



J Immunology
Clinical Microbiology
ISSN (online): 2528-9470

Journal of Immunology and Clinical Microbiology

**2025;
Volume 10, Issue 1**

Citation Abbreviation:
J Immunol Clin Microbiol



Published by QMEL●.org
(Quality in Medicine,
Education & Library)



www.Jtacm.com

Yayın Etiği / Publication Ethics

İmmünoloji ve klinik mikrobiyoloji Dergisi (JICM) uluslararası hakemli bir dergidir (metin ve video) ve yayınlar. Dergide yayımlanmak üzere gönderilen tüm araştırmalar Helsinki Bildirgesi, Laboratuvar Hayvanlarının Bakım Rehberi, COPE ve ICMJE ilkelerine uygun olmalıdır.

Journal Of Immunology And Clinical Microbiology

Cilt/Volume:10, Sayı/Issue: 1, 2025

Sahibi/Owner: QMEL adına Erkan YULA'dır .

Yayınlayan/Publisher:Erkan YULA

E-Posta/E-mail:erkanyula@gmail.com

Yayın Tarihi/Release Date: 13.06.2025

e-ISSN: 2528-9470

Journal Of Immunology And Clinical Microbiology yılda 4 kez yayınlanır.

Derginin yayın dili Türkçe ve İngilizce'dir.

Makale gönderim adresi: <https://dergipark.org.tr/tr/pub/jicm>

Yayımcı/Publisher:Cetus Publishing

İletişim/Contact:+90 850 380 08 02

Eposta/Email:info@cetuspub.com

İnternet Adresi/Website :www.cetuspub.com



DERGİ KURULLARI / JOURNAL BOARDS

**Journal of Immunology and Clinical
Microbiology Adına Sahibi**
Doç. Dr. Erkan YULA

Baş Editör / Editor in Chief
Doç. Dr. Erkan YULA

Dergi Kurulları / Editorial Board

Prof. Dr. Vedat BULUT
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, İmmünoloji
Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

PhD. Luca CASSETTA
Edinburg Üniversitesi, Queen's Tıbbi Araştırma
Enstitüsü, MRC Üreme Sağlığı Merkezi, İskoçya,
Birleşik Krallık.

Doç. Dr. Esin AKTAŞ ÇETİN
İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Enstitüsü,
İmmünoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

Prof. Dr. Salih ÇETİNER
Çukurova Üniversitesi, Abdi Sütçü Sağlık
Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler
ve Teknikler Bölümü, Adana, Türkiye.

Prof. Dr. Günnur DENİZ
İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Enstitüsü,
İmmünoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

Doç. Dr. Filiz Kibar
Çukurova Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı, Adana, Türkiye.

Prof. Dr. H. Barbaros ORAL
Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, İmmünoloji
Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye.

Doç. Dr. Aşlı Gamze ŞENER
İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, İzmir Atatürk ve
Şehir Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji, İzmir,
Türkiye.

Prof. Dr. Akgün YAMAN
Çukurova Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı, Adana, Türkiye.

Doç. Dr. Ng Peter YIN YUK
İstanbul Bilgi Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa
Bilimleri Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik
Bölümü, İstanbul, Türkiye.

Prof. Dr. Meral GÜNALDI
İstanbul Aydın Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dahili
Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Onkoloji Kliniği,
İstanbul, Türkiye.

Prof. Dr. Semra PAYDAŞ
Çukurova Üniversitesi, Dahiliye Anabilim Dalı,
Adana, Türkiye.

Prof. Dr. Mustafa YILMAZ
Çukurova Üniversitesi, Pediatrik Alerji ve
İmmünoloji, Adana, Türkiye.

Prof. Dr. Murat GÜNDÜZ
Çukurova Üniversitesi, Anesteziyoloji ve
Reanimasyon Bölümü, Adana, Türkiye.

Prof. Dr. Osman DEMİRHAN
Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp
Bilimleri Bölümü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı,
Adana, Türkiye.

Doç. Dr. Murat ÇELİK
Mustafa Kemal Üniversitesi, Dahiliye Anabilim
Dalı, Hatay, Türkiye.

Doç. Dr. Mustafa ÖZMEN
İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Dahiliye Anabilim
Dalı, İzmir, Türkiye.

Prof. Dr. Eren ERKEN
Çukurova Üniversitesi, Dahiliye Anabilim Dalı,
Adana, Türkiye

Doç. Dr. Özlem Öztürk GÖRÜROĞLU
Çukurova Üniversitesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim
Dalı, Adana, Türkiye.

Prof. Dr. Hüseyin BASKIN
Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

Dr. Lale YEPREM

Bezmialem Üniversitesi, Rejeneratif Tıp Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

Prof. Dr. Fatih KÖKSAL

Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye.

Doç. Dr. Ali BAHADORİ

Sarap Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sarap, İran.

Doç. Dr. Orhan BEDİR

Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

Dr. Öğr. Üyesi Toğrul NAĞIYEV

Çukurova Üniversitesi, Abdi Sütçü Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye.

Prof. Dr. Burçin ÖZER

Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Tayfur Ata Sökmen Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye.

Prof. Dr. Mustafa ALTINDİŞ

Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Sakarya, Türkiye.

Prof. Dr. Selçuk KAYA

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

Prof. Dr. Fügen YARKIN

Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye.

Prof. Dr. Jamal S. HAŞİMİ

Tahran Tıp Bilimleri Üniversitesi, Parazitoloji ve Mikoloji Anabilim Dalı, Tahran, İran.

Prof. Dr. Mustafa DEMİRCİ

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

Prof. Dr. Nuri KIRAZ

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tekirdağ, Türkiye.

Prof. Dr. M.Adil ALLAHVERDİYEV

Yıldız Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, İstanbul, Türkiye.

Prof. Dr. Funda DOĞRUMAN AL

Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

Doç. Dr. Özlem Aycan KAYA

Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye.

Prof. Dr. Tuna DEMİRDAL

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Seza İNAL

Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dahili Tıp Bilimleri Bölümü, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye.

Prof. Dr. Tamer Cevat İNAL

Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Adana, Türkiye.

Doç. Dr. Kemaş Türker ULUTAŞ

Antakya Devlet Hastahaneleri, Hastahane Müdürü, Hatay, Türkiye.

Prof. Dr. Mustafa EMRE

Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Biyofizik Anabilim Dalı, Adana, Türkiye.

Doç Dr. Yusuf Cem KAPLAN

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

Prof. Dr. Barış KARATAŞ

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

Prof. Dr. Mehmet Ata SEÇİLMİŞ

Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi
Farmakoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye.

Doç. Dr. Melih Kaan SÖZMEN

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Dahili Tıp Bilimleri Bölümü, Halk Sağlığı
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

Prof. Dr. Pınar YURDAKUL MESUTOĞLU

İstinye Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp
Bilimleri Bölümü, Mikrobiyoloji ve Klinik
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Prof. Dr. Esra KOÇOĞLU

İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Tıbbi
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

Doç. Dr. Müge ÖZGÜLER

Sağlık Bölümleri Üniversitesi, Elazığ Fethi Sekin
Şehir Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Dahili
Tıp Bilimleri Bölümü, Enfeksiyon Hastalıkları
Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

Dr. Berrin UZUN

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji
Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

Doç. Dr. Serdar GÜNGÖR

Uşak Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp
Bilimleri Bölümü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim
Dalı, Uşak, Türkiye

Dr. Recep BALIK

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, İzmir Atatürk
Eğitim ve Araştırma Hastahanesi, İzmir, Türkiye.

PhD. Berna GÜMÜŞ

Özel Vetlab Laboratuvarı, Mikrobiyoloji Anabilim
Dalı, İstanbul, Türkiye.

Doç. Dr. İmran SAĞLIK

Bursa Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp
Bilimleri Bölümü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim
Dalı, Bursa, Türkiye.

Dr. Öğr. Üyesi Pınar ETİZ

Çukurova Üniversitesi, Abdi Sütçü Sağlık Hizmetleri
Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim
Dalı, Adana, Türkiye.

PhD Student Asiye KARAKULLUKÇU

İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi,
Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul,
Türkiye.

İletişim Adresi / Institutional Contact Editör

E-Posta / E-mail: erkanyula@gmail.com

Telefon / Phone: +90 (505) 973 60 97

Teknik İletişim / Technical Contact

E-Posta / E-mail: erkanyula@gmail.com

Telefon / Phone: +90 (505) 973 60 97

DANIşMA KURULU / ADVISORY BOARD

Uzm. Dr. Müge ASLAN, Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Eskiřehir, Türkiye.

Doç. Dr. İlhan AVřAR, İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastahanesi, İzmir, Türkiye.

PhD. Ali BAHADORİ, Rab e Rashid Üniversitesi Koloji, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Teriz, İran

Uzm. Dr. Nurten Glvardar BARAN, İzmir Katip elebi Üniversitesi, İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastahanesi, Enfeksiyon Hastalıkları Bölümü, İzmir, Türkiye.

PhD. Vahide BAYRAKAL, Dokuz Eylül Üniversitesi, İmmünoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

Uzm. Dr. Alev DURAN ÇETİN, Çukurova Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

Doç. Dr. Gözde YILDIRIM ÇETİN, Sütçü İmam Üniversitesi, Dahiliye Anabilim Dalı, Kahramanmaraş, Türkiye.

Uzm. Dr. Gülçin DAėLIOėLU, Çukurova Üniversitesi, Tıbbi Biyokimya Bölümü, Balcalı Hastahanesi, Merkez Laboratuvarı, Adana, Türkiye.

Doç. Dr. şahin DİREKEL, Giresun Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Giresun, Türkiye.

Dr. Öğr. Üyesi Pınar ETİZ, Çukurova Üniversitesi, Abdi Sütçü Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye.

Uzm. Dr. Ayřegül GÖKMEN, İzmir Katip elebi Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

Doç Dr. Tülin GÜVEN GÖKMEN, Çukurova Üniversitesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana , Türkiye

Doç Dr. Hüseyin GüDüCüOėLU, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye.

PhD. Berna GüMüş, zel Vetlab Laboratuvarı, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

Doç. Dr. Hayati Güneř, Namık Kemal Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tekirdağ, Türkiye.

Uzm. Dr. Serdar GÜNGÖR, İzmir Katip elebi Üniversitesi, İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastahanesi, İzmir, Türkiye.

Doç. Dr. Melek İNCİ, Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye.

Doç. Dr. Ali KARAKUř, Mustafa Kemal Üniversitesi, Acil Tıp Bölümü, Hatay, Türkiye

Doç. Dr. Murat KARAMEřE, Kafkas Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kars, Türkiye.

PhD Student Asiye KARAKULLUKÇU, İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

PhD Begüm Kayar, Çukurova Üniversitesi, Tropikal Hastalıklar Araştırma Uygulama Merkezi, Adana, Türkiye.

Uzm. Dr. Esmâ KEPENEK, Seydişehir Devlet Hastahanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji, Konya, Türkiye.

Prof. Dr. Esra KOÇOĞLU, İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

Dr. Öğr. Üyesi Sümeyra ALKİS KOÇTÜRK, Sütçü İmam Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kahramanmaraş, Türkiye.

PhD Roma LEVYTSKY, Nebraska- Lincoln Üniveritesi, Biyoloji Bölümü, ABD.

Uzm. Dr. Selim MERDAN, Çukurova Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye.

Dr. Öğr. Üyesi Salih Atakan NEMLİ, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

Uzm. Dr. Duygu ÖÇAL, Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastahanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

Uzm. Dr. Rahim ÖZDEMİR, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastahanesi, Enfeksiyon Hastalıkları Bölümü, İzmir, Türkiye.

Uzm. Dr. Müge ÖZGÜLER, Elazığ Kamu Hastaneler Birliği Genel Sekreteri, İl Enfeksiyon Kontrol Brimi, Elazığ, Türkiye.

Uzm. Dr. Bayram PEKTAŞ, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastahanesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

Uzm. Dr. İmran SAĞLIK, Akdeniz Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Antalya, Türkiye.

Uzm. Dr. Mehmet Burak SELEK, GATA Haydarpaşa Eğitim Hastahanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

Uzm. Dr. Volkan SUBAŞI, Özel Dermancan Tıp Merkezi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Kliniği, Fizik Tedavi Uzmanı, Adana, Türkiye.

Doç. Dr. Hüseyin TAŞLI, Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

Dr. Öğr. Üyesi Türkan ÖZER TOKA, Mevlana Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya, Türkiye.

Dr. Berrin UZUN, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

Doç Dr. Şule YILDIZ, Çukurova Üniversitesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Adana, Türkiye.

Doç. Dr. Pınar YURDAKUL, TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

Uzm. Dr. Süreyya Gül YURTSEVER, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye.

Aims and Scope

Journal of Immunology and Clinical Microbiology;

- Increasing scientific research and publication literacy,
- Ensuring the sharing of qualified and original research results in accordance with scientific norms and scientific ethics,
- In addition, it aims to improve health-related issues globally, to protect and develop public health, to strengthen the medical profession, to increase awareness of holistic treatments and microbiota, nutrition among health professionals.
- The journal gives priority to publication of studies on immunology and clinical microbiology.
- The primary target audience of the journal is physicians in all branches.
- Continues its publication life with the aim of developing and strengthening communication on the scientific platform.
- It is Turkey's first text and video magazine.
- JICM aims to serve as a free scientific journal in all fields related to immunology, microbiology, rheumatology and pathogenesis, diagnosis, treatment of infectious diseases and general medicine.

Open Access Policy

Journal of Immunology and Clinical Microbiology is an open access journal, which means that all content is freely accessible to the user or institution.

Users are permitted to read, download, copy, print, search or link the full text of the articles, or use them for any other lawful purpose, without prior permission from the publisher or author.

This is in line with the Budapest Open Access Initiative (BOAI).

(<https://budapestopenaccessinitiative.org/>)

Peer-Review Policy

Double-blind refereeing system is applied in JICM Journal, and studies are sent to at least three referees unaware of each other.

In the process, none of the authors and referees can have information about the others. Descriptive information about the author(s) in the work file sent by the author is removed and uploaded to the system only by including it on the cover page. If this information is forgotten in the full text, this information is removed by the editors and then sent to the referees.

The studies sent to the journal are evaluated within 15 days at the latest and the author is informed. At the point of publication of the study, the article may be rejected with the opinion of the journal editor and assistant editors at the article submission stage.

The time given to the referees for evaluation is 30 days. Referee evaluations are shared with the author in accordance with the blindness system. Authors are given 4 weeks for minor and major referee suggestions. If the responsible author of the article is informed three times about the technical correction and spelling rules, if the requested correction is not made, the article is removed from the evaluation process and this issue is conveyed to the author. becomes the referee to evaluate.

In all articles that have undergone peer-review, the referee's opinions are conveyed to the author in accordance with the double-blind system, whether the article is accepted or rejected. For an article to be accepted for publication, it is sufficient to receive an "accept" answer from at least two (2) referees. If two of the three referees decide to reject and one to accept, major or minor revision, the article is rejected. If a referee decides to reject, both major, minor or accept, the article is sent back to the referees. While responding to the referees on the Dergipark page, the authors are requested to upload the article revision response letters to the system by specifying these referees in a different color for each referee and in the relevant correction text.

