki gösterir. Miyeloid kökenli baskılayıcı hücre (MDSC)'ler, Treg'ler ve tolerojenik DH'ler aracılığıyla immün baskılamayı ve vaskülarizasyonu desteklerken, diğer yandan yüksek ATP düzeyleri altında NLRP3 inflamazom aktivasyonu ve IL-1β ile interferon

gamma (IFN-γ) artışı yoluyla antitümör immün yanıtları destekler (Adinolfi, De Marchi, Orioli, Pegoraro, & Di Virgilio, 2019). Böylece ATP aracılı pürinerjik sinyalleşme, immün yanıtları modüle ederek çok çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerde merkezi bir rol üstlenir (Sumi ve ark., 2010).

2.2.2. Adenozin

Adenozin, adenin ile riboz şekerinin glikozidik bağ oluşturmasıyla meydana gelen pürin nükleozitidir ve hem hücre içi hem de dışında sürekli olarak sentezlenen temel bir biyomoleküldür (Effendi, Nagano, Kobayashi, & Nishimura, 2020). Sitozolik 5′-nükleotidazlar, hücre içindeki AMP'nin, adenozine dönüşümüne aracılık ederler (Sheth, Brito, Mukherjea, Rybak, & Ramkumar, 2014). Bununla birlikte *S*-adenosyl-L-homocysteine (SAH), SAH hidrolaz enzimiyle adenozin ve L-homosisteine dönüştürülebilir (Kusakabe ve ark., 2015). Hücre dışı ortamda ise, ATP önce CD39 aracılığıyla ADP ve AMP'ye hidrolize edilir ve ardından CD73, AMP'yi adenozine dönüştürür (Wang ve ark., 2021). Diğer yandan nikotinamid adenin dinükleotid (NAD)'den de kanonik olmayan adenozinerjik CD38/CD203a/CD73 yoluyla adenozin üretimi gerçekleştirilebilir (Lin ve ark., 2025). Oluşan adenozin, enerji ve sinyal dengesi için adenozin kinaz aracılığıyla yeniden AMP'ye çevrilebilir veya adenozin deaminaz (ADA) aracılığıyla inozine dönüştürülerek yıkıma uğrayabilir (Boison, & Yegutkin, 2019). Bunun yanı sıra hücre içi ve hücre dışı adenozin düzeyleri, konsantre edici nükleozit taşıyıcıları (Concentrative Nucleoside Transporter, CNT; SLC28) ve dengeleyici nükleozit taşıyıcılarıyla da (Equilibrative Nucleoside Transporter, ENT; SLC29) dengede tutulur (Molina-Arcas, Casado, & Pastor-Anglada, 2009). ENT taşıyıcıları konsantrasyon gradyanına bağlı olarak adenozinin pasif ve çift yönlü difüzyonunu sağlarken, CNT taşıyıcıları ise Na^+ gradyanını kullanarak enerjiye bağlı aktif taşımayı gerçekleştirir (Young, Yao, Baldwin, Cass, & Baldwin, 2013).

Adenozin reseptörleri A_1, A_2A, A_2B ve A_3 olmak üzere G protein kenetli dört reseptör alt tipini içerir ve P1 sınıfı pürinerjik reseptörlerdir (Saini, A., Patel, R., Gaba, S., Singh, G., Gupta, G. D., & Monga, V. 2022). Bu reseptörler, yapısal olarak hücre dışına uzanan bir amino (N)-ucu ile hücre içine bakan bir karboksi (C)-ucu içeren, yedi transmembran alfa-helikslerden oluşan bir yapıya sahiptirler (Sheth ve ark., 2014). İmmün sistem, sinir sistemi, solunum sistemi ve kardiyovasküler, dokular dahil olmak

üzere hemen hemen tüm dokularda adenozin reseptörleri bulunur (Borea, Gessi, Merighi, Vincenzi, & Varani, 2018). Bu reseptörler dizi benzerlikleri ve G protein bağlanma özgüllükleri bakımından iki ana grupta değerlendirilirler. A_1A ve A_3A reseptörleri, Gi/Go proteinlerine bağlanarak adenilat siklaz aktivitesini inhibe edip, hücre içi cAMP düzeyini düşürürken, A_2A ve A_2B reseptörleri Gs proteinleri aracılığıyla adenilat siklazı aktive eder ve cAMP üretimini artırır (Saini ve ark., 2022; Vincenzi, Pasquini, Borea, & Varani, 2020). Tüm adenozin reseptörleri, ekstrasellüler sinyal ile düzenlenen kinaz 1 ve 2 (ERK1 ve ERK2), mitojenle aktive edilen protein kinaz (MAPK) ve c-Jun N-terminal kinaz (JNK) gibi sinyal yolları aracılığıyla da geniş bir hücresel yanıt yelpazesi oluşturur (Antonioli, Fornai, Blandizzi, Pacher, & Haskó, 2019).

Adenozine en yüksek afinite gösteren A_1A reseptörü makrofajlar, monositler, nötrofiller ve DH'lerde sıklıkla bulunur ve aktivasyonu, hücrelerin farklılaşmasını ve göçünü düzenleyerek hem proenflamatuvar hem de antienflamatuvar yanıtları tetikleyebilir (Zhong, Peng, & Zeng, 2022). A_2A reseptörü monositler, makrofajlar, DH'ler, T hücreleri ve NK hücreleri dahil olmak üzere çok sayıda bağışıklık hücresinde ifade edilir ve ekstraselüler adenozinin en güçlü antienflamatuvar etkilerine aracılık eden başlıca reseptörlerdir (Effendi ve ark., 2020). Bu reseptörlerin aktivasyonu, IL-12, tümör nekroz faktörü (TNF), IFN-γ gibi proenflamatuvar sitokinlerin üretimini baskılarken IL-10 ve IDO gibi immünosüpresif faktörlerin salınımını artırır. Ayrıca A_2A reseptör sinyalleri, T hücrelerin proliferasyonunu ve efektör fonksiyonlarını inhibe ederken, naif T hücrelerin Treg'lere dönüşümünü destekler (Ye ve ark., 2023). A_2B reseptörleri, düşük düzeyde eksprese edilmelerine rağmen hipoksi, iskemi veya enflamasyon gibi adenozin konsantrasyonunun arttığı koşullarda aktif hale gelir (Chen, Eltzschig, & Fredholm, 2013). Özellikle akciğer, bağırsak, endotel ve düz kas gibi periferik dokularda yaygın olarak bulunan bu reseptörler, dokuların hipoksiye adaptasyonunda ve enflamasyonun baskılanmasında görev alır. Ayrıca A_2B reseptörleri, IL-6 aracılı yollarla ağrı algısını ve enflamasyonu artırabilirken, IL-10 üretimini uyarıp TNF-α'yı baskılayarak antienflamatuvar etkilere de aracılık edebilir (Borea ve ark., 2018). A_3A reseptörleri, normal dokularda düşük düzeyde eksprese edilse de, tümör hücrelerinde ve immün sistem hücrelerinde farklı seviyelerde eksprese edilir (Madi ve ark., 2004). Kolorektal, meme, akciğer, pankreas

ve melanom gibi çeşitli kanserlerde A_3A reseptör ekspresyonunun artışı hastalık progresyonu ile ilişkilendirilmiştir. Reseptör sinyalizasyonu hücre tipine bağlı olarak hem hücre proliferasyonunu hem de apoptozu düzenleyebilir. Düşük adenozin düzeylerinde antiapoptotik, yüksek adenozin düzeyleri ise proapoptotik etki gösterebilir (Kazemi ve ark., 2018). Özetle, dört farklı adenozin reseptör alt tipinin birbirinden farklı hücresel dağılımı ve sinyal iletim özellikleri, adenozinin immün yanıtlar, enflamasyon, doku onarımı ve hücre ölümü üzerindeki çok yönlü etkilerine aracılık eder. Böylece bu reseptörler, hem fizyolojik dengeyi korumada hem de patolojik süreçlerin düzenlenmesinde kritik bir rol üstlenir.

2.2.3. ATP-adenozin metabolizmasında ektonükleotidazların rolü

eATP'nin adenozine dönüşümü, CD39 ve CD73 ektonükleotidazları aracılığıyla kanonik yol üzerinden gerçekleşir (Lin ve ark., 2025). CD39, Ca^{2+} ve Mg^{2+} bağımlı olarak ATP'yi ve ADP'yi, AMP'ye dönüştüren iki transmembran bölge içeren zar proteinidir. CD39 dalak, timus, akciğer ve plasentada sürekli olarak eksprese edilir ve başlıca endotel hücreleri, B hücreleri, NK hücreleri, DH'ler, monositler, makrofajlar, nötrofiller ve Treg hücrelerinde eksprese edilir (Antonioli, Pacher, Vizi, & Haskó, 2013). Tüm ektonükleotidazlarda olduğu gibi, CD39 da fosfohidroliz yoluyla hücre dışı nükleotidlerin yıkımını sağlayan beş korunmuş apiraz bölgesine sahiptir (Allard, Longhi, Robson, & Stagg, 2017). CD39 ekspresyonu prostaglandin E_2 (PGE_2), dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGF-β), IFN, TNF-α ve IL-1β gibi proenflamatuvar sitokinlerin yanı sıra oksidatif stres ve hipoksi gibi koşullar tarafından uyarılabilir veya düzenlenebilir (Zeng, Ning, Wang, & Xiong, 2020).

Pürinerjik sinyalizasyonların başrol oyuncularından biri olan CD73, immünosüpresif adenozin üretiminden sorumludur (Bach, Winzer, Tolosa, Fiedler, & Brauneck, 2023). CD73, AMP'yi adenozine dönüştüren, glikozil fosfatidilinositol (GPI) ile zar yüzeyine tutunan yaklaşık 70 kDa'lık bir enzimdir ve C-terminalindeki Ser523 bölgesi bu zar bağlantısından sorumludur (Baghbani ve ark., 2021). Diğer yandan hücre yüzeyinden ayrılan CD73, enzimatik olarak aktif çözünür bir forma dönüşebilir ve bu form ekstrasellüler sıvılarda bulunabilir. CD73 başta sindirim, sinir, solunum, dolaşım ve boşaltım sistemlerine ait organlarda olmak üzere birçok dokuda eksprese edilir (Antonioli ve ark., 2013). Periferik kanda B hücreleri, $CD8^+$ ve $CD4^+$

T hücreleri, NK hücreleri, Treg, Th17 ve miyeloid kökenli baskılayıcı hücrelerde bulunur (Allard ve ark., 2017). Hipoksik koşullarda hipoksi ile indüklenen faktör-1 alfa (HIF-1α), CD73 geninin transkripsiyonunu artırarak yüksek CD73 ekspresyonuna yol açar. Bununla birlikte hipoksiyle artan glikoliz sonucu oluşan laktat, histon laktilasyonu yoluyla CD73 promotorunu aktive eder ve böylece CD73'ün ekspresyonunu dolaylı olarak destekler (Zhan ve ark., 2024).

2.2.4. ATP–adenozin dengesinin immün yanıtlar üzerindeki etkileri ve patolojik sonuçları

ATP ve adenozin, immün yanıtların proenflamatuvar ve antienflamatuvar yönelimini belirleyen temel pürinerjik sinyal molekülleridir. Hücre dışına salınan ATP, enfeksiyon, doku hasarı ve hipoksi gibi durumlarda proenflamatuvar tehlike sinyali olarak P2 reseptörlerini aktive eder ve DH olgunlaşmasını, sitokin üretimini ve T hücre efektör fonksiyonlarını artırarak erken ve güçlü enflamatuvar immün aktivasyonu teşvik eder. (Bono, Fernández, Flores-Santibáñez, Rosemblatt, & Sauma, 2015; Faas ve ark., 2017). Buna karşılık, ATP'nin CD39 ve CD73 tarafından ardışık yıkımı ile oluşan adenozin, P1 reseptörleri üzerinden immünosüpresif bir mikroçevre oluşturarak enflamasyonu baskılar ve immün toleransı teşvik eder (Mao ve ark., 2022).

ATP/adenozin dengesinin bozulması çeşitli patolojilerin merkezinde yer alır. ATP birikimi, aşırı enflamasyon ve doku hasarına yol açarak enflamatuvar bağırsak hastalıkları, böbrek hasarı, sepsis ve Koronavirüs hastalığı 2019 (COVID-19) gibi durumlarda hastalık şiddetini artırabilir (Dwyer, Kishore, & Robson, 2020; Vuerich, Nguyen, Ferrari, & Longhi, 2024; Zeng ve ark., 2020). Buna karşılık adenozin birikimi ise, özellikle tümör mikroçevresinde immün baskılanma ve immün kaçış mekanizmalarının temel bileşenlerinden biri olup kanser progresyonu ve kronik enfeksiyonlarla ilişkilidir (Mao ve ark., 2022; Linden, Koch-Nolte, & Dahl, 2019).

ATP–adenozin metabolizmasının düzenlenmesinde yalnızca ektonükleotidazlar değil, aynı zamanda pürinerjik reseptörler ve hücreler arası iletişimin önemli bileşenleri olan ekstraselüler veziküller de kritik rol oynar. Özellikle tümör hücrelerinden salınan veziküller, taşıdıkları ektoenzimler ve metabolitler aracılığıyla adenozin üretimini artırarak mikroçevrede uzun süreli immünosüpresyon oluşturur ve antitümör immün yanıtları zayıflatır (Shi ve ark., 2024; Winzer ve ark., 2024). Bu çok

çeşitli düzenleyici mekanizmalar, ATP–adenozin dengesinin immün homeostazın sağlanmasında hem enflamatuvar yanıtların başlatılmasında hem de kontrol altına alınmasında merkezi bir kontrol noktası olduğunu göstermektedir. Özellikle bu noktada, CD39 ve CD73 gibi ektonükleotidazlar, pürinerjik reseptörler ve ekstraselüler veziküller, ATP–adenozin ekseninin kilit düzenleyicileri olarak öne çıkmakta ve birçok hastalıkta giderek daha önemli terapötik hedefler haline gelmektedir.

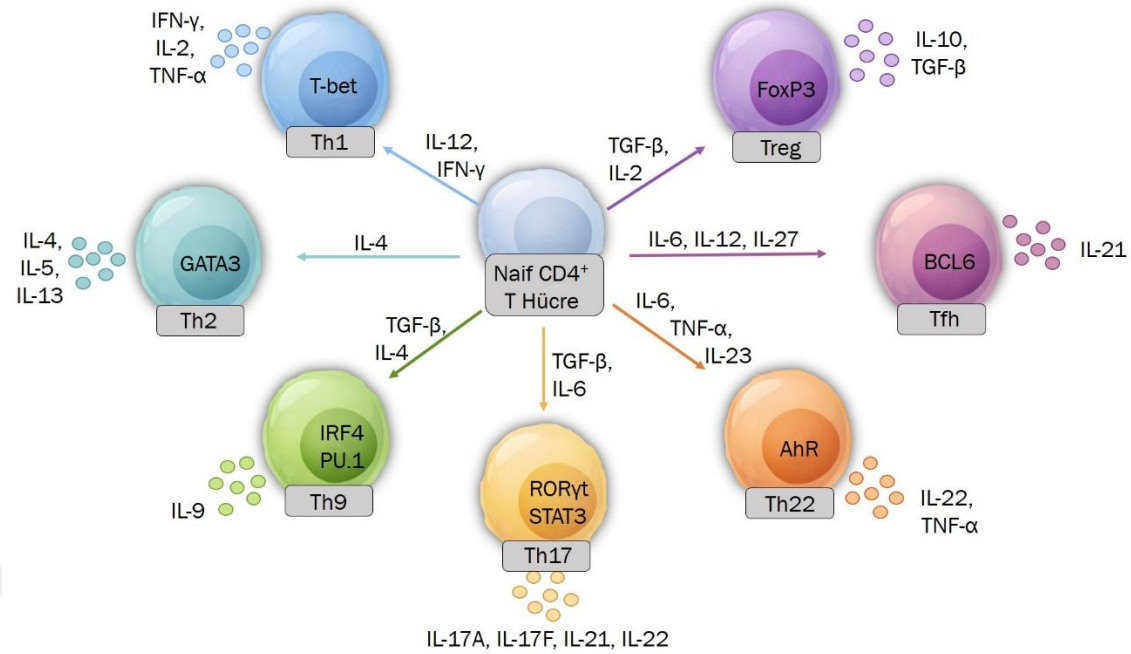
2.3. T Lenfositler

Memelilerde T hücre gelişimi, kemik iliğinden köken alan progenitör hücrelerin timusa göçüyle başlar ve burada çok aşamalı bir süreç sonunda olgunlaşırlar (Liu, Lan, Liu, Zhang, & Hu, 2021). İlk olarak, timusta Notch sinyalleri de dahil çok sayıda uyarıcılarla birlikte T hücre kaderi belirlenir, T hücre spesifik genler aktive olur ve ardından T hücre reseptörleri (TCR) için gen yeniden düzenlenmeleri gerçekleşir (Yoganathan, Chen, Singh, & Zúñiga-Pflücker, 2019). Erken timik öncüller sırasıyla, $CD4^-CD8^-$ çift negatif, $CD4^+CD8^+$ çift pozitif ve $CD4^+CD8^-$ veya $CD4^-CD8^+$ tek pozitif gibi gelişim aşamalarından geçer. Rekombinant aktive edici genler 1 ve 2 (RAG1 ve RAG2) aracılığıyla uygun şekilde yeniden düzenlenmiş T hücre reseptörü beta zinciri (TCRβ)'ne sahip hücreler, çift negatif evresinde β-seçilim aşamasından başarılı bir şekilde geçerek, çift pozitif hücrelerine ilerler (Bao, Qin, Lu, & Zheng, 2022). Olgunlaşma sürecinde, çift pozitif timositler pozitif ve negatif seleksiyon aşamalarından geçerek, kendine özgü büyük doku uyumluluk kompleksi (Major histocompatibility complex, MHC) moleküllerini tanıyan ve otoimmüniteyi önleyen tek pozitif T hücrelerine dönüşürler (Sun, Su, Jiao, Wang, X., & Zhang, 2023). Pozitif seleksiyon timusun korteksinde, negatif seleksiyon ise medullada gerçekleşir. Bu aşamada nükleer faktör kappa B (NF-κB) ve interferon sinyalleri gibi moleküler yollar, T hücrelerinin proliferasyon ve periferik dolaşıma çıkma yeteneğini kazanmasında kritik roller üstlenir (Hogquist, Xing, Hsu, & Shapiro, 2015; Xing, Wang, Jameson, & Hogquist, 2016). Timusu terk eden naif $CD4^+$ ve $CD8^+$ T hücreleri, ikincil lenfoid organlarda antijen sunan hücreler (ASH) tarafından sunulan özgül antijen (Sinyal 1) ve eş-uyaran sinyaller (Sinyal 2) ile karşılaştıklarında aktive olurlar. Bu aktivasyonu takiben, mikroçevredeki sitokin ortamı (Sinyal 3), naif T hücrelerinin fonksiyonel

olarak özelleşmiş efektör alt gruplarına farklılaşmasına aracılık eder (Khantakova, & Sennikov, 2023). Bu süreç, her bir alt grubun gelişimini belirleyen ve sitokin profilini kontrol eden hücre soylarına spesifik transkripsiyon faktörleri tarafından sıkı bir şekilde koordine edilir (Campe, & Ullrich, 2022). Bununla birlikte, epigenetik düzenlemeler ve metabolik sinyaller de T hücre farklılaşmasına aracılık eder. Bu farklılaşma süreci, başlangıçta esnek olabilir. Yeni aktive olmuş T hücreleri, çevrelerindeki sitokin ortamı değiştikçe bir soydan diğerine geçiş yapabilir. Ancak, farklılaşma ilerledikçe, ana transkripsiyon faktörleri kromatin yapısını yeniden düzenleyerek ve epigenetik modifikasyonlara yol açarak, hücrenin fenotipini ve sitokin üretim yeteneğini kalıcı hale getirir (Friedman, Lee, Lee, & Oh, 2023; Hori, 2014). Bu durum, immün yanıtın hedef odaklı ve etkili gerçekleşmesini sağlar.

2.3.1. $CD4^+$ T lenfositler

$CD4^+$ T hücreleri hem hümoral hem de hücresel immün yanıtlarda önemli roller üstlenirler. IL-4 ve IL-21 gibi sitokinler üreterek B hücrelerinin antikor üreten plazma ve bellek hücrelerine farklılaşmasını desteklerken, IFN-γ aracılığıyla makrofaj ve $CD8^+$ T hücre aktivasyonunu desteklerler (McKinstry, Strutt, & Swain, 2010). $CD4^+$ T hücrelerinin alt tiplere farklılaşması, antijenin tipi ve maruziyet süresi ile sitokin mikroçevresi gibi değişkenlere bağlı olarak düzenlenir (Zhu, & Paul, 2008). $CD4^+$ T hücreleri, anahtar transkripsiyon faktörlerine, salgıladıkları imza sitokin profillerine ve fonksiyonlarına göre Th1, Th2, Th9, Th17, Th22 ve foliküler Th (Tfh) hücre ve Treg hücre alt gruplarına ayrılırlar (Şekil 2) (de Aguiar, & Vieira, 2024). Bu çeşitlilik, $CD4^+$ T hücre alt gruplarının immün yanıtları yönlendirmedeki özgün ve birbirini destekleyen işlevlerini ortaya koymaktadır.



Şekil 2. CD4⁺ T hücre alt grupları (Koh ve ark., 2023; Paul & Ohashi, 2020).

2.3.1.1. Th1 lenfositler

Th1 hücreleri, edinsel immün sistemde başta virüsler ve bazı bakteriler gibi hücre içi patojenlere ve tümörlere karşı oluşturulan immün yanıtlarda merkezi rol oynayan efektör CD4⁺ T lenfosit alt grubunu oluştururlar (Zhu, Yamane, & Paul, 2010). Naif CD4⁺ T hücrelerinin Th1 grubuna yönelimi, mikroçevrede bulunan sinyallerin ve sitokinlerin koordineli etkisiyle gerçekleşir. Bu süreçte endükleyici sitokinler kritik rol oynar. Th1 farklılaşmasının temel uyarıcıları IL-12 ve IFN-γ olup, bu sitokinler özellikle hücre içi patojenlerin tanınmasını takiben ASH'ler tarafından yüksek seviyelerde salgılanır (Lee, 2023). Sinyal iletimi aşamasında IL-12, CD4⁺ T hücreleri üzerindeki spesifik reseptörlerine bağlanarak STAT4 yolaklarını aktive ederken, IFN-γ ise esas olarak STAT1 üzerinden sinyal oluşturur (O'Shea ve ark., 2015). Bu sinyalizasyon kaskadının sonucunda, Th1 soyunun ana transkripsiyon faktörü olan T-bet transkripsiyon faktörünün ekspresyonu endüklenir. T-bet, Th1 tipine özgü gen ekspresyon profilini güçlendirerek diğer Th alt tiplerine dönüşümü baskılar ve hücrenin Th1 fenotipine kalıcı biçimde farklılaşmasını destekler (Wilson, Rowell, & Sekimata, 2009).

Th1 hücreleri başlıca IFN-γ ve IL-2 olmak üzere TNF, granülosit-makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF) ve lenfotoksin alfa (LTα) gibi sitokinler

salgılayabilirler (Raphael, Nalawade, Eagar, & Forsthuber, 2015). Th1 hücreleri temel olarak, hücresel immün yanıtın etkin biçimde organize edilmesine aracılık eder. Bu kapsamda Th1 hücreleri, özellikle kronik enfeksiyonlarda IFN-γ üretimi yoluyla makrofaj aktivasyonunu teşvik ederler ve *Mycobacterium tuberculosis* gibi hücre içi patojenlerin etkili biçimde elimine edilmesinde önemli rol üstlenirler (Shanmuganathan ve ark., 2022). Buna ek olarak Th1 hücreleri, $CD8^+$ sitotoksik T lenfositlerin fonksiyonlarını destekleyerek sitotoksik kapasitenin güçlenmesine ve bellek T hücrelerinin gelişimine katkıda bulunur. Bu fonksiyonlar virüs enfeksiyonları ve tümör hücrelerine karşı immün yanıtların sürdürülmesinde kritik öneme sahiptir (Zander ve ark., 2019).

Th1 yanıtlarının aşırı veya uygun olmayan aktivasyonu, çeşitli patolojik durumlara neden olabilir. Otoantijenlere karşı gelişen güçlü Th1 yanıtları, artmış IFN-γ üretimi ve makrofaj aktivasyonu ile doku hasarına neden olarak Tip 1 diyabet, multipl skleroz ve bazı enflamatuvar artrit formlarının patogenezinde rol oynar (Yasmeen, Pirzada, Ahmad, Choi, & Choi, 2024). Diğer yandan patojenlerin eliminasyonu başarısız olduğunda, kalıcı Th1 aktivasyonu kronik enflamasyona ve tüberküloz gibi hastalıklarda granülom oluşumuna yol açabilir (Lyu ve ark., 2024).

2.3.1.2. Th2 lenfositler

Th2 hücreleri, başlıca hümoral ve mukozal immün yanıtların düzenlenmesinde görev alır. Bu hücreler özellikle helmintler gibi ekstraselüler parazitlere karşı savunmada, alerjik enflamasyonda ve toksinlerin nötralize edilmesinde kritik rol oynar (Wynn, 2015). Naif $CD4^+$ T hücrelerinin Th2 soyuna yönelimi, esas olarak IL-4 tarafından başlatılır. IL-4, erken aktivasyon evrelerinde mast hücreleri, bazofiller ve doğal öldürücü T (NKT) hücreler gibi doğal immün sistem hücreleri aracılığıyla üretilir (Yoshimoto, 2018). IL-4 reseptörünün aktivasyonu, STAT6 sinyalizasyonunu başlatır ve bunun sonucunda GATA3 transkripsiyon faktörünün ekspresyonu artar. GATA3, Th2'ye özgü sitokin genlerinin transkripsiyonunu tetiklerken Th1 polarizasyonunu destekleyen T-bet ekspresyonunu baskılar (Szeto, Ferreira, & McKenzie, 2024).

Fonksiyonel olarak Th2 hücreleri IL-4, IL-5 ve IL-13 gibi tip 2 sitokinler üretir. IL-4, B hücrelerinde IgE üretimini teşvik ederken, IL-5 eozinofil farklılaşması ve

aktivasyonuna katılır. IL-13 ise mukus üretimini artırır, düz kas kasılmasını ve doku onarımını destekler (Reza, & Ambhore, 2025). Th2 yanıtlarının aşırı veya kontrolsüz aktivasyonu, astım, alerjik rinit ve atopik dermatit gibi alerjik hastalıkların yanı sıra bazı kronik solunum yolu hastalıklarının patogenezinde rol oynar (Howell, Howell, & Pavord, 2023).

2.3.1.3. Th9 lenfositler

Th9 hücreleri, $CD4^+$ T lenfositlerin görece yakın zamanda tanımlanmış bir alt grubunu oluşturur ve başlıca fonksiyonlarını IL-9 üretimi üzerinden gerçekleştirir (Deng ve ark., 2017). Th9 hücreleri, mukozal immün yanıtların oluşturulması, helmint enfeksiyonlarına karşı konak savunması ve alerjik enflamasyon süreçlerinde önemli roller üstlenir (Badolati, Sverremark-Ekström, & van der Heiden, 2020). Naif $CD4^+$ T hücrelerinin Th9 soyuna farklılaşması, esas olarak TGF-β ile IL-4'ün eş zamanlı varlığında endüklenir. Bu süreçte IL-4 aracılı STAT6 sinyalizasyonu ile TGF-β/Smad yolu birlikte aktive olur ve interferon düzenleyici faktör 4 (IRF4) ve PU.1 (purine-rich box 1) transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonu artar. Özellikle IRF4, IL-9 geninin doğrudan transkripsiyonunda kilit rol üstlenir (Liu, Wu, Huang, Hao, & Song, 2025). Kontrolsüz Th9/IL-9 aktivitesi astım ve alerjik enflamasyon gibi patolojilere neden olabilir (Kaminuma, Kitamura, & Gotoh, 2025). Diğer yandan Th9 hücrelerinin tümör mikroçevresinde hem immün aktivasyonu destekleyici hem de immünosüpresif etkiler oluşturabildiği bildirilmektedir (Chen ve ark., 2020).

2.3.1.4. Th17 lenfositler

Th17 hücreleri, $CD4^+$ T lenfositlerin önemli bir alt grubunu oluşturur ve temel olarak ekstraselüler bakteri ve mantarlara karşı konak savunmasına aracılık ederler (Li ve ark., 2018). Naif $CD4^+$ T hücrelerinin Th17 soyuna farklılaşması, çevredeki sitokinlere oldukça duyarlı ve çok aşamalı bir süreçtir. Başlangıçta farklılaşma esas olarak TGF-β ve IL-6 varlığında gerçekleşirken, Th17 hücrelerinin stabilizasyonu ve patojenik özellik kazanması için IL-23 kritik öneme sahiptir (Zhao, Liu, Qin, Wang, & Bai, 2021). Bu süreçte STAT3 ve Smad sinyal yollarının aktivasyonu, Th17 soyunun ana belirleyici transkripsiyon faktörü olan retinoik asit reseptörü ile ilişkili yetim reseptör gamma t (Retinoic Acid Receptor–Related Orphan Receptor gamma t;

RORγt)'nin ekspresyonunu endükler (Kumar, Theiss, & Venuprasad, 2021). Ayrıca aril hidrokarbon reseptörü (AhR), özellikle IL-22 üretimini destekleyerek Th17 fonksiyonlarını daha da artırır (Schiering, Vonk, Das, Stockinger, & Wincent, 2018).

Th17 hücreleri başlıca IL-17A, IL-17F, IL-21 ve IL-22 sitokinlerini salgılar. IL-17, nötrofil ve monosit kemotaksisini artırarak akut enflamasyonu güçlendirirken, IL-22 epitelyal bariyer bütünlüğünü ve antimikrobiyal savunmayı destekler (Merino, Jazwinski, & Rout, 2021). Güçlü proenflamatuvar sitokin profilleri nedeniyle Th17 hücreleri çok sayıda otoimmün ve kronik enflamatuvar hastalığın patogenezinde merkezi bir konumda yer alır. Th17 yanıtlarının aşırı veya kontrolsüz aktivasyonu, multipl skleroz, romatoid artrit, sedef hastalığı ve enflamatuvar bağırsak hastalıkları gibi otoimmün patolojilerin gelişimi ve sürdürülmesiyle yakından ilişkilidir (Yasuda, Takeuchi, & Hirota, 2019).

2.3.1.5. Th22 lenfositler

Th22 hücreleri, Th17 hücrelerinden bağımsız olarak tanımlanan ve başlıca deri ile mukozal yüzeylerde doku homeostazı, bariyer bütünlüğü ve enflamatuvar yanıtların düzenlenmesinde görev alan özgün bir $CD4^+$ T lenfosit alt grubudur (de Aguiar, & Vieira, 2024). Th22 hücreleri, Th1 ve Th17 hücreleriyle bazı ortak sitokinleri paylaşsa da, benzersiz bir fonksiyonel profile sahiptirler. Th22 hücreleri başlıca IL-22 salgılarlar. Ancak Th1 hücrelerine kıyasla düşük seviyelerde de olsa TNF-α üretebilirler. Th22'nin en ayırt edici özelliği, Th17'nin ana sitokini olan IL-17'yi üretmemesidir (Jiang ve ark., 2021).

Naif $CD4^+$ T hücrelerinin Th22 soyuna yönelimi, IL-6 ve TNF-α'nın birlikte etkisi ve IL-23 varlığında desteklenir. Bu süreçte STAT3 sinyal yolunun aktivasyonu ve özellikle AhR önemli rol oynar (Doulabi ve ark., 2022). AhR, çevresel ligandları algılayarak IL-22 üretimini teşvik eder (Zhang ve ark., 2023). Th22 hücrelerinin imza sitokini olan IL-22, epitel hücreler ve keratinositler tarafından antimikrobiyal peptit üretimini artırır, hücre proliferasyonunu destekler ve doku onarımını hızlandırır (Eyerich, & Eyerich, 2015). Bununla birlikte, Th22 yanıtlarının kontrolsüz aktivasyonu psoriasis, atopik dermatit ve enflamatuvar bağırsak hastalıkları gibi kronik enflamatuvar hastalıkların patogenezine yol açabilir. Bu durum IL-22'nin çevresel etkenlere bağlı olarak hem koruyucu hem de patojenik roller üstlenebildiğini

göstermektedir (Jiang ve ark., 2021).