Instructions for Authors

Writing rules of the journal, announcements about the journal, publication policy, etc. It is available on our journal's page and is available at <https://dergipark.org.tr/tr/pub/jicm>

Amaç Kapsam

İmmünoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi;

- Bilimsel araştırma ve yayın okur yazarlığını arttırma,
- Bilimsel normlara ve bilim etiğine uygun, nitelikli ve özgün araştırma sonuçlarının paylaşılmasını sağlama,
- Ayrıca, küresel anlamda sağlıkla ilgili konuların iyileştirilmesi, toplum sağlığın korunması ve geliştirilmesi ve hekimlik mesleğinin güçlenmesini, bütüncül tedaviler ve mikrobiyota, beslenme konularının sağlık profesyonelleri arasında bilinirliğinin artırılması amaçlamaktadır.
- Dergide immünoloji ve klinik mikrobiyoloji ile ilgili çalışmaların yayımlanmasına öncelik verilmektedir.
- Derginin öncelikli hedef kitlesi tüm branşlarda hekimlerdir.
- Bilimsel platformda iletişimi geliştirme ve güçlendirme amacı ile yayın hayatını sürdürmektedir.
- Türkiye'nin ilk metin ve video dergisi'dir.
- JICM, immünoloji, mikrobiyoloji, romatoloji ve patogeneze, tanı, bulaşıcı hastalıkların tedavisi ve genel tıpla ilgili tüm alanlarda ücretsiz bilimsel dergi olarak hizmet sunmayı amaçlamaktadır.

Açık Erişim Politikası

İmmünoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi, tüm içeriği ücretsiz olarak kullanıcıya veya kurumuna ücretsiz olarak erişilebildiği anlamına gelen açık erişimli bir dergidir.

Kullanıcıların, yayıncıdan veya yazardan önceden izin almaksızın makalelerin tam metinlerini okumasına, indirmesine, kopyalamasına, yazdırmasına, aramasına veya bağlantı vermesine veya başka herhangi bir yasal amaç için kullanmasına izin verilmektedir.

Bu, Budapeşte Açık Erişim Girişimi'ne (BOAI) uygundur.

(<https://budapestopenaccessinitiative.org/>)

Hakem Değerlendirme Politikası

JICM Dergisinde çift kör hakemlik sistemi uygulanmakta olup çalışmalar birbirinden habersiz en az üç hakeme gönderilir.

Süreçte yazar ve hakemlerden hiçbirisi diğerleri ile ilgili bilgi sahibi olamaz.Yazar tarafından gönderilen çalışma dosyasındaki yazar(lar) ile ilgili tanımlayıcı bilgiler çıkarılıp yalnızca kapak sayfasında yer verilerek sisteme yüklenir. Bu bilgiler tam metin içerisinde unutulmuş ise editörler tarafından bu bilgiler çıkarılır ve ardından hakemlere gönderilir. Dergiye gönderilen çalışmalar en geç 15 gün içerisinde ön değerlendirmeye alınarak yazara bilgilendirme yapılır. Çalışmanın yayınlanabilirliği noktasında makale gönderim aşamasında dergi editör ve editör yardımcılarının görüşü ile makale red edilebilir.

Değerlendirme için hakemlere verilen süre 30 gündür. Hakem değerlendirmeleri körlük sistemine uygun biçimde yazar ile paylaşılır. Minör ve majör hakem önerileri için yazarlara 4 hafta süre verilir. Makalenin sorumlu yazarına teknik düzeltme ve yazım kuralları ile ilgili üç kere bilgi verildiği halde istenilen düzeltme yapılmazsa makalesi değerlendirme sürecinden çıkarılır ve bu konu yazara iletilir.Yayın sürecine kabul edilen makale için belirlenen hakemlerde iki kez değişiklik yapıldıysa bölüm editörü üçüncü kez başka bir hakeme göndermeden ilgili makaleyi değerlendirmek için hakem olur.

Hakem değerlendirmesine girmiş tüm makalelerde hakem görüşleri makale kabul edilse de reddedilse de çift kör sisteme uygun biçimde yazara iletilir. Bir makalenin yayına kabul edilmesi için en az iki (2) hakemden "kabul" cevabı alınması yeterlidir. Üç hakemden ikisi red biri kabul, majör ya da minör revizyon kararı verirse, makale red edilir. Bir hakem red, ikisi majör, minör ya da kabul kararı verirse, makale tekrar hakemlere gönderilir. Yazarlardan Dergipark sayfasında hakemlere yanıt verirken her bir hakem için ayrı renkte ve ilgili düzeltme metninde bu hakemleri belirterek makale revizyon cevap mektuplarını sisteme yüklemeleri istenmektedir.

Yazarlar İçin Talimatlar

Derginin yazım kuralları, dergi ile ilgili duyurular, yayın politikası vb.

dergimizin sayfasında <https://dergipark.org.tr/pub/jicm> adresinde mevcuttur.

ARAŞTIRMA MAKALESİ/ ORIGINAL ARTICLE

- 1-10** **Düzeltilmiş makale: Novel microbiome friendly purifying oil cleanser formulation with oil-soluble postbiotics**
Yağda çözünen postbiyotiklerle yeni mikrobiyom dostu temizleyici yağ formülasyonu
İsmail Aslan, Leyla Tarhan Çelebi, Ertuğrul Osman Bursalıoğlu, Bekir Çakıcı, Mehtap Arslan Aydın, Bashar İbrahim, Ahmet Arif Kurt

- 11-22** **Prediction of high-risk human papillomavirus after conization by machine learning methods**Konizasyon operasyonu sonrasında yüksek riskli HPV kalıcılığının makine öğrenme yöntemi ile ön görülmesi
Erol Ozcekic, Akin Usta, Duygu Lafci, Orkun Cetin, Yener Ozel, Gökberk Kozak

DERLEME/ REVIEW

- 23-35** **Transplantasyonda Tolerans Oluşturma Stratejileri ve İmmün Mekanizmalar**
Strategies and Immun Mechanisms for Inducing Tolerance in Transplantation
Şule Tuýgun, Sevgi Kalkanlı Taş

ORIGINAL ARTICLE / ÖZGÜN MAKALE

Novel microbiome friendly purifying oil cleanser formulation with oil-soluble postbiotics

Yağda çözünen postbiyotiklerle yeni mikrobiyom dostu temizleyici yağ formülasyonu

 Leyla TARHAN ÇELEBİ^{1,2},  Ertuğrul Osman BURSALIOĞLU^{3,4},  Bekir ÇAKICI^{1,2,5},  Mehtap ARSLAN AYDIN⁶
 Ahmet Arif KURT⁷,  Bashar IBRAHİM⁸,  İsmail ASLAN^{1,2,9}

¹ SFA R&D Private Health Services, Teknopark Blv, No:1 3A Z01, Teknopark İstanbul, Pendik, İstanbul, Türkiye

² ATA BIO Technologies, Teknopol İstanbul, İstanbul, Türkiye

³ Department of Medical Services and Techniques, Vocational School of Health Services, Sinop University, Sinop, Türkiye

⁴ Department of Medical Services and Techniques, Vocational School of Health Services, Sakarya University, Sakarya, Türkiye

⁵ Vocational School, İstanbul Kent University, İstanbul, Türkiye

⁶ EVLY Pharma Cosmetics Trade Co., Department of 360 -Research and Development, Şerifali mah. Söyleşi Sk 41/A Ümraniye İstanbul/Türkiye

⁷ Süleyman Demirel University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology, Isparta, Türkiye

⁸ Süleyman Demirel University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Microbiology of Pharmaceutical Technology, Isparta, Türkiye

⁹ Department of Pharmaceutical Technology, Hamidiye Faculty of Pharmacy, University of Health Sciences, İstanbul, Türkiye

Geliş: 31.12.2024, Kabul: 14.02.2025

Abstract

Objective: In recent years, the field of preventive cosmetic care has gained importance alongside the established effectiveness of nutrition in preventing diseases. Within the scope of this preventive approach, the microbiota has been a focal point in numerous studies, with its state being associated with a range of health concerns, including inflammation, metabolic diseases, dermatological diseases, and neurodegenerative diseases. The present study aims to investigate the positive effects of a cleanser formulated with a postbiotic raw material dissolved in oil on skin microbiota and cells. In this study, the skin cleansing oil containing 2% postbiotic LTO 35 was utilised as a skin microbiota simulation (Lactobacillus crispatus LTC-KC24011, Staphylococcus epidermidis ATA-LSE 0198052) and normal keratinocytes (HEKA 500K CELL), Staphylococcus aureus ATA-LTCA 011204, Staphylococcus capitis ATA-LSC 0201201, Propionibacterium acnes ATA-LPC 0204221, Streptococcus pyogenes ATA-TCSP 210911, and Candida albicans ATA-LTCA 0504212. The results demonstrated that the cleanser did not cause harm to keratinocytes, maintained microbiota balance, and promoted cellular repair. The objective of this study was to investigate the positive effects of a cleanser made using oil-solubilised postbiotic raw material on skin microbiota and cells.

Material&Method: In this study, a skin cleansing oil containing 2% postbiotic LTO 35 was utilised to simulate normal keratinocytes (HEKA 500K CELL) and skin microbiota (Lactobacillus crispatus LTC-KC24011, Staphylococcus epidermidis ATA-LSE 0198052, Staphylococcus aureus ATA-LTCA 011204, Staphylococcus capitis ATA-LSC 0201201, Propionibacterium acnes ATA-LPC 0204221, Streptococcus pyogenes ATA-TCSP 210911, Candida albicans ATA-LTCA 0504212. The bacteria utilised in the simulation and the postbiotic employed in the formulation (LTO 35 Streptococcus thermophilus ATA-LTC St140700, Bifidobacterium animalis ATA-BSLA0310, Lactobacillus acidophilus ATA-LAP1201 ferment extract in oil lysate) were obtained from the ATA BIO Technology culture collection. The simulation contact time was applied as 1 hour.

Results: The Purifying Oil Cleanser with Postbiotics sample examined in this study was found to be microbiologically suitable. The equilibrium test yielded a positive result, and it was observed that the sample did not change in the direction of pathogens. According to the analyses, it can be concluded that the Purifying Oil Cleanser with Postbiotics sample does not harm the diversity of skin microbiota and is microbiome-friendly.

Conclusion: Upon evaluation of the results, it was observed that the substance did not cause harm to keratinocytes, it maintained microbiota balance, and it promoted cellular repair.

Keywords: Probiotic, Postbiotic, Microbiota Friendly, Oil Cleanser, Cosmetic

Corresponding Author: İsmail Aslan, SFA R&D Private Health Services, Teknopark Blv, No:1 3A Z01, Teknopark İstanbul, Pendik, İstanbul, Türkiye E mail: eczismailaslan@gmail.com

How to Cite: Tarhan Çelebi L, Bursalioğlu EO, Çakıcı B, Arslan Aydın M, Kurt AA, İbrahim B, Aslan İ. Novel microbiome friendly purifying oil cleanser formulation with oil-soluble postbiotics. *Journal of Immunology and Clinical Microbiology* 2024;9(4):138-147

©Copyright 2024 by the "International medical Education Library" The QMEL.org
Journal of Immunology and Clinical Microbiology published by Cetus Publishing.



Journal of Immunology and Clinical Microbiology 2024 Open Access (<https://dergipark.org.tr/tr/pub/jicm>)

Creative Commons Attribution Non-Commercial License: The articles in the Journal of Immunology and Clinical Microbiology are open access articles licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>) which permits unrestricted, non-commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

Öz

Amaç: Son yıllarda hastalıklardan korunmada beslenmenin etkinliğinin yanında koruyucu kozmetik bakım da giderek önem kazanmıştır. Koruyucu yaklaşımda özellikle mikrobiyotanın etkinliği pek çok çalışmada yer almıştır. Mikrobiyotanın durumu, vücuttaki inflamasyon, çeşitli metabolik hastalıklar, dermal hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar veya dermal hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmada, yağ içinde çözündürülmüş postbiyotik hammadde kullanılarak yapılan temizleyicinin cilt mikrobiyotasına ve hücre üzerine olumlu etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu çalışmada, %2 postbiyotik LTO 35 içeren cilt temizleyici yağın, normal keratinositler (HEKA 500K CELL) ve cilt mikrobiyota simülasyonu (Lactobacillus crispatus LTC-KC24011, Staphylococcus epidermidis ATA-LSE 0198052, Staphylococcus aureus ATA-LTCA 011204, Staphylococcus capitis ATA -LSC 0201201, Propionibacterium acnes ATA-LPC 0204221, Streptococcus pyogenes ATA TCSP 210911, Candida albicans ATA-LTCA 0504212) üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde, keratinositlere zarar vermediği, mikrobiyota dengesini koruduğu ve hücresel onarıma destek olduğu görülmüştür. Bu çalışmada, yağ içinde çözündürülmüş postbiyotik hammadde kullanılarak yapılan temizleyicinin cilt mikrobiyotasına ve hücre üzerine olumlu etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışmada, %2 postbiyotik LTO 35 içeren cilt temizleyici yağın, normal keratinositler (HEKA 500K CELL) ve cilt mikrobiyota simülasyonu (Lactobacillus crispatus LTC-KC24011, Staphylococcus epidermidis ATA-LSE 0198052, Staphylococcus aureus ATA-LTCA 011204, Staphylococcus capitis ATA -LSC 0201201, Propionibacterium acnes ATA-LPC 0204221, Streptococcus pyogenes ATA TCSP 210911, Candida albicans ATA-LTCA 0504212) kullanılmıştır. Simülasyonda kullanılan bakteriler ve formülasyon içinde kullanılan postbiyotik (LTO 35 Streptococcus thermophilus ATA-LTC St140700, Bifidobacterium animalis ATA-BSLA0310, Lactobacillus acidophilus ATA-LAP1201 ferment ekstrakt in oil lizat) ATA BIO Teknoloji kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. Simülasyon kontak süresi 1 saat olarak uygulanmıştır.

Bulgular: Bu çalışmada kullanılan Purifying Oil Cleanser with Postbiotics numunesi, mikrobiyolojik açıdan uygun olarak değerlendirilmiştir. Denge testi olumlu bulunup, patojen yönünde değişmediği gözlenmiştir. Yapılan analizlere göre; Purifying Oil Cleanser with Postbiotics numunesinin cilt mikrobiyotası çeşitliliğine zarar vermediği ve mikrobiyom dostu olduğu ifade edilebilir.

Sonuç: Sonuçlar değerlendirildiğinde, keratinositlere zarar vermediği, mikrobiyota dengesini koruduğu ve hücresel onarıma destek olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Probiyotik, Postbiyotik, Mikrobiyota Dostu, Yağ Temizleyici, Kozmetik

INTRODUCTION

In recent years, research has increasingly highlighted the role of cutaneous microbiota in skin health and disease. Historically, cosmetic products were formulated for objectives such as cleansing, hydration, or protection against external factors; however, contemporary approaches that target the maintenance or enhancement of skin microbiota are gaining significance (1). In this context, the use of microbiota-focused ingredients such as prebiotics, probiotics, and postbiotics is of interest in the cosmetics sector.

Probiotics are defined as live microorganisms that provide benefits to the host, while prebiotics are selectively fermentable

ingredients that support the growth or activity of the microbiota (2). Postbiotics are metabolic products of cellular components produced or secreted by probiotic microorganisms that do not require the presence of live microorganisms and provide benefits to the host (3). Postbiotics offer a more stable, standardisable, and safer alternative to the use of probiotics (3, 4).

Paraprobiotics (also termed inactive probiotics or “ghost” probiotics) and postbiotics represent alternative approaches to traditional probiotic use. Paraprobiotics are inactivated microbial cells or cell lysates that can provide host benefits when administered at adequate concentrations, while postbiotics are bioactive. Postbiotics are bioactive molecules (e.g., metabolites

and cellular fractions) synthesized by probiotic microorganisms that confer physiological benefits to the host. These approaches aim to overcome the limitations related to the viability, stability, and safety profile of probiotics and offer the potential for microbiome-targeted interventions (5,6).