2.3.1.6. Tfh lenfositler

Tfh hücreleri özellikle germinal merkezlerde, B hücrelerinin aktivasyonu ve olgunlaşmasını yöneten kritik bir $CD4^+$ T lenfosit alt grubudur. Bu hücreler, yüksek düzeyde IL-21 salgılayarak, antikor izotip dönüşümü, somatik hipermutasyon ve yüksek afiniteli antikor üreten uzun ömürlü plazma hücreleri ile bellek B hücrelerinin oluşumunu destekleyerek hümoral immün yanıtların merkezinde yer alır (Christodoulou ve ark., 2025). Tfh farklılaşması, antijen sunan DH'ler ve B hücreleri ile kurulan çok basamaklı etkileşimler sonucunda başlar. Bu süreçte özellikle IL-6 başta olmak üzere IL-12 ve IL-27 gibi sitokinler STAT3 sinyal yolunu aktive ederek B hücre lenfoma 6 (BCL6) ekspresyonunu endükler (Sheikh, & Groom, 2021). BCL6, Tfh soyunun ana düzenleyicisi olarak diğer efektör T hücre alt gruplarına farklılaşmayı baskılar ve CXC kemokin reseptörü 5 (CXCR5) ekspresyonunu artırarak hücrelerin foliküler B hücre bölgelerine göçünü destekler (Choi, & Crotty, 2021). Tfh fenotipi, germinal merkezlerde STAT3 ve MAF (musculoaponeurotic fibrosarcoma transcription factor) aracılığıyla stabilize edilir (de Aguiar, & Vieira, 2024). Tfh hücrelerinin etkinliği, başarılı bir aşı yanıtının ve uzun süreli koruyucu bellek hücrelerin oluşumu için kritik bir öneme sahiptir (Crotty, 2014). Bu hücrelerin fonksiyonel aktivitelerindeki dengesizlikler, otoantikor üretimiyle seyreden otoimmün hastalıklar veya yetersiz antikor yanıtlarıyla karakterize immün yetmezliklerle ilişkilidir. Bazı nadir primer immün yetmezliklerde, Tfh hücrelerinin gelişimi ve fonksiyonu için kritik öneme sahip STAT3 veya ICOS genlerindeki mutasyonlar, bu hücrelerin sayısında veya fonksiyonel kapasitelerinde azalmaya neden olabilir. Bu durum, germinal merkez yanıtının zayıflamasına, yetersiz antikor üretimine ve sonuç olarak tekrarlayan enfeksiyonlara yatkınlığa yol açar (Le Saos-Patrinos, Loizon, Blanco, Viallard, & Duluc, 2020). Bu nedenle Tfh hücreleri, hem koruyucu bağışıklığın hem de patolojik hümoral yanıtların belirlenmesinde kilit bir role sahiptir.

2.3.1.7. $CD4^+$ Treg

Treg hücreleri, immün sistemde toleransın sürdürülmesinden sorumlu olan ve aşırı veya uygunsuz immün yanıtları baskılayabilen kritik bir $CD4^+$ T lenfosit alt grubudur.

Antijene özgü ve antijenden bağımsız mekanizmalar aracılığıyla hem edinsel hem de doğal immün sistem yanıtlarını çok yönlü biçimde düzenleyebilme yeteneğine sahiptirler (Wang, Zhao, & Wan, 2023). Kökenlerine göre Treg hücreleri, timusta gelişen timik Treg (tTreg) hücreleri ile periferik dokularda naif $CD4^+$ T hücrelerden farklılaşan indüklenmiş Treg (iTreg) hücreleri olarak iki ana gruba ayrılır (Josefowicz ve ark., 2012). tTreg hücreleri, timik seleksiyon sırasında FoxP3 (Forkhead box P3) ekspresyonunu kazanarak öz-antijenlere karşı merkezi toleransı sağlarken, iTreg hücreleri özellikle mukozal dokularda ve besin antijenlerine karşı gelişen immün yanıtların baskılanmasında önemli rol oynar (Georgiev, Charbonnier, & Chatila, 2019). Ayrıca Treg'ler, alloreaktif T hücre yanıtlarını baskılayarak organ nakillerinde greft toleransının oluşumunu destekleyebilir (Romano, Tung, Smyth, & Lombardi, 2017).

iTreg farklılaşması, TGF-β ve IL-2 sinyallerinin birlikte etkisiyle gerçekleşir. Bu süreçte IL-2 aracılı STAT5 ve TGF-β aracılı Smad sinyal yollarının aktivasyonu, Treg soyunun ana belirleyicisi olan FoxP3 transkripsiyon faktörünün ekspresyonunu endükler (Freudenberg ve ark., 2018; Schmidt, Eriksson, Shang, Weyd, & Tegnér, 2016). FoxP3, efektör T hücre fonksiyonlarını destekleyen genlerin baskılanmasını ve immünsüpresyonla ilişkili genlerin aktivasyonunu sağlayarak Treg fenotipini daha kalıcı hale getirir (Kitagawa, Wing, & Sakaguchi, 2015). Treg hücreleri, IL-10 ve TGF-β gibi antienflamatuvar sitokinlerin salınımının yanı sıra sitotoksik T lenfosit ilişkili antijen 4 (CTLA-4) aracılı eş-uyaranların engellenmesi ve CD39/CD73 yoluyla immünosüpresif adenozin üretimi gibi mekanizmalarla immün yanıtları sınırlandırabilir (Bai ve ark., 2023; Wing, Tanaka, & Sakaguchi, 2019). FoxP3 gen mutasyonları, yetersiz Treg hücreleri veya fonksiyon bozukluğu, immün disregülasyon, poliendokrinopati, enteropati, X'e bağlı sendrom (IPEX) gibi nadir hastalıkların yanı sıra sistemik lupus eritematozus, tip 1 diyabet ve romatoid artrit gibi yaygın otoimmün hastalıkların gelişiminde rol oynar (Honing, Luiten, & Matos, 2024; van der Vliet, & Nieuwenhuis, 2007). Bunun yanı sıra Treg hücrelerinin tümör mikroçevresine yüksek oranda infiltrasyonu, antitümör immün yanıtların baskılanmasına neden olur ve immünoterapi yaklaşımlarında önemli bir engeli temsil eder (Kim, Kim, & Lee, 2020). Böylece Treg hücreleri, hem koruyucu immün toleransın oluşturulmasında hem de patolojik immün yanıtların baskılanmasında

merkezi rol oynayan temel düzenleyici hücrelerdir.

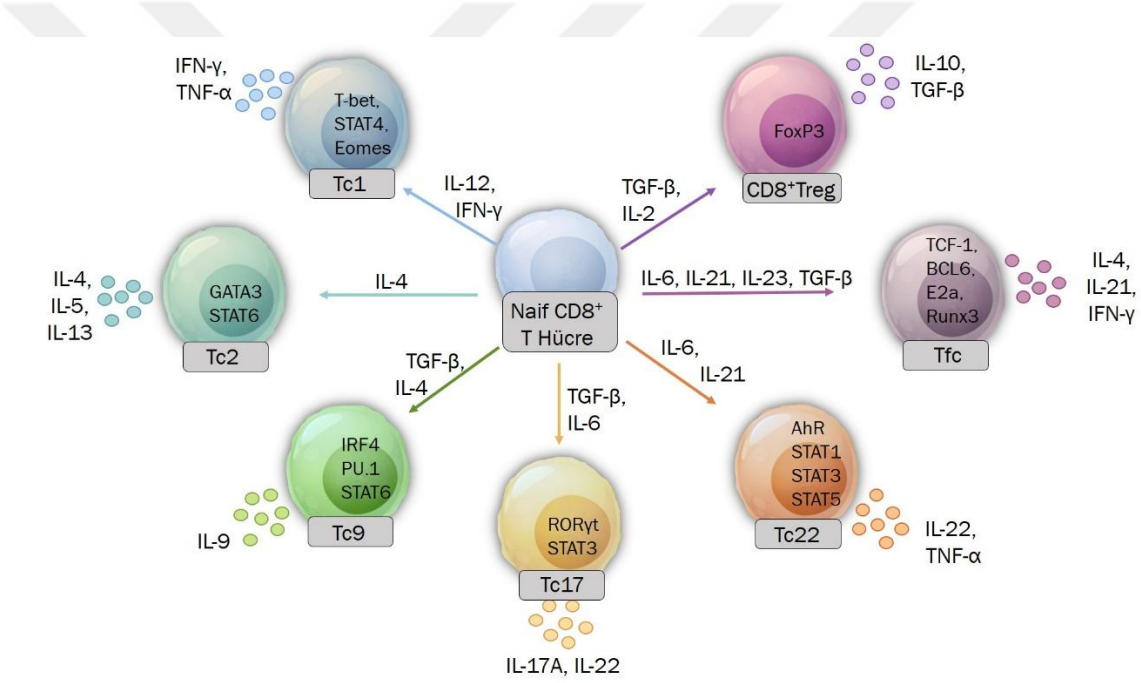
2.3.2. $CD8^+$ T lenfositler

$CD8^+$ T hücreleri, edinsel immün sistemin sitotoksik kolunu oluşturan ve başlıca görevleri virüsle enfekte olmuş hücreleri, malign transformasyona uğramış tümör hücrelerini ve allogreft dokuları doğrudan tanıyıp ortadan kaldırmak olan efektör lenfositlerdir (Zhang, & Bevan, 2011). Bu hücreler, MHC sınıf I molekülleri tarafından sunulan genellikle endojen kökenli peptit antijenleri tanırlar ve sitotoksik T (Tc) lenfositler olarak adlandırılır (Sei ve ark., 2015). Naif $CD8^+$ T hücrelerinin aktivasyonu, ASH'ler üzerinde MHC-I–TCR etkileşimi ve CD28–CD80/CD86 gibi eş-uyaran moleküller aracılığıyla iletilen sinyallere bağlıdır (Goronzy, & Weyand, 2008). Bununla birlikte mikroçevredeki sitokin profili, $CD8^+$ T hücrelerinin güçlü efektör Tc hücrelere veya uzun ömürlü bellek T hücrelere farklılaşmasını belirleyen kritik düzenleyicilerdir. $CD4^+$ T hücreleri tarafından salgılanan IL-2 ve CD40L aracılı yardım, uygun sitotoksik fonksiyonun ve kalıcı immünolojik belleğin oluşumu için önemlidir (Laidlaw, Craft, & Kaech, 2016).

Aktive $CD8^+$ T hücreleri, hedef hücrenin eliminasyonunu farklı yollar üzerinden gerçekleştirebilir. Perforin–granzim aracılı ölüm yolunda, perforin hedef hücre membranında porlar oluşturur ve granzimlerin hücre içine girişine aracılık eder. Özellikle granzim B, kaspaz yolaklarını aktive ederek apoptozu başlatır (Schiele ve ark., 2025). Fas–Fas ligand (CD95–CD95L) yolunda ise $CD8^+$ T hücre yüzeyindeki Fas ligand, hedef hücrede kaspaz-8 aracılı programlı hücre ölümünü tetikler (Flores-Mendoza ve ark., 2021). Buna ek olarak, $CD8^+$ T hücreleri tümör nekroz faktörü ile ilgili apoptoz endükleyici ligand (TRAIL) ekspresyonu yoluyla ölüm reseptörü 4 ve 5 (DR4 ve DR5)'i aktive ederek alternatif bir apoptoz mekanizması kullanabilir (Pimentel, Zhou, & Wu, 2023). Son yıllarda, $CD8^+$ T hücrelerinin ferroptoz ve piroptoz gibi klasik olmayan programlı hücre ölüm yollarını da endükleyebildiği gösterilmiş ve bu mekanizmaların özellikle tümör mikroçevresinde antitümör yanıtı güçlendirdiği ortaya konulmuştur (Lin, Zou, & Wen, 2024). $CD8^+$ T hücreleri, IFN-γ ve TNF-α gibi sitokinlerin salgılanması yoluyla antiviral savunmayı destekler. Bu sitokinlerin üretimi, $CD8^+$ hücrelerin sadece sitolitik yolla değil, aynı zamanda immün yanıtı güçlendirerek viral enfeksiyonun kontrolüne katkıda bulunduğunu ortaya

koymaktadır (Park, 2025).

$CD8^+$ T hücreleri, fonksiyonel açıdan homojen bir popülasyon değildir. Kendilerine özgü sitokin profilleri ve değişken sitotoksik kapasiteleri ile Tc1, Tc2, Tc9, Tc17, Tc22, Tfc ve $CD8^+$ Treg hücre alt gruplarına ayrılır (Şekil 3). Bu alt grupların bir kısmı belirgin sitotoksik efektör özellikler sergilerken, bazıları daha sınırlı sitolitik aktiviteye sahip olup düzenleyici veya yardımcı immün fonksiyonlar üstlenir. (Paul, & Ohashi, 2020; Mittrücker, Visekruna, & Huber, 2014). Bu çok katmanlı sitotoksik ve immün düzenleyici özellikler, $CD8^+$ T hücrelerini enfeksiyonlara karşı koruyucu immün yanıtlarda ve kanser immün gözetiminde vazgeçilmez bir konuma yerleştirir.



Şekil 3. $CD8^+$ Thücre alt grupları (Koh ve ark., 2023; Afzali ve ark., 2023)

2.3.2.1. Tc1 lenfositler

Tc1 hücreleri, $CD8^+$ T lenfositlerin en yaygın ve fonksiyonel olarak en iyi karakterize edilmiş alt grubunu oluşturur ve hücresel immün yanıtlarda kritik roller üstlenirler (Huang ve ark., 2007). Th1 hücrelerine benzer şekilde tip 1 sitokin profili sergileyen Tc1 hücreleri, özellikle hücre içi patojenlerin temizlenmesine ve tümör hücrelerinin doğrudan sitotoksik yıkımına katılırlar (Simon ve ark., 2016). Naif $CD8^+$ T hücrelerinin Tc1 fenotipine farklılaşması, başlıca IL-12 ve IFN-γ sitokinlerinin

varlığında ve STAT4, T-bet ve Eomes transkripsiyon faktörleri aracılığıyla endüklenir. T-bet, Eomes ile birlikte perforin ve granzimlerin yanı sıra IFN-γ üretimini artırarak Tc1 hücrelerinin sitotoksik kapasitesini destekler (Paul, & Ohashi, 2020). Tc1 hücreleri yüksek düzeyde IFN-γ ve TNF-α sitokinlerinin salınımını gerçekleştirirler. Aynı zamanda perforin, granzim B, FasL ve TRAIL ekspresyonu yoluyla hedef hücrelerde apoptozu tetiklerler (Radziszewska, Moulder, Jury, & Ciurtin, 2022). Bu özellikleri sayesinde antiviral ve antitümöral immün yanıtlarda merkezi rol oynarken, kontrolsüz aktivasyonları otoimmünite ve kronik doku hasarına neden olabilir.

2.3.2.2. Tc2 lenfositler

Tc2 hücreleri, $CD8^+$ T lenfositlerin tip 2 sitokin profili sergileyen alt grubudur ve özellikle alerjik hastalıklar ile tip 2 yanıtlarının baskın olduğu enflamatuvar koşullarda rol oynarlar (Ma ve ark., 2016). Th2 hücrelerine benzer şekilde Tc2 hücreleri başlıca IL-4, IL-5 ve IL-13 üretir, ancak insan $CD8^+$ T hücrelerde IL-4 ekspresyonu genellikle düşüktür ve güçlü uyarım koşullarında IFN-γ üretimi baskın hâle gelebilir (Fox, Harland, Kedzierska, & Kelso, 2018). Tc2 farklılaşmasına esas olarak IL-4 aracılı STAT6 sinyalizasyonu aracılık eder ve bu süreçte GATA3 transkripsiyon faktörü merkezi rol üstlenir. GATA3, tip 2 sitokin genlerinin ekspresyonunu artırırken Tc1 fenotipini belirleyen T-bet ekspresyonunu baskılar (Paul, & Ohashi, 2020). Tc2 hücreleri Tc1 hücrelerine kıyasla daha düşük sitotoksik kapasiteye sahip olmakla birlikte, eozinofilik enflamasyonu, IgE izotip dönüşümü ve mukozal immüniteyi destekleyerek astım, alerjik rinit ve atopik dermatit gibi hastalıkların patogenezine yol açabilir (Hinks, Hoyle, & Gelfand, 2019). Ayrıca, kronik enfeksiyonlar ve tümör mikroçevresinde Tc1/Tc2 dengesinin Tc2 lehine kayması, yetersiz hücresel immün yanıt ve hastalığın ilerlemesiyle ilişkilidir (Haghshenas, Khademi, Ashraf, Ghaderi, & Erfani, 2016; Li, Liu, Kang, Zheng, & Wang, 2024).

2.3.2.3. Tc9 lenfositler

Tc9 hücreleri, temel olarak IL-9 üretimi ile karakterize edilen alt grubunu oluşturur ve $CD4^+$ Th9 hücrelerinin sitotoksik karşılığı olarak kabul edilir. Naif $CD8^+$ T hücrelerinin Tc9 fenotipine farklılaşması, IL-4 ve TGF-β'nın birlikte varlığına bağlıdır (Koh, Lee, Kwak, Kim, & Chung, 2023). Bu süreçte STAT6 ve IRF4

transkripsiyon faktörleri aracılık eder (Radziszewska ve ark., 2022). Tc9 hücreleri düşük perforin ve granzim düzeylerine sahip olmakla birlikte IL-9'un yanı sıra sınırlı düzeyde IL-10 ve IFN-γ üretebilir (Visekruna ve ark., 2013). Fonksiyonel olarak genellikle alerjik enflamasyonda mast hücreleri ve eozinofiller aracılığıyla hava yolu enflamasyonunu şiddetlendirirken, bazı tümör modellerinde de IL-9 aracılı dolaylı mekanizmalar üzerinden güçlü antitümör bağışıklık yanıtlarını destekleyebilir veya baskılayabilir (Heim ve ark., 2022; Yang ve ark., 2020; Wang, Cheng, Chen, & Lin, 2016). Bu özellikleriyle Tc9 hücreleri, hem alerjik hastalıkların patogenezi hem de kanser immünoterapisi açısından önemli bir araştırma alanı oluşturmaktadır.

2.3.2.4. Tc17 lenfositler

Tc17 hücreleri, $CD8^+$ T lenfositlerin klasik sitotoksik özelliklerinden ziyade IL-17 üretimi ve belirgin proenflamatuvar kapasiteleri ile tanımlanan fonksiyonel bir alt grubudur (Yen ve ark., 2009). Tc17 hücrelerinin farklılaşması için IL-6 ve TGF-β gibi sitokinler gereklidir ve bu süreçte STAT3, RORγt ve IRF4 gibi transkripsiyon faktörleri kritik rol oynar (Liang, Pan, & Ye, 2015). Tc17 hücreleri IL-17A ve IL-22 başta olmak üzere IFN-γ ve GM-CSF gibi çeşitli sitokinler de üretebilir ancak klasik sitotoksik aktiviteleri sınırlıdır. Bununla birlikte yüksek fonksiyonel plastisiteleri sayesinde uygun koşullarda yeniden programlanarak Tc1-benzeri, IFN-γ baskın bir fenotipe dönüşebilirler (Arra, Lingel, Pierau, & Brunner-Weinzierl, 2023; Gartlan ve ark., 2015). Bu plastisite ve kontrolsüz Tc17 aktivitesi psoriasis, romatoid artrit ve multipl skleroz gibi otoimmün ve kronik enflamatuvar hastalıkların patogenezinde önemli rol oynayabilmektedir. (Lückel, Picard, & Huber, 2020; Peng, Deng, Zeng, & Tang, 2022).

2.3.2.5. Tc22 lenfositler

Tc22 hücreleri, IL-22 üretimi ile karakterize edilen, ancak IL-17 veya IFN-γ üretmeyen özelleşmiş $CD8^+$ T hücre alt grubudur (Piskin ve ark., 2010). Bu hücrelerin farklılaşması IL-6 ve IL-21 gibi sitokinler ile STAT1/3/5 ve AhR transkripsiyon faktörleri aracılığıyla yönlendirilir (Liu ve ark., 2011; St. Paul ve ark., 2020). Tc22 hücrelerinin Tc1 hücrelerine kıyasla tümör mikroçevresinde daha yüksek seviyede sitotoksik aktivite sergilediği gösterilmiştir (St. Paul ve ark., 2020). Diğer yandan

atopik dermatit ve psoriasis gibi enflamatuvar deri hastalıklarında Tc22 hücrelerinin artışı ve IL-22 başta olmak üzere proenflamatuvar sitokinlerin aşırı üretimi hastalık patogenezine neden olmaktadır (Kumar, 2025).

2.3.2.6. Tfc lenfositler

Tfc hücreleri, CXCR5 ekspresyonu sayesinde sekonder lenfoid organlardaki B hücre foliküllerinde veya bunların yakın çevresinde lokalize olan özelleşmiş $CD8^+$ T hücreleridir (Yu, & Ye, 2018). Hücre farklılaşması, IL-6, IL-21, IL-23 ve TGF-β gibi sitokinlerin etkisiyle birlikte T hücre faktörü 1 (TCF-1), BCL6, E2a, ve Runx3 başta olmak üzere birden fazla transkripsiyon faktörünün koordineli aktivasyonuyla endüklenir (Koh ve ark., 2023). Tfc hücreleri farklı koşullar altında IL-2, IL-4, IL-21, IFN-γ, TNF-α gibi sitokinlerin yanı sıra granzim B ve perforin eksprese edebilir ve böylece sitotoksik, yardımcı ve regülatör fonksiyonları bir arada gerçekleştirebilir (Lv, Ricard, Gaugler, Huang, & Ye, 2022). Ayrıca B hücre foliküllerine göç ederek virüsle enfekte Tfh hücrelerini ve B hücrelerini ortadan kaldırabildikleri gösterilmiştir (Leong ve ark., 2016). Bunun yanı sıra Tfc hücreleri, B hücrelerinin sağ kalımına ve antikor üretimine aracılık ederek hümoral immün yanıtın şekillenmesine de katkıda bulunur (Quigley, Gonzalez, Granath, Andersson, & Sandberg, 2007).

2.3.2.7. $CD8^+$ Treg

$CD8^+$ Treg hücreleri, immün yanıtları baskılayarak otoimmünitenin önlenmesine katkı sağlarken, belirli koşullarda hedef hücreleri doğrudan elimine ederek immün homeostazın sürdürülmesinde rol oynar. Bu hücreler, hem $CD4^+$ Treg'lere hem de $CD8^+$ efektör T hücrelerine özgü fenotipik ve fonksiyonel özellikler sergileyerek her iki popülasyona ait belirteçleri eksprese edebilirler (Luo, Larson, Blazar, Abdi, & Bromberg, 2025). Regülatör etkilerini, hedef hücreleri doğrudan öldürerek veya CTLA-4 ve programlanmış hücre ölüm proteini 1 (PD-1) aracılığıyla inhibitör sinyaller vererek gösterirler. Ayrıca IL-10 ve TGF-β gibi immünosüpresif sitokinlerin salınımı ile efektör T hücre proliferasyonunu engelleyebilirler. (Vieyra-Lobato, Vela-Ojeda, Montiel-Cervantes, López-Santiago, & Moreno-Lafont, 2018). Bu sitokinlerin yanı sıra IL-16, IFN-γ ve C-C motifli kemokin ligandı 4 (CCL4) gibi baskılayıcı sitokin ve kemokinler de üreterek düzenleyici etkilerini pekiştirirler. (Yu ve ark.,

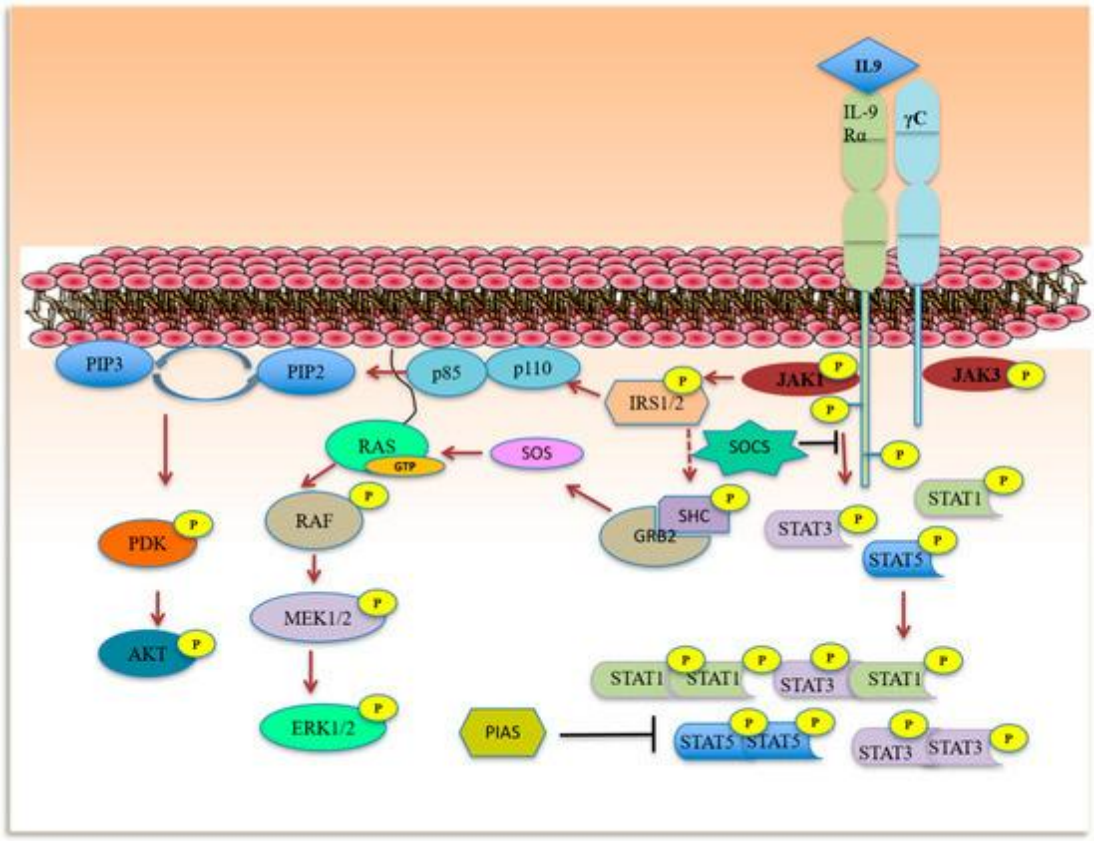
2018). İnsan $CD8^+$ Treg hücreleri FoxP3 eksprese ederken, fare $CD8^+$ Treg'lerde FoxP3 genellikle düşüktür ve bu nedenle farelerde genellikle Helios, $CD122^+$ veya $CD28^-$ gibi belirteçler tercih edilir (Flippe, Bézie, Anegon, & Guillonneau, 2019). Ayrıca farelerde Qa-1 (insanda HLA-E homologu) kısıtlı $CD8^+$ Treg hücrelerinin, non-klasik MHC-I molekülleri aracılığıyla aşırı aktive yardımcı T hücrelerini tanıyarak immün yanıtların negatif düzenlenmesinde görev aldığı gösterilmiştir (Vuttaradhi ve ark., 2025). Yapılan çalışmalar, TGF-β sinyalizasyonunun Helios ekspresyonunu artırarak Qa-1 kısıtlı $CD8^+$ Treg hücrelerinin stabilitesini koruduğunu, Eomes tarafından yönlendirilen genetik düzenlenmelerin ise bu hücrelerin germinal merkeze lokalizasyonunu düzenlediğini ortaya koymaktadır (Koh ve ark., 2023). Özellikle $CD8^+CD122^+$ Treg hücrelerinin $CD4^+CD25^+$ Treg'lere kıyasla allogreft reddini daha güçlü biçimde baskılayabildiği gösterilmiş olup, bu özellikleri transplant reddinin önlenmesinde umut vadeden terapötik hedefler olarak öne çıkmalarını sağlamaktadır (Su, Xie, Xu, Li, & Dai, 2014).

2.4. IL-9 Sitokini

IL-9, T hücrelerinin proliferasyonunu destekleyen, B hücrelerinde IgE üretimini artıran ve mast hücrelerinin farklılaşması ile çoğalmasını teşvik eden çok yönlü bir sitokin olup, ilk olarak T hücreleri ve mast hücreleri için büyüme faktörü olarak tanımlanmıştır (Angkasekwinai, & Dong, 2021). İnsan IL-9 geni kromozom 5'te yer almaktadır ve IL-9'un başlıca kaynağını, IL-4 ve TGF-β sinyalleri altında farklılaşan özgün bir T yardımcı hücre alt grubu olan Th9 hücreleri oluşturur (Koch, Sopel, & Finotto, 2017; Son, Baral, Falduto, & Schwartz, 2024). Bununla birlikte, Th2 ve Th17 hücreleri, $FoxP3^+$ regülatör T hücreleri, $CD8^+$ Tc9 hücreleri, mast hücreleri ve bazı doğal lenfoid hücre (ILC) popülasyonları da çeşitli faktörlere ve mikroçevreye bağlı olarak IL-9 üretme kapasitesine sahiptir (Wan ve ark., 2020). Bu süreçte PU.1, STAT6, IRF4, GATA3, BATF ve NFAT gibi transkripsiyon faktörleri IL-9 gen ekspresyonunun düzenlenmesinde kritik rol oynar (Rao ve ark., 2025).

IL-9 reseptörü (IL-9R), özgül IL-9Rα zinciri ile IL-2, IL-4, IL-7, IL-15 ve IL-21 reseptörleriyle ortak olan gamma zincirinden oluşan heterodimerik bir reseptördür (Şekil 4) (Kalim, Jing, Guo, Xing, & Lu, 2024). IL-9'un IL-9Rα'ya bağlanması, reseptör alt birimlerinin dimerizasyonunu tetikler ve IL-9Rα'ya bağlı JAK1 ile gamma

zincirine bağlı JAK3'ün fosforilasyonu gerçekleşir (Patrussi, Capitani, & Baldari, 2021). Aktive olan JAK'lar, reseptörün sitoplazmik tirozin kalıntılarını fosforile ederek STAT1, STAT3 ve STAT5 başta olmak üzere aşağı akış sinyal molekülleri için bağlanma bölgeleri oluşturur. Fosforile STAT'lar dimerleşerek çekirdeğe transloke olur ve hücre proliferasyonu, farklılaşması ve sitokin üretimiyle ilişkili genlerin ekspresyonunu düzenler (Gerlach, & Weigmann, 2019). IL-9 ayrıca, insülin reseptör substratı 1/2 (IRS-1/2)– fosfatidilinozitol 3-kinaz (PI3K) – Akt – mTOR yolu üzerinden hücre sağkalımı ve metabolik adaptasyonu desteklerken, RAS–MAPK sinyalizasyonu ile özellikle efektör T hücre proliferasyonuna katkı sağlar (Peesari, & McAleer, 2025). Bu sinyalizasyonların süresi ve şiddeti, sitokin sinyallemesinin baskılayıcısı (SOCS) ve aktif STAT'ın protein inhibitörü (PIAS) proteinleri ile reseptörün ubiquitin-proteazom aracılı aşağı regülasyonu tarafından negatif olarak kontrol edilir (Chakraborty, Kubatzky, & Mitra, 2019).



Şekil 4. IL-9 aracılı sinyalizasyon (Chakraborty ve ark., 2019).

IL-9, immün yanıtlar üzerinde çift yönlü fonksiyonlar sergileyebilen, doku mikroçevresi ve hedef hücre tipine bağlı olarak hem düzenleyici hem de belirgin

proenflamatuvar etkiler ortaya koyabilen bir sitokindir. Solunum sisteminde IL-9, makrofaj fonksiyonlarını modüle ederek arginaz-1 (Arg1) aktivitesi ve C-C motifli kemokin ligandı 5 (CCL5) üretimini artırmakta ve böylece monositlerin interstisyel makrofajlara farklılaşmasını destekleyerek alerjik enflamasyonu güçlendirmektedir. Astım hastalarında IL-9/IL-9R ekseninin yanı sıra Arg1 ve CCL5 düzeylerinin artmış olması, IL-9'un hava yolu enflamasyonundaki patojenik rolünü desteklemektedir (Fu ve ark., 2022). Buna ek olarak IL-9, solunum yolu mukozasında goblet hücre proliferasyonunu ve mukus hipersekresyonunu artırarak hava yolu tıkanıklığı ve aşırı duyarlılığı şiddetlendirir, eozinofil ve mast hücre aktivasyonu yoluyla bronkokonstriksiyon ve enflamatuvar yanıtı derinleştirir (Gohal, Moni, Bakkari, & Elmobark, 2024). Otoimmün hastalıklarda, özellikle romatoid artritte IL-9, sinovyal nötrofillerin apoptozunu baskılayarak bu hücrelerin doku içindeki kalıcılığını artırırken, artmış matriks metalloproteinaz 9 (MMP-9) üretimi aracılığıyla doku yıkımını hızlandırır. Aynı zamanda Th17 hücre farklılaşmasını desteklemesi, eklem mikroçevresinde proenflamatuvar sitokin salınımını güçlendirerek kronik enflamasyonun sürdürülmesine katkıda bulunur (Chowdhury ve ark., 2018; Jafarzadeh, Khorramdelazad, Jafarzadeh, & Nemati, 2025). IL-9'un Th9 hücrelerinde PU.1 transkripsiyon faktörü aracılığıyla oluşturduğu pozitif geri besleme döngüsü ise makrofajlar ve fibroblast benzeri sinoviyositlerin aşırı aktivasyonunu tetikleyerek romatoid artrit patogenezinin ilerlemesine aracılık eder (Tu ve ark., 2024). Benzer şekilde aterosklerozda IL-9, vasküler endotelyal hücrelerde vasküler hücre adezyon molekül 1 (VCAM-1) ekspresyonunu artırarak enflamatuvar T hücreleri ve makrofajların damar duvarına tutunmasını kolaylaştırır ve plak gelişimini destekler (Zhang ve ark., 2015).