The benefits of using postbiotics can be direct or indirect. For instance, postbiotics have been shown to maintain microecological and immune homeostasis by enhancing the interaction of the human organism with the microbiota (7, 8). Furthermore, positive effects on mental health can be achieved by improving the functioning of the brain-gut-microbiota axis. Postbiotics have also been demonstrated to exert direct benefits on host cells, while indirect benefits include the promotion of probiotics and the inhibition of pathogen growth. As with prebiotics, the effects of postbiotics vary depending on the type, strain and metabolic product of the microorganism (9). The most important effects of the postbiotic product SCFA are its anti-inflammatory and antioxidant properties. The present study sought to evaluate the effects of postbiotic LTO 35, obtained from *S. thermophilus*, *B. animalis* and *L. acidophilus* lysates used in an oil-based cleanser formulation, on human keratinocyte cells and simulated skin microbiota in *in vitro* models.

A study conducted by Aslan & Tarhan Celebi (2023) demonstrated that postbiotics specifically inhibit odour-causing microorganisms while concurrently supporting and balancing the natural axillary microbiota. The findings revealed that formulations containing *Lactobacillus* ferment lysate extract were effective in

reducing unpleasant odours by normalising the microbiota (10). In a study conducted by Gökçe and Aslan on the pharmaceutical applications of postbiotics, the antimicrobial potential of liposomal postbiotics in gel formulations was investigated. The optimised gel (LG1) demonstrated effective antimicrobial activity that was comparable to that of free postbiotics against various pathogens, while providing advantages such as controlled release, stability and improved usability. These findings emphasise the potential of liposomal postbiotics for pharmaceutical applications (11). In a study by Tarhan Celebi et al., the treatment of colon cancer by postbiotic substances is examined. The viability of normal colon fibroblast cells damaged by TTX 100 is restored by buttermilk enriched with the postbiotic LTW 35, and the viability of colorectal cancer cells is reduced in a concentration-dependent manner, showing both reparative and anticancer effects. The observed decrease in Ca19-9 tumour marker levels further emphasises its potential to reduce tumour activity (12).

A plethora of academic studies have been conducted in the domain of nutricosmetics and cosmetics, encompassing a wide range of natural sources (13,14), essential oils (15) from hair care to skin care (16, 17). Moreover, even in the field of baby care, there exist studies that utilize natural sources and investigate their antimicrobial properties (18, 19). In addition to natural products, safety studies such as ADME (absorption, distribution, metabolism, excretion) of many semi-synthetic and fully synthetic active substances (20, 21) and studies on antibacterial activity have been conducted (22). However, these studies do not address

the subject of microbiome-friendly research on intestine, skin and skin microbiota.

The skin, the largest organ of the human body, is colonised by a variety of microorganisms. The majority of these microorganisms are harmless and even beneficial to their hosts. This colonisation is driven by the ecology of the skin surface, which is highly variable depending on environmental factors. In addition, the microbiota also functions in the education of the immune system (23). Keratinocytes in the skin represent a cellular compartment that is constantly renewed and the wound healing process is dominated by the interaction of keratinocytes with fibroblasts (24,25,26).

The practice of cleaning is an important daily activity that is associated with both skin diseases and general health. It is a relatively modern concept, coinciding with the mass use of commercial soap from the early 20th century (27). It is estimated that the bacteria in the human body far outnumber the human cells in an individual, and this community is termed the human microbiome. According to another view, various microbial communities that have fundamental roles in human health and disease are present in the human body (28).

The present study set out to evaluate the effects of postbiotic LTO 35, obtained from *S. thermophilus*, *B. animalis* and *L. acidophilus* lysates used in an oil-based cleanser formulation, on human keratinocyte cells and simulated skin microbiota in vitro models.

METHODS

In this research, a skin cleansing oil containing 2% postbiotic LTO 35 was utilised to simulate normal keratinocytes (HEKA 500K CELL) and skin microbiota (*Lactobacillus crispatus* LTC-KC24011, *Staphylococcus epidermidis* ATA-LSE 0198052, *Staphylococcus aureus* ATA-LTCA 011204, *Staphylococcus capitis* ATA-LSC 0201201, *Propionibacterium acnes* ATA-LPC 0204221, *Streptococcus pyogenes* ATA TCSP 210911, *Candida albicans* ATA-LTCA 0504212). The bacteria utilised in the simulation and the postbiotic employed in the formulation (LTO 35 *Streptococcus thermophilus* ATA-LTC St140700, *Bifidobacterium animalis* ATA-BSLA0310, *Lactobacillus acidophilus* ATA-LAP1201 ferment extract in oil lyzate) were obtained from the ATA BIO Technology culture collection in Türkiye. The duration of contact in the simulation was set at one hour.

MTT (In vitro cytotoxicity test)

Tetrazolium salts, such as MTT, are frequently utilised in cell proliferation tests, which are based on the measurement of metabolic activity. The underlying principle is based on the measurement of the colour change in the absorption spectrum by an ELISA reader or a spectrophotometer, as a result of the increased dehydrogenase enzyme activity of proliferating cells. In this process, tetrazolium (MTT: yellow) is used to produce formazan (purple) dye. The cells will be cultured in Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM, Gibco) containing 10% fetal bovine serum (FBS, Gibco) and 1% penicillin/streptomycin in an oven with 5% CO₂ maintained at 37°C. When

cells reach 80% proliferation, they will be washed with phosphate-buffered saline (PBS) and trypsinized with 0.25% Trypsin-EDTA for passaging and seeding each time. Cells reaching sufficient proliferation will be used in the subsequent toxicity tests.

Table 1. Microorganisms representing Artificial Skin Microbiota and amount of utilisation.

Microorganism	Inoculum
<i>Lactobacillus crispatus</i> ATA-LTC 240522	3.50E+02
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATA-LSE 0198052	3.50E+02
<i>Staphylococcus aureus</i> ATA-LTCA 011204	3.50E+02
<i>Staphylococcus capitis</i> ATA -LSC 0201201	3.50E+02
<i>Cutibacterium (Propionibacterium) acnes</i> ATA-LPC 0204221	3.50E+02
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATA TCSP 210911	3.50E+02
<i>Candida albicans</i> ATA-LTCA 0504212	3.50E+02

The environment has been modified to be conducive to the presence of artificial microbiomes.

Microbiological analyses

The formulation developed for microbiological analysis within the scope of the study was disinfected with 70% ethanol. To dissolve the product, 5 g/L polysorbate 80 was added to 90 ml TSP (Buffered Sodium Chloride Peptone), 10 g of sample was added and left to dissolve in a water bath for 10-15 minutes. Serial dilutions (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}) were prepared by transferring 1 mL of the sample suspension to 9 mL of TSP using the pour plate method. The dilutions were repeated twice by inoculating 1 mL of the diluted tubes into a 90 mm petri dish. Then 15-17 mL of agar medium cooled to 45°C in a water bath was poured into the petri dishes and left to freeze. Tryptic Soy Agar (TSA)

was used for the total number of aerobic mesophilic microorganisms which were left at 30-35°C for 3-5 days. SDA medium was used for total yeast and mould counts and the media were incubated at 20-25°C for 5-7 days. In case of growth, the calculation formula is used to count colonies visible to the naked eye. This formula is as follows:

CFU/ml = Total number of colonies obtained x dilution factor/ Sample volume

Enrichment

10 g of the sample dissolved in buffered sodium chloride peptone was transferred to 90 mL of Tryptic Soy Broth (TSB). This medium contains lecithin and polysorbate required for neutralisation and is a general producer medium. After thorough shaking, the medium was incubated at 30-35°C for 18-24 hours (maximum 72 hours). After incubation, a selective medium was used. Enrichment was performed for *E. coli*, *P. aeruginosa* and *S. aureus*. For *C. albicans*, 10 mL (1 g or mL) of the sample dissolved in TSP was transferred to 90 mL Sabouraud Dextrose Broth (SDB). After shaking well, it was incubated at 30-35°C for 72 hours (maximum five days). After incubation, a selective medium was used.

Investigation of Aerobic Mesophilic Bacteria

After enrichment, 1 mL of TSB medium was taken and placed in sterile petri dishes. 5 mL of medium was added to Tryptone Glucose Extract Agar (TGEA) medium cooled to 45°C, mixed and inoculated with the sample in duplicate and allowed to solidify. After solidification, it was incubated at 37°C for 48 hours. In case of growth at the end of incubation, the number of colonies formed is calculated taking into account the dilution factor.

Investigation of The Presence of *Escherichia Coli*

After enrichment, 1 mL of TSB medium was taken and placed in sterile petri dishes. Then 5 ml of medium was added to Macconkey Agar (MCA) medium, mixed and the medium was inoculated with the sample in duplicate and allowed to solidify. Incubated at 30-35°C for 24 hours (maximum 48 hours).

Investigation for The Presence of *Staphylococcus Aureus*

After enrichment, 1 mL of TSB medium was taken and placed in sterile petri dishes. 5 ml of medium was added to Mannitol Salt Agar (MSA) medium cooled to 45°C, inoculated

with the sample in duplicate and allowed to solidify. Incubated at 30-35°C for 24 hours (maximum 48 hours).

Investigation of The Presence of *Pseudomonas Aeruginosa*

After enrichment, 1 mL of TSB medium was taken and placed in sterile petri dishes. 5 mL of medium was added to Cetrimide Agar (CA) medium cooled to 45°C, mixed and the medium was inoculated with the sample in duplicate and allowed to solidify. Plates were incubated at 25°C for 5 to 7 days.

RESULTS

Microbiological analyses

Table 2. Microbiological compliance results applied to the samples taken into the study

Purifying Oil Cleanser with %2 Postbiotics				
Analyze	Result (cfu/g)	Limit for eye contour products and products for use in children under 3 years of age	Limit for other products	Evaluation
Aerobic Mesophilic Colony Count	<1.0E+1	1.00E+02	1.00E+03	Suitable
<i>P. aeruginosa</i>	Not Detected	Must not be found	Must not be found	Suitable
<i>Escherichia coli</i>	Not Detected	Must not be found	Must not be found	Suitable
<i>Candida albicans</i>	Not Detected	Must not be found	Must not be found	Suitable
<i>S. aureus</i>	Not Detected	Must not be found	Must not be found	Suitable
Total Mould - Yeast Count	<1.0E+1	1.00E+02	1.00E+03	Suitable

Cell viability

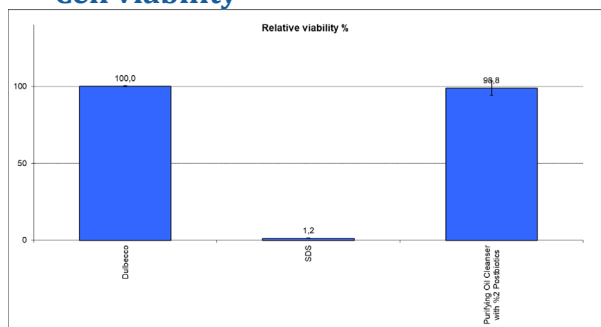


Figure 1. Cellular viability graphics.

According to the graphical data, the cleanser product containing 2% postbiotic did not show any cytotoxic effect on keratinocytes.

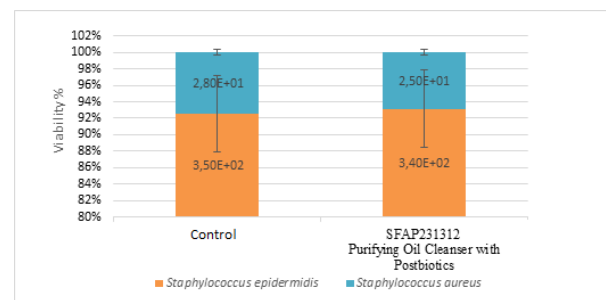


Figure 2. Pathogen non-pathogen balance graph of 2% postbiotic containing cleanser product in microbiota simulation test.

Microbiome & Microbiota Friendly Studies

It was hypothesised that the equilibrium test would demonstrate a preponderance of *S. epidermidis*. As this was observed, the study was continued. *S. epidermidis* is the indicator microorganism that suppresses the excessive increase of *S. aureus* species. The maintenance of a balanced microbiota is key to the suppression of infection. According to the graph, the tested product did not disturb the balance in favour of the pathogen.

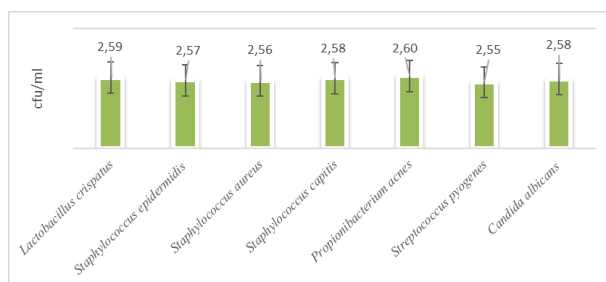


Figure 3. Plot of microbial diversity in the absence of samples.

The graph indicates that the initial diversity was determined in the analysis conducted without the addition of the tested product.

Table 3. Table of microbiological diversity results in absence of sample (control)

Microorganism	Control (PBS) cfu/ml	Control (PBS) log10
<i>Lactobacillus crispatus</i>	3.88E+02	2.59
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3.68E+02	2.57
<i>Staphylococcus aureus</i>	3.66E+02	2.56
<i>Staphylococcus capitis</i>	3.84E+02	2.58
<i>Propionibacterium acnes</i>	4.00E+02	2.60
<i>Streptococcus pyogenes</i>	3.55E+02	2.55
<i>Candida albicans</i>	3.78E+02	2.58

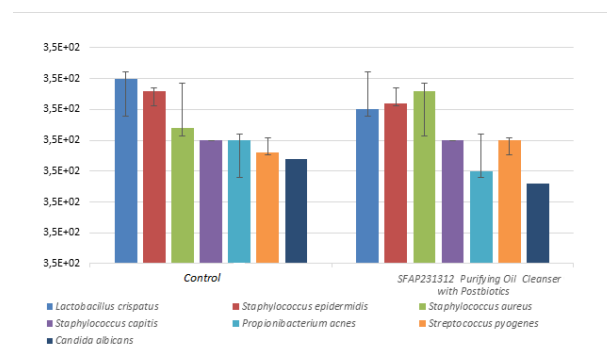


Figure 4. Microbial diversity graph of Purifying oil cleanser product containing 2% postbiotic.

The results of the study, as presented in the graph, indicate that the product containing 2% postbiotic did not result in any adverse effects on the diversity of microbiota.

Table 4. Table of microbiological diversity results in the presence of sample

Microorganism	Inoculum (cfu/ml)	Control (cfu/ml)	SFAP231312- Purifying Oil Cleanser with Postbiotics (cfu/ml)	Control (log10)	SFAP231312- Purifying Oil Cleanser with Postbiotics (log10)
<i>Lactobacillus crispatus</i>	3.50E+02	3.5E+02	3.5E+02	2.5	2.5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3.50E+02	3.5E+02	3.5E+02	2.5	2.5
<i>Staphylococcus aureus</i>	3.50E+02	3.5E+02	3.5E+02	2.5	2.5
<i>Staphylococcus capitis</i>	3.50E+02	3.5E+02	3.5E+02	2.5	2.5
<i>Propionibacterium acnes</i>	3.50E+02	3.5E+02	3.5E+02	2.5	2.5
<i>Streptococcus pyogenes</i>	3.50E+02	3.5E+02	3.5E+02	2.5	2.5
<i>Candida albicans</i>	3.50E+02	3.5E+02	3.5E+02	2.5	2.5

The incorporation of the sample did not result in any impairment to the microbiological diversity. The study evaluated the change in

microorganisms contacted with the sample in comparison to the control. The results demonstrated that the samples exhibited

no biocidal effect on microorganisms. The study's hypothesis was based on the principle that the difference between the initial amount and the amount after contact would not exceed 60%.