IL-9, bazı enflamatuvar hastalıklarda proenflamatuvar etkilerinin yanı sıra belirgin antienflamatuvar roller de sergileyebilmektedir. Multipl sklerozda IL-9, makrofaj ve mikroglial aktivasyonu baskılayarak TGF-β gibi antienflamatuvar sitokinlerin üretimini artırmakta ve böylece nöroinflamasyonu sınırlayarak nörodejenerasyona karşı koruyucu etkilere yol açabilmektedir (Guadalupi ve ark., 2024; Donninelli ve ark., 2020). Akut böbrek hasarında ise makrofajları antienflamatuvar fenotipe yönlendirerek renal enflamasyonu baskılar ve böbrek fonksiyonlarının korunmasına aracılık eder (Jiang ve ark., 2020). Ayrıca IL-9 üreten

ILC2 hücrelerinin kronik artritte enflamasyonun çözülmesini desteklediği, IL-9 eksikliğinin ise Treg hücre aktivasyonunu bozarak enflamasyonun uzamasına yol açtığı gösterilmiştir (Rauber ve ark., 2017). Şiddetli sistemik enflamasyonlarda, örneğin COVID-19'da, IL-9'un sitokin fırtınasını hafifleterek enflamatuvar yanıtları dengelediği ve sağkalımı artırdığı bildirilmektedir (Cao ve ark., 2024). B hücreli non-Hodgkin lenfomada ise IL-9'un, Treg hücreleri ve mast hücrelerinin ekspansiyonunu teşvik ederek immün baskılayıcı tümör mikroçevresini güçlendirdiği, buna karşılık IL-9'un nötralizasyonunun bu hücre popülasyonlarının azalmasıyla birlikte tümör büyümesini anlamlı düzeyde baskıladığı gösterilmiştir (Feng, Gao, Li, & Wang, 2011). Bu veriler, IL-9'un enflamatuvar hastalıklarda hem patojenik hem de düzenleyici roller üstlendiği ve mikroçevreye özgü etkileri dikkate alınarak hedeflenmesinin potansiyel bir terapötik strateji oluşturabileceğini göstermektedir.

IL-9 sitokininin terapötik olarak hedeflenmesi, alerjik hastalıklar, otoimmünite ve kanser başta olmak üzere pek çok patolojik durumda önemli bir potansiyel taşımaktadır. Güncel yaklaşımlar arasında IL-9'u doğrudan nötralize eden monoklonal antikorlar, IL-9 reseptörünün bloke edilmesi, JAK ve STAT sinyal yolaklarının inhibisyonu, ilişkili transkripsiyon faktörlerinin modülasyonu ve immünometabolik hedeflemeler yer almaktadır. Bununla birlikte, IL-9'u doğrudan hedefleyen biyolojik ajanlar henüz rutin klinik uygulamaya girmiş değildir. Bu alandaki en ileri adaylardan biri olan anti-IL-9 monoklonal antikoru MEDI-528 (enokizumab), orta ve şiddetli astım hastalarında faz II klinik çalışmalarda değerlendirilmiş ve güvenli bulunmasına rağmen sınırlı klinik fayda sağlaması nedeniyle klinik kullanıma geçmemiştir (Doherty, & Broide, 2022).

Deneysel fare astım modellerinde anti-IL-9 antikorlarının Th2 ve Th17 hücre yanıtlarını baskıladığı, buna karşılık FoxP3 pozitif Treg hücrelerini artırarak eozinofilik enflamasyonu ve hava yolu aşırı duyarlılığını belirgin şekilde azalttığı gösterilmiştir (Shin ve ark., 2017). Kanser bağlamında ise IL-9 ve IL-9 reseptörü aracılı sinyallemenin JAK ve STAT yolakları üzerinden T hücrelerinin doku infiltrasyonunu ve antitümör fonksiyonlarını güçlendirdiği bildirilmiş, bu doğrultuda IL-9R ile tasarlanmış T hücrelerinin solid tümörlere karşı etkili bir immün yanıt oluşturabileceği öne sürülmüştür (Jiang ve ark., 2025; Kalbasi ve ark., 2022). Otoimmün hastalıklarda IL-9 ve Th9 hücrelerinin artışı romatoid artrit gibi

enflamatuvar durumların patogenezine katkı sağlamakta olup, IL-9 ve IL-9R ekseninin monoklonal antikorlar veya farmakolojik inhibitörlerle hedeflenmesinin enflamasyonu azaltarak hastalık seyrini iyileştirebileceği düşünülmektedir (Deng ve ark., 2017; Jafarzadeh ve ark., 2025). Ayrıca IL-9'un osteoklastogenez ve enflamatuvar kemik kaybındaki rolleri nedeniyle postmenopozal osteoporozda kemik sağlığını koruyucu bir hedef olabileceği öne sürülmektedir (Sapra ve ark., 2024). Psoriasis ve ilişkili kardiyovasküler hastalıklarda da IL-9'un endotelyal disfonksiyon ve vasküler enflamasyonu artırdığı, bu nedenle IL-9 hedeflemenin eşlik eden komplikasyonları sınırlayabileceği bildirilmiştir (Baral ve ark., 2024). Bununla birlikte, IL-9'un dokuya ve hastalık bağlamına bağlı olarak hem proenflamatuvar hem de antienflamatuvar etkiler gösterebilmesi, terapötik hedefleme stratejilerinde dikkatli bir denge kurulmasını zorunlu kılmaktadır. Bu nedenle IL-9 sinyal yolunun kontrollü biçimde modüle edilmesi, kanser immünoterapisi ile otoimmün ve enflamatuvar hastalıkların tedavisinde gelecek vadeden bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gönüllülerin Çalışmaya Dahil Edilmesi

Bu çalışma, Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırmaları Etik Kurulu'ndan alınan etik onay (Tarih: 07.02.2024; Karar No: 2024-1/13) doğrultusunda planlanmış ve yürütülmüştür. Etik onayın alınmasını takiben Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne proje başvurusu yapılmış olup çalışmamız "THIZ-2024-1854" proje koduyla desteklenmeye hak kazanmıştır.

Çalışmada, IL-9 sitokininin ATP–adenozin metabolizması üzerinden T hücre yanıtları üzerindeki potansiyel immünomodülatör etkilerini incelemek amacıyla, yaş ortalaması 34 ± 3 yıl olan toplam 12 sağlıklı yetişkin gönüllüden (6 kadın, 6 erkek) periferik venöz kan örnekleri kullanılmıştır.

Gönüllüler, çalışma hakkında ayrıntılı olarak bilgilendirilmiş ve yazılı aydınlatılmış onamları alınmıştır. Katılımcıların yaş ve cinsiyet bilgileri kayıt altına alınmış, klinik öyküleri gönüllü bilgi formu aracılığıyla değerlendirilmiştir.

Aşağıda belirtilen kriterleri sağlayan bireyler çalışmaya dahil edilmiştir:

- 18–45 yaş aralığında olması,
- Klinik olarak sağlıklı olması ve bilinen herhangi bir akut veya kronik hastalığının bulunmaması,
- Otoimmün, enflamatuvar, allerjik veya immün yetmezlik hastalığı öyküsünün olmaması,
- Son üç ay içerisinde geçirilmiş akut enfeksiyon öyküsünün bulunmaması,
- Düzenli olarak immün sistemi etkileyen ilaç (kortikosteroid, immünsüpresif ajanlar, biyolojik ajanlar vb.) kullanmıyor olması,
- Gebelik veya laktasyon döneminde olmaması.

Bu kriterleri sağlayan sağlıklı gönüllülerden elde edilen periferik kan örnekleri, çalışmanın deneysel aşamalarında kullanılmak üzere uygun koşullarda işlenmiş ve analiz edilmiştir.

3.2. Çalışma Tasarımı

Gönüllülerden alınan periferik kan örneklerinden Ficoll dansite gradient yöntemi kullanılarak PKMH'ler izole edildi. Elde edilen hücreler, %10 FBS içeren total RPMI 1640 ortamında, $1x10^6$ konsantrasyonda hücre olacak şekilde 500 ul hacim içerisnde 48 kuyulu kültür plaklarına ekildi. IL-9'un etkilerini analiz edebilmek için rekombinant IL-9 (rIL-9, BioLegend, ABD), anti-IL-9 (Affinity Bio., ABD) ve fitohemaglütinin (PHA, Sigma, ABD) kullanıldı. Sağlıklı bireylerdeki ATP seviyesinin çok düşük olma ihtimaline karşılık bu koşulların eksojen ATP (0,5 mM) eklenmiş versiyonları da oluşturuldu (Mello ve ark., 2014).

Oluşturulan kültür koşulları şu şekildedir:

1. Kontrol, uyarılmamış (unstimulated; US),
2. PHA (5 μg/ml),
3. PHA (5 μg/ml) + rIL-9 (20 ng/ml),
4. PHA (5 μg/ml) + anti-IL-9 (10 μg/ml),
5. ATP (0,5 mM) kontrol,
6. ATP (0,5 mM) + PHA (5 μg/ml),
7. ATP (0,5 mM) + PHA (5 μg/ml) + rIL-9 (20 ng/ml),
8. ATP (0,5 mM) + PHA (5 μg/ml) + anti-IL-9 (10 μg/ml).

Hücreler 48 saat boyunca, 37 °C`de, %5 CO_2 içeren ortamda kültüre alındı. Kültür sonunda hücreler toplandı ve 500 g'de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant örnekleri ELISA analizleri için -80°C'de saklandı. Pellette yer alan hücreler kaldırılarak T hücrelerde hücre içi ve hücre yüzeyi moleküllerin ekspresyon seviyeleri ve Treg hücre alt gruplarının analizi için kullanıldı.

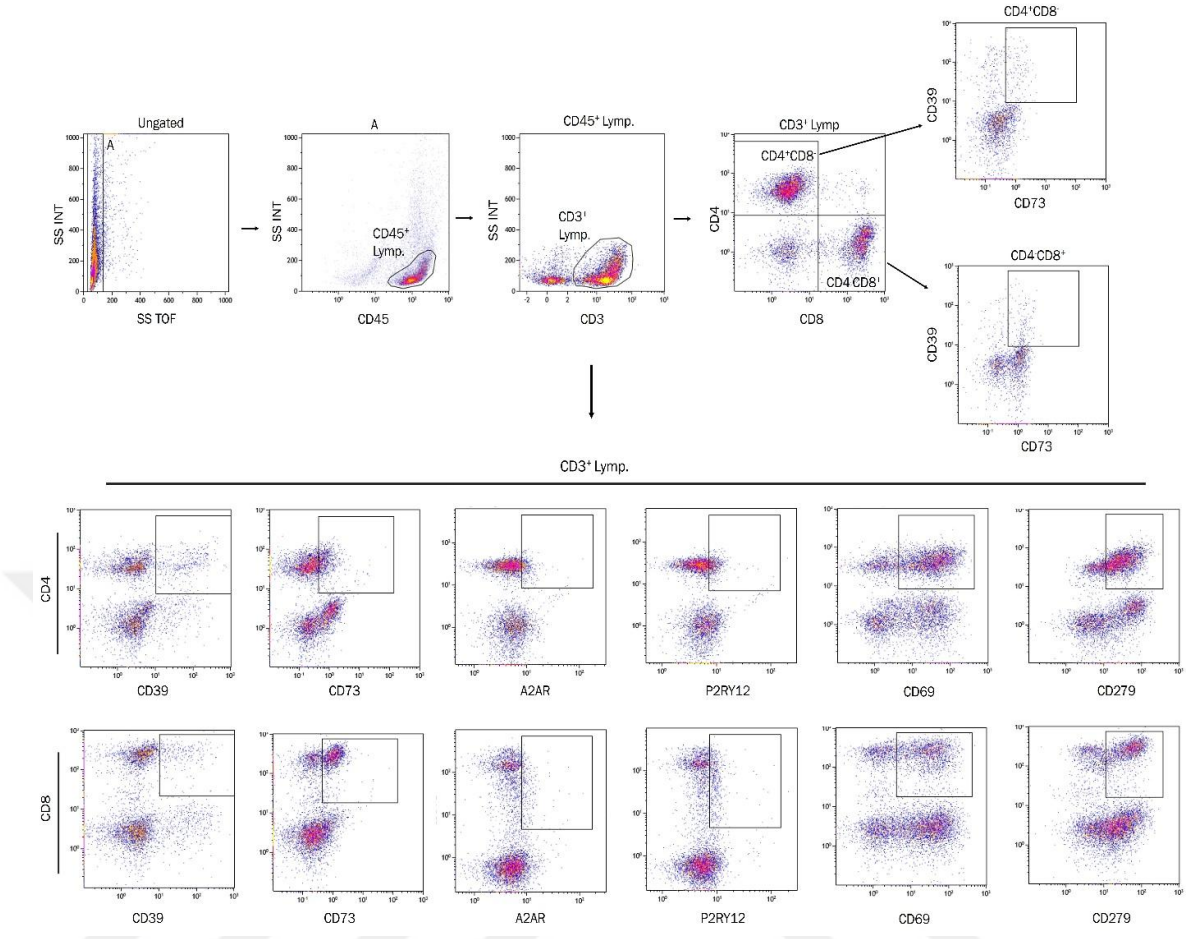
Hücre içi sitokin ve efektör molekül üretimlerinin analizi için kültürün son 12. saatinde Brefeldin A (10 μg/ml) eklenerek, golgi cisimciği üzerinden protein modifikasyonu ve sentezi bloke edildi. (Kültür koşullarının oluşturulması için Chakraborty ve arkadaşlarının (2023) yapmış oldukları makaleden yararlanılmıştır.)

Ön değerlendirmeler, IL-9 sitokinine maruziyetin CD39 ve CD73 ekspresyonunu etkileyerek ATP-adenozin metabolizması aracılığıyla T hücre yanıtlarını modüle edebileceğini düşündürdü. Bu hipotezi test etmek amacıyla, ek olarak CD39 ve/veya CD73 enzimatik aktiviteleri inhibe edilerek yeni analizler gerçekleştirildi. CD39 için

ARL67156 (100 μM) (Sigma) ve CD73 için APCP (250 μM) (Cayman) eklenerek enzimatik aktiviteler bloke edildi.

3.3. AHÖ ile T Hücre Yüzey Moleküllerinin Ekspresyon Seviyelerinin Ölçümü

Üç AHÖ tüpüne hücre süspansiyonlarından 100'er µl eklendi. Birinci tüpe izotipik kontrol antikorları, ikinci ve üçüncü tüplere ise T hücre belirteci olarak CD3, Th belirteci olarak CD4, Tc hücre belirteci olarak CD8, ATP-adenozin metabolizmasında rol alan belirteçler olarak CD39 ve CD73 antikorları eklendi. İkinci tüpe ayrıca T hücre aktivasyon belirteci olarak CD69, inhibisyon belirteci olarak PD-1, üçüncü tüpe ise ATP reseptörü $P2RY_{12}$ ile adenozin reseptörü A_2AR eklendi. Tüpler, oda sıcaklığında ve karanlıkta 15 dakika süreyle inkübe edildi. Daha sonra örnekler 500 g'de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatan uzaklaştırıldı, tüplere 350 µl IsoFlow eklendi ve örnekler AHÖ cihazında (Navios EX, Beckman Coulter, Fransa) okutulup Kaluza yazılımı (Beckman Coulter) ile değerlendirildi. Kullanılan konjuge monoklonal antikor paneli için seçilen floresan renkleri "CD73-FITC, CD69-PE, CD4-ECD, CD39-PC5.5, CD8-A700, CD3-A750, PD-1-PC7, $P2RY_{12}$-APC, A_2AR-A700, CD45-KrO" şeklinde olup, kapılama stratejisi Şekil 5'te gösterilmiştir.

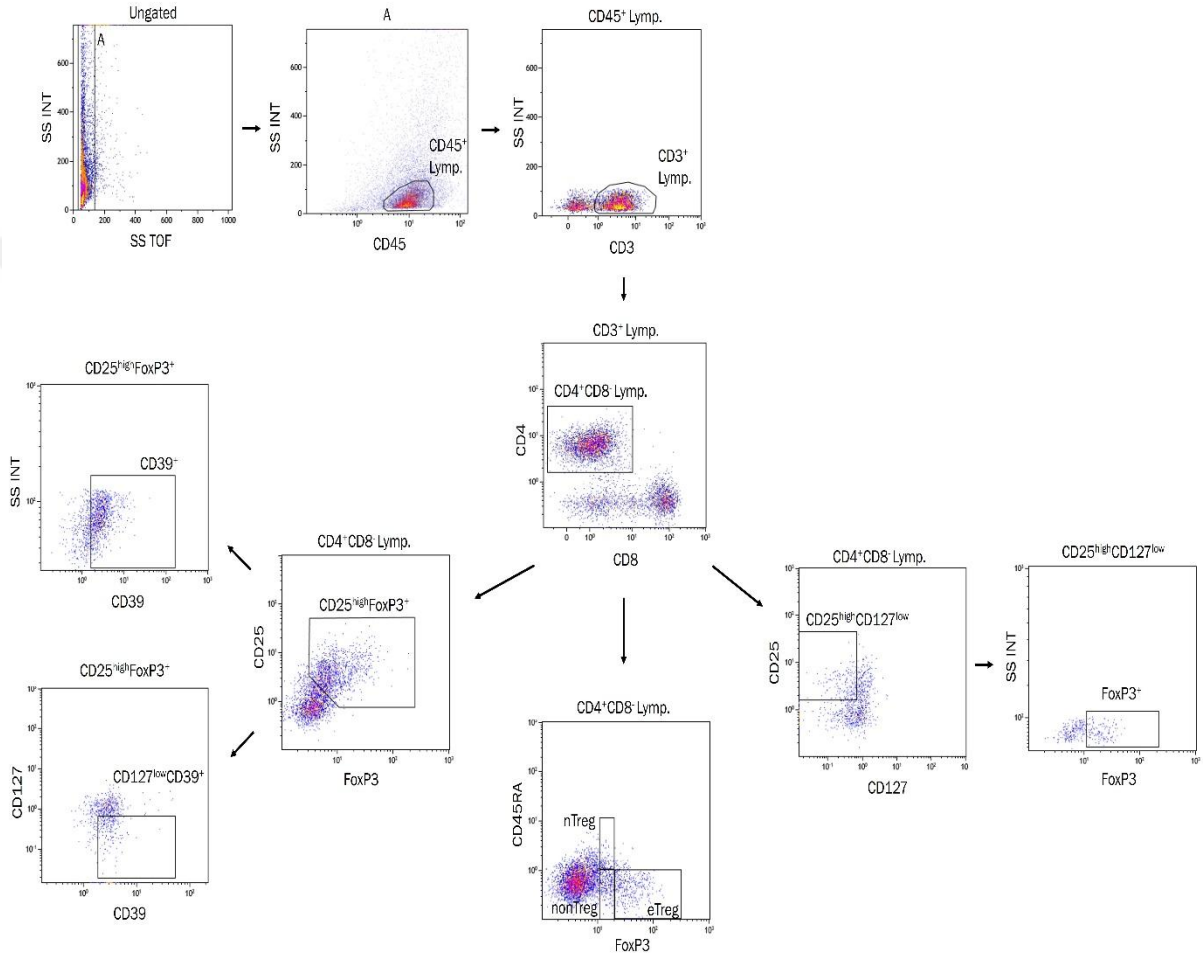


Şekil 5. T hücrelerde ATP-adenozin metabolizmasıyla ilişkili belirteçler ile T hücre aktivasyon ve bitkinlik belirteçlerinin analizi için kullanılan kapılama stratejisi.

3.4. AHÖ ile Treg Hücre Alt Gruplarının Analizi

İki AHÖ tüpüne hücre süspansiyonlarından 100'er µl eklendi. Birinci tüpe izotipik kontrol antikorları, ikinci tüpe T hücre belirteci olarak CD3, Th hücre belirteci olarak CD4, Tc hücre belirteci olarak CD8, naif ve efektör Treg hücrelerini tanımlamak amacıyla FoxP3, CD127, CD45RA, CD25, CD39 ve Helios monoklonal antikorları (bu aşamada FoxP3 ve Helios hariç) eklendi. Tüpler vortekslendi, oda sıcaklığında ve karanlıkta 15 dakika inkübe edildi. İnkübasyonun ardından her iki tüpe Fixative Reagent (Reaktif 1, Intra PerFix-nc, Immunotech/Coulter, Fransa) eklendi ve 15 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edildi. Bu sırada, boş bir tüp içerisinde Permeabilizing Reagent ile sitoplazmik antikorlar (FoxP3 ve Helios) karıştırıldı ve bu karışım Treg tüpüne aktarıldı. Tüp, 60 dakika boyunca karanlıkta inkübe edildi. İnkübasyonun ardından tüplere 3 ml PBS eklendi ve karanlıkta 5 dakika inkübe edildi. Daha sonra örnekler 500 g'de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatan uzaklaştırıldı, her

tüpe 3 ml 1X R3 eklendi ve örnekler AHÖ cihazında (Navios EX, Beckman Coulter, Fransa) okutulup Kaluza yazılımı (Beckman Coulter) ile değerlendirildi. Kullanılan konjuge monoklonal antikor paneli için seçilen floresan renkleri "CD45RA-FITC, CD25-PE, CD4-ECD, CD39-PC5.5, FoxP3-PC7, CD127-APC, CD8-A700, CD3-A750, Helios-PB, CD45-KrO" şeklinde olup, kapılama stratejisi Şekil 6'da gösterilmiştir.

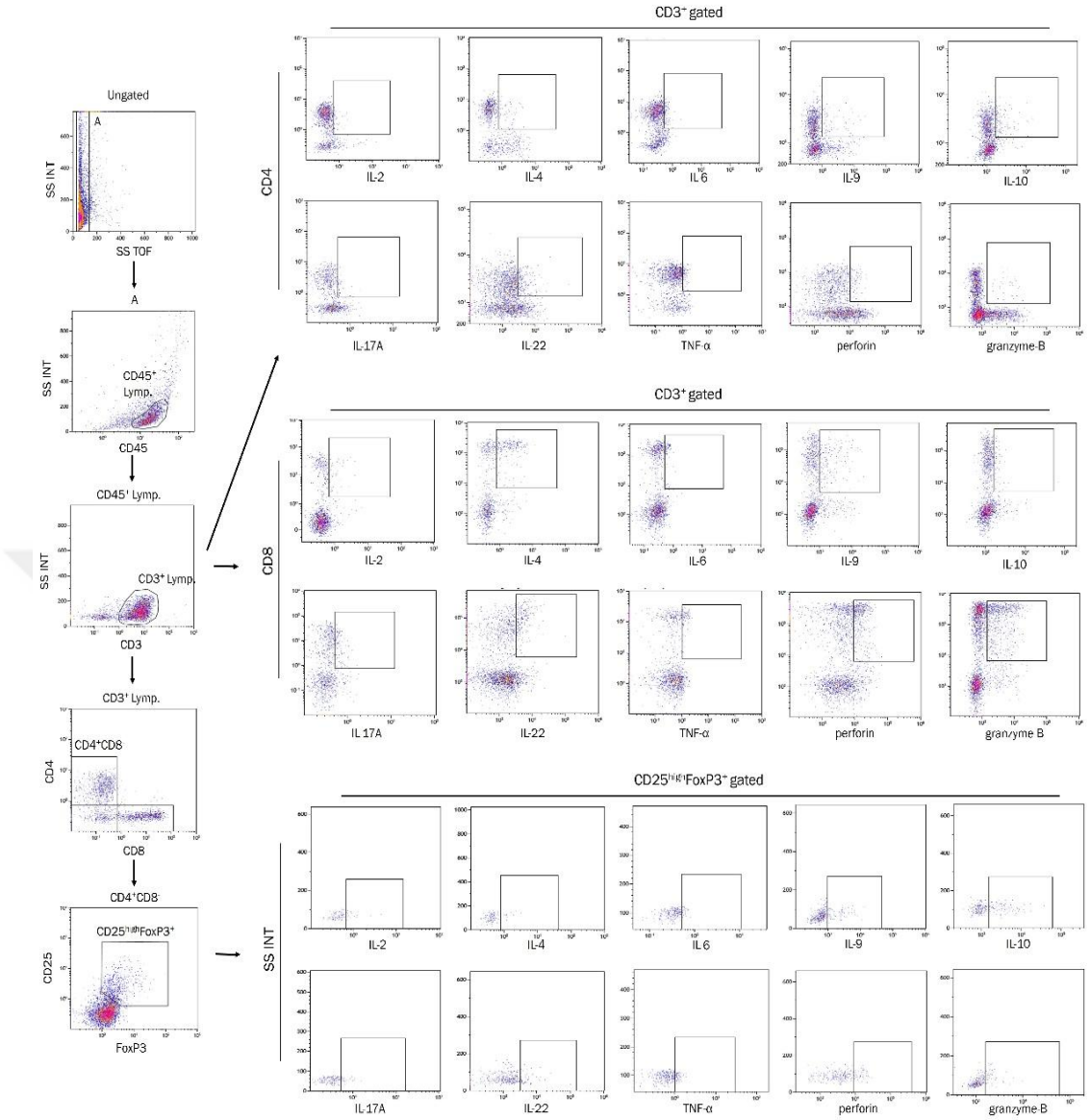


Şekil 6. Treg hücre alt gruplarının analizi için kullanılan kapılama stratejisi.

3.5. AHÖ ile T Hücrelerin Sitokin ve Efektör Molekül Üretim Seviyelerinin Tespiti

Her farklı kültür koşulu için 4'er AHÖ tüpü kullanıldı. Tüplere, 100'er µl hücre süspansiyonları eklendi. Birinci tüpe izotipik kontrol antikorları eklendi. İkinci, üçüncü ve dördüncü tüplere ise öncelikle hücre yüzeyinde yer alan belirteçlere yönelik antikor boyamaları yapıldı. T hücre belirteci olarak CD3, Th hücreleri için CD4, Tc hücreleri için CD8 ve Treg hücreleri için CD25 antikorları eklendi. Tüpler, oda

sıcaklığında ve karanlıkta 15 dakika süreyle inkübe edildi. İnkübasyonun ardından her tüpe Fixative Reagent (Reaktif 1, Intra PerFix-nc, Immunotech/Coulter, Fransa) eklendi ve 15 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edildi. Bu sırada, boş tüplerde Permeabilizing Reagent ile sitoplazmik antikorlar (ikinci tüp için; FoxP3, anti-IL-2, anti-IL-22, anti-TNF-α ve anti-IL-17A, üçüncü tüp için; FoxP3, anti-IL-6, anti-IL-9 ve anti-IL-4, dördüncü tüp için; FoxP3, anti-IL-10, granzim B ve perforin) karıştırıldı (vortekslenmeden) ve bu karışımlar ilgili tüplere aktarıldı. Tüpler, 60 dakika boyunca karanlıkta inkübe edildi. İnkübasyonun ardından tüplere 3 ml PBS eklendi ve karanlıkta 5 dakika inkübe edildi. Daha sonra örnekler 500 g'de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatan uzaklaştırıldı, her tüpe 3 ml 1X R3 eklendi ve örnekler AHÖ cihazında (Navios EX, Beckman Coulter, Fransa) okutulup Kaluza yazılımı (Beckman Coulter) ile değerlendirildi. Kullanılan konjuge monoklonal antikor paneli için seçilen floresan renkleri "IL-2-FITC, CD25-PE, CD4-ECD, CD8-PC5.5, FoxP3-Pc7, IL-4-APC, IL-6-FITC, IL-22-APC, IL-10-APC, TNF-α-A700, CD3-A750, IL-17A-PB, IL-9-PC5.5, Granzim-B-FITC, Perforin-PB, CD45-KrO" şeklinde olup, kapılama stratejisi Şekil 7'de gösterilmiştir.



Şekil 7. T hücre alt gruplarında sitokin ve efektör molekül üretim seviyelerinin analizi için kullanılan kapılama stratejisi.

3.6. T Hücre Proliferasyonunun Değerlendirilmesi

T lenfositlerin proliferatif yeteneklerinin analizi için hücreler carboxyfluorescein diacetate, succinimidyl ester (CFSE) ile etiketlendi. CFSE etiketlemesi için 5×10^6 PBMC, 1 ml PBS içinde yeniden süspanse edildi. Üzerine 1 µl 0,25 mM CFSE [Cell-Trace CFSE Proliferation Kit (Molecular Probes, Invitrogen)] eklendi. Hafifçe vortekslenip 15 dk 37 °C`de inkübe edildi. Soğuk complete RPMI ile 7 ml'ye tamamlanıp 5 dk buz içerisinde inkübe edildi ve sonrasında iki kez 2000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Hücre sayımı yapıldı ve 100 µl'de 1×10^5 hücre olacak şekilde ekimler gerçekleştirildi. Bölüm 3.2'de açıklanan kültür koşullarında 96'lı kültür plağına ekilip,

96 saat boyunca 37 °C`de inkübe edildi. Kültür süresinin sonunda, hücrelerin proliferasyon düzeyleri AHÖ cihazında (Navios EX, Beckman Coulter, France) okutulup Kaluza yazılımı (Beckman Coulter) ile değerlendirildi.

3.7. Kültür Ortamındaki ATP ve Adenozin Seviyelerinin Sandwich ELISA Metodu ile Saptanması

Hücre kültürü sonrasında ekstrasellüler ortamda bulunan ATP ve adenozin düzeylerinin ölçümü sandwich ELISA ile gerçekleştirildi. Ölçüm zamanı geldiğinde örnekler çıkarıldı ve kitlerin talimatlarına uygun şekilde prosedürler uygulanarak spektrofotometrik ölçümler yapıldı (Yl Biont, Shanghai YL Biotech). Kitlerdeki tüm reaktifler kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi. Her belirteç için gerekli standart eğrileri oluşturmak amacıyla standart solüsyonlar seri dilüsyonlarla hazırlandı. Boş kuyucuklara yalnızca kromojen solüsyon A ve B ile stop solüsyonu eklendi. Standart kuyucuklara 50'şer µl standart solüsyonu ve 50'şer µl streptavidin-HRP konuldu. Örnek kuyucuklarına 40'ar µl süpernatant örneği, 10'ar µl analiz edilecek belirteçe yönelik antikor ve 50'şer µl streptavidin-HRP eklendi. Mikroplaka, seal plate membran ile kapatıldı, hafifçe çalkalandı ve 37 °C'de 60 dakika inkübe edildi. Yıkama solüsyonu, 30X konsantrasyondan distile su ile seyreltilerek hazırlandı. Kuyucuklar 5 kez yıkandı. Ardından her kuyucuğa 50'şer µl kromojen A ve B solüsyonu eklendi ve 37 °C'de 10 dakika inkübe edildi. Daha sonra her kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi ve renk değişimi gözlendi. Ölçümler, spektrofotometrede her belirteç için kit protokolüne uygun duyarlılıkla yapıldı.

3.8. İstatistiksel Analizler

Tüm istatistiksel analizler GraphPad Prism v10.4 (GraphPad Software, San Diego, CA, ABD) kullanılarak gerçekleştirildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro–Wilk testi ile değerlendirildi. Kültüre dayalı deneysel tasarım nedeniyle veriler bağımlı değişkenler olarak kabul edildi. Çoklu koşulların karşılaştırılmasında tekrarlayan ölçümler varyans analizi (repeated-measures ANOVA, rANOVA) kullanıldı ve gruplar arası ikili karşılaştırmalar için Holm–Šídák düzeltmesi uygulandı. Değişkenler arasındaki ilişkiler Pearson korelasyon analizi ile incelendi. Veri tipine ve görselleştirme yaklaşımına bağlı olarak sonuçlar ortalama ± ortalamanın standart

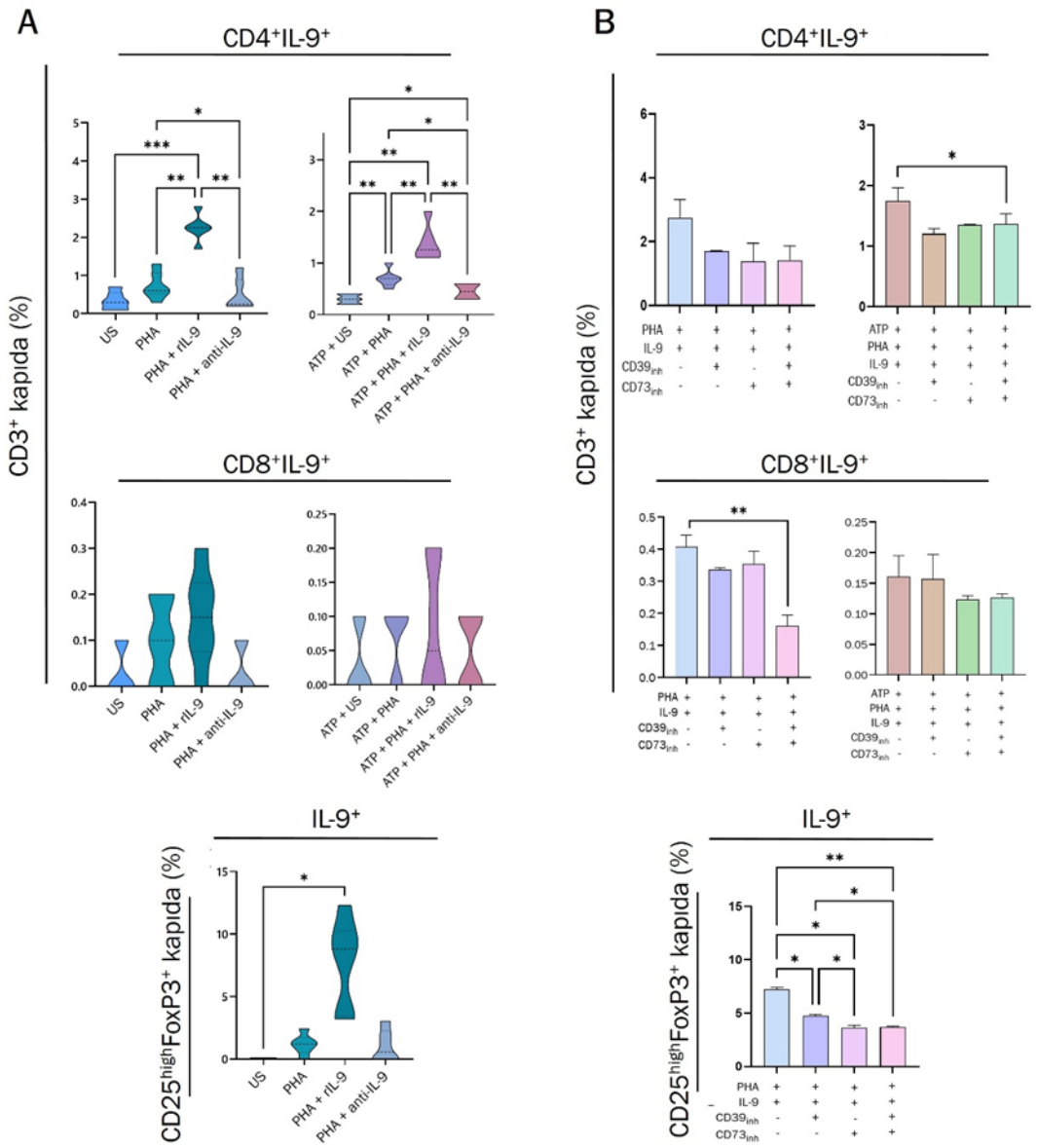
hatası (standard error of the mean, SEM) şeklinde veya medyan ve çeyrekler arası dağılımı gösteren dağılım temelli grafikler (örneğin violin grafikleri) olarak sunuldu. $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Kültür sonrasında hücre canlılığı, 7-AAD (7-Aminoactinomycin D) ile boyanarak AHÖ aracılığıyla değerlendirildi. Kültür koşulları arasında hücre canlılığı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiş olup, tüm gruplarda canlılık oranı %87'nin üzerinde bulundu. IL-9 muamelesi, toplam $CD3^+$ T hücreleri, $CD4^+CD8^-$ yardımcı T hücreleri, $CD4^-CD8^+$ sitotoksik T hücreleri ve $CD4^-CD8^-$ çift negatif T hücrelerinin oranları arasında anlamlı bir değişikliğe yol açmadı. Bununla birlikte IL-9 uyarımı, ATP ve adenozin reseptörleri olan $P2RY_{12}$ ve A_2AR ekspresyonlarında herhangi bir anlamlı farka yol açmadı.