DISCUSSION

In recent years, there has been a marked shift in emphasis towards personalised medicine and preventive healthcare. This has resulted in a significant increase in consumer interest in natural-based cosmetics and personal care products. In the context of this paradigm shift, the importance of the skin microbiota is increasingly recognised due to its central role in mediating and regulating skin homeostasis (29). In conventional wisdom, the employment of live microorganisms has been a staple approach to promoting dermal health. However, the formulation and stability of these microorganisms can pose substantial challenges. Recent research has garnered mounting attention on the potential benefits of postbiotics, defined as metabolic byproducts secreted by microorganisms, particularly probiotic bacteria (30). Postbiotics are increasingly being recognised as promising ingredients for topical cosmetic formulations. They offer several advantages, including stability, safety and the ability to penetrate the skin barrier. Postbiotics have been shown to help maintain the body's homeostasis and aid in cellular repair. Furthermore, postbiotics have been demonstrated to enable microorganisms to function better (31). This research study investigates the safety and potential benefits of a new oil-based cleanser formulation, which contains a postbiotic in oil-soluble form as its unique feature. The results demonstrate that the formulation does not

harm human keratinocytes and maintains a robust balance between pathogenic and commensal species in an *in vitro* skin microbiota simulation. Furthermore, cell viability tests show that the formulation does not cause significant adverse effects on the viability of human keratinocytes. This finding suggests that the formulation does not possess intrinsic toxicity, which is a significant indication in the field. It is particularly noteworthy that the majority of cosmetic products, notably cleansing formulations, are intended for long-term or frequent use. Therefore, it is imperative to preserve the integrity of keratinocytes, as elevated levels of toxicity can result in the disruption of skin barrier function, inflammation, and adverse reactions. In this context, the formulation appears to be safe for maintaining the health of epidermal cells.

The present study demonstrated that the ratio between non-pathogenic and pathogenic bacteria in an *in vitro* skin microbiota simulation, a community found in human skin, remained unaltered without compromising the balance. A healthy skin microbiota has been shown to assist in resisting pathogen colonization of human skin, modulating immune function, and maintaining the skin barrier. Numerous skin diseases are characterised by microbiota imbalance or overgrowth of certain pathogenic species, in contrast to the relative abundance associated with healthy microbiota.

The formulation that was the subject of this investigation has been shown to preserve microbial balance and to promote a healthy microbiota profile. This suggests that it has the potential to provide effective yet gentle cleansing without disrupting skin

barrier integrity or homeostasis. The benefits that were observed – specifically, the stimulation of beneficial species and suppression of pathogenic growth – are likely to be mediated by the inclusion of the postbiotic LTO 35, a metabolite derived from *Streptococcus thermophilus*. Postbiotics, defined as bioactive compounds produced by microbial fermentation (e.g., cell-free supernatant, enzymes, or organic acids), are increasingly recognised for their dermatological applications. In this context, the *S. thermophilus*-derived postbiotic contains a synergistic blend of metabolites, including lactic acid, bacteriocins, short-chain fatty acids (SCFAs), and hydrolytic enzymes, each contributing to skin health through distinct mechanisms: Lactic acid and organic acids lower cutaneous pH, creating an inhospitable environment for pathogens while enhancing ceramide synthesis, which reinforces stratum corneum cohesion. Bacteriocins exhibit dual functionality: (i) direct antimicrobial activity against pathogens (e.g., *Staphylococcus aureus*) and (ii) immunomodulatory effects via interactions with keratinocyte toll-like receptors. SCFAs (e.g., acetate, propionate) regulate epidermal differentiation and attenuate inflammatory cascades by modulating dendritic cell signalling (32).

The present findings are consistent with the evidence that postbiotic metabolites derived from probiotic strains, in particular lactic acid bacteria, exert pleiotropic benefits on cutaneous health without compromising commensal microbiota diversity (33). The formulation's selectivity – in other words, its capacity to inhibit pathogens while fostering symbionts – underscores its potential as a topical agent that is compatible with the microbiome.

CONCLUSION

The study demonstrated that the purifying oil cleanser, containing 2% postbiotic LTO 35, preserves the diversity of the skin microbiota, does not cause pathogenic dominance, does not damage keratinocyte cells and promotes cellular repair. Furthermore, microbiological balance tests revealed that the product has microbiome-friendly properties while protecting the skin barrier. These findings suggest that postbiotic-based formulations may play an effective role in protective dermocosmetic products.

ACKNOWLEDGEMENT

Conflict of interest statement: The authors report no conflict of interest.

Funding: This study received no extramural funding.

Ethical Declaration: No need.

Author Contribution: Concept: LTÇ, EB, BÇ, MAA, AAK, BI, İA, Design: LTÇ, EB, BÇ, MAA, AAK, BI, İA, Data Collection or Processing: G.K., Z.E., H.İ.K., H.E., Analysis or Interpretation: LTÇ, EB, BÇ, MAA, AAK, BI, İA, Literature Search: LTÇ, EB, BÇ, MAA, AAK, BI, İA, Writing: LTÇ, EB, BÇ, MAA, AAK, BI, İA

REFERENCES

1. Prescott SL, Larcombe DL, Logan AC, West C, Burks W, Caraballo L, et al. The skin microbiome: impact of modern environments on skin ecology, barrier integrity, and systemic immune programming. *World Allergy Organ J.* 2017;10:1-16.
2. Roy S, Dhaneshwar S. Role of prebiotics, probiotics, and synbiotics in management of inflammatory bowel disease: Current perspectives. *World J Gastroenterol.* 2023;29(14):2078.
3. Zhao X, Liu S, Li S, Jiang W, Wang J, Xiao J, et al. Unlocking the power of postbiotics: A revolutionary approach to nutrition for humans and animals. *Cell Metab.* 2024;36(4):725-44.
4. Aguilar-Toalá JE, Garcia-Varela R, Garcia HS, Mata-Haro V, González-Córdova AF, Vallejo-Cordoba B, et al. Postbiotics: An evolving term within the functional foods field. *Trends Food Sci Technol.* 2018;75:105-14.
5. Taverniti V, Guglielmetti S. The immunomodulatory properties of probiotic microorganisms beyond their viability (ghost probiotics: proposal of paraprobiotic concept). *Genes Nutr.* 2011;6(3):261-74.

6. Patel RM, Denning PW. Therapeutic use of prebiotics, probiotics, and postbiotics to prevent necrotizing enterocolitis: what is the current evidence?. *Clin Perinatol*. 2013;40(1):11-25.
7. Sionek B, Gantner M. Probiotics and Paraprobiotics—New Proposal for Functional Food. *Appl Sci*. 2025;15(1).
8. Oleskin AV, Shenderov BA. Microbial Communication and Microbiota-Host Interactivity: Neurophysiological, Biotechnological, and Biopolitical Implications. Hauppauge, NY: Nova Science Publishers; 2020.
9. Kothari D, Patel S, Kim SK. Probiotic supplements might not be universally effective and safe: A review. *Biomed Pharmacother*. 2019;111:537-47.
10. Aslan İ, Tarhan Çelebi L. Postbiotics Cosmetic Formulation: In Vitro Efficacy Studies on a Microbiome Friendly Antiperspirant. *J Res Pharm*. 2023;27(5).
11. Gökçe HB, Aslan İ. Novel Liposome–Gel Formulations Containing a Next Generation Postbiotic: Characterization, Rheological, Stability, Release Kinetic, and In Vitro Antimicrobial Activity Studies. *Gels*. 2024;10(11):746.
12. Bursalioglu E, Tarhan L, Çakıcı B, Genel N, Kalbişen HT, Aslan İ. Can buttermilk (ayran) with its postbiotic content be used in the treatment of colon cancer?. *J Immunol Clin Microbiol*. 2024;9(4):130-40.
13. Aslan İ, Kurt AA. Characterization and Optimization of Phytosome Formulation Containing Alcohol-free Umckalin from *Pelargonium sidoides*. *Curr Perspect Med Aromat Plants*. 2020;3(1):49-53.
14. Aslan İ, Kurt AA. In-vitro comparison release study of novel liposome and conventional formulation containing *Rosmarinus officinalis* extract. *Curr Perspect Med Aromat Plants*. 2021;4(1):13-21.
15. Kurt AA, Ibrahim B. Preparation of New Generation Natural Repellent Formulations From Essential Oils: From Basic Research to Technological Development. *J Cosmet Sci*. 2024;75(4).
16. Ibrahim B, Kurt AA. Mikrobiyolojik Olarak Test Edilmiş Bitkisel Ekstraktlar ve Esansiyel Yağlar ile Saç Dökülmesine Karşı Doğal Şampuan Formülasyon Geliştirilmesi. *J Immunol Clin Microbiol*. 2024;9(1):12-23.
17. Kurt AA, Ibrahim B. New generation natural face cream formulation: development and in vitro evaluation. *Celal Bayar Univ Sag Bilim Enst Derg*. 2024;11(4):672-80.
18. Kurt AA, Aslan I, Duman G. Next-Generation Natural Baby Barrier Cream Formulations: Physicochemical Analysis and Safety Assessment. *J Cosmet Sci*. 2021;72(2).
19. Bursalioglu EO. Evaluation of antibacterial activity of *Triticum monococcum* seeds, *Castanea sativa* seeds and *Begonia maculata* leaves against several bacterial strains. *Turk J Biodiv*. 2020;3:9-14.
20. Buran K. Design, Synthesis, Biological Evaluation and Docking, ADME Studies of Novel Phenylsulfonyl Piperazine Analogues as α -Amylase Inhibitors. *Cumhuriyet Sci J*. 2024;45(2):268-73.
21. Buran K, İnan Y, Akyüz GS, Özdemir CD, Kocabas F. Phenylsulfonylpiperazines as α -Glucosidase Enzyme Inhibitors: Design, Synthesis, DFT Calculations, Docking and ADME Studies. *Bitlis Eren Univ Fen Bilim Derg*. 2024;13(3):723-30.
22. Buran K. Benzoin-tryptamine Schiff base-metal complexes: synthesis, DFT calculation and antimicrobial activities. *J Mol Struct*. 2025;141499.
23. Grice EA, Segre JA. The skin microbiome. *Nat Rev Microbiol*. 2011;9(4):244-53.
24. Barrandon Y, Green H. Three clonal types of keratinocyte with different capacities for multiplication. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1987;84(8):2302-6.
25. Schmidt-Ullrich R, Paus R. Molecular principles of hair follicle induction and morphogenesis. *Bioessays*. 2005;27(3):247-61.
26. Tickle C. Making digit patterns in the vertebrate limb. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2006;7(1):45-53.
27. Panati C. Panati's extraordinary origins of everyday things. Chartwell Books; 2016.
28. A framework for human microbiome research. *Nature*. 2012;486(7402):215-21.
29. Ajayi SA, Olaniyi OO, Oladoyinbo TO, Ajayi ND, Olaniyi FC. Sustainable Sourcing of Organic Skincare Ingredients: A Critical Analysis of Ethical Concerns and Environmental Implications. *Asian J Adv Res Rep*. 2024;18(1):65-91.
30. Prescott SL, Larcombe DL, Logan AC, West C, Burks W, et al. The skin microbiome: impact of modern environments on skin ecology, barrier integrity, and systemic immune programming. *World Allergy Organ J*. 2019;10:29.
31. Silva Vale A, Melo Pereira G, Oliveira AC, Carvalho Neto DP, et al. Production, Formulation, and Application of Postbiotics in the Treatment of Skin Conditions. *Fermentation*. 2023;9(3):264.
32. Sanford JA, Zhang LJ, Williams MR, Gangoiti JA, Huang CM, Gallo RL. Short-chain fatty acids from *Cutibacterium acnes* activate both a canonical and epigenetic inflammatory response in human sebocytes. *J Immunol*. 2019;202(6):1767-76.
33. Aslan I, Tarhan Celebi L, Kayhan H, Kizilay E, Gulbahar MY, Kurt H, et al. Probiotic formulations containing fixed and essential oils ameliorates SIBO-Induced gut dysbiosis in rats. *Pharmaceuticals*. 2023;16(7):1041.

ORIGINAL ARTICLE / ÖZGÜN MAKALE

Prediction of high-risk human papillomavirus after conization by machine learning methods

Konizasyon operasyonu sonrasında yüksek riskli HPV kalıcılığının makine öğrenme yöntemi ile ön görülmesi

 Erol Ozcekic¹,  Akin Usta²,  Duygu Lafci²,  Orkun Cetin²,
 Yener Ozel³  Gökberk Kozak¹

¹ Department of Computer Technology, Balıkesir Vocational School, Balıkesir University, Balıkesir, Türkiye,

² Department of Obstetrics and Gynaecology, Faculty of Medicine, Balıkesir University, Balıkesir, Türkiye,

³ Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Balıkesir University, Balıkesir, Türkiye

Geliş: 13.01.2025, Kabul: 12.05.2025

Abstract

Objective: This study aimed to use machine learning, a branch of artificial intelligence, to predict the persistence of high-risk HPV in women who have undergone conization surgery.

Materials and Methods: This retrospective study was conducted between 2018 and 2023 in the Gynecology and Obstetrics Clinic of Balıkesir University Health Practice and Research Hospital. A dataset of 69 female patients between the ages of 23-67 years; for the prediction of HPV status 1 year after the conization operation, the patients' data were recorded according to the criteria we determined, and these data were analyzed and classified using machine learning methods. Various Machine Learning methods such as Gradient Boosting, Support Vector Machine (SVM), Catboost, Random Forest (RF), and Naive Bayes (NB) are used here.

Results: We found the highest accuracy rate in Random Forest, and Catboost with 76 %. Gradient Boosting followed with a score of 67%, and Naive Bayes and Support Vector Machine (SVM) performed considerably lower, with scores of 48% and 43%, respectively.

Conclusions: Our results show that machine learning, a novel use of artificial intelligence, is effective in predicting the persistence of high-risk HPV. Further studies with more data will be a promising and useful tool for HPV and cervical cancer screening in the future.

Keywords: Cervical intraepithelial neoplasia, Human papillomavirus, Artificial intelligence, Machine learning method

Corresponding Author: Duygu Lafci Department of Obstetrics and Gynaecology, Faculty of Medicine, Balıkesir University, Balıkesir, Türkiye, E mail: duygulafci94@gmail.com

How to Cite: Ozcekic E, Usta A, Lafci D, Cetin O, Ozel Y, Kozak G. Prediction of high-risk human papillomavirus after conization by machine learning methods. *Journal of Immunology and Clinical Microbiology* 2025;10(1):11-22

©Copyright 2025 by the "International medical Education Library" The QMEL.org
Journal of Immunology and Clinical Microbiology published by Cetus Publishing.



Journal of Immunology and Clinical Microbiology 2024 Open Access (<https://dergipark.org.tr/tr/pub/jicm>)

Creative Commons Attribution Non-Commercial License: The articles in the Journal of Immunology and Clinical Microbiology are open access articles licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>) which permits unrestricted, non-commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

Öz

Amaç: Bu çalışma, konizasyon ameliyatı geçiren kadınlarda yüksek riskli HPV'nin kalıcılığını tahmin etmek için yapay zekanın bir dalı olan makine öğrenimini kullanmayı amaçladı.