4.1. IL-9 İçeren Mikroçevre, T Hücrelerde IL-9 Üretimini Destekler

IL-9'un varlığında ve yokluğunda kültüre alınan hücrelerde hücre içi IL-9 düzeyleri analiz edildi. Analizlerimiz, rIL-9 uygulamasının $CD4^+$ T, $CD8^+$ T ve $CD25^{high}FoxP3^+$ Treg hücrelerde IL-9 üretimini artırdığını gösterdi (Şekil 8A). Bu artış $CD4^+$ T ve $CD25^{high}FoxP3^+$ Treg hücrelerde istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Daha sonra, bu etkilerin CD39/CD73 aktivitesi aracılığıyla gerçekleşip gerçekleşmediği test edildi. CD39/CD73 aktivite blokajı, IL-9 üretiminde azalmaya yol açtı (Şekil 8B). Eksojen ATP varlığında $CD4^+$ T hücreleri içerisinde $CD25^{high}FoxP3^+$ Treg frekansı yaklaşık %3 civarında kaldı. Bu düşük frekans, ATP içeren koşullarda Treg hücrelerine ait IL-9 üretiminin değerlendirilmesini kısıtladı.



Şekil 8. (A) IL-9 bağımlı koşullarda T hücrelerin IL-9 üretim seviyelerini ve (B) CD39 ve CD73 aktivite blokajının IL-9 üretimi üzerindeki etkilerini göstermektedir. *Anlamlılık düzeyi ($p < 0,05$); **Anlamlılık düzeyi ($p < 0,01$); ***Anlamlılık düzeyi ($p < 0,001$); ****Anlamlılık düzeyi ($p < 0,0001$).

4.2. IL-9, ATP ve Adenozin Seviyelerini Düzenler

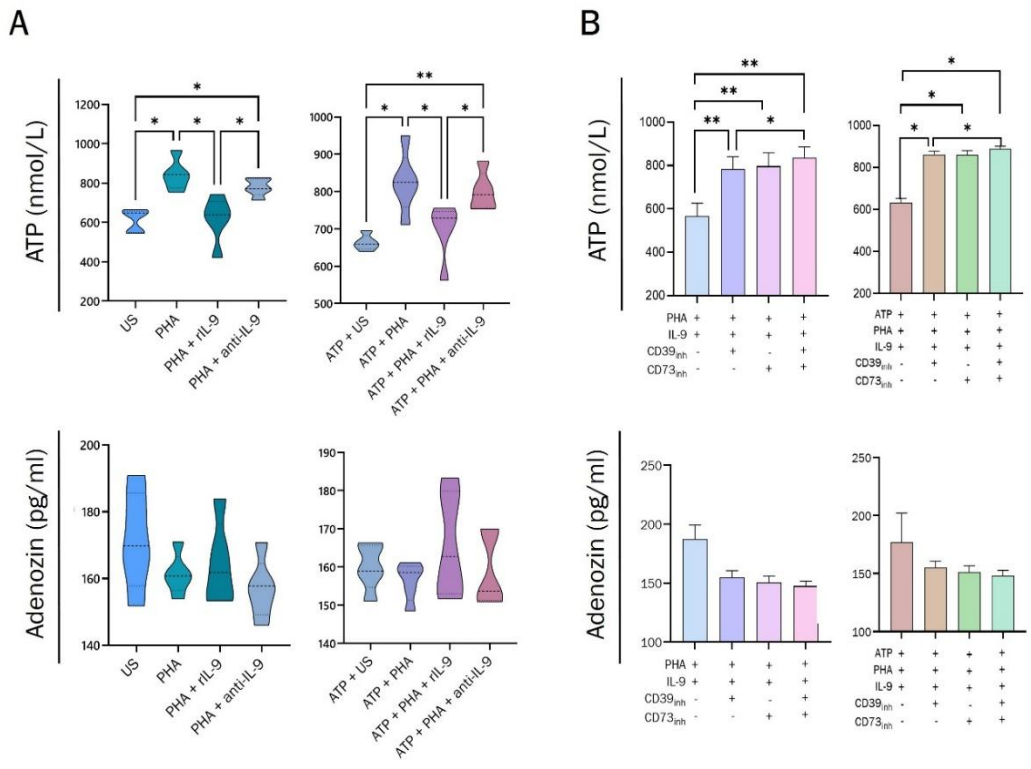
IL-9, eATP düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya yol açtı. Diğer yandan, adenozin düzeyleri PHA ile aktive edilen kuyularda IL-9 varlığında artış eğilimi gösterdi (Şekil 9A). IL-9 varlığında görülen bu etkilerin, CD39/CD73 aktivitelerinin inhibisyonu sonrasında ortadan kalktığı görüldü (Şekil 9B).

PHA ile uyarılan T hücre kültürlerinde hücre dışı ATP düzeylerinin, uyarılmamış (US)

gruba kıyasla anlamlı olarak arttığı gözlendi (Şekil 9A). rIL-9 uygulaması, PHA ile uyarılmış koşullarda ATP düzeylerini anlamlı biçimde düşürürken, anti-IL-9 antikoru ile muamele edilen gruplarda ATP düzeylerinin tekrar arttığı saptandı. Benzer eğilim, hücre dışı ATP eklenen koşullarda da gözlenmiş olup, ATP + PHA grubunda artan ATP seviyelerinin rIL-9 varlığında azaldığı, anti-IL-9 uygulamasıyla ise bu azalmanın tersine döndüğü saptandı.

Hücre dışı adenozin düzeyleri incelendiğinde, PHA ile uyarımın adenozin seviyelerinde göreceli bir azalmaya yol açtığı, ancak rIL-9 uygulamasının bu azalışı sınırladığı gözlendi. ATP eklenen koşullarda rIL-9 varlığında adenozin düzeylerinin daha belirgin şekilde yükseldiği, anti-IL-9 uygulamasının ise adenozin birikimini azalttığı saptandı (Şekil 9A).

CD39 ve CD73 inhibitörlerinin kullanıldığı deneylerde, IL-9 varlığında gözlenen ATP azalmasının ve adenozin artışının ortadan kalktığı görüldü (Şekil 9B).



Şekil 9. (A) IL-9 uyarımıyla değişen kültür ortamındaki ATP ve adenozin seviyelerini ve (B) CD39 ve CD73 aktivite blokajının ATP ve adenozin seviyeleri üzerindeki etkilerini göstermektedir. *Anlamlılık düzeyi ($p < 0,05$); **Anlamlılık düzeyi ($p < 0,01$); ***Anlamlılık düzeyi ($p < 0,001$); ****Anlamlılık düzeyi ($p < 0,0001$).

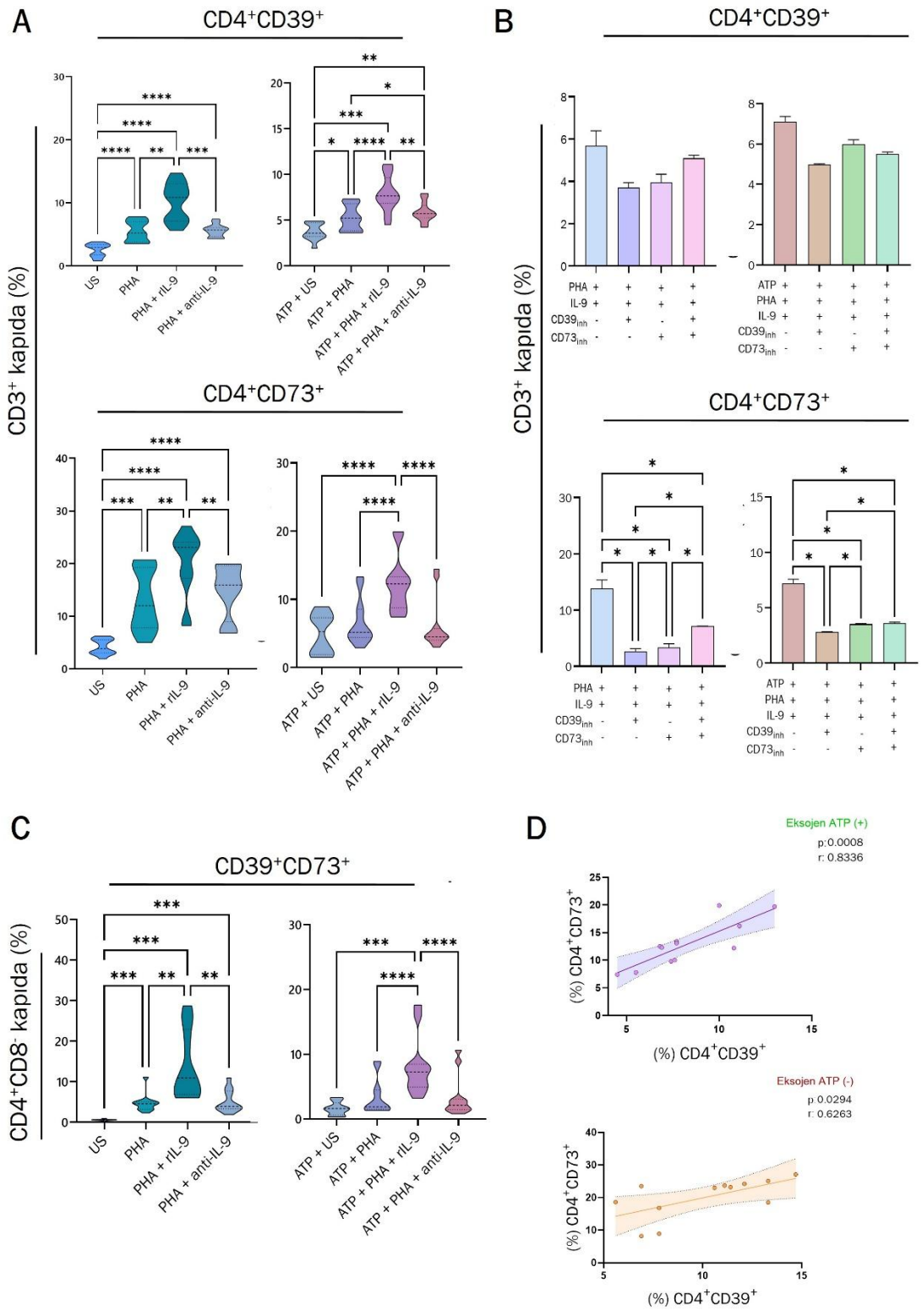
4.3. IL-9, $CD4^+$ T Hücrelerde CD39 ve CD73 Ekspresyonunu Güçlendirir

$CD3^+$ T hücreleri içerisinde $CD4^+CD39^+$ hücre oranlarının, PHA ile uyarım sonrasında uyarılmamış (US) gruba kıyasla anlamlı düzeyde arttığı saptandı (Şekil 10A). PHA ile birlikte rIL-9 uygulaması, $CD4^+CD39^+$ hücre yüzdesinde daha belirgin bir artışa yol açarken, anti-IL-9 antikoru ile muamele edilen gruplarda bu artışın anlamlı düzeyde azaldığı gözlendi. Benzer şekilde, eksojen ATP varlığında PHA ile uyarılan kültürlerde $CD4^+CD39^+$ hücre oranlarının arttığı gözlenmiş olup, rIL-9 uygulaması bu artışı güçlendirirken, IL-9'un nötralizasyonu CD39 ekspresyonunu düşürmüştür.

$CD4^+CD73^+$ hücre oranları da PHA uyarımı sonrası anlamlı şekilde artış gösterdi ve rIL-9 varlığında bu artışın daha belirgin hale geldiği saptandı (Şekil 10A). Buna karşılık, anti-IL-9 uygulaması $CD4^+CD73^+$ hücre yüzdesinde anlamlı biçimde azalmaya yol açtı. Eksojen ATP eklenen koşullarda da benzer bir eğilim gözlendi ve rIL-9, CD73 ekspresyonu üzerindeki artırıcı etkisini devam ettirdi. CD39 ve CD73 inhibitörlerinin kullanıldığı deneylerde, IL-9 varlığında gözlenen $CD4^+CD39^+$ ve $CD4^+CD73^+$ hücre artışlarının baskılandığı saptandı (Şekil 10B).

$CD4^+CD8^-$ T hücreleri kapısında değerlendirilen $CD39^+CD73^+$ çift pozitif hücre oranlarının, PHA ve rIL-9 birlikte uygulandığında anlamlı düzeyde arttığı görüldü (Şekil 10C). Eksojen ATP varlığında da, rIL-9 ile birlikte $CD39^+CD73^+$ çift pozitif hücre oranlarının artışının devam ettiği tespit edildi.

Korelasyon analizlerinde ise, $CD4^+CD39^+$ hücre oranları ile $CD4^+CD73^+$ hücre oranları arasında hem eksojen ATP varlığında hem de yokluğunda pozitif yönlü anlamlı bir ilişki saptanmıştır (Şekil 10D). Bu ilişki, ATP eklenen koşullarda daha güçlü olarak gözlenmiştir.

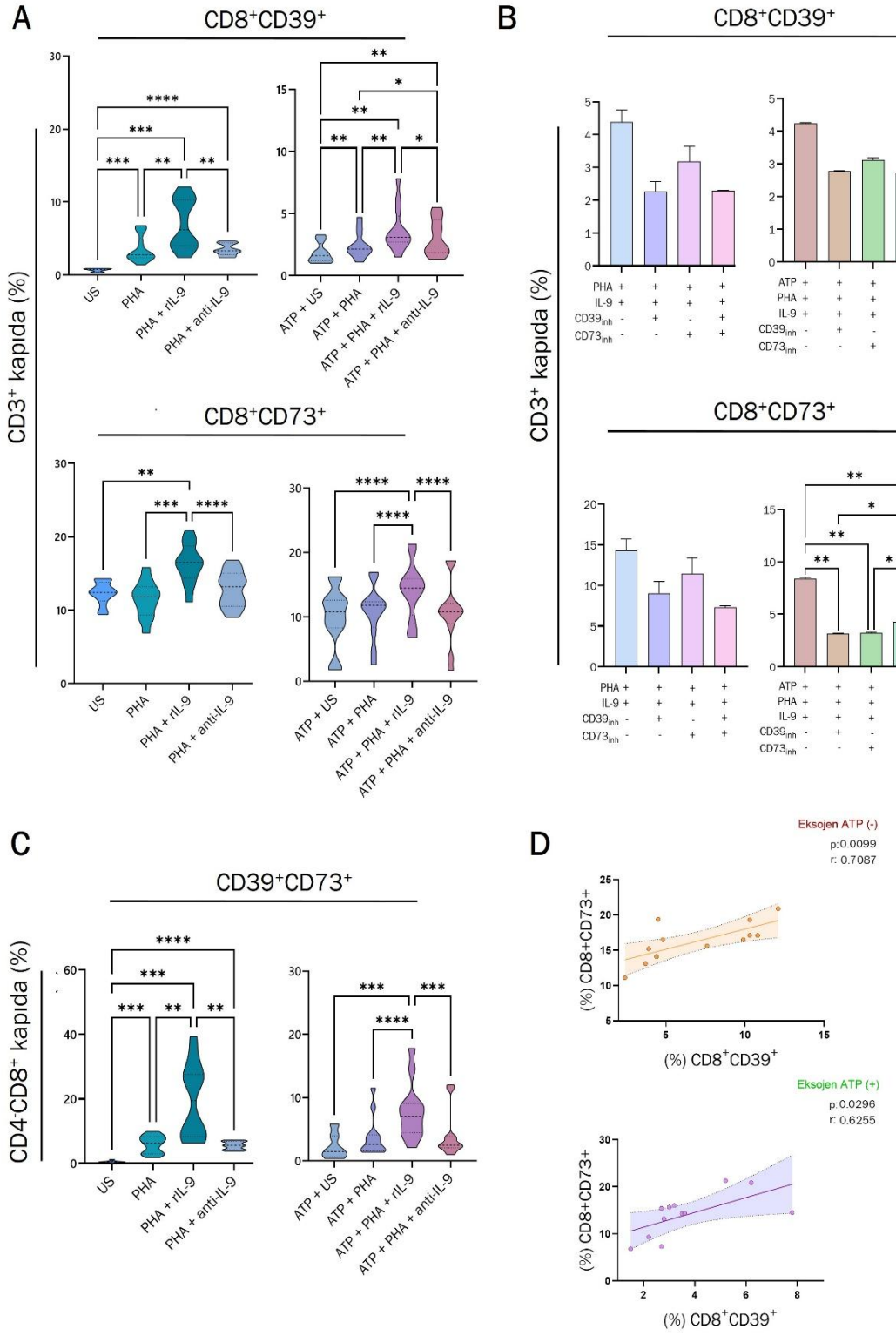


Şekil 10. (A) $CD4^+$ T hücrelerde IL-9 uyarımıyla değişen CD39 ve CD73 ekspresyonlarını, (B) CD39 ve CD73 aktivite blokajının CD39 ve CD73 ekspresyon seviyeleri üzerindeki etkilerini, (C) CD39 ve CD73'ün eş-ekspresyon seviyelerini ve (D) korelasyon sonuçlarını göstermektedir. *Anlamlılık düzeyi ($p < 0,05$); **Anlamlılık düzeyi ($p < 0,01$); ***Anlamlılık düzeyi ($p < 0,001$); ****Anlamlılık düzeyi ($p < 0,0001$).

4.4. IL-9, $CD8^+$ T Hücrelerde CD39 ve CD73 Ekspresyonunu Destekler

$CD3^+$ T hücreleri içerisinde $CD8^+CD39^+$ hücre oranlarının, PHA ile uyarım sonrası uyarılmamış (US) gruba kıyasla anlamlı düzeyde arttığı saptandı (Şekil 11A). PHA ile birlikte rIL-9 uygulaması, $CD8^+CD39^+$ hücre yüzdesini belirgin şekilde daha da artırdı. Eksojen ATP varlığında da PHA ile uyarılan kültürlerde $CD8^+CD39^+$ hücre frekansının arttığı belirlendi. $CD8^+CD73^+$ hücre oranları değerlendirildiğinde, PHA uyarımından bağımsız olarak rIL-9 varlığında anlamlı şekilde artış saptandı (Şekil 11A). Eksojen ATP eklenen koşullarda da benzer bir eğilim gözlendi ve rIL-9'un CD73 ekspresyonu üzerindeki artırıcı etkisinin korunduğu görüldü. CD39 ve CD73 inhibitörlerinin kullanıldığı deneysel koşullarda, IL-9 varlığında gözlenen $CD8^+CD39^+$ ve $CD8^+CD73^+$ hücre artışlarının baskılandığı tespit edildi (Şekil 11B). $CD4^-CD8^+$ T hücreleri içerisinde analiz edilen $CD39^+CD73^+$ çift pozitif hücre oranlarının eksojen ATP varlığında ve yokluğunda, PHA ve rIL-9 birlikte uygulandığında anlamlı düzeyde arttığı saptandı (Şekil 11C).

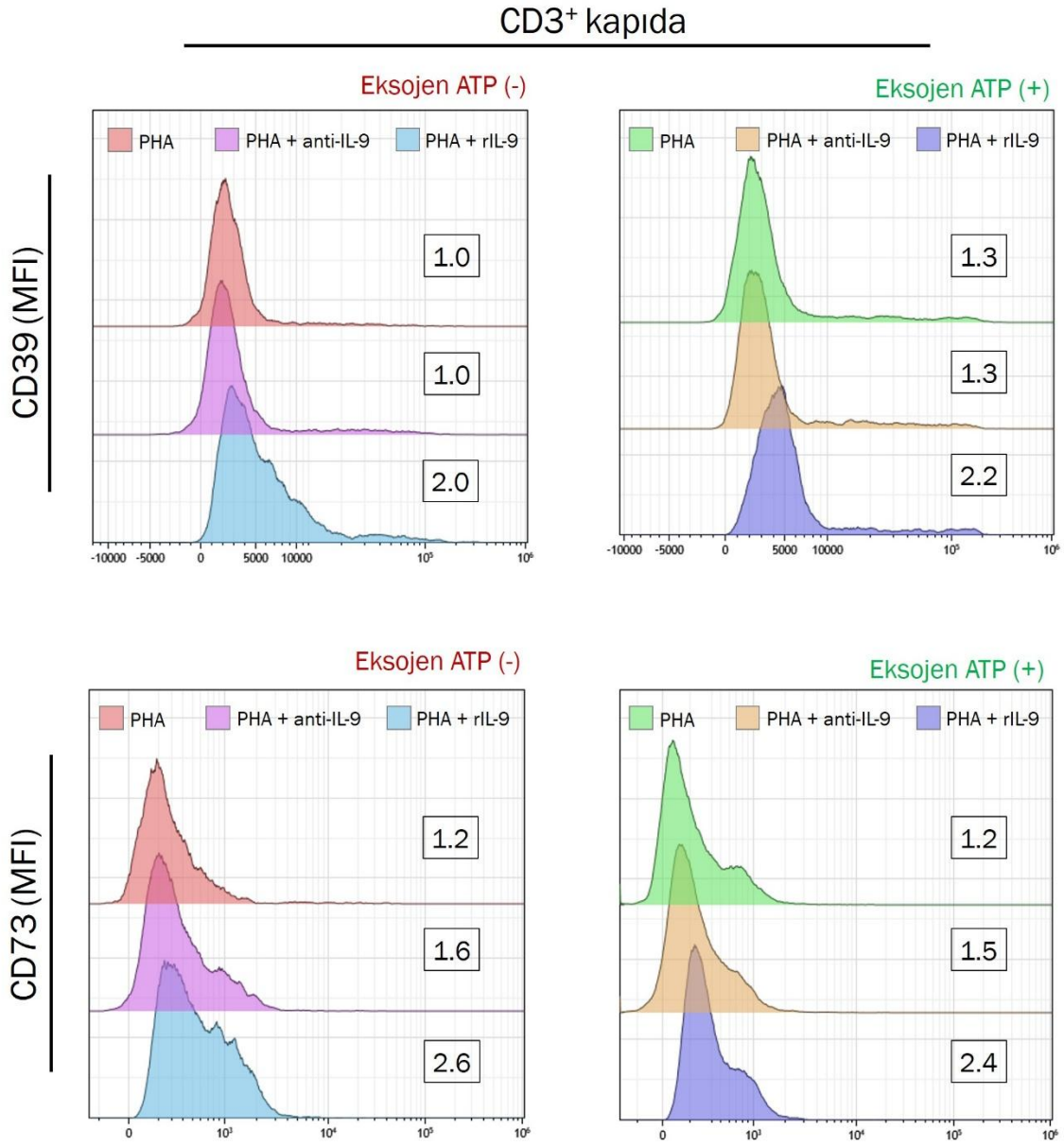
Korelasyon analizinde, $CD8^+CD39^+$ hücre oranları ile $CD8^+CD73^+$ hücre oranları arasında hem eksojen ATP varlığında hem de yokluğunda pozitif yönlü ve istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu gösterildi (Şekil 11D).



Şekil 11. (A) CD8⁺ T hücrelerde IL-9 uyarımıyla değişen CD39 ve CD73 ekspresyonlarını, (B) CD39 ve CD73 aktivite blokajının CD39 ve CD73 ekspresyon seviyeleri üzerindeki etkilerini, (C) CD39 ve CD73'ün eş-ekspresyon seviyelerini ve (D) korelasyon sonuçlarını göstermektedir. *Anlamlılık düzeyi ($p < 0,05$); **Anlamlılık düzeyi ($p < 0,01$); ***Anlamlılık düzeyi ($p < 0,001$); ****Anlamlılık düzeyi ($p < 0,0001$).

4.5. rIL-9 Muamelesi, $CD3^+$ T Hücrelerde CD39 ve CD73 Ekspresyon Yoğunluğunu Artırır

rIL-9 muamelesinin CD39 ve CD73 frekansı üzerindeki etkilerinin yanı sıra, bu belirteçlerin T hücrelerdeki medyan floresan yoğunlukları (MFI) da analiz edildi. Sonuçlarımız, $CD3^+$ T hücrelerde CD39 ve CD73 MFI değerlerinin yaklaşık iki kat artış sergilediğini ortaya koydu (Şekil 12).

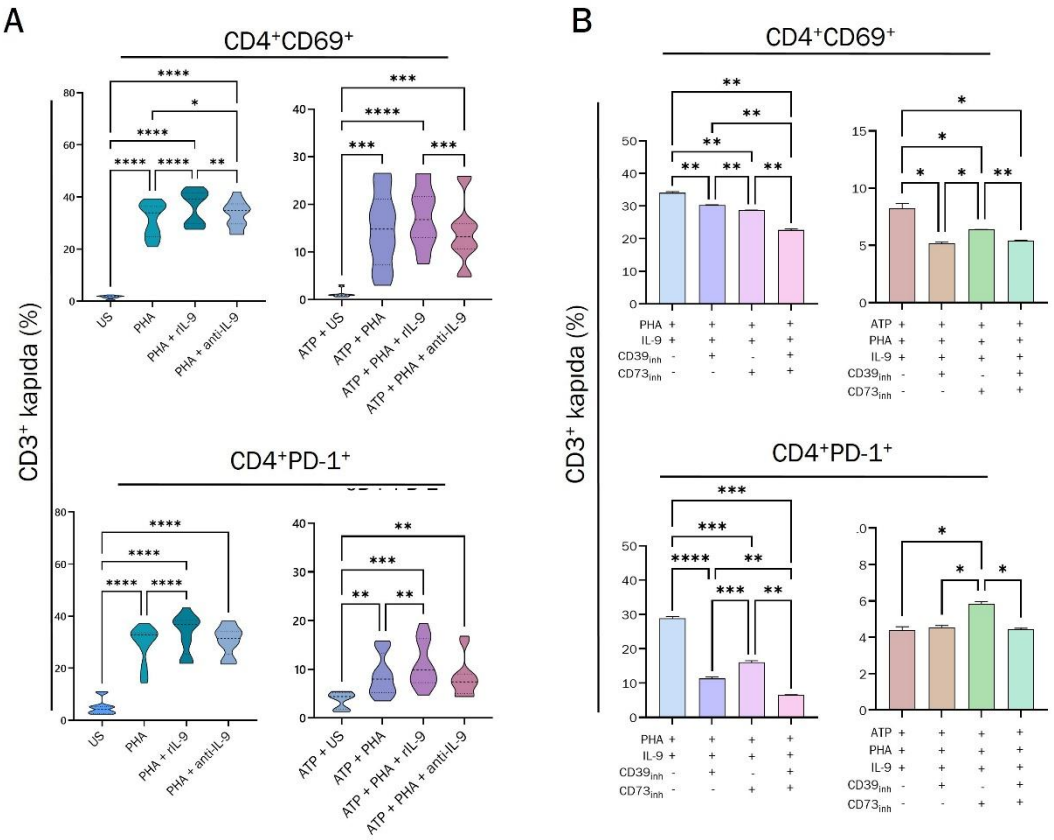


Şekil 12. $CD3^+$ T hücrelerde CD39 ve CD73'ün medyan floresan yoğunluk (MFI) grafiklerini göstermektedir. Küçük kutulardaki sayılar, test edilen kültür koşulundaki MFI değerinin, unstimule koşuldan elde edilen MFI değerine oranı olarak tanımlanan boyama indeksini temsil eder.

4.6. IL-9, T Hücre Aktivasyonu ve Bitkinliği Arasında CD39/CD73 Bağımlı Bir Denge Kurar

T hücre aktivasyon belirteci olarak CD69 ekspresyonu değerlendirildiğinde PHA ile uyarımın, uyarılmamış (US) koşullara kıyasla anlamlı düzeyde aktive $CD4^+$ T hücre oranını artırdığı saptandı (Şekil 13A). rIL-9 ile birlikte uygulanan PHA uyarımı ise diğer koşullara kıyasla anlamlı şekilde daha fazla aktivasyona yol açtığı görüldü. Eksojen ATP varlığında, PHA ile uyarılan kültürlerde $CD4^+CD69^+$ hücre oranlarının arttığı, rIL-9 eklenmesiyle bu artışın güçlendiği, anti-IL-9 uygulamasının ise CD69 ekspresyonunu belirgin şekilde baskıladığı gözlendi. Benzer şekilde, T hücre bitkinlik belirteci olarak PD-1 düzeyleri incelendiğinde, PHA uyarımının $CD4^+PD\text{-}1^+$ hücre yüzdesini anlamlı olarak artırdığı saptandı (Şekil 13A). rIL-9 uygulaması PD-1 ekspresyonunu daha da yükseltti. Eksojen ATP varlığında da $CD4^+PD\text{-}1^+$ hücre oranlarında artış gözlenmiş ve rIL-9'un bu artışı desteklediği saptandı.

CD39 ve CD73 inhibitörlerinin kullanıldığı koşullarda, PHA ve IL-9 ile endüklenen $CD4^+CD69^+$ hücre artışının anlamlı düzeyde baskılandığı saptandı (Şekil 13B). Benzer şekilde, CD39 ve CD73 inhibitörlerinin uygulanması, $CD4^+PD\text{-}1^+$ hücre oranlarında IL-9 varlığında gözlenen artışı anlamlı olarak azalttı.

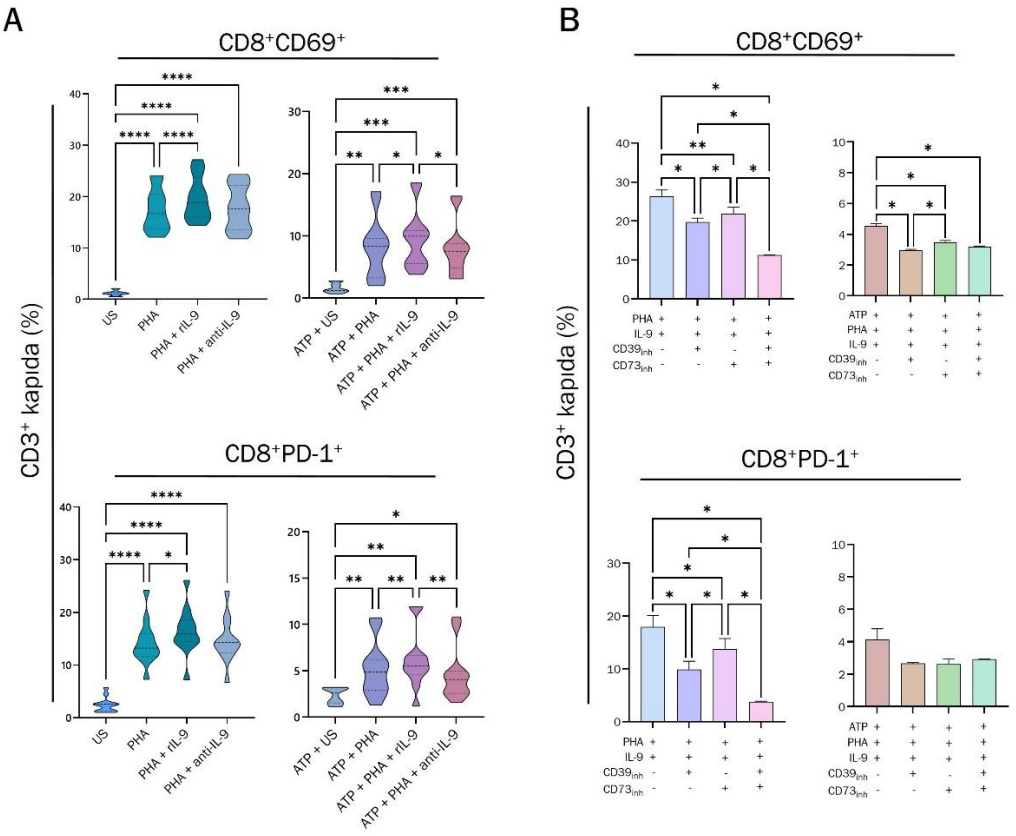


Şekil 13. (A) IL-9 uyarımıyla değişen aktive ($CD69^+$) ve bitkin ($PD\text{-}1^+$) $CD4^+$ T hücre frekanslarını ve (B) CD39 ve CD73 aktivite blokajının CD69 ve PD-1 ekspresyon seviyeleri üzerindeki etkilerini göstermektedir. *Anlamlılık düzeyi ($p < 0,05$); **Anlamlılık düzeyi ($p < 0,01$); ***Anlamlılık düzeyi ($p < 0,001$); ****Anlamlılık düzeyi ($p < 0,0001$).