Gereç ve Yöntem: Bu retrospektif çalışma 2018-2023 yılları arasında Balıkesir Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğinde gerçekleştirildi. 23-67 yaş arası 69 kadın hastadan oluşan veri seti; Konizasyon operasyonundan 1 yıl sonra HPV durumunun tahmini için hastaların verileri belirlediğimiz kriterlere göre kayıt altına alındı ve bu veriler makine öğrenmesi yöntemleri kullanılarak analiz edildi ve sınıflandırıldı. Burada Gradient Boosting, Support Vector Machine (SVM), Catboost, Random Forest (RF) ve Naive Bayes (NB) gibi çeşitli Makine Öğrenimi yöntemleri kullanılmaktadır.

Bulgular: En yüksek doğruluk oranını %76 ile Random Forest ve Catboost'ta bulduk. Bunu %67 puanla Gradient Boosting takip ederken, Naive Bayes ve Support Vector Machine (SVM) sırasıyla %48 ve %43 puanlarla oldukça düşük performans gösterdi.

Sonuçlar: Bu çalışma, yapay zekanın yeni bir kullanımı olan makine öğreniminin, yüksek riskli HPV'nin kalıcılığını tahmin etmede etkili olduğunu göstermektedir. Daha fazla veri içeren ileri çalışmalar gelecekte HPV ve rahim ağzı kanseri taraması için umut verici ve faydalı bir araç olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Servikal intraepitelyal neoplazi, İnsan papilloma virüsü, Yapay zeka, Makine öğrenme yöntemi

INTRODUCTION

Papillomaviruses are small, non-enveloped viruses with an approximately 8 kb circular double-stranded DNA genome containing a non-coding regulatory long control region and eight open reading frames (1). Human papillomavirus (HPV) represents the most common sexually transmitted infectious agent globally. The virus, which has approximately 220 different subtypes, can infect the skin and mucous membranes (2,3). Of these, 40 subtypes have the potential to infect the anogenital tract and especially subtypes 16 and 18 have been identified as critical high-risk types for the development of cervical cancer (CC) (4).

In 2020, 604,000 new cases of CC were diagnosed, 342,000 of which resulted in death. It is recognized as the fourth leading cause of cancer deaths in women (5). Almost all CC cases (99.7%) can be attributed to the presence of HPV(6). The development

of CC is significantly influenced by persistent infections from high-risk human papillomavirus (HR-HPV) strains (7,8). Fourteen HR-HPV types (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) are associated with CC (9,10). The most common types of HR-HPV are HPV-16 and HPV-18. In our country, where HPV-based cervical cancer screening has been implemented since 2014, women between the ages of 30-65 are screened. Colposcopy is recommended for women who are HPV 16 and/or 18 positive, regardless of cytology. In other high-risk HPV-positive women, co-testing is recommended after 1 year in the presence of normal cytology. At the same time, colposcopy is recommended in the presence of abnormal cytology (11). Conization is the process of cone-shaped removal of the cervix by covering the transformation zone according to the colposcopy result.

While cervical cancer screening protocols are increasingly moving towards HPV-based

tests, the accuracy of abnormal cytological findings in the detection of dysplastic lesions is still of great importance. Conventional cervical cytology and colposcopy show higher accuracy rates as the grade of lesions increases. Detection of HPV may help to avoid unnecessary surgical procedures, especially in the case of ASCUS (12).

Our aim in this study is to develop a new strategy to minimize the unnecessary administration of treatments, such as colposcopy and conization. The new prediction strategy will reduce high healthcare costs and maximize the benefits of CC screening worldwide. Based on this knowledge, we aimed to predict the recurrence and persistence of HPV in HPV-positive patients using machine learning methods, a branch of artificial intelligence (AI).

MATERIAL AND METHODS

Study design

This study included 69 female patients between the ages of 23 and 67 years (mean 26) who applied to the Obstetrics and Gynecology Outpatient Clinic of xxx University Health Practice and Research Hospital for routine gynecological examination or gynecological complaints between 2018 and 2023.

Demographic data such as age, BMI,

blood group, gravida, parity, abortion history, smoking, history of use of oral contraceptives or intrauterine device, and HPV vaccination [GARDASIL (types 6,11,16,18) and GARDASIL-9 (types 6,11,16,18,31,33,45,52,58)] were obtained from the file archive.

Table 1 Demographic data of the patients

Age	43* (23-67)
BMI	26,6* (17,2-37,2)
Gravide	3* (0-8)
Parity	3* (0-5)
Abortion	1* (0-5)

(*median)

Age, BMI, gravida, parity, and abortion were entered into the artificial intelligence model with the patients' exact values (Table 1).

Patients' ABO-Rh values were trained as group 1 (A Rh+), group 2 (O Rh+), group 3 (B Rh+), group 4 (A Rh-), group 5 (O Rh-), group 6 (AB Rh+), group 7 (no data) in the artificial intelligence system. Smoking was classified as minimum 5 pack/year smokers (group 1), non-smokers (group 2), and no data (group 3). Patients with Gardasil-4 vaccines were classified as Group 1, patients

Table 2 Demographic data of patients (each section is grouped separately in the artificial intelligence)

Group	ABO-Rh	Smokers	HPV vaccination	OC or IUD
1	20(ARh+)	26(+)	5 (Gardasil4)	13 (+)
2	17(ORh+)	23(-)	4 (Gardasil9)	36(-)
3	13(BRh-)	20(no data)	40 (no vaccination)	20(no data)
4	10(Arh-)		20(no data)	
5	4(ORh-)			
6	3(ABRh+)			
7	2(no data)			

(HPV: Human papillomavirus, OC: Oral Contraceptive, IUD: Intrauterine device)

with Gardasil-9 vaccines as Group 2, those with no HPV vaccination as Group 3, and those with no data as Group 4. Patients with any history of oral contraceptives or intrauterine device use or with use for less than 5 years were classified as group 1, those with a history of use for more than 5 years were classified as group 2 and no data was group 3 (table 2).

Additionally, values included in the artificial intelligence evaluation were the HPV results before conization and the histopathological examination results following conization.

HPV results before conization were classified as HPV 16-18 positive group 1, HR-HPV other types (HPV 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 and 59) positive group 2, and HR-HPV negative group 3. Patients with no data were classified as group 4 and patients who were positive for HR-HPV 16-18 and others together were classified as group 5 (Table 3).

The colposcopic biopsy results were categorized by the artificial intelligence system as follows: HPV 16-18 positive

group 1, HR-HPV (other types, including HPV 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, and 59) positive group 2, and HR-HPV negative group 3 (Table 4).

The conization pathology results were classified as CIN 1 (Group 1), CIN 2 and/or CIN 3 (Group 2), and negative Group 3 (Table 5).

Demographic data for some patients were not available; however, their age and BMI values were included in the artificial intelligence models, calculated using the median value, and the remaining demographic data were coded as unavailable.

Random Forest, Gradient Boosting, SVM, CatBoost, and Naive Bayes were used as artificial intelligence models for the study. All models aimed to predict the HPV results in 1 year after conization. HPV values one year later were coded as HPV 16-18 class 1, HPV other class 2, and HPV negative class 3 in the artificial intelligence system. After 1 year, there were no patients with HPV 16-18 and the other group together, so no additional class was created.

Table 3 Distribution of HPV types before conisation operation

	Number of Observations	Observation Percentage	Group entry to AI
HPV-16-18	22	31,8%	1
HPV other	24	34,7%	2
Negative	11	15,9%	3
No data	5	7,2%	4
HPV 16-18 and others	7	10,1%	5

Table 4 Distribution of colposcopic biopsy results before conisation operation

CIN Types	Number of Observations	Observation Percentage	Group entry to AI
CIN-I	31	44,9%	1
CIN-II-III	23	47,8%	2
Negative	5	7,2%	3

Table 5. Distribution of conisation histopathological results results

CIN Types	Number of Observations	Observation Percentage	Group entry to AI
CIN-I	13	18,8%	1
CIN-II-III	23	23%	2
Negative	24	34,7%	3

In conclusion, HPV results before conization, conization pathology results, and the demographic data listed above were used to train the artificial intelligence to assess the predictability of HPV results 1 year after conization.

2.2. DNA Isolation

The presence and genotype distribution of HPV-DNA in cervical swabs were investigated by real-time PCR (RT-PCR). Swab samples obtained from the patients during gynecological examination were transferred to a Digene HC2 DNA collection device (Qiagen, Germany), a liquid-based transport medium, and sent to the microbiology laboratory. DNA isolation from these cervical swab samples was performed using the EZ1 Advanced XL isolation robot (Qiagen, Germany) with the EZ1 virus mini kit, following the manufacturer's instructions.

2.3. Detection of HR-HPV Positivity by Real-Time PCR

The presence of HPV-DNA was first detected with the QiaScreen commercial kit (Qiagen, Germany) on the Qiagen Rotor-Gene Q device (Qiagen, Germany). HPV 16, 18, and other HPV types (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) were detected in DNA samples isolated with this kit.

2.4. Patient Selection in Colposcopic Examination

CC screening involved colposcopic examination in patients with HPV16 and 18, who were grouped as high-risk HPV (HPV subgroups associated with CC) and other HR-HPV-positive patients with abnormal cytological findings in cytological examinations. In colposcopy, firstly, the mucus in the cervix was cleared, and then 3% acetic acid was applied for at least 30

seconds, followed by treatment with Lugol solution. The cervix was initially examined classically using low magnification. Colposcopy, columnar epithelium, squamous epithelium, and transformation zone were evaluated. BX specimens were taken from the areas with leukoplakia, hyperkeratosis, aceto-white epithelium, fine or coarse punctuation, atypical vascularity, and mosaicism and subjected to histological and immunohistochemical examination.

2.5. Conization

Treatment of CIN lesions involves ablation or excision of the cervix to include the site of transformation, followed by histologic evaluation and assessment of lesion margins. In the conization procedure, the bladder is emptied to prevent bladder injury in anesthetized patients. Following appropriate wiping and draping, the cervix was held with a tenaculum to facilitate cervical movement. With the help of a scalpel and cautery, the cervical lesion was excised in a cone shape at least 5-7 mm deep from the surface of the CIN, including the cervical lesion and the transformation site. The material was subjected to histologic and immunohistochemical examination (13).

2.6. Statistical Analysis

Machine learning is a set of statistical techniques that imitate the human mind, analyze data, and develop correlations to facilitate decision-making when it is difficult or impractical to perform the necessary procedures (14). In this study, Gradient Boosting (GB), Support Vector Machine (SVM), Catboost, Random Forest (RF), and Naive Bayes (NB) algorithms were used for various methods, including artificial intelligence, machine learning, and deep learning.

2.6. Processing of data with machine learning methods

Our computer system that we utilize has the following specifications: Intel® Core™ i5-9400F CPU (2.9 GHz, 9 MB cache, 6 cores), 16 GB RAM, and Windows 10 Pro 64-bit operating system. The data was transferred to a computer program in MATLAB (The MathWorks Inc., MATLAB version: 9.13.0 R2022b) to perform several machine learning methods.

GB is an algorithm for finding the minimum of the function concerning the gradient model parameter by taking the derivative of the loss function with respect to the predicted value (15).

CatBoost is an algorithm that is a member of the Gradient Boosted Decision Trees family, which enables the use of categorical, heterogeneous data by using big data content in machine learning studies (16). SVM is a method developed to perform both linear and non-linear multivariate classification tasks. SVM transforms the input vectors into a high-dimensional feature space and generates a linear decision boundary to distinguish between different classes of data points. SVM is highly effective in processing small and limited datasets (17). The essence of the random forest algorithm is that it creates many decision trees and tries to aggregate the predictions on the trees. It is used in the field of machine learning for classification, regression, and other tasks. Naive Bayes, which works with Bayesian theory, is a probability-based algorithm that calculates the probability of belonging to a particular class. It is used for classification and other tasks in the field of machine learning (18).

TP (true positive) signifies the count of samples accurately predicting the positive category, TN (true negative) represents the count of samples accurately predicting the negative category, FP (false positive) denotes the count of samples incorrectly predicting the positive category, and FN (false negative) indicates the count of samples incorrectly predicting the negative category (19).

The classification status was analyzed by

using the findings such as accuracy recall, precision, and F1 score related to the classification prediction. Accuracy is the proportion of accurate predictions out of the total number of predictions. Precision is the ratio of positive predictions that truly belong to the positive class to all positive predictions. Recall is the portion of positive examples in the dataset predicted as positive. The F1 Score is a machine learning evaluation metric used to evaluate the performance of a classification model. The F1 Score is defined as the harmonic mean of precision and recall (19,20). The formulas used to calculate these metrics are listed in the range of Equation 1 - Equation 3 (22,23).

Equations;

$$1\text{-Accuracy} = (TP + TN) / (TP + TN + FP + FN)$$

$$2\text{-Precision} = TP / (TP + FP)$$

$$3\text{-F1 Score} = 2 \times ((\text{Precision} \times \text{Sensitivity}) / (\text{Precision} + \text{Sensitivity}))$$

RESULTS

69 patients were included in the study, 22 (31,8%) of them were positive for HPV types 16-18, 24 (34,7%) of them for other HR-HPV types, and 7 (10,1%) patients for HR-HPV types 16-18 and others. 11 (15,9%) patients were negative for HR-HPV types. In other words, HR-HPV was positive in 62 (89.85%) and negative in 7 (10.15%) of 69 patients before the conization operation. In 5 patients, the HPV result could not be obtained before the conization operation. The distribution of HPV types is shown in Table 3.

The histopathological colposcopic biopsy results before the conization operation were evaluated, 31 (44.9%) of 69 patients had CIN-I (LSIL- Cervical intraepithelial neoplasia), 33 (47.8%) had CIN II and/or III (HSIL- High grade cervical intraepithelial lesion), 5 (7.2%) of the patients had no cytology. The distribution of histopathology biopsy values is summarised in Table 4.

For predicting the HPV result, the histopathological evaluation result of conization was also taken into consideration. Of the 69 patients who underwent conization

operation, 13 (18.8%) had CIN I, 32 (46.3%) had CIN II and/or III, and 34 (24,7%) had negative results. This distribution is shown in Table 5.

The confusion matrices obtained as a result of the classification of the dataset by Random Forest, GradientBoosting, SVM, Catboost, and Naive Bayes methods are shown in Figure 1-5.

Regarding model performance, both Random Forest and CatBoost demonstrated superior predictive capabilities, achieving scores of 0.76 (76%) each. Gradient Boosting followed with a score of 0.67 (67%), indicating solid but slightly less robust performance. On the

other hand, Naive Bayes and Support Vector Machine (SVM) performed considerably lower, with scores of 0.48 (48%) and 0.43 (43%), respectively. These results suggest that tree-based ensemble methods, particularly Random Forest and CatBoost, are more effective for this classification task, while linear models, such as SVM, and probabilistic models, like Naive Bayes, may not capture the underlying patterns in the dataset as effectively (Figure 6).

As a result of the analyses performed, the precision, recall, and F1 score performance criteria values of each class are shown in Table 6, Table 7, and Table 8, respectively.

Table 6 Class 1 HPV16-18

Model	Precision	Recall	F1 Sc.
SVM	0.00	0.00	0.00
GB	0.00	0.00	0.00
RF	0.00	0.00	0.00
NB	0.00	0.00	0.00
CB	1.00	0.25	0.40

Table 7 Class 2 HR-HPV other

Model	Precision	Recall	F1 Sc.
SVM	0.69	0.56	0.62
GB	0.88	0.88	0.88
RF	0.80	1.00	0.89
NB	0.75	0.56	0.64
CB	0.83	0.94	0.88

Table 8 Class 3 HPV negative

Model	Precision	Recall	F1 Sc.
SVM	0.00	0.00	0.00
GB	0.00	0.00	0.00
RF	0.00	0.00	0.00
NB	0.11	1.00	0.20
CB	0.00	0.00	0.00

Figure 1 Support Vector Machine (SVM)

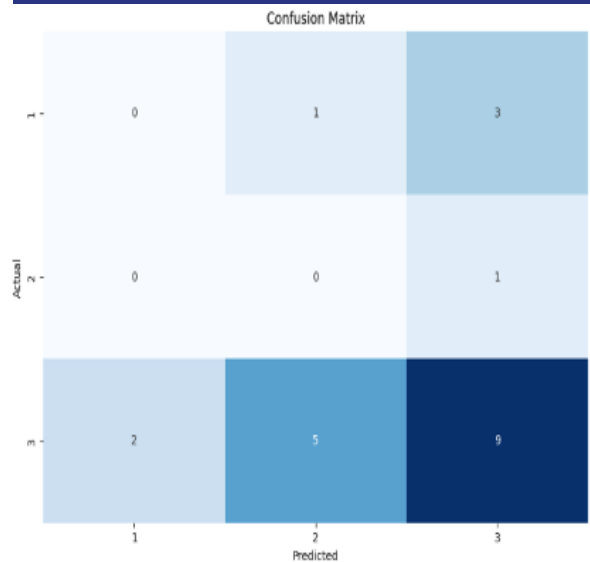


Figure 2 Naive Bayes

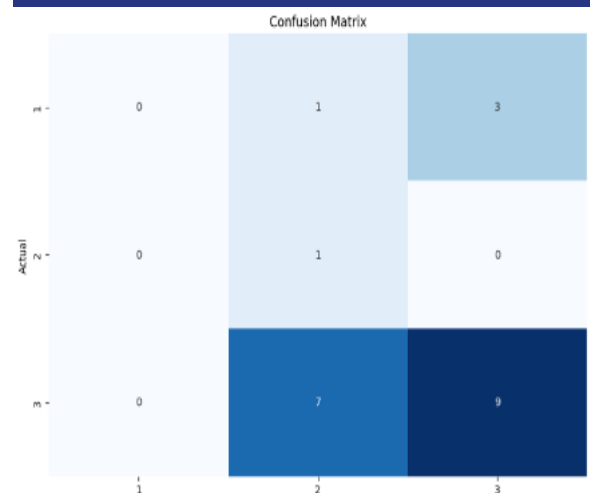


Figure 3 Random Forest

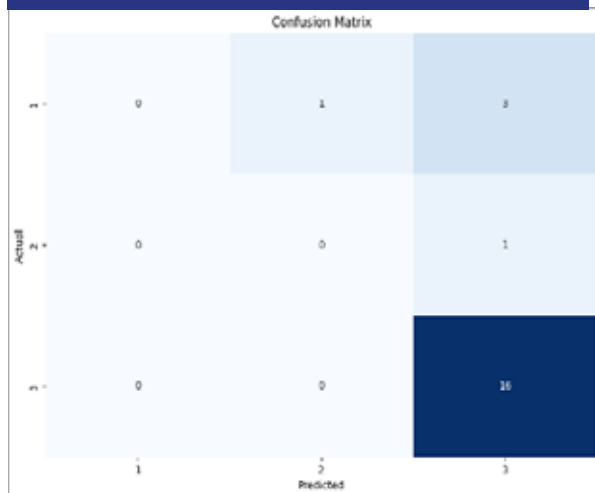


Figure 5 Catboost

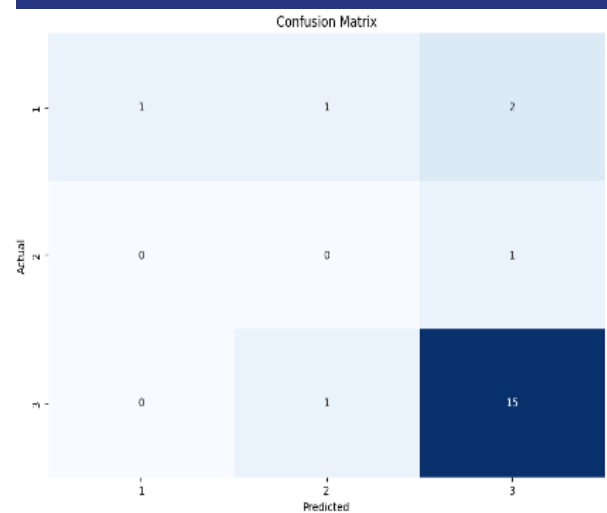


Figure 4 Gradient Boosting

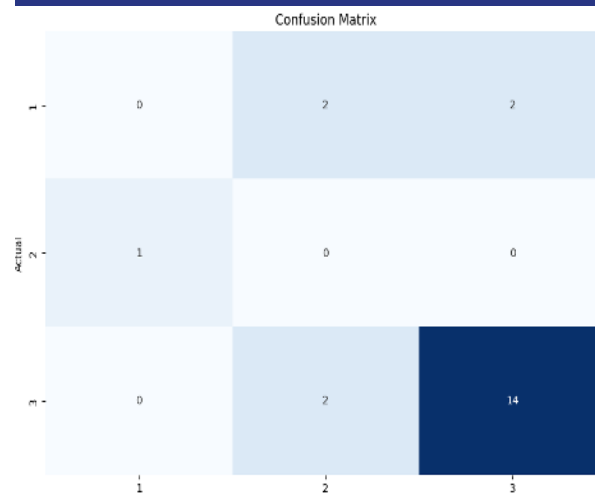
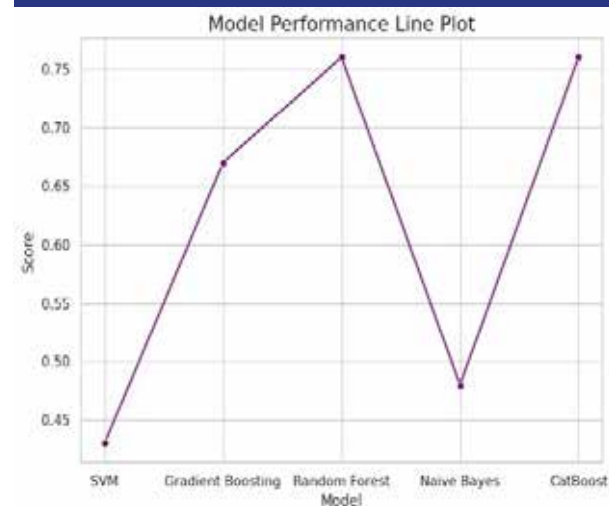


Figure 6 Predictive of Model Performance



DISCUSSION

CC is a severe health problem that affects approximately 500,000 women worldwide every year. Among the risk factors for the development of CC, the leading risk factor is exposure to HPV. Nearly all cases of CC are attributed to HPV, a virus that can be transmitted from one person to another through sexual activity. Several variations of HPV exist. Certain strains of HPV can induce alterations in a woman's cervix, potentially progressing to CC, whereas other types can result in the development of genital or skin warts (24). In the majority of women, HPV typically resolves on its own; however, if it persists, there is a potential risk of it progressing to CC over time. The virus is

mainly acquired through sexual activity. Moreover, an elevated risk of developing CC is associated with long-term use of birth control pills (5 years or more), having given birth to 3 or more children, having multiple sexual partners, smoking, and immune system disorders (25).

The PAP Smear Test, the most commonly used screening method, is a cytological screening test based on the collection and examination of cervical cells. After this scan, the doctor will visualize the cervix with a colposcopy device. This cytological screening test detects precursor cervical lesions. With cancer treatment at this stage, cancer development can be prevented before the cells turn into cancer. The PAP test, employed for early diagnosis, is a readily applicable,

cost-effective, non-invasive, highly sensitive screening method that minimizes mortality, morbidity, and the burden of treatment (26,27). Another important method for early diagnosis and screening of CC is the HPV DNA test. Of all available cervical screening tests, the HPV test is the most objective and reproducible. The association between the HPV DNA test and CC has been established, with the presence of HPV DNA demonstrated in 99.9% of CC patients (27).

Cytological evaluation of cervical smears and simultaneous HPV DNA testing of the same sample is called «co-test». Co-testing is currently the most widely accepted screening method for women over 30 years of age (28). American Society of Colposcopy and Cervical Pathology and American College of Obstetricians and Gynecologists recommend that women aged 30-65 years should be screened every five years with a co-test. Since HPV infections in people under the age of thirty are quite transient, a standard test is not recommended for this age group. Therefore, screening with cytology only is recommended every three years between 21 and 30 years of age (27).

Previous studies have shown that HPV persistence persists for a long time in 10-20% of patients and results in cervical squamous intraepithelial lesions (SIL). HSIL has a high carcinogenic risk and should be treated on time for viral DNA integration, while unnecessary screening and treatment should be avoided as LSIL is mostly associated with transient HPV infection, and 60% of these are known to resolve within 1 year (29,30).

Artificial intelligence is a field of computer science that focuses on analyzing complex medical data and can be used to predict diagnosis, treatment, and outcomes in a variety of clinical situations (28) [35]. Artificial intelligence applications such as machine learning methods have been widely used in medicine and significant gains have been achieved. Research on using artificial intelligence applications in HPV screening methods has started to appear in the literature (31). Xue et al. stated that the diagnostic performance of the artificial intelligence-assisted liquid-based cytology

(AI-LBC) triage approach was compared with cytologist evaluations and HPV16/18 genotyping, and the sensitivity of AI-LBC was found to be similar to that of cytologists, but significantly higher than HPV16/18 typing in CIN II+ detection (23). It is reported that AI-LBC reduced the colposcopy rate by 10 % compared to cytologists. Colposcopy diagnosis and referral to biopsy are essential components of CC screening programs (22). However, the performance of these programs is limited by the need for experienced colposcopists. Xue et al. developed an AI-assisted colposcopic companion diagnostic system to grade colposcopic impressions and guide biopsies by processing colposcopic images, clinical information, and pathology results of 19,435 patients to train the AI algorithm, evaluate its performance, and validate the results. The concordance between colposcopic impressions graded by their AI algorithm and pathology findings was higher than that of colposcopies interpreted by colposcopists. It showed higher sensitivity than colposcopists for detecting pathologic high-grade squamous intraepithelial lesions or worse (HSIL+) (22).

Another use of artificial intelligence applications in cervical cancer screening is to analyze cervical cytology on histopathological images. Tan et al. and Bumrunghai et al. stated that by collecting cytological test images diagnosed by pathologists from several partner hospitals in different regions, a deep convolutional neural network model that can assist pathologists in cervical cancer screening is designed (24,32). The images were divided into a training dataset (13,775 images), a validation dataset (2301 images), and a test dataset (408,030 images from 290 scanned replicates) for training and impact evaluation of the faster region-based convolutional neural network system. It has been reported that the system has a sensitivity of 99.4 % and specificity of 34.8%, can distinguish between negative and positive cells, and has high sensitivity in the evaluation of ASCUS, LSIL, and HSIL (24).

Ali et al. stated that various machine learning algorithms such as Instance-Based K-nearest neighbor (IBK), KStar, Split-Point and Attribute Reduced Classifier (SPAARC),

Random Tree (RT), and Random Forest (RF) are used to detect early-stage cervical cancer (25). The input features of the study include parameters such as the patient's age, number of sexual partners, age at first sexual intercourse, and gestational age. The output features of the study are positive or negative biopsy, cytology, Hinselmann's and Schiller's results (26). As a result of the analyses performed in Ali et al.'s study, the performance of the methods was measured with the help of accuracy, precision, sensitivity, F1 score, and specificity metrics (25). Among all the applied classifiers, the best classifiers for the accuracy metric are RT for biopsy and cytology, RF for Hinselmann, and IBK for Schiller. The best sensitivity, precision, and F1 score values were obtained with RT for biopsy and cytology, RF for Hinselmann, and IBK for Schiller. The best values for specificity were obtained with RF for biopsy, Hinselmann and Schiller, and SPAARC for cytology (25).

Using machine learning methods to detect cervical cancer, prediction models are developed in Lilhore et al.'s study (33). In these models, SVM, RF, DT, and Boruta Analysis methods were used to search for the model that provides the most effective feature selection and classification service for cervical cancer datasets. As a result of the study, Boruta analysis and random forest methods performed better than other methods in terms of accuracy, precision, and other parameters in determining the risk and type of cervical cancer.

Currently, there has been extensive research and advances in machine learning algorithms for diagnosing, predicting, and forecasting the onset of numerous diseases.

In this study, both Random Forest and CatBoost showed superior prediction abilities with 76% prediction rate in predicting HPV persistence using machine learning methods of AI. Machine learning, a branch of AI, can predict HPV persistence 1 year later based on age, smoking, pregnancy history, BMI, baseline HPV status, and colposcopic and conization histopathology results. These results suggest that the machine learning method of AI can be used to develop an effective prediction strategy

for the incidence of persistence in high-risk HPV-positive women.

Our study included a relatively small sample size of 69 patients, and both the missing data and the small number of patients result in less reliable and less generalizable findings. Therefore, prospective and more comprehensive studies on this topic are needed to evaluate the performance of AI strategies. For the first time in the literature, we evaluated the predictive performance of machine learning methods in screening for human papillomavirus (HPV) persistence after a conization operation. If we expect high-risk CIN after the following HPV result, planned conization can be performed more thoroughly by gynecologists to reduce recurrences. Adopting this method can not only increase the success of the final cervical conization but also reduce overtreatment procedures and unnecessary deep conizations. This AI-linked strategy maximizes the benefits of CC screening while minimizing potential unnecessary healthcare costs globally. CIN is a disease that patients are concerned about, and AI is creating a method that enables more objective counseling about patients' prognosis.

CONCLUSION

Our results demonstrate that machine learning, a novel application of artificial intelligence, is effective in predicting the persistence of high-risk human papillomavirus (HPV). Further studies with more data will be a promising and useful tool for HPV and cervical cancer screening in the future.

ACKNOWLEDGMENTS

Conflict of interest statement: The authors report no conflict of interest.

Funding: This study received no extramural funding

Author Contribution Concept: EÖ, YÖ., Design: AU, DL, OC, Data Collection or Processing: AU, DL, OC, Analysis or Interpretation: GK., YÖ, EÖ, Literature Search: DL, GK, YÖ, Writing: EÖ, AU, DL.