$CD4^+$ T hücrelerine benzer şekilde rIL-9 ile birlikte uygulanan PHA uyarımının, $CD8^+CD69^+$ hücre oranlarında anlamlı bir artışa yol açtığı görüldü (Şekil 14A). Eksojen ATP varlığında da, PHA ile uyarılan kültürlerde $CD8^+CD69^+$ hücre frekansının arttığı, rIL-9 eklenmesiyle bu artışın güçlendiği, buna karşılık IL-9 nötralizasyonunun CD69 ekspresyonunu baskıladığı gözlendi.

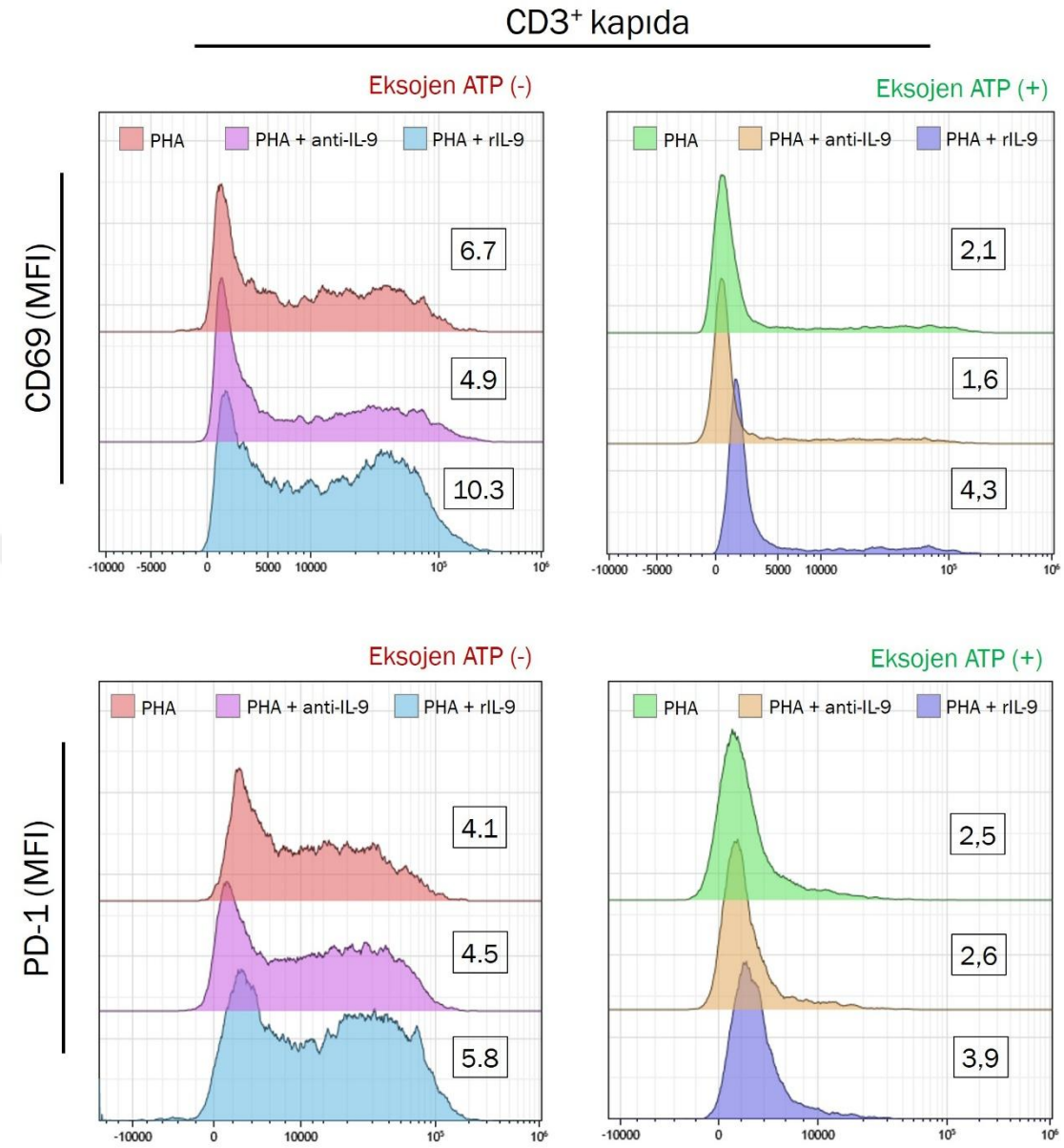
PHA uyarımının $CD8^+PD\text{-}1^+$ hücre oranlarını uyarılmamış koşula kıyasla anlamlı olarak artırdığı belirlendi (Şekil 14A). rIL-9 uygulaması PD-1 ekspresyonunu daha da yükseltti. ATP varlığında da $CD8^+PD\text{-}1^+$ hücre oranlarında artış saptandı ve rIL-9'un bu artışı desteklediği görüldü.

CD39 ve CD73 aktivite blokajının, PHA ve IL-9 ile endüklenen $CD8^+CD69^+$ hücre artışını anlamlı düzeyde baskılandığı saptandı (Şekil 14B). Ektonükleotidaz aktivitelerinin baskılandığı koşullarda $CD8^+PD\text{-}1^+$ hücre oranlarının da IL-9 varlığında azaldığı belirlendi.



Şekil 14. (A) IL-9 uyarımıyla değişen aktive ($CD69^+$) ve bitkin ($PD\text{-}1^+$) $CD8^+$ T hücre frekanslarını ve (B) CD39 ve CD73 aktivite blokajının CD69 ve PD-1 ekspresyon seviyeleri üzerindeki etkilerini göstermektedir. *Anlamlılık düzeyi ($p < 0,05$); **Anlamlılık düzeyi ($p < 0,01$); ***Anlamlılık düzeyi ($p < 0,001$); ****Anlamlılık düzeyi ($p < 0,0001$).

CD69 ve PD-1'in MFI değerleri analiz edildi. rIL-9 uyarımı ile birlikte $CD3^+$ T hücrelerde aktivasyon ve bitkinlik belirteçlerinin MFI değerlerinin arttığı gözlendi (Şekil 15). Bu belirteçlerdeki artışın eksojen ATP varlığında minimal düzeylerde kaldığı, ancak rIL-9 uyarımıyla ortaya çıkan artışın belirgin ve ayırt edilebilir olduğu gözlendi.



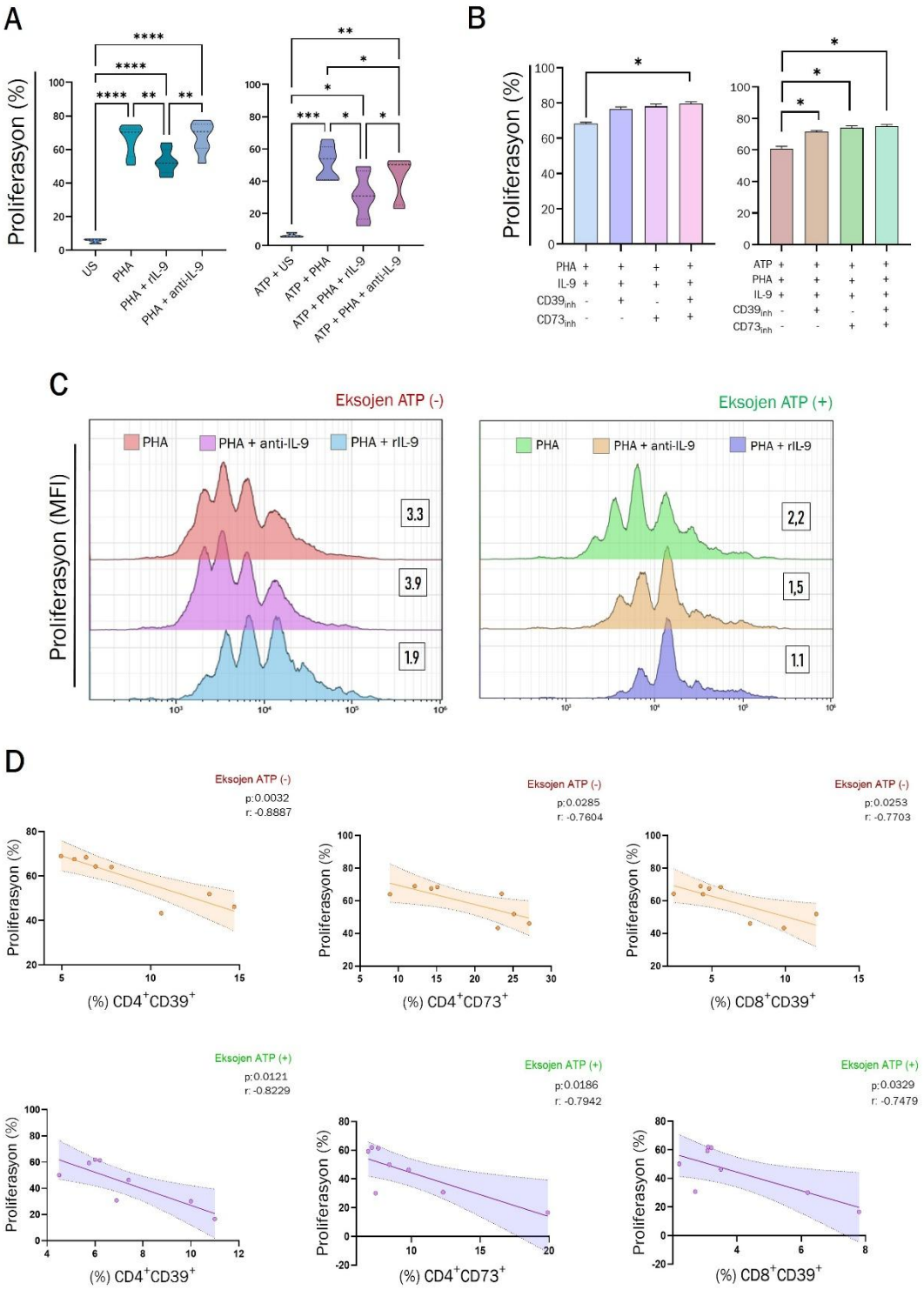
Şekil 15. CD3⁺ T hücrelerde CD69 ve PD-1'in MFI grafiklerini göstermektedir. Küçük kutulardaki sayılar, test edilen kültür koşulundaki MFI değerinin, unstimule koşuldan elde edilen MFI değerine oranı olarak tanımlanan boyama indeksini temsil eder.

4.7. IL-9'un T Hücre Proliferasyonu Üzerindeki Etkileri CD39/CD73 Aktivitesine Bağımlıdır

T hücre proliferasyonunun tespiti için hücreler CFSE ile etiketlendi. PHA ile uyarılan hücrelerde proliferasyon oranının uyarılmamış (US) gruba kıyasla anlamlı düzeyde arttığı saptandı. PHA'ya ek olarak rIL-9 eklenmesi proliferasyonu anlamlı şekilde azalttı (Şekil 16A). Eksojen ATP varlığında da benzer etkiler gözlendi. CD39 ve CD73 inhibisyonunun etkileri değerlendirildiğinde, IL-9'un proliferasyon

üzerindeki etkileri tersine döndü (Şekil 16B). MFI değerlerinin analizi de rIL-9 koşullarındaki proliferasyon yeteneğinin azaldığını ortaya koydu (Şekil 16C)

Korelasyon analizlerinde, hem eksojen ATP varlığında hem de yokluğunda proliferasyon oranı ile $CD4^+CD39^+$, $CD4^+CD73^+$ ve $CD8^+CD39^+$ hücre oranları arasında anlamlı ve negatif yönde ilişkiler bulundu (Şekil 16D). Bu negatif korelasyon sonuçlarının ATP varlığında da korunduğu tespit edildi.

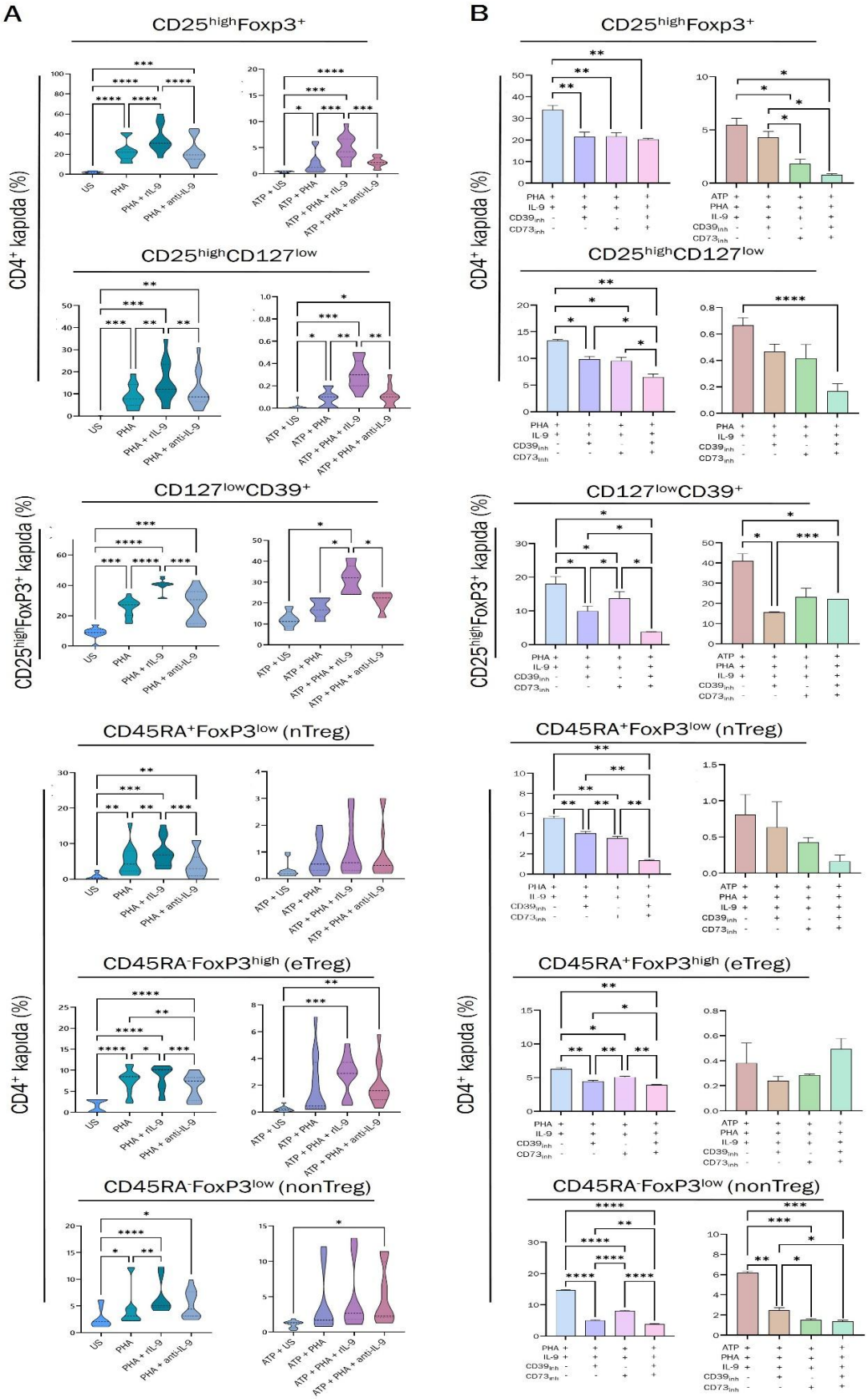


Şekil 16. (A) IL-9 uyarımıyla değişen T hücre proliferasyon seviyelerini, (B) CD39 ve CD73 aktivite blokajının T hücre proliferasyonu üzerine etkilerini, (C) CFSE MFI grafiklerini (Küçük kutulardaki sayılar, uyarılmamış koşuldan elde edilen CFSE MFI değerinin, test edilen kültür koşulundaki CFSE MFI değerine oranı olarak tanımlanan boyama indeksini temsil eder.) ve (D) korelasyon analizi sonuçlarını göstermektedir. *Anlamlılık düzeyi ($p < 0,05$); **Anlamlılık düzeyi ($p < 0,01$); ***Anlamlılık düzeyi ($p < 0,001$); ****Anlamlılık düzeyi ($p < 0,0001$).

4.8. Treg Hücre Alt Popülasyonlarındaki IL-9 Kaynaklı Artış, CD39/CD73 İnhibisyonuyla Tersine Döner

Treg hücrelerinin ayrıntılı alt grup analizleri gerçekleştirildi. PHA ile uyarım sonrası $CD4^+$ T hücreleri içerisinde $CD25^{high}FoxP3^+$ Treg hücre oranının, uyarılmamış gruba kıyasla anlamlı düzeyde arttığı saptandı (Şekil 17A). PHA ile birlikte rIL-9 uyarımı $CD25^{high}FoxP3^+$ Treg hücre frekansını daha da artırdı. Eksojen ATP varlığında $CD25^{high}FoxP3^+$ Treg hücre farklılaşmasının belirgin şekilde düşük seviyelerde olduğu, ancak ATP koşullarında rIL-9 uygulamasının bu düşüşü kısmen geri çevirdiği saptandı. $CD25^{high}CD127^{low}$ Treg alt popülasyonu değerlendirildiğinde, PHA ile uyarım sonrası bu hücrelerin oranında anlamlı artış olduğu ve rIL-9 ilavesinin bu artışı güçlendirdiği görüldü. Eksojen ATP varlığında $CD25^{high}CD127^{low}$ Treg hücre polarizasyonunun düşük seviyelerde kaldığı, ancak rIL-9 uygulamasının anlamlı şekilde artışa yol açtığı görüldü. $CD127^{low}CD39^+$ Treg hücrelerinin de PHA uyarımı ile anlamlı şekilde arttığı, rIL-9 uygulamasıyla bu artışın özellikle eksojen ATP varlığında daha da belirgin hale geldiği gözlendi.

CD45RA ve FoxP3 ekspresyon profillerine göre tanımlanan doğal Treg (nTreg), aktive efektör Treg (eTreg) ve non-Treg alt popülasyonlarının her birinin IL-9 varlığında anlamlı derecede artış gösterdiği belirlendi. Genel olarak eksojen ATP muamelesi, Treg genişlemesini baskıladı ancak rIL-9 ATP'nin bu etkilerine karşı koydu. Diğer yandan Treg alt popülasyonlarındaki bu artış trendi, CD39/CD73 aktivitelerinin inhibisyonuyla birlikte tersine dönerek anlamlı derecede azaldı (Şekil 17B).


A
B
CD25highFoxp3+
CD25highCD127low
CD127lowCD39+
CD45RA+FoxP3low (nTreg)
CD45RA-FoxP3high (eTreg)
CD45RA-FoxP3low (nonTreg)
CD4+ kapıda (%)
CD25highFoxP3+ kapıda (%)
US
PHA
PHA + rIL-9
PHA + anti-IL-9
ATP + US
ATP + PHA
ATP + PHA + rIL-9
ATP + PHA + anti-IL-9
PHA
IL-9
CD39inh
CD73inh
ATP

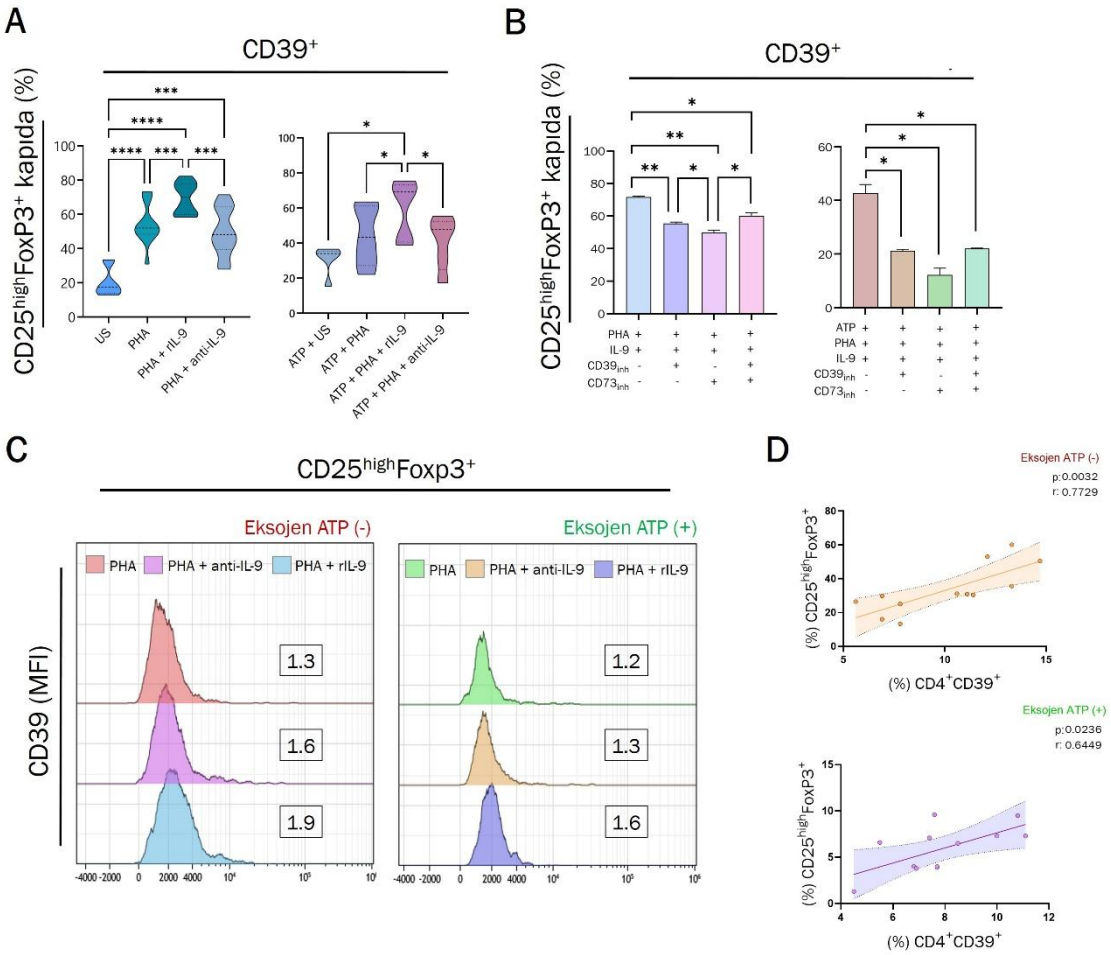
Şekil 17. (A) IL-9 uyarımıyla değişen Treg hücre alt gruplarının frekanslarını ve (B) CD39 ve CD73 aktivite blokajının Treg hücre alt gruplarının dağılımı üzerine etkilerini göstermektedir. *Anlamlılık düzeyi ($p < 0,05$); **Anlamlılık düzeyi ($p < 0,01$); ***Anlamlılık düzeyi ($p < 0,001$); ****Anlamlılık düzeyi ($p < 0,0001$).

4.9. IL-9, $CD25^{high}FoxP3^{+}$ Treg Hücrelerinde CD39 Ekspresyonunu Teşvik Eder

$CD25^{high}FoxP3^{+}$ Treg hücrelerdeki CD39 ekspresyonu, uyarılmamış gruba kıyasla PHA ile uyarım sonrası anlamlı düzeyde artış gösterdi (Şekil 18A). PHA'ya rIL-9 eklenmesinin $CD39^{+}$ Treg oranlarını daha da artırdığı bulundu. Eksojen ATP varlığında da $CD39^{+}$ Treg hücre frekansının anlamlı şekilde arttığı saptandı (Şekil 18A).

CD39 ve CD73 inhibitörlerinin etkileri değerlendirildiğinde, PHA ve IL-9 varlığında CD39 veya CD73 inhibisyonunun $CD39^{+}$ Treg hücre oranlarını anlamlı şekilde azalttığı bulundu (Şekil 18B). Bununla birlikte Treg hücrelerindeki CD39 ekspresyonundaki artış, MFI değerlerindeki artış ile de desteklendi (Şekil 18C).

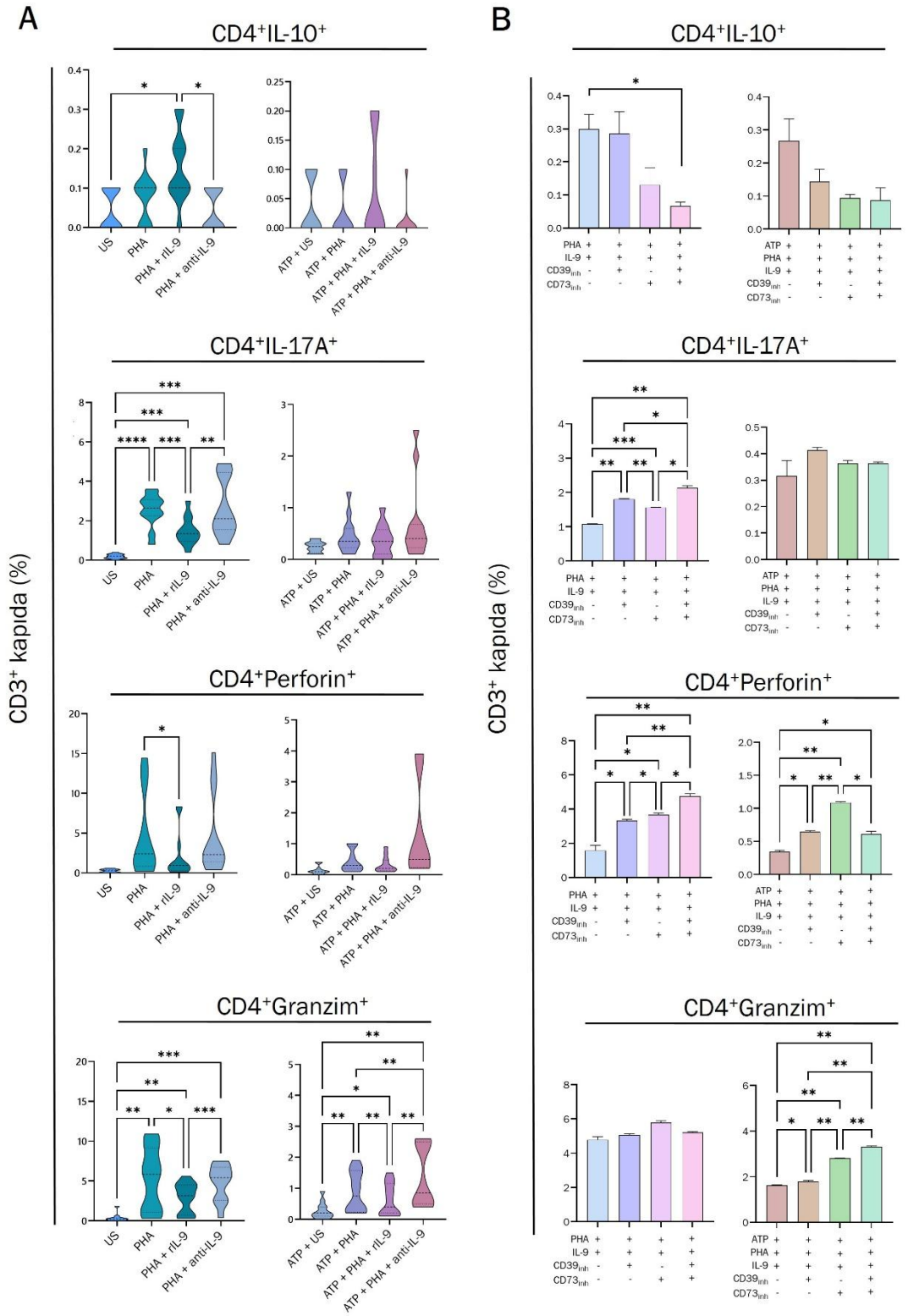
Korelasyon analizleri ise hem eksojen ATP'den bağımsız bir şekilde $CD4^{+}CD39^{+}$ hücre yüzdesi ile $CD25^{high}FoxP3^{+}$ Treg hücre oranı arasında anlamlı ve pozitif yönde ilişkiler olduğunu ortaya çıkardı (Şekil 18D).



Şekil 18. (A) CD25^{high}FoxP3^{+} Treg'lerde IL-9 uyarımıyla değişen CD39 ekspresyon seviyelerini, (B) CD39 ve CD73 aktivite blokajının CD39 frekansı üzerine etkilerini, (C) CD25^{high}FoxP3^{+} Treg'lerde CD39'un MFI grafiklerini (Küçük kutulardaki sayılar, test edilen kültür koşulundaki MFI değerinin, uyarılmamış koşuldan elde edilen MFI değerine oranı olarak tanımlanan boyama indeksini temsil eder.) (D) korelasyon sonuçlarını göstermektedir. *Anlamlılık düzeyi ($p < 0,05$); **Anlamlılık düzeyi ($p < 0,01$); ***Anlamlılık düzeyi ($p < 0,001$); ****Anlamlılık düzeyi ($p < 0,0001$).

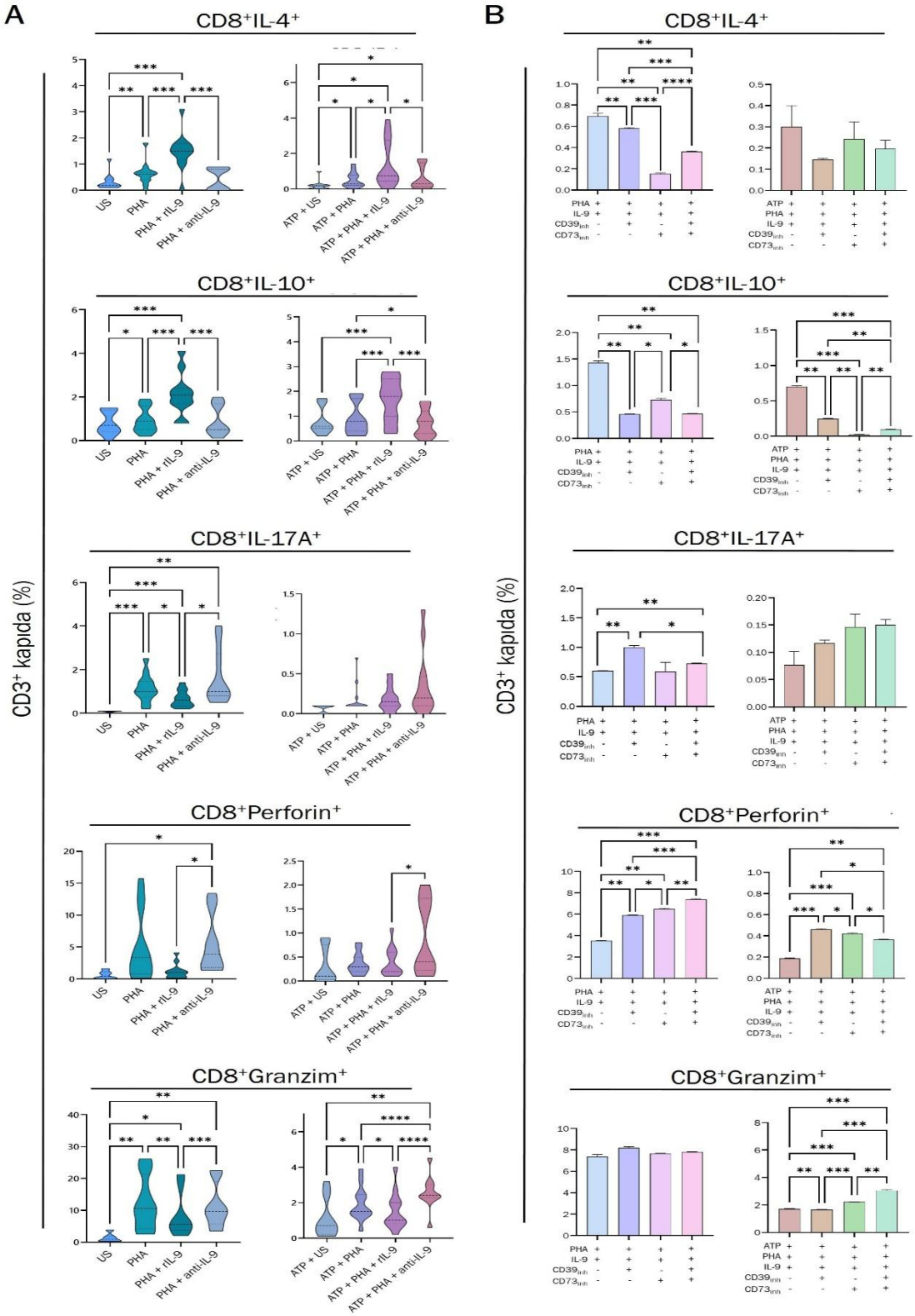
4.10. IL-9, Treg ve Efektör Hücrelerde Antienflamatuvar Fonksiyonları Destekler

T hücrelerde hücre içi sitokin (IL-2, IL-4, IL-6, IL-9, IL-10, IL-17A, IL-22 ve TNF-α) ve efektör molekül (perforin ve granzim-B) üretim seviyeleri AHÖ ile analiz edildi. IL-9 muamelesi, CD4^{+} T hücrelerde IL-10 üretimini artırırken, IL-17A, perforin ve granzim-B üretimini anlamlı derecede baskıladı (Şekil 19A). CD39/CD73 aktivite blokajı sonrasında IL9'un CD4^{+} T hücreleri üzerindeki bu etkileri tersine döndü (Şekil 19B).



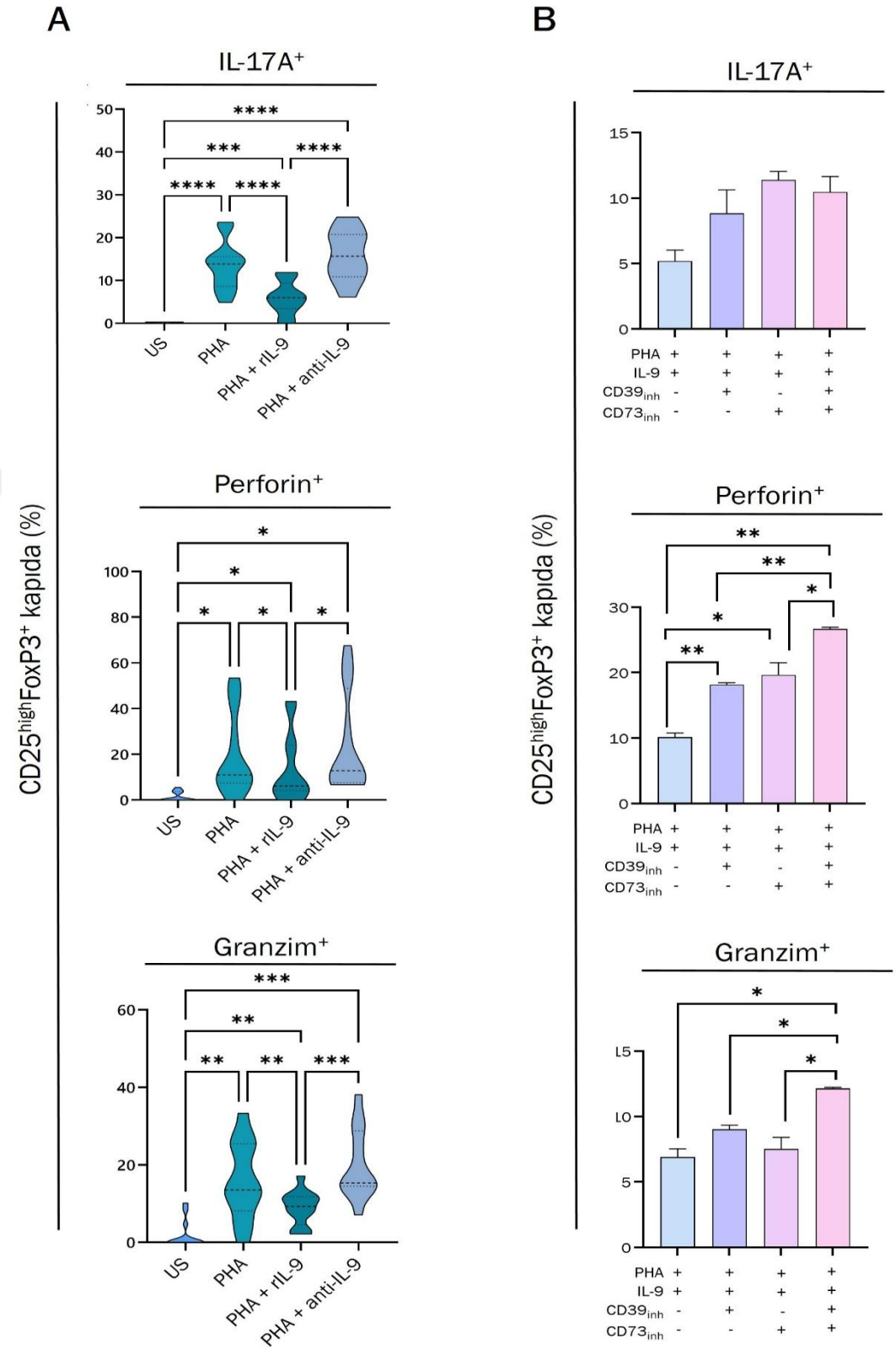
Şekil 19. CD4⁺ T hücrelerde IL-9 uyarımıyla değişen sitokin ve efektör molekül seviyelerini ve (B) CD39 ve CD73 aktivite blokajının sitokin ve efektör molekül üretimi üzerindeki etkilerini göstermektedir. *Anlamlılık düzeyi ($p < 0,05$); **Anlamlılık düzeyi ($p < 0,01$); ***Anlamlılık düzeyi ($p < 0,001$); ****Anlamlılık düzeyi ($p < 0,0001$).

IL-9'un $CD4^+$ T hücreleri üzerindeki etkilerine benzer şekilde $CD8^+$ T hücrelerde de yakın sonuçlar elde edildi. IL-4 ve IL-10 üretimi artarken IL-17A düzeyleri azaldı (Şekil 20A). Bununla birlikte perforin ve granzim-B üretimi de baskılandı. Ancak CD39/CD73 aktivitelerinin inhibisyonları bu etkileri geri çevirdi (Şekil 20B).



Şekil 20. CD8⁺ T hücrelerde IL-9 uyarımıyla değişen sitokin ve efektör molekül seviyelerini ve (B) CD39 ve CD73 aktivite blokajının sitokin ve efektör molekül üretimi üzerindeki etkilerini göstermektedir. *Anlamlılık düzeyi ($p < 0,05$); **Anlamlılık düzeyi ($p < 0,01$); ***Anlamlılık düzeyi ($p < 0,001$); ****Anlamlılık düzeyi ($p < 0,0001$).

PHA ile stimülasyon sonrasında $CD25^{high}FoxP3^{+}$ Treg hücre farklılaşmasında belirgin bir artış gözlemlendi. Ancak kültür ortamına eksojen ATP eklendiğinde, Treg farklılaşması baskılandı. Bu etkiler, ATP içeren koşullarda Treg hücrelerine ait immünomodülatör sitokin ve efektör molekül üretiminin değerlendirilmesini kısıtladı. rIL-9 varlığında $CD25^{high}FoxP3^{+}$ Treg hücreleri tarafından IL-17A, perforin ve granzim-B üretimi baskılandı (Şekil 21A). CD39/CD73 aktivitelerinin inhibe edilmesi, IL-9'un bu efektör moleküllerin üretimi üzerindeki etkilerini ortadan kaldırdı (Şekil 21B).



Şekil 21. CD25^{high}FoxP3^{+} Treg'lerde IL-9 uyarımıyla değişen sitokin ve efektör molekül seviyelerini ve (B) CD39 ve CD73 aktivite blokajının sitokin ve efektör molekül üretimi üzerindeki etkilerini göstermektedir. *Anlamlılık düzeyi ($p < 0,05$); **Anlamlılık düzeyi ($p < 0,01$); ***Anlamlılık düzeyi ($p < 0,001$); ****Anlamlılık düzeyi ($p < 0,0001$).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

T hücre fonksiyonları yalnızca yüzey reseptörleri aracılığıyla değil, aynı zamanda mikroçevredeki metabolik sinyallerle de sıkı bir şekilde düzenlenmektedir. Özellikle eATP klasik olarak bir "tehlike" sinyali olarak işlev görürken, onun hidrolitik ürünü olan adenozin genellikle immün baskılayıcı etkiler taşır. Bu dönüşümde rol oynayan CD39 ve CD73, ATP'nin sırasıyla ADP/AMP'ye ve nihayetinde adenozine yıkılmasını katalize ederek pürinerjik dengeyi belirleyen kritik ektoenzimlerdir. Böylece ATP ve adenozin tarafından yönlendirilen pürinerjik sinyalleme, immün yanıtların yönünü belirlemede temel bir mekanizma olarak öne çıkar ve immünoterapötik stratejiler açısından güncelliğini koruyan bir hedef niteliğindedir. Bu bağlamda, pürinerjik sinyalizasyonu modüle edebilecek moleküllerin tanımlanması, immün yanıtların hedefe yönelik yeniden şekillendirilmesi için kritik öneme sahiptir.

IL-9, hem proenflamatuvar hem de antienflamatuvar süreçlere eşlik edebilme kapasitesiyle öne çıkarken, son bulgular bu sitokinin immünometabolik yolları da etkileyebileceğini ve böylece immün sistem homeostazını çok yönlü biçimde şekillendirebileceğini düşündürmektedir. Th9 hücrelerinde ATP–NO–mTOR–HIF-1α ekseninin IL-9 üretimini artırması ve IL-9'un STAT3 aracılı yağ asidi oksidasyonunu desteklemesi, onun metabolik süreçlerle olan etkileşimine dair önemli veriler sunmaktadır (Peesari, & McAleer, 2025; Roy, & Awasthi, 2019; Xiao ve ark., 2022). IL-9, insan birincil keratinositleri gibi non-hematopoietik hücrelerde de metabolik yeniden programlamanın belirgin bir düzenleyicisi olarak işlev görerek elektron taşıma zincirini baskılamakta ve glikoz akışını oksidatif fosforilasyondan anaerobik glikolize doğru kaydırmaktadır. Bu glikolitik yeniden yönelim, keratinositlerin hayatta kalma ve proliferasyon kapasitesini desteklemektedir (Marathe ve ark., 2021). Ayrıca, IL-9'un STAT5 aracılı NLRP3 inflamazom aktivasyonunu modüle edebilmesi, hücresel stres, ATP düzeyleri ve ektoenzim aktiviteleriyle ilişkili metabolik sinyallerin şekillendirilmesinde dolaylı bir rol üstlenebileceğini düşündürmektedir (Hübner ve ark., 2025). Ek olarak, deneysel otoimmün myastenia gravis modelinde eksojen IL-9'un kronik fazda Th1 farklılaşmasını ve IFN-γ üretimini baskılarken, STAT5 aktivasyonunu artırıp STAT3 düzeylerini azaltarak Treg genişlemesini desteklediğine dair bulgular, IL-9'un efektör ve Treg dengesi üzerinde metabolik ve immünolojik düzeyde çok yönlü bir düzenleyici niteliğe sahip olabileceğini düşündürmektedir (Yao

ve ark., 2018). Bu nedenle IL-9, pürinerjik sinyalleme ile immünometabolik yeniden programlama arasındaki potansiyel bir bağlantı noktası olarak dikkat çekmektedir.

Bu çalışmanın özgün katkısı, IL-9'un ATP/adenozin dengesi, CD39/CD73 ekspresyonu ve T hücre davranışı arasındaki ilişkiyi sistematik olarak ortaya koymasıdır.

Çalışmamızda farklı kültür koşulları arasında hücre canlılığı bakımından anlamlı bir fark gözlenmemiş ve tüm gruplarda canlılık oranının %87'nin üzerinde olduğu belirlenmiştir. Bu bulgu, gözlenen immün düzenleyici etkilerin hücre ölümü ya da toksisiteye bağımlı olmadığını, fonksiyonel/regülatör mekanizmalardan kaynaklandığını göstermektedir.

Literatürde çeşitli sitokinlerin CD39 ve CD73 ekspresyonlarını modüle edebildiği gösterilmiştir (Fang ve ark., 2022; Noble, Mehta, Lovell, Papaioannou, & Fairbanks, 2016). Çalışmamızda IL-9 muamelesi sonrasında T hücrelerde CD39 ve CD73 ekspresyonlarının artması (hem tek tek hem de birlikte eş-ekspresyon) önemli bir bulgudur. Eş zamanlı olarak artan MFI değerleri de bu yükselmenin yüzey ekspresyon yoğunluğu artışıyla paralel olduğunu gösterir. Bu gözlemler, IL-9'un bu ektoenzimlerin düzenlenmesini teşvik ettiğini ortaya koymaktadır. Önceki çalışmalar, artmış CD39 ve CD73 ekspresyonunun özellikle tümör mikroçevresi bağlamında T hücre fonksiyonlarını baskılayıcı etkilerle ilişkilendirdiğini ve yüksek adenozin ortamları ile bağlantılı olduğunu vurgulamaktadır (Jiang ve ark., 2023). IL-9'un CD39/CD73 eksenini nasıl düzenleyebileceğine ilişkin mevcut veriler, bu sitokinin JAK/STAT ve HIF-1α'ya uzanan geniş bir sinyal ağını etkileyebileceğini göstermektedir (Campos Duran ve ark., 2024; Chakraborty ve ark., 2019; Donninelli ve ark., 2020; Mukherjee ve ark., 2025). IL-9'un STAT5 üzerinden FoxP3 ekspresyonunu desteklemesi, Treg genişlemesi yoluyla CD39/CD73 artışına dolaylı bir katkı sağlayabilir (Yao ve ark., 2018). Ayrıca IL-9'un enflamatuvar makrofajlarda STAT1/STAT3/STAT5 aktivasyonunu endüklemesi ve STAT3'ü aktive eden sitokinlerin CD39 ekspresyonunu artırdığına dair kanıtlar, IL-9'un STAT3-bağımlı CD39 düzenlemesine aracılık edebileceğini düşündürmektedir (Campos Duran ve ark., 2024). Öte yandan, bazı bağlamlarda IL-9'un HIF-1α düzeylerini yükselttiği bildirilmiş olup, TGF-β–mTOR–HIF-1α yolunun MDSC'lerde CD39/CD73'ü artırdığı bilindiğinden, IL-9'un bu hipoksik programı da destekleyebileceği olasıdır

(Yao ve ark., 2018). Bu bulgular bir arada değerlendirildiğinde, IL-9'un CD39/CD73 ekspresyonunu STAT3/STAT5 odaklı transkripsiyonel kontrol ve HIF-1α aracılı metabolik yeniden programlama üzerinden çok katmanlı biçimde etkileyebileceği anlaşılmaktadır.

Çalışmamızda IL-9 uygulaması, eATP düzeylerinde anlamlı azalma ile sonuçlandı. Ayrıca, PHA içeren ortamlarda azalan adenozin seviyeleri, IL-9 varlığında yükselerek dinlenme halindeki (uyarılmamış) T hücre koşullarına yakın seviyelere ulaşmıştır. Bu bulgular, CD39/CD73 aktivitesinin IL-9 tarafından desteklendiğini düşündürmektedir. Bu eksendeki artış, yüksek ATP'nin proenflamatuvar etkilerini azaltırken, adenozinin immünsüpresif rolünü güçlendirebilir. Nitekim IL-9 uygulaması T hücrelerinin proliferatif kapasitesinde de azalmaya yol açmıştır. Literatürde IL-9'un hücre tipi ve mikroçevreye bağlı olarak proliferatif yanıtlar üzerinde zıt etkiler gösterebildiği bildirilmiştir (Pajulas, Zhang, & Kaplan, 2023). Bizim bulgularımızla uyumlu olarak, yakın zamanda yapılan bir çalışma IL-9'un T hücre proliferasyonunu azalttığını ve hücre yaşlanması gibi özelliklerini artırdığını göstermiştir (Tufa ve ark., 2025). Bu etkiler, CD39/CD73 inhibitörlerinin uygulanmasıyla geri döndürülmüş ve böylece eATP düzeylerindeki düşüş ve proliferasyon baskısı ortadan kalkmıştır. Bu çerçevede IL-9, ATP'yi azaltarak T hücre uyarımını frenleyen bir mekanizma olarak değerlendirilebilir. Burada iki kritik nokta öne çıkmaktadır: Birincisi, eATP'nin metabolize edilmesi sonucunda oluşan adenozin immünsüpresif sinyaller üretmektedir. İkincisi, eATP fizyolojik düzeylerde immün aktivasyonu destekleyebilse de, aşırı birikimi aksine immün yanıtları baskılar (Trabanelli ve ark., 2012). Dolayısıyla hem eATP düzeyi hem de ATP–adenozin dengesi, immün yanıtların yönünü belirlemede kritik öneme sahiptir. Çalışmamızda eksojen ATP uygulamasının proliferasyonu azaltıcı etkisi de, eATP'nin doza bağımlı çift yönlü etkisine işaret eden önemli bir bulgudur.

IL-9'un immün yanıtların düzenlenmesindeki rolü, hem kanser hem de otoimmün hastalık bağlamında Treg gelişimi ve fonksiyonlarının desteklenmesiyle ilişkilendirilmiştir. Tümör mikroçevresinde IL-9 üreten Treg alt gruplarının immün kaçışı kolaylaştırdığı gösterilmişken (Heim ve ark., 2022), otoimmün hastalıklarda ise IL-9'un Treg farklılaşmasını ve baskılayıcı kapasitesini artırarak hastalık patogenezinde kritik rol oynadığı raporlanmıştır (Deng ve ark., 2017). Treg hücre

analizlerimiz, IL-9'un spesifik olarak majör Treg alt tiplerini ($CD25^{high}FoxP3^{+}$, $CD25^{high}CD127^{low}$) genişlettiğini bunun yanı sıra CD39 ekspresyonunu da artırdığını göstermektedir. CD39 pozitif Treg hücrelerinin diğer Treg'lere kıyasla, adenozin üretimi aracılığıyla konvansiyonel T hücrelerin proliferasyonunu baskılayarak daha güçlü süpresif özellik sergilediği gösterilmiştir. Bu hücreler, özellikle enflamatuvar mikroçevrede baskılayıcı etkinliği artırarak immün homeostazın korunmasına katkıda bulunmaktadır (Ahlmanner ve ark., 2018; Deaglio ve ark., 2007; Fletcher ve ark., 2009). Buna ek olarak, $CD127^{low}CD39^{+}$ Treg oranındaki artış ve doğal (nTreg), aktive efektör (eTreg) ve non-Treg popülasyonlarında IL-9'a bağımlı genişleme gözlenmesi, IL-9'un Treg regülasyonu üzerindeki güçlü etkilerini ortaya koymaktadır. CD39/CD73 aktivite inhibisyonu koşullarında bu Treg artışının geri dönmesi, IL-9'un Treg alt popülasyonlarının kontrolünde CD39/CD73'ün merkezi rolüne işaret etmektedir. Ayrıca CD39 ve CD73 frekansları ile Treg popülasyonları arasındaki pozitif korelasyon, IL-9'un Treg aracılı immün regülasyonda pürinerjik metabolizma ile işlevsel bir bağ kurduğunu desteklemektedir.

Th9 hücreleri ve özellikle IL-9 sitokini, farklı immün hücreler üzerinde etkili olarak IL-10 üretimini artırabilmekte ve böylece antienflamatuvar sitokin yanıtlarını güçlendirebilmektedir (Do-Thi, Lee, Lee, & Kim, 2020; Heim ve ark., 2022). Çalışmamızdaki sitokin analizleri, IL-9'un hem $CD4^{+}$ hem de $CD8^{+}$ T hücrelerde IL-10 üretimini artırırken IL-17A üretimini baskıladığını göstermiştir. Ayrıca, $CD8^{+}$ T hücrelerde IL-4 üretiminde de artış gözlenmiştir. $CD25^{high}FoxP3^{+}$ Treg hücrelerinde ise IL-17A üretiminin baskılanması, IL-9'un ortamı tolerojen ve antienflamatuvar bir sinyale dönüştürme potansiyeli ile uyumludur. CD39/CD73 aktivitesinin inhibisyonu, bu etkileri geri çevirmiş ve IL-9'un antienflamatuvar etkilerinin mekanistik yolunu açıklamaya katkı sağlamıştır.

IL-9'un perforin ve granzim-B gibi sitotoksik moleküllerin üretimi üzerindeki etkileri hakkında literatür sınırlı olmakla birlikte, farklı görüşler bildirilmiştir. Bazı çalışmalar IL-9'un sitotoksik aktiviteyi artırdığını gösterirken, diğerleri tam tersine baskıladığını raporlamaktadır (Gang ve ark., 2021; Yang, Zeng, Alimu, & Qu, 2025). Çalışmamızda hem efektör hem de Treg hücrelerde perforin ve granzim-B üretiminin IL-9 ile birlikte azaldığı gözlenmiştir. Bu bulgu, IL-9'un immünsüpresif bir ortam oluşturmak amacıyla sitotoksik aktiviteyi de baskıladığını ortaya koymaktadır.

IL-9'un CD69 ekspresyonunu hem frekans hem de MFI düzeyinde artırması, onun T hücreleri üzerinde aktivasyonu teşvik edici bir rol oynadığını göstermektedir. Muhtemelen bu aktive T hücre popülasyonu, immün yanıtların sınırlandırılmasına aracılık eden Treg ve IL-10 üreten hücreler gibi alt grupları kapsamaktadır. Öte yandan, önceki raporlarda kronik aktivasyon durumlarında PD-1'in artışı ile T hücre bitkinliği fenomeni arasındaki ilişki sıkça gözlemlenmiştir (Jubel, Barbati, Burger, Wirtz, & Schildberg, 2020). Bizim verilerimiz de IL-9'un T hücrelerde hem aktivasyonu teşvik edebildiğini hem de uzun vadede tükenmeyi hızlandırabileceğini göstermektedir. Bu etkinin CD39/CD73 inhibitörleri ile tersine dönmesi, söz konusu belirteçlerin kontrolünde metabolik sinyal ekseninin önemini ortaya koymaktadır.

IL-9'un, enflamatuvar, otoimmün ve neoplastik hastalıkların seyrini çeşitli düzeylerde etkileyebileceği giderek daha fazla kabul görmektedir. Bu nedenle IL-9'un immünometabolik etkilerinin daha iyi anlaşılması, farklı hastalık bağlamlarında ortaya çıkan karmaşık immün yanıtların çözümlenmesine önemli katkılar sağlayabilir. Alerjik havayolu hastalıklarında IL-9 düzeylerinin yükselmesi, Th2 yanıtını ve mast hücre hiperplazisini artırarak inflamasyonu tetikler (Fu ve ark., 2022; Koch, Sopel, & Finotto, 2017). Literatür verileri, bronkoalveolar sıvıda yükselmiş adenozin düzeylerinin astmatik hastalarda bronkokonstriksiyon ve enflamasyonu modüle edebileceğini, ancak bu etkinin adenozin reseptör tipine bağlı olarak değiştiğini göstermektedir (Garcia-Garcia, Ollé, Martín, Roca-Ferrer, & Muñoz-Cano, 2021; Muñoz-Cano ve ark., 2021). Özellikle mast hücrelerindeki A3 reseptör aktivasyonu, IgE aracılı degranülasyonu güçlendirerek akut alerjik semptomların ortaya çıkmasına neden olur (Rudich, Ravid, & Sagi-Eisenberg, 2012). Çalışmamızda gözlenen IL-9 kaynaklı CD39/CD73 artışı ise alerjik hastalıklar bağlamında adenozinin potansiyel etkisini yansıtabilir. Romatoid artrit ve psöriyatik artritte IL-9 patojenik enflamatuvar T hücre sağkalımını desteklerken (Chen ve ark., 2025; Kundu-Raychaudhuri, Abria, & Raychaudhuri, 2016). IL-9 üreten ILC2 hücrelerinin Treg gelişimini desteklediğine yönelik mevcut bilgilerimiz de bu süreçte adenozinin koruyucu etkilerinin bir sonucu olabilir (Rauber ve ark., 2017). Benzer şekilde, SLE'de IL-9 ve Th9 hücreleri artış gösterse de, B hücrelerindeki CD73'ün enzimatik aktivite eksikliği, IL-9'un adenozin üretimini sınırlayarak anti-inflamatuvar potansiyelini kısıtlıyor olabilir (Hesse ve ark., 2021; Hoang ve ark., 2022; Ouyang ve ark., 2013). Diğer yandan IL-9, özellikle solid

tümörlerde antitümör, hematolojik malignitelerde ise tümör destekleyici rolüyle öne çıkmaktadır (Angkasekwinai, & Dong, 2021; Patrussi ve ark., 2021; Wan ve ark., 2020). Burada tümör tipi, immün sistem hücrelerinin kompozisyonu ve büyük olasılıkla mikroçevredeki metabolitlerin düzeyleri, IL-9'un değişken etkilerinin nedenleri olabilir. Ayrıca, Th9 farklılaşmasının ATP–NO–mTOR–HIF-1α sinyaliyle ve pürinerjik P2 reseptörleriyle bağlantılı olması, IL-9'un yalnızca eATP'ye yanıt vermekle kalmayıp, CD39/CD73 artışı yoluyla eATP'yi adenozine dönüştürerek immün yanıtı düzenleyici bir feedback ortamı oluşturduğunu göstermektedir (Roy, & Awasthi, 2019). Bu bütünleşik model, IL-9'u alerjik, otoimmün, enfeksiyöz ve neoplastik süreçler boyunca bağlama duyarlı bir immün-metabolik anahtar olarak konumlandırmaktadır.

Bu çalışma, IL-9'un CD39/CD73 ekseni üzerinden ATP/adenozin dengesi aracılığıyla T hücre davranışını modüle edebileceğini göstererek literatürde sınırlı sayıda ele alınmış bir bağlantıyı ortaya koymaktadır. Ayrıca, hücre canlılığı ve ana T hücre popülasyonlarının dengede kalması, gözlenen etkilerin doğrudan metabolik regülasyon mekanizmalarından kaynaklandığını düşündürmekte ve çalışmanın metodolojik açıdan güçlü yönlerinden birini oluşturmaktadır. Bununla birlikte, bazı sınırlılıkların göz önünde bulundurulması gerekmektedir. *In vitro* kültür modelleri, *in vivo* bağlamların karmaşıklığını tam olarak yansıtmayabilir. Ayrıca adenozin reseptör alt tiplerinin (örneğin A_2A, A_2B) işlevsel blokajlarının yapılmamış olması, IL-9'un etkilerinin bu reseptörler üzerinden nasıl şekillendiğini netleştirmeyi zorlaştırmaktadır. IL-9'un CD39/CD73 ekspresyonunu düzenleyen sinyal yolaklarının (örneğin STAT, cAMP/PKA, HIF-1α) doğrudan incelenmemesi de mekanistik boyutta daha derinlemesine araştırmalara ihtiyaç olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, perforin ve granzim düzeylerindeki değişikliklerin biyolojik önemini anlamak için hücresel öldürme aktiviteleri gibi ek fonksiyonel testlere ihtiyaç vardır. Bu sınırlılıklara rağmen, çalışmamız IL-9'un pürinerjik metabolizma ile T hücre yanıtlarını bütünleştiren yeni bir rolünü ortaya koymakta ve gelecekteki araştırmalar için önemli ipuçları sağlamaktadır.

Verilerimiz, IL-9'un CD39/CD73 ekseni aracılığıyla ATP/adenozin dengesini değiştirerek T hücre proliferasyonu, aktivasyonu, Treg alt grup dinamikleri ve sitokin/efektör molekül üretim profillerini yeniden şekillendirdiğini ortaya

koymaktadır. Bu immünoregülatör etkilerin yalnızca sitokin aracılı değil, aynı zamanda metabolik yeniden programlama ile ilişkili olduğu dikkat çekmektedir. Nitekim IL-9'un varlığında CD39 ve CD73 gibi ektonükleotidazların anlamlı düzeyde artış göstermesi, hücre dışı ATP'nin hızla adenozine dönüştürülmesini kolaylaştırmakta ve immünosüpresif bir mikroçevrenin oluşumuna katkı sağlamaktadır. IL-9'un özellikle Treg hücrelerde hem popülasyonel genişlemeyi hem de fonksiyonel kapasiteyi artırdığı, buna karşılık T hücrelerin sitotoksik yanıtlarını sınırlandırdığı anlaşılmaktadır. Bulgularımız, IL-9'un immün regülasyonun ve toleransın güçlendirilmesinde terapötik bir hedef olarak değerlendirilebileceğine dair klinik öneme sahip ikna edici kanıtlar sunmaktadır. Gelecekte *in vivo* modeller kullanılarak IL-9'un farklı bağışıklık bağlamlarında, örneğin otoimmün hastalıklar veya tümör mikroçevresi gibi durumlarda, bağışıklık yanıtlarını nasıl şekillendirdiğinin incelenmesi önemli olacaktır.

6. KAYNAKLAR

Acuña-Castillo, C., Escobar, A., García-Gómez, M., Bachelet, V. C., Huidobro-Toro, J. P., Sauma, D., & Barrera-Avalos, C. (2024). P2X7 receptor in dendritic cells and macrophages: implications in antigen presentation and T lymphocyte activation. International Journal of Molecular Sciences, 25(5), 2495.

Adinolfi, E., De Marchi, E., Orioli, E., Pegoraro, A., & Di Virgilio, F. (2019). Role of the P2X7 receptor in tumor-associated inflammation. Current Opinion in Pharmacology, 47, 59-64.

Afzali, S., Mohammadisoleimani, E., Mansoori, Y., Mohaghegh, P., Bahmanyar, M., Mansoori, B., ... & Moravej, A. (2023). The potential roles of Th17 cells in the pathogenesis of oral lichen planus. Inflammation Research, 72(7), 1513-1524.

Ahlmanner, F., Sundström, P., Akeus, P., Eklöf, J., Börjesson, L., Gustavsson, B., Lindskog, E. B., Raghavan, S., & Quiding-Järbrink, M. (2018). CD39+ regulatory T cells accumulate in colon adenocarcinomas and display markers of increased suppressive function. Oncotarget, 9(97), 36993–37007. https://doi.org/10.18632/oncotarget.26435

Allard, B., Allard, D., Buisseret, L., & Stagg, J. (2020). The adenozine pathway in immuno-oncology. Nature Reviews Clinical Oncology, 17(10), 611-629.

Allard, B., Longhi, M. S., Robson, S. C., & Stagg, J. (2017). The ectonucleotidases CD 39 and CD 73: novel checkpoint inhibitor targets. Immunological reviews, 276(1), 121-144.

Andrejew, R., Oliveira-Giacomelli, Á., Ribeiro, D. E., Glaser, T., Arnaud-Sampaio, V. F., Lameu, C., & Ulrich, H. (2020). The P2X7 receptor: central hub of brain diseases. Frontiers in Molecular Neuroscience, 13, 124.

Angkasekwinai, P., & Dong, C. (2021). IL-9-producing T cells: potential players in allergy and cancer. Nature Reviews Immunology, 21(1), 37-48.

Antonioli, L., Fornai, M., Blandizzi, C., Pacher, P., & Haskó, G. (2019). Adenozine signaling and the immune system: When a lot could be too much. Immunology letters, 205, 9-15.

Antonioli, L., Pacher, P., Vizi, E. S., & Haskó, G. (2013). CD39 and CD73 in immunity and inflammation. Trends in molecular medicine, 19(6), 355-367.

Arra, A., Lingel, H., Pierau, M., & Brunner-Weinzierl, M. C. (2023). PD-1 limits differentiation and plasticity of Tc17 cells. Frontiers in Immunology, 14, 1104730.

Bach, N., Winzer, R., Tolosa, E., Fiedler, W., & Brauneck, F. (2023). The clinical significance of CD73 in cancer. International Journal of Molecular Sciences, 24(14), 11759.

Badolati, I., Sverremark-Ekström, E., & van der Heiden, M. (2020). Th9 cells in allergic diseases: A role for the microbiota?. Scandinavian journal of immunology, 91(4), e12857.

Baghbani, E., Noorolyai, S., Shanehbandi, D., Mokhtarzadeh, A., Aghebati-Maleki, L., Shahgoli, V. K., ... Baradaran, B. (2021). Regulation of immune responses through CD39 and CD73 in cancer: Novel checkpoints. Life sciences, 282, 119826.