REFERENCES

1. Villiers E.M.; Fauquet C.; Broker T.R.; Bernard H.U.; zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology*. 2004, 324(1), 17-27.
2. Coser J.; Boeira T.R.; Wolf J.M.; Cerbaro K.; Simon D.; Lunge V.R. Cervical human papillomavirus infection and persistence: a clinic-based study in the countryside from South Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2016, 20(1), 61-68.
3. Tumban E. A current update on human papillomavirus-associated head and neck cancers. *Viruses*. 2019, 11(10), 922.
4. Cuzick J.; Cuschieri K.; Denton K.; Hopkins M.; Thorat M.A.; Wright C.; Cubie H.; Moore C.; Kleeman M.; Austin J.; et al. Performance of the Xpert HPV assay in women attending for cervical screening. *Papillomavirus Res*. 2015, 1, 32-37.
5. Sung H.; Ferlay J.; Siegel R.L.; Laversanne M.; Soerjomataram I.; Jemal A.; Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLO-BOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2021, 71(3), 209-249.
6. Okunade K.S. Human papillomavirus and cervical cancer. *J Obstet Gynaecol*. 2020, 40(5), 602-608.
7. Parkin D.M.; Bray F. The burden of HPV-related cancers. In *HPV Vaccines and Screening in the Prevention of Cervical Cancer*; Bosch F.X., Cuzick J., Schiller J.T., Garnett G.P., Meheus A., Franco E.L., Wright T.C., Eds.; Vaccine: Amsterdam, Holland, 2006; Volume 24S3, pp. S3/11-S3/25.
8. Rossi P.G.; Ricciardi A.; Cohet C.; Palazzo F.; Furnari G.; Valle S.; Largeron N.; Federici A. Epidemiology and costs of cervical cancer screening and cervical dysplasia in Italy. *BMC Public Health*. 2009, 9(1), 71.
9. Nyári T.A.; Kalmár L.; Deák J.; Szöllösi J.; Farkas I.; Kovács L. Prevalence and risk factors of human papilloma virus infection in asymptomatic women in southeastern Hungary. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2004, 115(1), 99-100.
10. Doorbar J. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci (Lond)*. 2006, 110(5), 525-541.
11. Ulusal Kanser Danışma Kurulu ETvTAKR, T.
12. Aydoğan Kirmizi D, Baser E, Demir Caltekin M, Onat T, Sahin S, Yalvac ES. Concordance of HPV , conventional smear, colposcopy, and conization results in cervical dysplasia. *Diagn Cytopathol*. Ocak 2021;49(1):132-9.
13. Basu P, Taghavi K, Hu SY, Mogri S, Joshi S. Management of cervical premalignant lesions. *Curr Probl Cancer*. 2018 Mar-Apr;42(2):129-136. doi: 10.1016/j.crrprcancer.2018.01.010. Epub 2018 Jan 11. PMID: 29428790
14. Shah A.; Shah M.; Pandya A.; Sushra R.; Sushra R.; Mehta M.; Patel K.; Patel K. A comprehensive study on skin cancer detection using artificial neural network (ANN) and convolutional neural network (CNN). *Clinical eHealth*. 2023, 6, 76-84.
15. Zhang Z, Zhao Y, Canes A, Steinberg D, Lyashevskaya O; written on behalf of AME Big-Data Clinical Trial Collaborative Group. Predictive analytics with gradient boosting in clinical medicine. *Ann Transl Med*. 2019 Apr;7(7):152. doi: 10.21037/atm.2019.03.29. PMID: 31157273; PMCID: PMC6511546.)
16. (Hancock JT, Khoshgoftaar TM. CatBoost for big data: an interdisciplinary review. *J Big Data*. 2020;7(1):94. doi: 10.1186/s40537-020-00369-8. Epub 2020 Nov 4. PMID: 33169094; PMCID: PMC7610170.)
17. Cui L.; Zhang Q.; Shi Y.; Yang L.; Wang Y.; Wang J.; Bai C. A method for satellite time series anomaly detection based on fast-DTW and improved-KNN. *Chin J Aeronaut*. 2023, 36, 149-159.
18. Maheswari S, Pitchai R. Heart Disease Prediction System Using Decision Tree and Naive Bayes Algorithm. *Curr Med Imaging Rev*. 2019;15(8):712-7.
19. Rashed A.E.E.; Elmorsy A.M.; Atwa A.E.M. Comparative evaluation of automated machine learning techniques for breast cancer diagnosis. *Biomed Signal Process Control*. 2023, 86, 105016.
20. Qian L.; Bai J.; Huang Y.; Zeebaree D.Q.; Saffari A.; Zebari D.A. Breast cancer diagnosis using evolving deep convolutional neural network based on hybrid extreme learning machine technique and improved chimp optimization algorithm. *Biomed Signal Process Control*. 2024, 87, 105492.
21. Navazi F.; Yuan Y.; Archer N. An examination of the hybrid meta-heuristic machine learning algorithms for early diagnosis of type II diabetes using big data feature selection. *Healthcare Anal*. 2023, 4, 100227.
22. Xue P.; Tang C.; Li Q.; Li Y.; Shen Y.; Zhao Y.; Chen J.; Wu J.; Li L.; Wang W.; et al. Development and validation of an artificial intelligence system for grading colposcopic impressions and guiding biopsies. *BMC Med*. 2020, 18(1), 406.
23. Xue P.; Xu H.M.; Tang H.P.; Wu W.Q.; Seery S.; Han X.; Ye H.; Jiang Y.; Qiao Y.L. Assessing artificial intelligence enabled liq-uid-based cytology for triaging HPV-positive women: a population-based cross-sectional study. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2023, 102(8), 1026-1033.
24. Tan X.; Li K.; Zhang J.; Wang W.; Wu B.; Wu J.; Li X.; Huang X. Automatic model for cervical

cancer screening based on con-volutional neural network: a retrospective, multicohort, multicenter study. *Cancer Cell International*. 2021, 21, 35.

25. Ali M.M.; Ahmed K; Bui F.M.; Paul B.K.; Ibrahim S.M.; Quinn J.M.W.; Moni M.A. Machine learning-based statistical analysis for early stage detection of cervical cancer. *Comput Biol Med*. 2021, 139, 104985.

26. Fusco E.; Padula F.; Mancini E.; Cavaliere A.; Grubisic G. History of colposcopy: a brief biography of Hinselmann. *J Prenat Med*. 2008, 2, 19-23.

27. Gecer M.; High-risk Human Papillomavirus (hrHPV) Prevalence and Genotype Distribution among Turkish Women. *J Cytol*. 2023, 40, 42-48

28. Stuebs, F.A.; Dietl, A.K.; Behrens, A.; Adler, W.; Geppert, C.; Hartmann, A.; Knöll, A.; Beckmann, M.W.; Mehlhorn, G.; Schulmeyer, C.E.; et al. Concordance Rate of Colposcopy in Detecting Cervical Intraepithelial Lesions. *Diagnostics*. 2022, 12, 2436

29. Guan P, Howell-Jones R, Li N, Bruni L, de Sanjosé S, Franceschi S, vd. Human papillomavirus types in 115,789 HPV-positive women: a meta-analysis from cervical infection to cancer. *Int J Cancer*. 15 Kasım 2012;131(10):2349-59.

30. Zang L, Hu Y. Risk factors associated with HPV persistence after conization in high-grade squamous intraepithelial lesion. *Arch Gynecol Obstet*. Aralık 2021;304(6):1409-16.

31. Hou X.; Shen G.; Zhou L.; Li Y.; Wang T.; Ma X. Artificial Intelligence in Cervical Cancer Screening and Diagnosis. *Front On-col*. 2022, 12, 851367.

32. Bumrunghai, S.; Ekalaksananan, T.; Kleebkaow, P.; Pongsawatkul, K.; Phatnithikul, P.; Jaikan, J.; Raumsuk, P.; Duangjit, S.; Chuenchai, D.; Pientong, C. Mathematical Modelling of Cervical Precancerous Lesion Grade Risk Scores: Linear Regression Analysis of Cellular Protein Biomarkers and Human Papillomavirus E6/E7 RNA Staining Patterns. *Diagnostics*. 2023, 13, 1084.

33. Lilhore U.K.; Poongodi M.; Kaur A.; Simaiya S.; Algarni A.D.; Elmannai H.; Vijayakumar V.; Tunze G.B.; Hamdi M. Hybrid model for detection of cervical cancer using causal analysis and machine learning techniques. *Comput Math Methods Med*. 2022, 2022, 4688327.

REVIEW / DERLEME

Transplantasyonda Tolerans Oluşturma Stratejileri ve İmmün Mekanizmalar

Strategies and Immun Mechanisms for Inducing Tolerance in Transplantation

 Şule Tuygun¹,  Sevgi Kalkanlı Taş¹,

¹ Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İmmunoloji, İstanbul, Türkiye

Geliş: 23.08.2024, Kabul: 01.06.2025

Abstract

Organ and tissue transplantation is a life saving procedure for various end stage diseases. However, the recipient can develop a rejection process that attacks and destroys the donated foreign organ or tissue. To reduce this rejection risk, the recipient may need to use lifelong immunosuppressive drugs. The requirement for lifelong immunosuppressive drug usage comes with a series of side effects, such as infection, neoplasm development and organ toxicity. Therefore, minimizing or discontinuing immunosuppressive drugs is the primary goal in transplantation. This goal has been achieved in patients who have developed tolerance to grafts. Immune tolerance or immunological tolerance, is a condition in which the immune system of an organism loses its capacity to mount an immune response against a specific substance or tissue. In this review, we will examine the latest developments in the search for tolerance mechanisms.

Keywords: Transplantation, Immune Tolerance, Tolerance Mechanisms

Corresponding Author: Şule Tuygun, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İmmunoloji, İstanbul, Türkiye, E mail: suletuygun@gmail.com

How to Cite: Tuygun S, Tas SK, Transplantasyonda tolerans oluşturma stratejileri ve İmmün Mekanizmalar. *Journal of Immunology and Clinical Microbiology* 2025;10(1):23-35

©Copyright 2025 by the "International medical Education Library" The QMEL.org
Journal of Immunology and Clinical Microbiology published by Cetus Publishing.



Journal of Immunology and Clinical Microbiology 2025 Open Access (<https://dergipark.org.tr/tr/pub/jicm>)
Creative Commons Attribution Non-Commercial License: The articles in the Journal of Immunology and Clinical Microbiology are open access articles licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>) which permits unrestricted, non-commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

Öz

Doku ve organ nakli, çeşitli son evre hastalıklar için hayat kurtaran bir prosedürdür. Ancak, alıcıda bağışlanan yabancı organa veya dokuya saldıran ve yok eden bir reddetme süreci yaratabilir. Bu reddetme riskini azaltmak için alıcı ömür boyu immunosupresif ilaçları kullanmak zorunda kalabilir. Ömür boyu immunosupresif ilaç gereksinimi; enfeksiyon, neoplazma gelişimi, organ toksisitesi gibi bir dizi yan etkiyle birlikte gelir. Bu nedenle immunosupresif ilaçların en aza indirilmesi veya kesilmesi transplantasyonda en önemli hedeftir. Greftlere karşı tolerans geliştirilmiş olan hastalarda bu hedefe ulaşılmıştır. Bağışıklık toleransı veya immünolojik tolerans, bir organizmada bağışıklık sisteminin, belirli bir madde veya dokuya karşı bağışıklık tepkisi oluşturma kapasitesinin kaybolduğu bir durumdur. Bu derlemede, tolerans mekanizmaları arayışındaki en son gelişmeleri gözden geçireceğiz.

Anahtar Kelimeler: Transplantasyon, Bağışıklık Toleransı, Tolerans Mekanizmaları

GİRİŞ

Operasyonel tolerans, "İmmünoşüpresif ilaçların yokluğunda histolojik ret belirtisi olmayan, immün sistemi yeterli bir konakta iyi işleyen bir greft" olarak tanımlanır (1,2).

Allojenik transplantasyon yapılan birçok merkezde transplant hastalarının tam veya kısmi tolerans durumlarını indüklemeye yönelik klinik çalışmalar yürütülmektedir. İmmünoşüpresyon yapan ilaçların devam olarak kullanımına gerek kalmadan iyi bir şekilde fonksiyon gören allogreftin süresiz olarak hayatta kalmasını sağlamak araştırmacıların başlıca hedefidir. Bununla birlikte, nakilden sonra immünoşüpresif tedavinin tamamen kesilmesiyle ortaya çıkan nadir operasyonel tolerans vakaları da bildirilmiştir (3,4).

Transplantasyon toleransını başarmak için iki zorunlu bileşen bulunmaktadır. Bunlar, alloreaktif konvansiyonel T (Tconv) hücrelerinin azaltılması ve alloreaktif regülatör T (Treg) hücrelerinin

düzenlenmesidir. Greft tahribatı ile düzenleme arasındaki denge, Tconv hücrelerinin aktivitesini inhibe etme ve/veya alloantijen-reaktif Treg hücrelerinin göreceli sıklığını veya fonksiyonel aktivitesini artırma stratejileri kullanılarak değiştirilebilir. İlaç tabanlı tedavilerin başarısız olduğu durumlarda, karışık kimerik ve hücresele tolerojenik terapiler denenmektedir (5,6).

GELİŞME

Greft kaybının nedenleri üç kategoriye ayrılabilir:

- 1- Greft dokularına karşı inflamasyonu indükleyen reaksiyonlar (özellikle iskemi-reperfüzyon hasarı),
- 2- Greft dokularına karşı immün aracılı reaksiyonlar,
- 3- İmmünoşüpresif ilaçların sebep olduğu organ toksisitesi.

Alloantijen tanındığında; doğal ve adaptif (edinsel) bağışıklık sistemleri, kontak bağimli T hücresi sitotoksitesi, yardımcı

T hücreleri 1 (Th1) veya yardımcı T hücreleri 2 (Th2) kökenli sitokinlerle granülosit aktivasyonu, Naturel Killer (NK) hücresi aktivasyonu, alloantikör üretimi ve kompleman aktivasyonu gibi yollar aracılığıyla allogrefti reddetmek için sinerjik olarak yanıt verirler (7).

Bu sebeple transplantasyon toleransını indüklemek için geliştirilecek stratejiler, vücudun bağışıklık düzenleme mekanizmalarını kullanır. Transplantasyon tolerans indüksiyon stratejileri içeren ana başlıklar şunlardır:

- 1) Doğal bağışıklık sisteminin manipülasyonu
- 2) Timik eğitimi
- 3) Lenfodepletif strateji
- 4) Düzenleyici T hücreleri (Tregs)
- 5) Düzenleyici B hücreleri (Bregs)
- 6) Kostimülasyon blokajı
- 7) Kimerizm
- 8) Tolerojenik dendritik hücreler (tolDC'ler)
- 9) T hücre anerji indüksiyonu

Bu derlemede tolerans indüksiyon stratejilerini içeren bu başlıklar doğal bağışıklık ve edinsel bağışıklık olmak üzere sırayla incelenecektir.

1. Doğal Bağışıklık Sisteminin Manipülasyonu

Toll-benzeri reseptörler (TLR), iskemi-reperfüzyon (I-R) yaralanmasının bir parçası olarak doğal bağışıklık tepkilerini yönlendirir ve bu ardışık adaptif alloimmün tepkilerin başlamasına neden olur; bu nedenle TLR adaptör protein MyD88 eksikliği, donör antijenine özgü toleransa yol açar. MyD88 eksikliği, toleransı teşvik eden Treg'lerin Tconv hücreleri üzerinde değişen dengeye neden olur. Bu durum reddetme yerine toleransı destekler (8).

2. Timik Eğitimi

Timus, kendinden olanı ve kendinden olmayanı ayırma işlevinin merkezi organı olarak hizmet eder. Timositler, pozitif ve negatif seçim süreçlerinden geçerler, bu da yabancı antijenlere geniş bir reaktiviteye sahip an-

cak kendi antijenlerine reaktif olmayan T hücreleriyle sonuçlanır. Timus aynı zamanda, negatif seçilmeyi atlayan T hücre klonlarının oto reaktivitesini inhibe eden Treg hücrelerinin bir alt kümesinin kaynağıdır. Timustaki bu işlevler birçok hayvan modelinde de toleransın indüksiyonu için önemli olduğu gösterilmiştir. Kemik iliği, dendritik hücre (DC) veya solid organ nakillerini takiben timusta uygun donör antijen sunumu, allogreftlere karşı toleransın indüksiyonunu gösterir. Pozitif-negatif seçim ve Treg hücre gelişiminin moleküler mekanizmaları, terapötik bir müdahale için etkin bir şekilde uygulanacaksa tolerans indüksiyonu iyi anlaşılmalıdır (9).