Bai, Z., Liu, Y., Zhao, Y., Yan, R., Yang, L., Ma, H., ... Wang, H. (2023). Aspirin ameliorates atherosclerotic immuno-inflammation through regulating the Treg/Th17 axis and CD39-CD73 adenozine signaling via remodeling the gut

microbiota in ApoE-/-mice. International immunopharmacology, 120, 110296.
Bao, X., Qin, Y., Lu, L., & Zheng, M. (2022). Transcriptional regulation of early T-lymphocyte development in thymus. Frontiers in Immunology, 13, 884569.
Baral, I., Baumer, Y., Burma, A., Falduto, G., Sylvester, M., & Schwartz, D. (2024). Th9-derived Interleukin-9 (IL-9) is a potential therapeutic target for inflammatory cardiovascular disease. The Journal of Immunology, 212(1_Supplement), 0992_4690-0992_4690.
Benevides, L., Costa, R. S., Tavares, L. A., Russo, M., Martins, G. A., da Silva, L. L. P., ... Silva, J. S. (2019). B lymphocyte–induced maturation protein 1 controls TH9 cell development, IL-9 production, and allergic inflammation. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 143(3), 1119-1130.
Boison, D., & Yegutkin, G. G. (2019). Adenozine metabolism: emerging concepts for cancer therapy. Cancer cell, 36(6), 582-596.
Bono, M. R., Fernández, D., Flores-Santibáñez, F., Rosemblatt, M., & Sauma, D. (2015). CD73 and CD39 ectonucleotidases in T cell differentiation: beyond immunosuppression. FEBS letters, 589(22), 3454-3460.
Bonora, M., Patergnani, S., Rimessi, A., De Marchi, E., Suski, J. M., Bononi, A., ... Pinton, P. (2012). ATP synthesis and storage. Purinergic signalling, 8(3), 343-357.
Borea, P. A., Gessi, S., Merighi, S., Vincenzi, F., & Varani, K. (2018). Pharmacology of adenozine receptors: the state of the art. Physiological reviews, 98(3), 1591-1625.
Bours, M. J., Dagnelie, P. C., Giuliani, A. L., Wesselius, A., & Di Virgilio, F. (2011). P2 receptors and extracellular ATP: a novel homeostatic pathway in inflammation. Front Biosci (Schol Ed), 3(4), 1443-56.
Boyce, A. K., & Swayne, L. A. (2017). P2X7 receptor cross-talk regulates ATP-induced pannexin 1 internalization. Biochemical Journal, 474(13), 2133-2144.
Campe, J., & Ullrich, E. (2022). T helper cell lineage-defining transcription factors: potent targets for specific GVHD therapy?. Frontiers in immunology, 12, 806529.
Campos Duran, J., Sayed, S., Knight, M., Dalalo, M., Conrey, P., Hay, C., ... Anderson, M. (2024). Amplified STAT3 increases expression of the CD39 ectoenzyme and impairs function of CD8+ T cells. The Journal of Immunology, 212(1_Supplement), 0800_6275-0800_6275.
Cao, Z., Wang, J., Liu, X., Liu, Y., Li, F., Liu, M., ... Jin, X. (2024). Helminth alleviates COVID-19-related cytokine storm in an IL-9-dependent way. Mbio, 15(6), e00905-24.
Casalegno Garduño, R., & Däbritz, J. (2021). New insights on CD8+ T cells in inflammatory bowel disease and therapeutic approaches. Frontiers in immunology, 12, 738762.
Chakraborty, S., Gupta, R., Kubatzky, K. F., Kar, S., Kraus, F. V., Souto-Carneiro, M. M., ... Mitra, D. K. (2023). Negative impact of Interleukin-9 on synovial regulatory T cells in rheumatoid arthritis. Clinical Immunology, 257, 109814.
Chakraborty, S., Kubatzky, K. F., & Mitra, D. K. (2019). An update on interleukin-9: from its cellular source and signal transduction to its role in immunopathogenesis. International journal of molecular sciences, 20(9), 2113.
Chekeni, F. B., Elliott, M. R., Sandilos, J. K., Walk, S. F., Kinchen, J. M., Lazarowski, E. R., ... Ravichandran, K. S. (2010). Pannexin 1 channels mediate 'find-me'signal release and membrane permeability during apoptosis. Nature, 467(7317), 863-

867.
Chen, J. F., Eltzschig, H. K., & Fredholm, B. B. (2013). Adenozine receptors as drug targets—what are the challenges?. Nature reviews Drug discovery, 12(4), 265-286.
Chen, T., Guo, J., Cai, Z., Li, B., Sun, L., Shen, Y., ... Ye, Z. (2020). Th9 cell differentiation and its dual effects in tumor development. Frontiers in immunology, 11, 1026.
Chen, W., Xu, Z., Xu, H., Ho, S. O., Yu, C., He, R., ... Tu, J. (2025). Th9-derived IL-9 in autoimmune diseases: An update. Life Sciences, 123720.
Choi, J., & Crotty, S. (2021). Bcl6-mediated transcriptional regulation of follicular helper T cells (TFH). Trends in immunology, 42(4), 336-349.
Chowdhury, K., Kumar, U., Das, S., Chaudhuri, J., Kumar, P., Kanjilal, M., ... Mitra, D. K. (2018). Synovial IL-9 facilitates neutrophil survival, function and differentiation of Th17 cells in rheumatoid arthritis. Arthritis research & therapy, 20(1), 18.
Christodoulou, M., Moysidou, E., Lioulios, G., Stai, S., Lazarou, C., Xochelli, A., ... Stangou, M. (2025). T-Follicular Helper Cells and Their Role in Autoimmune Diseases. Life, 15(4), 666.
Crotty, S. (2014). T follicular helper cell differentiation, function, and roles in disease. Immunity, 41(4), 529-542.
Dahl, G. (2015). ATP release through pannexon channels. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 370(1672), 20140191.
de Aguiar, M. P., & Vieira, J. H. (2024). Entrance to the multifaceted world of CD4+ T cell subsets. Exploration of Immunology, 4(2), 152-168.
Deaglio, S., Dwyer, K. M., Gao, W., Friedman, D., Usheva, A., Erat, A., ... Robson, S. C. (2007). Adenosine generation catalyzed by CD39 and CD73 expressed on regulatory T cells mediates immune suppression. The Journal of experimental medicine, 204(6), 1257-1265.
Deng, Y., Wang, Z., Chang, C., Lu, L., Lau, C. S., & Lu, Q. (2017). Th9 cells and IL-9 in autoimmune disorders: Pathogenesis and therapeutic potentials. Human immunology, 78(2), 120-128.
Di Virgilio, F., Sarti, A. C., Falzoni, S., De Marchi, E., & Adinolfi, E. (2018). Extracellular ATP and P2 purinergic signalling in the tumour microenvironment. Nature Reviews Cancer, 18(10), 601-618.
Di Virgilio, F., Vultaggio-Poma, V., Falzoni, S., & Giuliani, A. L. (2023). Extracellular ATP: A powerful inflammatory mediator in the central nervous system. Neuropharmacology, 224, 109333.
Doherty, T. A., & Broide, D. H. (2022). Insights into the biology of IL-9 in asthma. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 150(3), 585-586.
Donninelli, G., Saraf-Sinik, I., Mazziotti, V., Capone, A., Grasso, M. G., Battistini, L., ... Volpe, E. (2020). Interleukin-9 regulates macrophage activation in the progressive multiple sclerosis brain. Journal of neuroinflammation, 17(1), 149.
Do-Thi, V. A., Lee, J. O., Lee, H., & Kim, Y. S. (2020). Crosstalk between the Producers and Immune Targets of IL-9. Immune network, 20(6), e45. https://doi.org/10.4110/in.2020.20.e45
Dou, L., Chen, Y. F., Cowan, P. J., & Chen, X. P. (2018). Extracellular ATP signaling and clinical relevance. Clinical Immunology, 188, 67-73.
Doulabi, H., Masoumi, E., Rastin, M., Azarnaminy, A. F., Esmaeili, S. A., &

Mahmoudi, M. (2022). The role of Th22 cells, from tissue repair to cancer progression. Cytokine, 149, 155749.
Dwyer, K. M., Kishore, B. K., & Robson, S. C. (2020). Conversion of extracellular ATP into adenozine: a master switch in renal health and disease. Nature Reviews Nephrology, 16(9), 509-524.
Effendi, W. I., Nagano, T., Kobayashi, K., & Nishimura, Y. (2020). Focusing on adenozine receptors as a potential targeted therapy in human diseases. Cells, 9(3), 785.
Engel, T. (2023). The P2X7 receptor as a mechanistic biomarker for epilepsy. International Journal of Molecular Sciences, 24(6), 5410.
Englezou, P. C., Rothwell, S. W., Ainscough, J. S., Brough, D., Landsiedel, R., Verkhratsky, A., ... Dearman, R. J. (2015). P2X7R activation drives distinct IL-1 responses in dendritic cells compared to macrophages. Cytokine, 74(2), 293-304.
Eyerich, K., & Eyerich, S. (2015). Th22 cells in allergic disease. Allergo journal international, 24(1), 1-7.
Faas, M. M., Sáez, T., & De Vos, P. (2017). Extracellular ATP and adenozine: the Yin and Yang in immune responses?. Molecular Aspects of Medicine, 55, 9-19.
Fang, F., Cao, W., Mu, Y., Okuyama, H., Li, L., Qiu, J., ... Goronzy, J. J. (2022). IL-4 prevents adenosine-mediated immunoregulation by inhibiting CD39 expression. JCI insight, 7(12), e157509.
Feng, L. L., Cai, Y. Q., Zhu, M. C., Xing, L. J., & Wang, X. (2020). The yin and yang functions of extracellular ATP and adenozine in tumor immunity. Cancer cell international, 20(1), 110.
Feng, L. L., Gao, J. M., Li, P. P., & Wang, X. (2011). IL-9 contributes to immunosuppression mediated by regulatory T cells and mast cells in B-cell non-hodgkin's lymphoma. Journal of clinical immunology, 31(6), 1084-1094.
Fletcher, J. M., Lonergan, R., Costelloe, L., Kinsella, K., Moran, B., O'Farrelly, C., Tubridy, N., & Mills, K. H. (2009). CD39+Foxp3+ regulatory T Cells suppress pathogenic Th17 cells and are impaired in multiple sclerosis. Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950), 183(11), 7602–7610. https://doi.org/10.4049/jimmunol.0901881
Flippe, L., Bézie, S., Anegon, I., & Guillonneau, C. (2019). Future prospects for CD8+ regulatory T cells in immune tolerance. Immunological reviews, 292(1), 209-224.
Flores-Mendoza, G., Rodríguez-Rodríguez, N., Rubio, R. M., Madera-Salcedo, I. K., Rosetti, F., & Crispín, J. C. (2021). Fas/FasL signaling regulates CD8 expression during exposure to self-antigens. Frontiers in immunology, 12, 635862.
Fox, A., Harland, K. L., Kedzierska, K., & Kelso, A. (2018). Exposure of human CD8+ T cells to type-2 cytokines impairs division and differentiation and induces limited polarization. Frontiers in immunology, 9, 1141.
Freudenberg, K., Lindner, N., Dohnke, S., Garbe, A. I., Schallenberg, S., & Kretschmer, K. (2018). Critical role of TGF-β and IL-2 receptor signaling in Foxp3 induction by an inhibitor of DNA methylation. Frontiers in immunology, 9, 125.
Friedman, M. J., Lee, H., Lee, J. Y., & Oh, S. (2023). Transcriptional and epigenetic regulation of context-dependent plasticity in T-helper lineages. Immune Network, 23(1), e5.
Fu, Y., Wang, J., Zhou, B., Pajulas, A., Gao, H., Ramdas, B., ... Kaplan, M. H. (2022). An IL-9–pulmonary macrophage axis defines the allergic lung inflammatory

environment. Science immunology, 7(68), eabi9768.
Galluzzi, L., Vitale, I., Aaronson, S. A., Abrams, J. M., Adam, D., Agostinis, P., ... Turk, B. (2018). Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. Cell Death & Differentiation, 25(3), 486-541.
Gang, H., Peng, D., Hu, Y., Tang, S., Li, S., & Huang, Q. (2021). Interleukin-9-secreting CD4+ T cells regulate CD8+ T cells cytotoxicity in patients with acute coronary syndromes. Apmis, 129(2), 91-102.
Garcia-Garcia, L., Ollé, L., Martín, M., Roca-Ferrer, J., & Muñoz-Cano, R. (2021). Adenosine Signaling in Mast Cells and Allergic Diseases. International Journal of Molecular Sciences, 22. https://doi.org/10.3390/ijms22105203.
Gartlan, K. H., Markey, K. A., Varelias, A., Bunting, M. D., Koyama, M., Kuns, R. D., ... Hill, G. R. (2015). Tc17 cells are a proinflammatory, plastic lineage of pathogenic CD8+ T cells that induce GVHD without antileukemic effects. Blood, The Journal of the American Society of Hematology, 126(13), 1609-1620.
Georgiev, P., Charbonnier, L. M., & Chatila, T. A. (2019). Regulatory T cells: the many faces of Foxp3. Journal of clinical immunology, 39(7), 623-640.
Gerlach, K., & Weigmann, B. (2019). The dichotomous function of interleukin-9 in cancer diseases. Journal of Molecular Medicine, 97(10), 1377-1383.
Glaser, T., Resende, R. R., & Ulrich, H. (2013). Implications of purinergic receptor-mediated intracellular calcium transients in neural differentiation. Cell Communication and Signaling, 11(1), 12.
Gohal, G., Moni, S. S., Bakkari, M. A., & Elmobark, M. E. (2024). A review on asthma and allergy: current understanding on molecular perspectives. Journal of Clinical Medicine, 13(19), 5775.
Goronzy, J. J., & Weyand, C. M. (2008). T-cell co-stimulatory pathways in autoimmunity. Arthritis research & therapy, 10(Suppl 1), S3.
Grol, M. W., Pereverzev, A., Sims, S. M., & Dixon, S. J. (2013). P2 receptor networks regulate signaling duration over a wide dynamic range of ATP concentrations. Journal of cell science, 126(16), 3615-3626.
Guadalupi, L., Vanni, V., Balletta, S., Caioli, S., De Vito, F., Fresegna, D., ... Musella, A. (2024). Interleukin-9 protects from microglia-and TNF-mediated synaptotoxicity in experimental multiple sclerosis. Journal of neuroinflammation, 21(1), 128.
Haghshenas, M. R., Khademi, B., Ashraf, M. J., Ghaderi, A., & Erfani, N. (2016). Helper and cytotoxic T-cell subsets (Th1, Th2, Tc1, and Tc2) in benign and malignant salivary gland tumors. Oral Diseases, 22(6), 566-572.
Hardie, D. G. (2015). AMPK: positive and negative regulation, and its role in whole-body energy homeostasis. Current opinion in cell biology, 33, 1-7.
Hattori, M., & Gouaux, E. (2012). Molecular mechanism of ATP binding and ion channel activation in P2X receptors. Nature, 485(7397), 207-212.
Heim, L., Yang, Z., Tausche, P., Hohenberger, K., Chiriac, M. T., Koelle, J., ... Finotto, S. (2022). IL-9 producing tumor-infiltrating lymphocytes and Treg subsets drive immune escape of tumor cells in non-small cell lung cancer. Frontiers in Immunology, 13, 859738.
Hesse, J., Siekierka-Harreis, M., Steckel, B., Alter, C., Schallehn, M., Honke, N., ... Pongratz, G. (2021). Profound inhibition of CD73-dependent formation of anti-inflammatory adenosine in B cells of SLE patients. EBioMedicine, 73.

Hinks, T. S., Hoyle, R. D., & Gelfand, E. W. (2019). CD8+ Tc2 cells: underappreciated contributors to severe asthma. European Respiratory Review, 28(154).
Hoang, T. T., Ichinose, K., Morimoto, S., Furukawa, K., Le, L. H., & Kawakami, A. (2022). Measurement of anti-suprabasin antibodies, multiple cytokines and chemokines as potential predictive biomarkers for neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. Clinical Immunology, 237, 108980.
Hogquist, K. A., Xing, Y., Hsu, F. C., & Shapiro, V. S. (2015). T cell adolescence: maturation events beyond positive selection. The Journal of Immunology, 195(4), 1351-1357.
Honing, D. Y., Luiten, R. M., & Matos, T. R. (2024). Regulatory T cell dysfunction in autoimmune diseases. International Journal of Molecular Sciences, 25(13), 7171.
Hori, S. (2014). Lineage stability and phenotypic plasticity of Foxp3+ regulatory T cells. Immunological reviews, 259(1), 159-172.
Howell, I., Howell, A., & Pavord, I. D. (2023). Type 2 inflammation and biological therapies in asthma: Targeted medicine taking flight. Journal of Experimental Medicine, 220(7), e20221212.
Hu, T., Liu, C. H., Lei, M., Zeng, Q., Li, L., Tang, H., & Zhang, N. (2024). Metabolic regulation of the immune system in health and diseases: mechanisms and interventions. Signal Transduction and Targeted Therapy, 9(1), 268.
Huang, H., Hao, S., Li, F., Ye, Z., Yang, J., & Xiang, J. (2007). CD4+ Th1 cells promote CD8+ Tc1 cell survival, memory response, tumor localization and therapy by targeted delivery of interleukin 2 via acquired pMHC I complexes. Immunology, 120(2), 148-159.
Huang, T., Ren, X., Tang, X., Wang, Y., Ji, R., Guo, Q., ... Zhou, Y. (2024). Current perspectives and trends of CD39-CD73-eAdo/A2aR research in tumor microenvironment: a bibliometric analysis. Frontiers in Immunology, 15, 1427380.
Hübner, M. P., de Coninck, D., Lenz, B., Surendar, J., Koschel, M., Gandjui, N. V. T., ... Karunakaran, I. (2025). The role of the IL-9–NLRP3 axis in insulin resistance and adipose tissue inflammation during diet-induced obesity. Cellular & Molecular Immunology, 1-13.
Idzko, M., Ferrari, D., & Eltzschig, H. K. (2014). Nucleotide signalling during inflammation. Nature, 509(7500), 310-317.
Jacobson, K. A., Delicado, E. G., Gachet, C., Kennedy, C., von Kügelgen, I., Li, B., ... Müller, C. E. (2020). Update of P2Y receptor pharmacology: IUPHAR Review 27. British Journal of Pharmacology, 177(11), 2413-2433.
Jafarzadeh, A., Khorramdelazad, H., Jafarzadeh, Z., & Nemati, M. (2025). A reappraisal of the contribution of Th9 cells and interleukin-9 to the pathogenesis of rheumatoid arthritis. Human Immunology, 86(4), 111343.
Jiang, H., Limsuwannarot, S., Kulhanek, K. R., Pal, A., Labiad, O., Rysavy, L. W., ... Kalbasi, A. (2025). IL-9 as a naturally orthogonal cytokine with optimal JAK/STAT signaling for engineered T cell therapy. Immunity.
Jiang, Q., Yang, G., Xiao, F., Xie, J., Wang, S., Lu, L., & Cui, D. (2021). Role of Th22 cells in the pathogenesis of autoimmune diseases. Frontiers in immunology, 12, 688066.
Jiang, W., Yuan, X., Zhu, H., He, C., Ge, C., Tang, Q., ... Ma, T. (2020). Inhibition of histone H3K27 acetylation orchestrates interleukin-9-mediated and plays an anti-inflammatory role in cisplatin-induced acute kidney injury. Frontiers in

Immunology, 11, 231.
Jiang, X., Wu, X., Xiao, Y., Wang, P., Zheng, J., Wu, X., & Jin, Z. (2023). The ectonucleotidases CD39 and CD73 on T cells: The new pillar of hematological malignancy. Frontiers in immunology, 14, 1110325.
Josefowicz, S. Z., Niec, R. E., Kim, H. Y., Treuting, P., Chinen, T., Zheng, Y., ... Rudensky, A. Y. (2012). Extrathymically generated regulatory T cells control mucosal TH2 inflammation. Nature, 482(7385), 395-399.
Jubel, J. M., Barbati, Z. R., Burger, C., Wirtz, D. C., & Schildberg, F. A. (2020). The role of PD-1 in acute and chronic infection. Frontiers in immunology, 11, 487.
Junger, W. G. (2011). Immune cell regulation by autocrine purinergic signalling. Nature Reviews Immunology, 11(3), 201-212.
Kalbasi, A., Siurala, M., Su, L. L., Tariveranmoshabad, M., Picton, L. K., Ravikumar, P., ... Garcia, K. C. (2022). Potentiating adoptive cell therapy using synthetic IL-9 receptors. Nature, 607(7918), 360-365.
Kalim, M., Jing, R., Guo, W., Xing, H., & Lu, Y. (2024). Functional diversity and regulation of IL-9-producing T cells in cancer immunotherapy. Cancer Letters, 606, 217306.
Kaminuma, O., Kitamura, N., & Gotoh, M. (2025). Emerging Role and Function of Th9 Cells in Allergic Inflammation. Journal of Inflammation Research, 16385-16397.
Kazemi, M. H., Raoofi Mohseni, S., Hojjat-Farsangi, M., Anvari, E., Ghalamfarsa, G., Mohammadi, H., & Jadidi-Niaragh, F. (2018). Adenozine and adenozine receptors in the immunopathogenesis and treatment of cancer. Journal of Cellular Physiology, 233(3), 2032-2057.
Khakh, B. S. (2001). Molecular physiology of P2X receptors and ATP signalling at synapses. Nature Reviews Neuroscience, 2(3), 165-174.
Khakh, B. S., & Burnstock, G. (2009). The double life of ATP. Scientific American, 301(6), 84.
Khantakova, J. N., & Sennikov, S. V. (2023). T-helper cells flexibility: the possibility of reprogramming T cells fate. Frontiers in Immunology, 14, 1284178.
Kim, J. H., Kim, B. S., & Lee, S. K. (2020). Regulatory T cells in tumor microenvironment and approach for anticancer immunotherapy. Immune network, 20(1), e4.
Kitagawa, Y., Wing, J. B., & Sakaguchi, S. (2015). Transcriptional and epigenetic control of regulatory T cell development. Progress in Molecular Biology and Translational Science, 136, 1-33.
Kobayashi, D., Sugiura, Y., Umemoto, E., Takeda, A., Ueta, H., Hayasaka, H., ... Miyasaka, M. (2021). Extracellular ATP limits homeostatic T cell migration within lymph nodes. Frontiers in Immunology, 12, 786595.
Koch, S., Sopel, N., & Finotto, S. (2017). Th9 and other IL-9-producing cells in allergic asthma. In Seminars in immunopathology (Vol. 39, No. 1, pp. 55-68). Berlin/Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
Koh, C. H., Lee, S., Kwak, M., Kim, B. S., & Chung, Y. (2023). CD8 T-cell subsets: heterogeneity, functions, and therapeutic potential. Experimental & Molecular Medicine, 55(11), 2287-2299.
Kornberg M. D. (2020). The immunologic Warburg effect: Evidence and therapeutic opportunities in autoimmunity. Wiley interdisciplinary reviews. Systems biology and medicine, 12(5), e1486. https://doi.org/10.1002/wsbm.1486

Kumar, R., Theiss, A. L., & Venuprasad, K. (2021). RORγt protein modifications and IL-17-mediated inflammation. Trends in immunology, 42(11), 1037-1050.
Kumar, V. (2025). Cytotoxic T cells: Kill, memorize, and mask to maintain immune homeostasis. International Journal of Molecular Sciences, 26(18), 8788.
Kundu-Raychaudhuri, S., Abria, C., & Raychaudhuri, S. P. (2016). IL-9, a local growth factor for synovial T cells in inflammatory arthritis. Cytokine, 79, 45-51.
Kusakabe, Y., Ishihara, M., Umeda, T., Kuroda, D., Nakanishi, M., Kitade, Y., ... Tanaka, N. (2015). Structural insights into the reaction mechanism of S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase. Scientific reports, 5(1), 16641.
Laidlaw, B. J., Craft, J. E., & Kaech, S. M. (2016). The multifaceted role of CD4+ T cells in CD8+ T cell memory. Nature Reviews Immunology, 16(2), 102-111.
Latini, S., & Pedata, F. (2001). Adenozine in the central nervous system: release mechanisms and extracellular concentrations. Journal of neurochemistry, 79(3), 463-484.
Le Saos-Patrinos, C., Loizon, S., Blanco, P., Viallard, J. F., & Duluc, D. (2020). Functions of Tfh cells in common variable immunodeficiency. Frontiers in Immunology, 11, 6.
Lee, G. R. (2023). Molecular mechanisms of T helper cell differentiation and functional specialization. Immune Network, 23(1), e4.
Lee, J., Lozano-Ruiz, B., Yang, F. M., Fan, D. D., Shen, L., & González-Navajas, J. M. (2021). The multifaceted role of Th1, Th9, and Th17 cells in immune checkpoint inhibition therapy. Frontiers in immunology, 12, 625667.
Lee, Y. S., Wollam, J., & Olefsky, J. M. (2018). An integrated view of immunometabolism. Cell, 172(1), 22-40.
Leong, Y. A., Chen, Y., Ong, H. S., Wu, D., Man, K., Deleage, C., ... Yu, D. (2016). CXCR5+ follicular cytotoxic T cells control viral infection in B cell follicles. Nature immunology, 17(10), 1187-1196.
Li, Y., Wei, C., Xu, H., Jia, J., Wei, Z., Guo, R., ... Gao, X. (2018). The immunoregulation of Th17 in host against intracellular bacterial infection. Mediators of inflammation, 2018(1), 6587296.
Liang, Y., Pan, H. F., & Ye, D. Q. (2015). Tc17 cells in immunity and systemic autoimmunity. International reviews of immunology, 34(4), 318-331.
Lin, L., Roccuzzo, G., Yakymiv, Y., Marchisio, S., Ortolan, E., Funaro, A., ... Quaglino, P. (2025). The CD39/CD73/Adenozine and NAD/CD38/CD203a/CD73 Axis in Cutaneous T-Cell Lymphomas. Cells, 14(4), 309.
Lin, Z., Zou, S., & Wen, K. (2024). The crosstalk of CD8+ T cells and ferroptosis in cancer. Frontiers in Immunology, 14, 1255443.
Linden, J., Koch-Nolte, F., & Dahl, G. (2019). Purine release, metabolism, and signaling in the inflammatory response. Annual review of immunology, 37(1), 325-347.
Liu, C., Lan, Y., Liu, B., Zhang, H., & Hu, H. (2021). T cell development: old tales retold by single-cell RNA sequencing. Trends in Immunology, 42(2), 165-175.
Liu, X., Wu, W., Huang, H., Hao, Y., & Song, C. (2025). Regulatory mechanisms of Th9 cell differentiation. Frontiers in Immunology, 16, 1650972.
Liu, Y., Yang, B., Ma, J., Wang, H., Huang, F., Zhang, J., ... Wu, C. (2011). Interleukin-21 induces the differentiation of human Tc22 cells via phosphorylation of signal transducers and activators of transcription.

Immunology, 132(4), 540-548.
Lohman, A. W., & Isakson, B. E. (2014). Differentiating connexin hemichannels and pannexin channels in cellular ATP release. FEBS letters, 588(8), 1379-1388.
Lückel, C., Picard, F. S., & Huber, M. (2020). Tc17 biology and function: Novel concepts. European Journal of Immunology, 50(9), 1257-1267.
Luo, S., Larson, J. H., Blazar, B. R., Abdi, R., & Bromberg, J. S. (2025). Foxp3+ CD8+ regulatory T cells: bona fide Tregs with cytotoxic function. Trends in Immunology.
Lv, Y., Ricard, L., Gaugler, B., Huang, H., & Ye, Y. (2022). Biology and clinical relevance of follicular cytotoxic T cells. Frontiers in Immunology, 13, 1036616.
Lyu, J., Narum, D. E., Baldwin, S. L., Larsen, S. E., Bai, X., Griffith, D. E., ... Chan, E. D. (2024). Understanding the development of tuberculous granulomas: insights into host protection and pathogenesis, a review in humans and animals. Frontiers in Immunology, 15, 1427559.
Ma, J., Shi, L. L., Deng, Y. K., Wang, H., Cao, P. P., Long, X. B., ... Liu, Z. (2016). CD 8+ T cells with distinct cytokine-producing features and low cytotoxic activity in eosinophilic and non-eosinophilic chronic rhinosinusitis with nasal polyps. Clinical & Experimental Allergy, 46(9), 1162-1175.
Ma, S., Ming, Y., Wu, J., & Cui, G. (2024). Cellular metabolism regulates the differentiation and function of T-cell subsets. Cellular & Molecular Immunology, 21(5), 419-435.
Madi, L., Ochaion, A., Rath-Wolfson, L., Bar-Yehuda, S., Erlanger, A., Ohana, G., ... Fishman, P. (2004). The A3 adenozine receptor is highly expressed in tumor versus normal cells: potential target for tumor growth inhibition. Clinical cancer research, 10(13), 4472-4479.
Mao, C., Yeh, S., Fu, J., Porosnicu, M., Thomas, A., Kucera, G. L., ... Ming, X. (2022). Delivery of an ectonucleotidase inhibitor with ROS-responsive nanoparticles overcomes adenozine-mediated cancer immunosuppression. Science translational medicine, 14(648), eabh1261.
Marathe, S., Dhamija, B., Kumar, S., Jain, N., Ghosh, S., Dharikar, J. P., ... Purwar, R. (2021). Multiomics analysis and systems biology integration identifies the roles of IL-9 in keratinocyte metabolic reprogramming. Journal of Investigative Dermatology, 141(8), 1932-1942.
McKinstry, K. K., Strutt, T. M., & Swain, S. L. (2010). The potential of CD4 T-cell memory. Immunology, 130(1), 1-9.
Mello, P. D. A., Filippi-Chiela, E. C., Nascimento, J., Beckenkamp, A., Santana, D. B., Kipper, F., ... Buffon, A. (2014). Adenozine uptake is the major effector of extracellular ATP toxicity in human cervical cancer cells. Molecular biology of the cell, 25(19), 2905-2918.
Merino, K. M., Jazwinski, S. M., & Rout, N. (2021). Th17-type immunity and inflammation of aging. Aging (Albany NY), 13(10), 13378.
Mittrücker, H. W., Visekruna, A., & Huber, M. (2014). Heterogeneity in the differentiation and function of CD8+ T cells. Archivum immunologiae et therapiae experimentalis, 62(6), 449-458.
Molina-Arcas, M., Casado, F. J., & Pastor-Anglada, M. (2009). Nucleoside transporter proteins. Current vascular pharmacology, 7(4), 426-434.
Moriyama, Y., Hiasa, M., Sakamoto, S., Omote, H., & Nomura, M. (2017). Vesicular nucleotide transporter (VNUT): appearance of an actress on the stage of

purinergic signaling. Purinergic signalling, 13(3), 387-404.
Mukherjee, D., Marathe, S., Attrish, D., Sawant, V., Dhamija, B., Kumar, S., ... Purwar, R. (2025). IL-9 Promotes Migratory Dissemination of Malignant T Cells by Activating the HIF-1α–Cofilin-1 Axis in Cutaneous T-cell Lymphoma. Molecular Cancer Research, OF1-OF15.
Muñoz-Cano, R., Bartolomé, S., Casas-Saucedo, R., Araujo, G., Gelis, S., Ruano-Zaragoza, M., Roca-Ferrer, J., Palomares, F., Martín, M., Bartra, J., & Pascal, M. (2021). Immune-Mediated Mechanisms in Cofactor-Dependent Food Allergy and Anaphylaxis: Effect of Cofactors in Basophils and Mast Cells. Frontiers in Immunology, 11. https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.623071.
Noble, A., Mehta, H., Lovell, A., Papaioannou, E., & Fairbanks, L. (2016). IL-12 and IL-4 activate a CD39-dependent intrinsic peripheral tolerance mechanism in CD8+ T cells. European journal of immunology, 46(6), 1438-1448.
Oberholtzer, N., Quinn, K. M., Chakraborty, P., & Mehrotra, S. (2022). New developments in T cell immunometabolism and implications for cancer immunotherapy. Cells, 11(4), 708.
O'Neill, L. A., & Pearce, E. J. (2016). Immunometabolism governs dendritic cell and macrophage function. Journal of Experimental Medicine, 213(1), 15-23.
O'Neill, L. A., Kishton, R. J., & Rathmell, J. (2016). A guide to immunometabolism for immunologists. Nature reviews immunology, 16(9), 553-565.
O'Shea, J. J., Schwartz, D. M., Villarino, A. V., Gadina, M., McInnes, I. B., & Laurence, A. (2015). The JAK-STAT pathway: impact on human disease and therapeutic intervention. Annual review of medicine, 66(1), 311-328.
Ouyang, H., Shi, Y., Liu, Z., Feng, S., Li, L., Su, N., ... Kong, S. (2013). Increased interleukin-9 and CD4+ IL-9+ T cells in patients with systemic lupus erythematosus. Molecular medicine reports, 7(3), 1031-1037.
Pajulas, A., Zhang, J., & Kaplan, M. H. (2023). The World according to IL-9. Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950), 211(1), 7–14. https://doi.org/10.4049/jimmunol.2300094
Pålsson-McDermott, E. M., & O'Neill, L. A. (2020). Targeting immunometabolism as an anti-inflammatory strategy. Cell research, 30(4), 300-314.
Palsson-McDermott, E. M., & O'Neill, L. A. (2013). The Warburg effect then and now: from cancer to inflammatory diseases. BioEssays : news and reviews in molecular, cellular and developmental biology, 35(11), 965–973. https://doi.org/10.1002/bies.201300084
Park, S. (2025). CD8 T cell dynamics and immune cell trafficking in ZIKV infection: implications for neuroinflammation and therapy. Virology Journal, 22(1), 242.
Patergnani, S., Baldassari, F., De Marchi, E., Karkucinska-Wieckowska, A., Wieckowski, M. R., & Pinton, P. (2014). Methods to monitor and compare mitochondrial and glycolytic ATP production. In Methods in enzymology (Vol. 542, pp. 313-332). Academic Press.
Patrussi, L., Capitani, N., & Baldari, C. T. (2021). Interleukin (IL)-9 supports the tumor-promoting environment of chronic lymphocytic leukemia. Cancers, 13(24), 6301.
Paul, M. S., & Ohashi, P. S. (2020). The roles of CD8+ T cell subsets in antitumor immunity. Trends in cell biology, 30(9), 695-704.
Peesari, S., & McAleer, J. P. (2025). Metabolic regulation of Th9 cell differentiation: insights for IL-9-driven diseases. Frontiers in Immunology, 16, 1672072.

Peng, Y., Deng, X., Zeng, Q., & Tang, Y. (2022). Tc17 cells in autoimmune diseases. Chinese medical journal, 135(18), 2167-2177.
Pimentel, J. M., Zhou, J. Y., & Wu, G. S. (2023). The role of TRAIL in apoptosis and immunosurveillance in cancer. Cancers, 15(10), 2752.
Piskin, G., de Boer, O. J., van der Loos, C. M., Teeling, P., Bos, J. D., & Teunissen, M. B. (2010). Overrepresentation of IL-17A and IL-22 producing CD8 T cells in lesional skin suggests their involvement in the pathogenesis of psoriasis. PloS one, 5(11), e14108.
Purwar, R., Schlapbach, C., Xiao, S., Kang, H. S., Elyaman, W., Jiang, X., ... Kupper, T. S. (2012). Robust tumor immunity to melanoma mediated by interleukin-9–producing T cells. Nature medicine, 18(8), 1248-1253.
Quigley, M. F., Gonzalez, V. D., Granath, A., Andersson, J., & Sandberg, J. K. (2007). CXCR5+ CCR7–CD8 T cells are early effector memory cells that infiltrate tonsil B cell follicles. European journal of immunology, 37(12), 3352-3362.
Radziszewska, A., Moulder, Z., Jury, E. C., & Ciurtin, C. (2022). CD8+ T cell phenotype and function in childhood and adult-onset connective tissue disease. International Journal of Molecular Sciences, 23(19), 11431.
Rao, G., Mack, C. D., Nguyen, T., Wong, N., Payne, K., Worley, L., ... Ma, C. S. (2025). Inborn errors of immunity reveal molecular requirements for generation and maintenance of human CD4+ IL-9–expressing cells. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 155(4), 1161-1178.
Raphael, I., Nalawade, S., Eagar, T. N., & Forsthuber, T. G. (2015). T cell subsets and their signature cytokines in autoimmune and inflammatory diseases. Cytokine, 74(1), 5-17.
Rauber, S., Luber, M., Weber, S., Maul, L., Soare, A., Wohlfahrt, T., ... Ramming, A. (2017). Resolution of inflammation by interleukin-9-producing type 2 innate lymphoid cells. Nature medicine, 23(8), 938-944.
Reza, M. I., & Ambhore, N. S. (2025). Inflammation in Asthma: Mechanistic Insights and the Role of Biologics in Therapeutic Frontiers. Biomedicines, 13(6), 1342.
Rizzuto, R., De Stefani, D., Raffaello, A., & Mammucari, C. (2012). Mitochondria as sensors and regulators of calcium signalling. Nature reviews Molecular cell biology, 13(9), 566-578.
Romano, M., Tung, S. L., Smyth, L. A., & Lombardi, G. (2017). Treg therapy in transplantation: a general overview. Transplant International, 30(8), 745-753.
Roy, S., & Awasthi, A. (2019). ATP triggers human Th9 cell differentiation via nitric oxide-mediated mTOR-HIF1α pathway. Frontiers in Immunology, 10, 1120.
Rudich, N., Ravid, K., & Sagi-Eisenberg, R. (2012). Mast cell adenosine receptors function: a focus on the a3 adenosine receptor and inflammation. Frontiers in immunology, 3, 134.
Saini, A., Patel, R., Gaba, S., Singh, G., Gupta, G. D., & Monga, V. (2022). Adenozine receptor antagonists: Recent advances and therapeutic perspective. European journal of medicinal chemistry, 227, 113907.
Sapra, L., Saini, C., Sharma, S., Nanda, D., Nilakhe, A., Chattopadhyay, N., ... Srivastava, R. K. (2024). Targeting the osteoclastogenic cytokine IL-9 as a novel immunotherapeutic strategy in mitigating inflammatory bone loss in post-menopausal osteoporosis. JBMR plus, 8(11), ziae120.
Saravia, J., Raynor, J. L., Chapman, N. M., Lim, S. A., & Chi, H. (2020). Signaling networks in immunometabolism. Cell research, 30(4), 328-342.

Schiele, P., Japp, A. S., Stark, R., Sattelberg, J. J., Nikolaou, C., Kornhuber, G., ... Frentsch, M. (2025). CD8+ T cell–derived CD40L mediates noncanonical cytotoxicity in CD40-expressing cancer cells. Science Advances, 11(21), eadr9331.

Schiering, C., Vonk, A., Das, S., Stockinger, B., & Wincent, E. (2018). Cytochrome P4501-inhibiting chemicals amplify aryl hydrocarbon receptor activation and IL-22 production in T helper 17 cells. Biochemical pharmacology, 151, 47-58.

Schmidt, A., Eriksson, M., Shang, M. M., Weyd, H., & Tegnér, J. (2016). Comparative analysis of protocols to induce human CD4+ Foxp3+ regulatory T cells by combinations of IL-2, TGF-beta, retinoic acid, rapamycin and butyrate. PloS one, 11(2), e0148474.

Sei, J. J., Haskett, S., Kaminsky, L. W., Lin, E., Truckenmiller, M. E., Bellone, C. J., ... Norbury, C. C. (2015). Peptide-MHC-I from endogenous antigen outnumber those from exogenous antigen, irrespective of APC phenotype or activation. PLoS pathogens, 11(6), e1004941.

Shanmuganathan, G., Orujyan, D., Narinyan, W., Poladian, N., Dhama, S., Parthasarathy, A., ... Venketaraman, V. (2022). Role of interferons in Mycobacterium tuberculosis infection. Clinics and Practice, 12(5), 788-796.

Sheikh, A. A., & Groom, J. R. (2021). Transcription tipping points for T follicular helper cell and T-helper 1 cell fate commitment. Cellular & Molecular Immunology, 18(3), 528-538.

Sheth, S., Brito, R., Mukherjea, D., Rybak, L. P., & Ramkumar, V. (2014). Adenozine receptors: expression, function and regulation. International journal of molecular sciences, 15(2), 2024-2052.

Shi, M., Ye, L., Zhao, L., He, L., Chen, J., Zhang, J., ... Yang, Z. (2024). Tumor derived exosomal ENTPD2 impair CD8+ T cell function in colon cancer through ATP-adenozine metabolism reprogramming. Cell Communication and Signaling, 22(1), 274.

Shin, J. H., Kim, D. H., Kim, B. Y., Kim, S. W., Hwang, S. H., Lee, J., & Kim, S. W. (2017). Anti-interleukin-9 antibody increases the effect of allergen-specific immunotherapy in murine allergic rhinitis. Allergy, asthma & immunology research, 9(3), 237-246.

Simon, P. S., Bardhan, K., Chen, M. R., Paschall, A. V., Lu, C., Bollag, R. J., ... Liu, K. (2016). NF-κB functions as a molecular link between tumor cells and Th1/Tc1 T cells in the tumor microenvironment to exert radiation-mediated tumor suppression. Oncotarget, 7(17), 23395.

Son, A., Baral, I., Falduto, G. H., & Schwartz, D. M. (2024). Locus of (IL-9) control: IL9 epigenetic regulation in cellular function and human disease. Experimental & Molecular Medicine, 56(6), 1331-1339.

St. Paul, M., Saibil, S. D., Lien, S. C., Han, S., Sayad, A., Mulder, D. T., ... Ohashi, P. S. (2020). IL6 induces an IL22+ CD8+ T-cell subset with potent antitumor function. Cancer immunology research, 8(3), 321-333.

Su, J., Xie, Q., Xu, Y., Li, X. C., & Dai, Z. (2014). Role of CD8+ regulatory T cells in organ transplantation. Burns & trauma, 2(1), 2321-3868.

Sumi, Y., Woehrle, T., Chen, Y., Yao, Y., Li, A., & Junger, W. G. (2010). Adrenergic receptor activation involves ATP release and feedback through purinergic receptors. American Journal of Physiology-Cell Physiology, 299(5), C1118-C1126.

Sun, L., Su, Y., Jiao, A., Wang, X., & Zhang, B. (2023). T cells in health and disease. Signal transduction and targeted therapy, 8(1), 235.
Szeto, A. C., Ferreira, A. C., & McKenzie, A. N. (2024). Molecular mechanisms regulating T helper 2 cell differentiation and function. Current opinion in immunology, 91, 102483.
Tan, H., Wang, S., & Zhao, L. (2017). A tumour-promoting role of Th9 cells in hepatocellular carcinoma through CCL20 and STAT3 pathways. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology, 44(2), 213-221.
Tarasov, A. I., Griffiths, E. J., & Rutter, G. A. (2012). Regulation of ATP production by mitochondrial Ca2+. Cell calcium, 52(1), 28-35.
Trabanelli, S., Očadlíková, D., Gulinelli, S., Curti, A., Salvestrini, V., de Paula Vieira, R., ... Lemoli, R. M. (2012). Extracellular ATP exerts opposite effects on activated and regulatory CD4+ T cells via purinergic P2 receptor activation. The Journal of Immunology, 189(3), 1303-1310.
Tu, J., Chen, W., Huang, W., Wang, X., Fang, Y., Wu, X., ... Wei, W. (2024). Positive feedback loop PU. 1-IL9 in Th9 promotes rheumatoid arthritis development. Annals of the Rheumatic Diseases, 83(12), 1707-1721.
Tufa, D. M., Hoffmeyer, E., Schaller, K. L., Kooiman, B., Woods, E., Wang, D., ... Verneris, M. R. (2025). Innate Lymphoid Cells Prevent Graft vs. Host Disease Via IL-9 Driven T cell Senescence. Blood.
van der Vliet, H. J., & Nieuwenhuis, E. E. (2007). IPEX as a result of mutations in FOXP3. Journal of Immunology Research, 2007(1), 089017.
Vieyra-Lobato, M. R., Vela-Ojeda, J., Montiel-Cervantes, L., López-Santiago, R., & Moreno-Lafont, M. C. (2018). Description of CD8+ regulatory T lymphocytes and their specific intervention in graft-versus-host and infectious diseases, autoimmunity, and cancer. Journal of immunology research, 2018(1), 3758713.
Vijayan, D., Young, A., Teng, M. W., & Smyth, M. J. (2017). Targeting immunosuppressive adenozine in cancer. Nature Reviews Cancer, 17(12), 709-724.
Vincenzi, F., Pasquini, S., Borea, P. A., & Varani, K. (2020). Targeting adenozine receptors: a potential pharmacological avenue for acute and chronic pain. International Journal of Molecular Sciences, 21(22), 8710.
Visekruna, A., Ritter, J., Scholz, T., Campos, L., Guralnik, A., Poncette, L., ... Huber, M. (2013). Tc9 cells, a new subset of CD8+ T cells, support Th2-mediated airway inflammation. European journal of immunology, 43(3), 606-618.
Voss, K., Hong, H. S., Bader, J. E., Sugiura, A., Lyssiotis, C. A., & Rathmell, J. C. (2021). A guide to interrogating immunometabolism. Nature Reviews Immunology, 21(10), 637-652.
Vuerich, M., Nguyen, D. H., Ferrari, D., & Longhi, M. S. (2024). Adenozine-mediated immune responses in inflammatory bowel disease. Frontiers in cell and developmental biology, 12, 1429736.
Vuttaradhi, V. K., Vermelle, C. M., Choi, J. Y., Niu, L., Tang, X., Azzi, J. R., & Cantor, H. (2025). CD8+ Regulatory T Cells. Annual Review of Immunology, 44.
Waickman, A. T., & Powell, J. D. (2012). mTOR, metabolism, and the regulation of T-cell differentiation and function. Immunological reviews, 249(1), 43-58.
Wan, J., Wu, Y., Ji, X., Huang, L., Cai, W., Su, Z., ... Xu, H. (2020). IL-9 and IL-9-producing cells in tumor immunity. Cell Communication and Signaling, 18(1), 50.
Wang, B., Zhou, A., Pan, Q., Li, Y., Xi, Z., He, K., ... & Xia, Q. (2024). Adenosinergic

metabolism pathway: an emerging target for improving outcomes of solid organ transplantation. Translational Research, 263, 93-101.
Wang, J., Zhao, X., & Wan, Y. Y. (2023). Intricacies of TGF-β signaling in Treg and Th17 cell biology. Cellular & molecular immunology, 20(9), 1002-1022.
Wang, S., Gao, S., Zhou, D., Qian, X., Luan, J., & Lv, X. (2021). The role of the CD39–CD73–adenozine pathway in liver disease. Journal of Cellular Physiology, 236(2), 851-862.
Wang, W., Cheng, Z. S., Chen, Y. F., & Lin, Y. H. (2016). Increased circulating IL-9-producing CD8+ T cells are associated with eosinophilia and high FeNO in allergic asthmatics. Experimental and therapeutic medicine, 12(6), 4055-4060.
Wilson, C. B., Rowell, E., & Sekimata, M. (2009). Epigenetic control of T-helper-cell differentiation. Nature reviews immunology, 9(2), 91-105.
Wing, J. B., Tanaka, A., & Sakaguchi, S. (2019). Human FOXP3+ regulatory T cell heterogeneity and function in autoimmunity and cancer. Immunity, 50(2), 302-316.
Winzer, R., Nguyen, D. H., Schoppmeier, F., Cortesi, F., Gagliani, N., & Tolosa, E. (2024). Purinergic enzymes on extracellular vesicles: Immune modulation on the go. Frontiers in Immunology, 15, 1362996.
Wynn, T. A. (2015). Type 2 cytokines: mechanisms and therapeutic strategies. Nature Reviews Immunology, 15(5), 271-282.
Xiao, L., Ma, X., Ye, L., Su, P., Xiong, W., Bi, E., ... Yi, Q. (2022). IL-9/STAT3/fatty acid oxidation–mediated lipid peroxidation contributes to Tc9 cell longevity and enhanced antitumor activity. The Journal of Clinical Investigation, 132(7).
Xing, Y., Wang, X., Jameson, S. C., & Hogquist, K. A. (2016). Late stages of T cell maturation in the thymus involve NF-κB and tonic type I interferon signaling. Nature immunology, 17(5), 565-573.
Yang, R., Zeng, X., Alimu, X., & Qu, J. (2025). Impact of innate lymphoid cell type 2 in chronic lymphocytic leukemia on the function of treg and CD8+ T cells through IL-9. Cancer Immunology, Immunotherapy, 74(7), 228.
Yang, S., Chen, J., Zhang, H., Jiang, Y., Qin, T., Gao, S., ... Wang, S. (2020). TNF-a is a potent stimulator of Tc9-cell differentiation. Journal of Immunotherapy, 43(9), 265-272.
Yang, Z., & Ming, X. F. (2014). Functions of arginase isoforms in macrophage inflammatory responses: impact on cardiovascular diseases and metabolic disorders. Frontiers in immunology, 5, 533.
Yao, X., Zhao, J., Kong, Q., Xie, X., Wang, J., Sun, B., ... Li, H. (2018). Exogenous IL-9 ameliorates experimental autoimmune myasthenia gravis symptoms in rats. Immunological Investigations, 47(7), 712-724.10.1080/2162402X.2017.1320011
Yasmeen, F., Pirzada, R. H., Ahmad, B., Choi, B., & Choi, S. (2024). Understanding autoimmunity: mechanisms, predisposing factors, and cytokine therapies. International journal of molecular sciences, 25(14), 7666.
Yasuda, K., Takeuchi, Y., & Hirota, K. (2019, May). The pathogenicity of Th17 cells in autoimmune diseases. In Seminars in immunopathology (Vol. 41, No. 3, pp. 283-297). Berlin/Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
Ye, H., Zhao, J., Xu, X., Zhang, D., Shen, H., & Wang, S. (2023). Role of adenozine A2a receptor in cancers and autoimmune diseases. Immunity, inflammation and disease, 11(4), e826.
Yen, H. R., Harris, T. J., Wada, S., Grosso, J. F., Getnet, D., Goldberg, M. V., ... Drake,

C. G. (2009). Tc17 CD8 T cells: functional plasticity and subset diversity. The Journal of Immunology, 183(11), 7161-7168.
Yoganathan, K., Chen, E. L., Singh, J., & Zúñiga-Pflücker, J. C. (2019). T-cell development: from T-lineage specification to Intrathymic maturation. In Thymus Transcriptome and Cell Biology (pp. 67-115). Cham: Springer International Publishing.
Yoshimoto, T. (2018). The hunt for the source of primary interleukin-4: how we discovered that natural killer T cells and basophils determine T helper type 2 cell differentiation in vivo. Frontiers in immunology, 9, 716.
Young, J. D., Yao, S. Y., Baldwin, J. M., Cass, C. E., & Baldwin, S. A. (2013). The human concentrative and equilibrative nucleoside transporter families, SLC28 and SLC29. Molecular aspects of medicine, 34(2-3), 529-547.
Yu, D., & Ye, L. (2018). A portrait of CXCR5+ follicular cytotoxic CD8+ T cells. Trends in immunology, 39(12), 965-979.
Yu, Y., Ma, X., Gong, R., Zhu, J., Wei, L., & Yao, J. (2018). Recent advances in CD8+ regulatory T cell research. Oncology letters, 15(6), 8187-8194.
Zander, R., Schauder, D., Xin, G., Nguyen, C., Wu, X., Zajac, A., & Cui, W. (2019). CD4+ T cell help is required for the formation of a cytolytic CD8+ T cell subset that protects against chronic infection and cancer. Immunity, 51(6), 1028-1042.
Zeng, J., Ning, Z., Wang, Y., & Xiong, H. (2020). Implications of CD39 in immune-related diseases. International Immunopharmacology, 89, 107055.
Zhan, J., Huang, L., Niu, L., Lu, W., Sun, C., Liu, S., ... Li, E. (2024). Regulation of CD73 on NAD metabolism: Unravelling the interplay between tumour immunity and tumour metabolism. Cell Communication and Signaling, 22(1), 387.
Zhang, K., Chen, L., Zhu, C., Zhang, M., & Liang, C. (2023). Current knowledge of Th22 cell and IL-22 functions in infectious diseases. Pathogens, 12(2), 176.
Zhang, N., & Bevan, M. J. (2011). CD8+ T cells: foot soldiers of the immune system. Immunity, 35(2), 161-168.
Zhang, W., Tang, T., Nie, D., Wen, S., Jia, C., Zhu, Z., ... Cheng, X. (2015). IL-9 aggravates the development of atherosclerosis in ApoE−/− mice. Cardiovascular research, 106(3), 453-464.
Zhao, P., Xiao, X., Ghobrial, R. M., & Li, X. C. (2013). IL-9 and Th9 cells: progress and challenges. International immunology, 25(10), 547-551.
Zhao, Y., Liu, Z., Qin, L., Wang, T., & Bai, O. (2021). Insights into the mechanisms of Th17 differentiation and the Yin-Yang of Th17 cells in human diseases. Molecular Immunology, 134, 109-117.
Zhong, L., Peng, Q., & Zeng, X. (2022). The role of adenozine A1 receptor on immune cells. Inflammation Research, 71(10), 1203-1212.
Zhu, J., & Paul, W. E. (2008). CD4 T cells: fates, functions, and faults. Blood, 112(5), 1557-1569.
Zhu, J., Yamane, H., & Paul, W. E. (2010). Differentiation of effector CD4 T cell populations. Annual review of immunology, 28(1), 445-489.

7. SİMGELER VE KISALTMALAR

ADA	**:**	Adenozin deaminaz
ADP	**:**	Adenozin difosfat
AHÖ	**:**	Akan hücre ölçer
AhR	**:**	Aril hidrokarbon reseptörü
AMP	**:**	Adenozin monofosfat
AMPK	**:**	Amp ile aktive olan protein kinaz
ANT	**:**	Adenin nükleotit translokaz
Arg1	**:**	Arginaz-1
ASH	**:**	Antijen sunan hücre
ATP	**:**	Adenozin trifosfat
BCL6	**:**	B hücre lenfoma 6
cAMP	**:**	Siklik adenozin monofosfat
CCL	**:**	C-c motifli kemokin ligand
CNT	**:**	Konsantre edici nükleozit taşıyıcısı (concentrative nucleoside transporter)
CTLA-4	**:**	Sitotoksik t lenfosit ilişkili antijen 4
DAMP	**:**	Hasarla ilişkili moleküler patern
DH	**:**	Dendritik hücre
eATP	**:**	Ekstrasellüler ATP
ELISA	**:**	Enzim bağımlı immünosorbent yöntem
ERK	**:**	Ekstrasellüler sinyal ile düzenlenen kinaz
FAO	**:**	Yağ asidi oksidasyonu
FoxP3	**:**	Forkhead box p3
GM-CSF	**:**	Granülosit-makrofaj koloni stimüle edici faktör
GPI	**:**	Glikozil fosfatidilinositol
HIF-1α	**:**	Hipoksi ile indüklenen faktör-1 alfa
IDO	**:**	Indolamin 2,3-dioksijenaz
IFN-γ	**:**	Interferon gamma
IL-9R	**:**	Il-9 reseptörü
ILC	**:**	Doğal lenfoid hücre
IP_3	**:**	Inozitol 1,4,5-trifosfat
IPEX	**:**	Enteropati, x'e bağlı sendrom
IRF4	**:**	Interferon düzenleyici faktör 4
IRS	**:**	Insülin reseptör substratı
iNOS	**:**	Indüklenebilir nitrik oksit sentaz
iTreg	**:**	Indüklenemiş regülatör t
JAK	**:**	Janus kinaz
JNK	**:**	C-jun n-terminal kinaz
LTα	**:**	Lenfotoksin alfa
MAPK	**:**	Mitojenle aktive edilen protein kinaz
MDSC	**:**	Miyeloid kökenli baskılayıcı hücre

MHC	**:**	Büyük doku uyumluluk kompleksi (major histocompatibility complex)
MMP-9	**:**	Metalloproteinaz 9
mTOR	**:**	Rapamisinin mekanistik hedefi
NAD	**:**	Nikotinamid adenin dinükleotid
NADH	**:**	Indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid
NFATc1	**:**	Nükleer faktör aktive t hücreleri sitoplazmik 1
NF-κB	**:**	Nükleer faktör kappa b
NKT	**:**	Doğal öldürücü t
NLRP3	**:**	Nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon alanı benzeri reseptör ailesi, pirin alanı içeren 3
NO	**:**	Nitrik oksit
OXPHOS	**:**	Oksidatif fosforilasyon
PD-1	**:**	Programlanmış hücre ölüm proteini 1
PGE_2	**:**	Prostaglandin E_2
PI3K	**:**	Fosfatidilinozitol 3-kinaz
PIAS	**:**	Aktif stat'ın protein inhibitörü
PKMH	**:**	Periferik kan mononükleer hücreleri
PU.1	**:**	Purine-rich box 1
RAG	**:**	Rekombinant aktive edici gen
rIL-9	**:**	Rekombinant IL-9
RORγt	**:**	Retinoik asit reseptörü ile ilişkili yetim reseptör gamma t
ROS	**:**	Reaktif oksijen türleri
SAH	**:**	*S*-adenosyl-l-homocysteine
SOCS	**:**	Sitokin sinyallemesinin baskılayıcısı
STAT	**:**	Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü
TCA	**:**	Trikarboksilik asit
TCF-1	**:**	T hücre faktörü 1
TCR	**:**	T hücre reseptörleri
TCRβ	**:**	T hücre reseptörü beta zinciri
Tfh	**:**	Foliküler yardımcı t
TNF	**:**	Tümör nekroz faktörü
TRAIL	**:**	Tümör nekroz faktörü ile ilgili apoptoz endükleyici ligand
Treg	**:**	Regülatör T
tTreg	**:**	Timik regülatör t
UDP	**:**	Üridin difosfat
UTP	**:**	Üridin trifosfat
VCAM-1	**:**	Vasküler hücre adezyon molekül 1

8. EKLER

EK-1

BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	**ATP-Adenozin Metabolizmasının Düzenlenmesinde IL-9 Sitokinin Potansiyel Rollerinin İncelenmesi**

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Bursa Uludağ Üniversitesi Sağlık Araştırmaları Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ	Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Rektörlük Binası Kat.1 Görükle Kampüsü Nilüfer/ Bursa
	TELEFON	0.224. 295 00 21
	E-POSTA	-

BAŞVURU BİLGİLERİ	SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof.Dr.Ferah Budak			
	SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Anabilim Dalı			
	YARDIMCI ARAŞTIRMACININ UNVANI/ADI/SOYADI	Doktora Öğrencisi Muhammed Ali Kızmaz, Araş.Gör.Dr.Abdurrahman Şimşek, Uzm.Biyolog Tuğçe Bozkurt, Yüksek Lisans Öğrencisi Ali Eren Işkın			
	YARDIMCI ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Anabilim Dalı			
	DESTEKLEYİCİ	TÜBİTAK ve /veya Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi			
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Prospektif araştırma			
	ARAŞTIRMANIN YAPILIŞ AMACI	Akademik amaçlı araştırma			
	ARAŞTIRMANIN BAŞLAMA TARİHİ/ SÜRESİ	26.02.2024 / 2 yıl			
	GÖNÜLLÜ/DOSYA SAYISI				
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐

	Belge Adı	Tarihi	Dili
DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR İÇİN BAŞVURU FORMU	02.02.2024	Türkçe
	Bilgilendirilmiş Olur Formu-Sağlıklı kontrol grubu	02.02.2024	Türkçe

	Belge Adı		Açıklama
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	ARAŞTIRMA BÜTÇE FORMU	☒	Tarih: 02.02.2024
	ARAŞTIRICILAR İÇİN TAAHHÜTNAME FORMU	☒	Tarih: 02.02.2024
	PROSPEKTİF ÖZELLİKLİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMA TAAHHÜTNAMESİ	☒	Tarih: 02.02.2024
	IKU klavuzunun okunduğuna dair taahhütname	☒	Tarih: 02.02.2024
	SONUÇ ÖZET RAPORU	☐	
	DİĞER:	☒	Araştırma ilk başvuru üst yazısı (Tarih: 02.02.2024), sorumlu araştırmacı özgeçmişi, tüm araştırıcılar tarafından imzalanmış Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesi, literatür

Sayfa 1

EK-1 (Devam)

BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	ATP-Adenozin Metabolizmasının Düzenlenmesinde IL-9 Sitokinin Potansiyel Rollerinin İncelenmesi

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2024-1 / 13 Tarih: 07 Şubat 2024

Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelendi.
1-Araştırmanın başvurusu dosyasında belirtilen merkezde gerçekleştirilmesinin uygun olduğuna,
2- Araştırmanın yürütülmesi sırasında Etik kurul kaşesi bulunan "Onam" formlarının kullanılması ve bu formun çalışmaya katılan gönüllülere çalışma hakkında sözlü bilgi verilmesi sonrasında eksiksiz bir şekilde doldurulmasına,
3-Araştırmanın başlama tarihinin bildirilmesi ve araştırma tamamlandığında özet bir sonuç raporunun hazırlanarak kurulumuza iletilmesine,
4-Araştırma protokolünde ve başvuru formunda yapılacak tüm değişiklikler için Etik Kuruldan izin alınması gerektiğinin sorumlu araştırıcılara iletilmesine toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ SAĞLIK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

ÇALIŞMA ESASI	
BAŞKANIN UNVANI/ADI SOYADI	Prof.Dr.Mustafa HACIMUSTAFAOĞLU
ÜYELER	

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof.Dr.Soner CANDER Başkan	Endokrinoloji ve Metabolizma	Bursa UÜ.Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Fahrettin UYSAL	Çocuk Kardiyoloji	Bursa UÜ.Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç.Dr.Belkıs Nihan COŞKUN Üye	Romatoloji	Bursa UÜ.Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç.Dr.Adnan ORHAN Üye	Kadın Hastalıkları ve Doğum	Bursa UÜ.Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç.Dr.Ercüment GÜRLÜLER Üye	Genel Cerrahi	Bursa UÜ Tıp Fakültesi Genel Cerrahi AD	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç.Dr.Mustafa ASLIER Ü	Kulak Burun Boğaz	Bursa UÜ. Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz AD	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç.Dr.Seda PEHLİVAN Üye	Hemşirelik Bölümü	BUÜ. Sağlık Bilimleri Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Dr.Öğr.Üyesi Ayşen ÇAKIR Üye	Fizyoloji	Bursa U.Ü Tıp Fakültesi Fizyoloji AD	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Dr.Öğr.Üyesi Çiğdem Mine YILMAZ Üye	Hukuk Fakültesi	Bursa UÜ.Hukuk Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	

*:Toplantıda Bulunma

9. TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın ortaya çıkmasında yalnızca akademik bilgi ve deneyimiyle değil, yol gösteren duruşu, insanı güçlendiren yaklaşımı ve her zaman güven veren desteğiyle yanımda olan çok kıymetli danışman hocam **Prof. Dr. Ferah Budak Şener**'e en içten ve derin teşekkürlerimi sunarım. Akademik anlamda daha ileriye gidebilmemiz için bilgi ve birikimini hiçbir zaman esirgemeyen, gelişimimizi her zaman önceleyen ve bu doğrultuda elinden gelenin en fazlasını ortaya koyan yaklaşımı, bu sürecin niteliğini belirleyen temel unsurlardan biridir. Bilimsel rehberliğinin ötesinde, sabrı ve anlayışıyla bu süreci benim için yalnızca bir diploma aşaması olmaktan çıkararak, kalıcı izler bırakan öğrenme ve olgunlaşma yolculuğuna dönüştürmüştür.

Tez sürecim boyunca anabilim dalımızda yürütülen akademik çalışmaların sürdürülmesine katkı sağlayan ve bu süreçte sunduğu desteklerden dolayı İmmünoloji anabilim dalı başkanı **Prof. Dr. Barbaros Oral**'a teşekkür ederim.

Bilimsel paylaşımları, birlikte yürütülen yoğun çalışmalar ve her koşulda gösterdiği dayanışma ile süreci benim için çok daha anlamlı ve güçlü kılan, karşılaştığımız tüm zorlukları birlikte aşarak aynı hedef doğrultusunda kararlılıkla ilerlediğimiz, emeğine ve dostluğuna büyük değer verdiğim sevgili arkadaşım **Abdurrahman Şimşek**'e içtenlikle teşekkür ederim.

Uyumlu iş birliği, destekleyici yaklaşımı ve süreci daha kolaylaştıran tutumuyla birlikte çalışmayı her zaman verimli hâle getiren, samimiyeti, desteği ve varlığıyla gerek laboratuvar ortamında gerekse bu sürecin manevi yükünü hafifleterek süreci paylaşmayı çok daha anlamlı kılan sevgili arkadaşım **Tuğçe Bozkurt'a** gönülden teşekkür ederim.

Akademik paylaşımları, yapıcı yaklaşımı ve süreç boyunca sunduğu destekle her zaman yanımda olan **Doç. Dr. Hülya Köse**'ye teşekkür ederim.

Bu süreçte yalnızca bir çalışma arkadaşı olmanın ötesine geçen, her zaman destek olan anlayışı, içtenliği, sabrı ve varlığıyla bu zorlu ve yoğun dönemi benim için çok daha anlamlı kılan, en çok ihtiyaç duyduğum anlarda moral, motivasyon ve güç kaynağı olan **Mediha Güneş**'e en samimi teşekkürlerimi sunarım.

Birlikte çalışmaktan onur duyduğum, paylaşımcı yaklaşımları, güçlü dayanışma duygusu ve özverili emekleriyle bu sürecin ilerlemesine katkı sunan tüm **İmmünoloji ve Doku Tipleme Laboratuvarı çalışma arkadaşlarıma** teşekkür ederim. Bu ekibin bir parçası olmak, süreci çok daha değerli ve unutulmaz kılmıştır.

Hayatım boyunca aldığım her kararda yanımda olan, sevgileriyle beni ayakta tutan, sabırları ve fedakârlıklarıyla bugünlere gelmemi sağlayan, özellikle en zor anlarımda bile bana inanan, desteklerini bir an olsun esirgemeyen **canım aileme** sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Hayatımın her döneminde sessizce arkamda duran ve inançlarıyla yolumu aydınlatan ailemin varlığı, bu başarının en temel ve en anlamlı kaynağı olmuştur.

Bu tez çalışması, BUÜ Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir (proje no: THIZ-2024-1854). Verdikleri destekten ötürü BUÜ BAP Koordinatörlüğüne teşekkürlerimi sunarım.

10. ÖZGEÇMİŞ

Muhammed Ali KIZMAZ, lisans eğitimini 2013–2017 yılları arasında Bartın Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nde tamamlamış ve Fen Fakültesi birincisi olarak mezun olmuştur. Aynı dönemde pedagojik formasyon eğitimini alarak biyoloji alanında öğretmenlik yeterliliği kazanmıştır. Lisans eğitiminin ardından 2018 yılında Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans programına kabul edilmiş, 2021 yılında aynı anabilim dalında doktora eğitimine başlamıştır ve halen Tıp-İmmünoloji Doktora Programı'nda eğitimini sürdürmektedir. 2018 yılından bu yana Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi İmmünoloji–Doku Tipleme Laboratuvarı'nda moleküler biyolog olarak görev yapmakta olup klinik ve deneysel immünoloji alanlarında aktif olarak çalışmaktadır.

Araştırma alanları başta T hücre alt grupları, pürinerjik sinyalizasyon, ATP–adenozin metabolizması, sitokin biyolojisi ve COVID-19 immünopatogenezi olmak üzere otoimmün hastalıklar, anafilaksi ve enflamatuvar hastalıklar üzerinde yoğunlaşmaktadır. SCI-E kapsamındaki çok sayıda dergide yayımlanmış özgün makalesi, uluslararası kitap bölümleri ve birçok ulusal ve uluslararası kongrede sunulmuş sözlü ve poster bildirileri bulunmaktadır. TÜBİTAK ve Bursa Uludağ Üniversitesi BAP destekli çok sayıda projede araştırmacı olarak görev almakta, akan hücre ölçer, hücre kültürü, moleküler biyoloji teknikleri ve deney hayvanı modelleri konusunda ileri düzey teknik yetkinliğe sahiptir. Türk İmmünoloji Derneği ve Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti gibi mesleki kuruluşlarda aktif üye olarak yer almakta olan KIZMAZ, akademik çalışmalarının yanı sıra bilimsel ve kültürel topluluklarda aktif görevler üstlenmiştir.