Fonksiyonel tolerans, iki koordine süreçten oluşur: Bunlardan birincisi; olgunlaşma sürecinde, olgunluğa erişmeden önce santral lenfoid organlarda oto reaktif lenfositlerin silinmesi, ikincisi ise; eliminasyondan kaçan oto reaktif lenfositlerin periferide fonksiyonel baskılanmasıdır. Bu iki süreç, santral ve periferik tolerans olarak adlandırılır. Nihai amaç, nakil hastalarında belirli bir dokuya veya organa zarar vermeden donör spesifik alloreaktif lenfositleri geri kalan homeostatik mekanizmalara müdahale etmeden silmektir. Hastalarda tolerans indüksiyonu protokolü tasarlamak için, self-antijenleri tanıma ve yabancı antijenlere karşı reaktiviteyi sürdürme konusundaki mevcut bilgilerin bilinmesi önemlidir (9).

Timusu manipüle etmek, T hücrelerini donör antijenlerine karşı toleransı teşvik edecek şekilde eğitmek potansiyel bir strateji olabilir. Timik eğitim, nakil toleransı için karmaşık bir araştırma alanı olup etkili ve güvenilir sonuçlara ulaşmak hala büyük bir zorluk olarak devam etmektedir. Bununla

birlikte, bu süreci anlama ve manipüle etme, geniş çaplı immünoşüpresif ilaçlara ihtiyaç duymadan nakledilen dokulara karşı bağışıklık tepkilerini en aza indirmek için yenilikçi stratejiler geliştirmek için yapılan çalışmalar umut vaat etmektedir.

3. Lenfodepletif Strateji

Lenfosit sayısını azaltan veya lenfosit aktivitesini baskılayan bir süreci ifade eder. Alıcıdaki immün sistemi baskılamak veya kontrol etmek amacıyla lenfositlerin azaltılması veya etkinliklerinin kısıtlanması gerekebilir.

Lenfodeplezyon, "indüksiyon terapisi" olarak bir organ nakli sırasında alloreaktif Tconv hücrelerinin prekürsör sıklığını ele alma ve akut allograft reddini önleme konusunda etkili bir stratejidir. Bununla birlikte, post-delesyonel hücre repopülasyonu sırasında devam eden idame ilaç tedavisi retten kaynaklanan T hafıza hücrelerinin ve alloantikorların oluşumlarının tetiklenmesini önlemek için gerekmektedir (10).

4. Düzenleyici T Hücreleri (Tregs)

Treg hücreleri, periferik toleransa aracılık eden T hücrelerinin kritik bir alt kümesidir. İki tür Treg bulunmaktadır. Bunlar; timüste gelişen doğal Tregler (nTregs) ve periferide naif CD4(+) T hücrelerinden türeyen indüklenmiş Treglerdir (iTregs). Tregler, potansiyel olarak otoimmün T hücrelerinin periferik devamlılığı için kritik öneme sahip olmalarına rağmen, etkili antitümör yanıtlarının engellenmesine sebep olabilirler. Tregler, bağışıklık yanıtını baskılamak için çeşitli mekanizmalar kullanır (11).

Bağışıklık toleransı için kritik olan Treg hücrelerinin popülasyonunu genişletmek, bağışıklık regülasyonu durumunu teşvik

edebilir ve immünoşüpresif ilaç ihtiyacını azaltabilir. Tregs'in immün düzenleyici özelliklerini kullanmak, nakil toleransını indüklemek için stratejiler geliştirmede aktif bir araştırma alanıdır. Treg hücrelerinin kontrollü genişlemesi veya indüksiyonu aracılığıyla bağışıklık tepkisini dengeleme, immünoşüpresif ilaçlara olan bağımlılığı azaltmak ve organ nakillerinin uzun vadeli başarısını artırmak için umut verici bir yol sunar.

Treglerin çeşitli hastalıklardaki rolleri ile nTreg ve iTreg gelişimi ve baskılama için kullandıkları mekanizmalar aşağıdaki gibidir;

4.1 Doğal Tregs (nTregs)

Doğal veya timik Tregs (nTregs) olarak bilinen Treg'ler, T hücrelerinin normal olgunlaşma süreci sırasında timusta gelişir ve periferik dokulara yayılarak efektör hücrelerin aktivasyonunu bastırabilirler. Bu Treg'ler Hücre yüzeyinde CD4+ CD25+ FoxP3+ reseptörleri taşırlar ve büyük miktarda interlekin-10 (IL-10) üretirler (11). Bunlar, self antijenleri tanırırlar. Potansiyel olarak zararlı bağışıklık tepkilerini baskılayarak bağışıklık toleransını sürdürmeye yardımcı olurlar. Nakil bağlamında ise bu Treg'ler reddin önlenmesine katkıda bulunabilirler.

Doğal CD4+, CD25+, Foxp3+ düzenleyici veya baskılayıcı Treg hücreleri, baskılayıcı CD4+ T hücrelerinin en çok çalışılan alt grubudur. Bu hücreler, immün tolerans kontrolü, allojenik greft reddi ve alerjide rol alırlar. Aynı zamanda enfeksiyonlar ve tümöral olgularda etkileyici işlevlerin inhibisyonunda önemli rolleri vardır. Hayvan deneyi çalışmalarında normal kemirgen-

lerden Treg hücrelerinin çıkarılması otoreaktif immün hücrelerinin aktivasyonunu ve çoğalmasını aktif olarak baskılamaları nedeniyle çeşitli otoimmün hastalıkların gelişimine yol açtığı gösterilmiştir (11).

4.2 İndüklenmiş Treg'ler (iTregs)

Tolerans ayrıca periferik mekanizmalar yoluyla da sağlanabilir. Birçok çalışma, T hücre reseptörünün (TCR) antijenle bağlanması ve dönüştürücü büyüme faktörü- β (TGF- β) varlığında Foxp3'ün CD4+Foxp3- T hücrelerinde de indükleyebileceğini göstermiştir; böylece iTreg'ler oluşturulmuştur. iTreg'lerin, artmış miktarlarda IL-10 ve TGF- β ürettikleri ve hem temas bağımlı hem de bağımsız yollarla T hücre çoğalmasını baskılayabildikleri gösterilmiştir (12).

4.3 Antijen-Spesifik Baskı

Treg hücreleri, baskılayıcı etkilerini antijen-spesifik bir şekilde uygular. Treg'ler, nakledilen dokularla ilgili belirli antijenleri tanır, bu da onlara bu antijenlere karşı bağışıklık tepkilerini seçici bir şekilde baskılamalarını sağlar, ancak tehdit olmayan diğer antijenlere karşı tepkisizliklerini korurlar.

Çeşitli Treg'ler tarafından immün efektör hücrelerin baskılanması, periferik toleransta ana mekanizmadır. Daha önce uyarılmış bir immün yanıtın antijene özgü baskılanması, immünoterapi için büyük bir zorluktur. Ayrıca, mevcut otoimmün veya diğer immün yanıtların kontrolü için antijen sunan hücreler (APC) tarafından antijen sunumunun düzenlenmesinin ana belirleyicilerini anlamak da önemlidir (13).

Treg hücreleri aracılığıyla sağlanan toleransta, CD4+ Foxp3+ Treg hücreleri timusta T hücre gelişimi sırasında ayrı bir

hücre soyundan türeyen timik veya nTreg hücreleri ile uzmanlaşmış ekstra-timik nişlerde Tconv hücrelerinden farklılaşan periferik veya iTreg hücrelerini içerir. Self-antijenlerin immünolojik olarak tanınmasına nTreg hücreleri yatkınken; iTreg hücreleri, Tconv hücrelerinden türetildiklerinden kendine özgü olmayan antijenlerin tanınmasına yatkındırlar. Bu iki alt tip, periferik toleransın sağlanmasında birbirini tamamlayıcı rol oynarlar (14).

Antijen spesifik Treg'lerin tolerans oluşturmada kullandıkları mekanizmalar:

- 1) Treg'ler antijen tanınmasıyla aktive olduklarında; antijen sunan hücrelerde CD80/86 ekspresyonunu CTLA-4 aracılığıyla baskılayarak yanıt veren T hücreleri için ortak uyarı moleküllerinin mevcudiyetini azaltırlar. CD80/86'nın aktive edici kostimülatör CD28 ilgisi, süpresif etkili CTLA-4'e göre çok daha az olduğundan, hücre aktivasyonu yerine süpresyona uğrar. CD80'in baskılanmasıyla CD80'e bağlı Programlanmış Hücre Ölümü Ligandı-1'i (PD-L1) ayrılır ve Programlanmış Hücre Ölümü-1 (PD-1) eksprese eden efektör T hücreleriyle etkileşime giren serbest PD-L1'i artar.
- 2) Treg'ler, yüksek afiniteli IL-2 reseptörlerinin ekspresyonu yoluyla çevredeki IL-2'yi emerler ve yanıt veren T hücrelerinden IL-2'yi mahrum bırakırlar. Böylece efektör T hücrelerini apoptoza teşvik ederek onların inhibisyonlarına yol açarlar.
- 3) Treg'ler IL-10, TGF- β ve IL-35 gibi immünosüpresif sitokinler salgılar ve CD39/CD73 aracılığıyla adenosin üretimini katalizlerler. Bu çözünür faktörler,

APC'lerin aktivasyonunu/olgunlaşmasını ve yanıt veren T hücrelerinin aktivasyonunu engelleyebilirler.

- 4) Treg'lerin APC'lerin CD80/86 ekspresyonunu baskıladığı durumda, yüksek afiniteli TCR'lere sahip Tconv'ler apoptoz ile ölür, orta afiniteli TCR'lere sahip olanlar anergiye yönlendirilir ve düşük afiniteli TCR'lere sahip olanlar naif Tconv'ler olarak hareketsiz kalırlar (15).
- 5) Treg hücreleri efektör T hücrelerinin apoptozuna neden olabilecek granzyme B salgılayabilmektedirler.
- 6) Ayrıca, Treg hücrelerinin, efektör T hücrelerinin inhibisyonu için hücreler arası bağlantılar (gap junctions) aracılığıyla T hücrelerine aktarılabilen yüksek lokal Siklik Adenozin Monofosfat (cAMP) seviyeleri ürettiği de gösterilmiştir (16).

4.4 Homeostazın Korunması

Tregs'ler, aşırı veya uygun olmayan bağışıklık tepkilerini önleyerek bağışıklık sistemi homeostazına katkıda bulunur. Nakilde, nakledilen organ veya dokunun reddine neden olabilecek bağışıklık reaksiyonlarını baskılayarak toleransın sürdürülmesine yardımcı olurlar.

Genel olarak, insan T hücreleri antijen sunumundan sonra CD25 ve Foxp3 eksprese eder ve hücre aktivasyonu gerçekleşir. Buna karşılık, Treg hücreleri timustan göç ederken bu aktivasyon reseptörlerini yüksek düzeyde eksprese eder ve periferik bölgede sürekli proliferasyonu sürdürürler. Homeostazdaki bu ayırt edici özellik, Treg hücrelerinin küçük çevresel değişikliklere duyarlı bir şekilde yanıt vermesini sağlayarak gerekli ve yeterli immün baskıyı uygular (17).

Ayrıca, DC'lerin, ortak uyarıcı ve humoral faktörlerin de Treg homeostazında önemli rolleri vardır ve bu mekanizmaların farklı Treg popülasyonlarının homeostazını sürdürmesindeki katkıları vardır (18).

4.5 Terapötik Infüzyon

Treg hücreleri hastadan izole edilebilir, genişletilebilir ve ardından hastaya geri infüze edilebilir. Bu terapötik yaklaşım, Treg popülasyon miktarını ve baskılayıcı işlevlerini artırmayı amaçlar, böylece nakil toleransının oluşumunu teşvik eder.

Treg'ler, donörden, alıcıdan hatta üçüncü taraflardan (raf ürünü) izole edilebilir. Bu izolasyon alanları periferik kan mononükleer hücreler (PBMC'ler), göbek kordonu kanı (UCB) ve pediatrik timustur. İn vivo ve ex vivo genişletilmiş poliklonal Treg'lerden in vitro uyarılmış antijen özgül ve genetik olarak modifiye edilmiş Treg'lere kadar uzanan ön klinik çalışmalar, immünosüpresyon tedavisinin en aza indirgenmesi bağlamında uzun vadeli greft sağkalımının iyileştirilmesi için umut verici sonuçlar sağlamıştır. Şu anda insan deneylerinde etkinlik ve güvenlik açısından değerlendirilen çeşitli Treg tabanlı tedavi yaklaşımları bulunmaktadır (19).

Transplantasyonda benimsenen Treg hücresi etkinliğinin klinik olarak doğrulanması zorlu bir süreçtir. Ancak, infüzyonla Treg uygulaması, organ naklinde regülatuar immün hücre tedavisini test etmede öncü konumdadır. Memeli modellerde, Treg'lerin patojenik T hücrelere oranını arttırmanın T hücresi toleransını sağlayacağını ve immünosüpresif ilaç tedavisine olan bağımlılığı azaltacağını desteklemiştir (20).

Otoimmün karaciğer hastalıklarında, infüze edilen Treg'lerin neredeyse dörtte biri kara-

ciğere yönelir ve doku hasarına neden olan efektör T hücrelerini baskılar. Dolayısıyla, Treg'ler erken dönem otoimmün karaciğer hastalıkları için potansiyel olarak iyileştirici bir immün hücre tedavisidir (21) .

5. Düzenleyici B Hücreleri (Bregs)

B hücrelerinin immünolojik toleransta düzenleyici bir rol oynadığı bilinmektedir. Ancak Treg'lerin aksine, B regülatör hücreleri (Breg) tanımlamak için doğrulanmış moleküler veya fenotipik belirteçler bulunmamaktadır; bu nedenle şu anda IL-10 üretimine dayalı olarak fonksiyonel olarak tanımlanmaktadırlar (22). Özellikle B hücre alt grubundan, transisyonel B hücrelerinin rolü önemlidir ve artan IL-10 üretimlerine dayalı olarak düzenleyici bir B hücre popülasyonunu temsil ederler. Aynı zamanda sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında B hücre alt grupları arasında, inhibe edici sitokinler (IL-10 ve TGF β) arasında fark bulunmadığı görülmüştür (23). Öte yandan, B hücreleri, donör özgü alloantikorlara bağlı kronik ret ve uzun vadeli greft başarısızlıklarında rol oynamaktadırlar (24–27). Geleneksel immünoterapiyi B hücrelerini azaltan antikorlar kullanarak uzun vadeli allogreft kabulü elde etmek mümkündür (28). B hücrelerinin hayatta kalması, çoğalması ve olgunlaşmasıyla ilgili bir rol oynayan B hücre aktivasyon faktörü (BAFF), artan Panel Reaktif Antikorlar (PRAs), Donör Spesifik Antikorlar (DSA), B hücre repopülasyonu ve C4d+ renal allogreft reddi ile ilişkilendirilmiştir (29–31). İnsan rekombinant mAb Belimumab'ın kullanımıyla BAFF'ın bloke edilmesi, fare modellerinde toleransın desteklendiğini göstermiştir. Etki yolları ise aşağıdaki gibidir:

1. Foliküler ve alloreaktif B hücrelerini azaltma

2. İmmatür/transisyonel B hücre fenotipini teşvik etme

3. Alloantikör yanıtını iptal etme

4. Düzenleyici sitokin ortamını sürdürme (32,33)

6. Kostimülasyon Blokajı

Alloreaktif T hücre aktivasyonu için sinyal-1 ve sinyal-2 gereklidir (34). Sinyallerle aktivasyon yolları aktif hale gelir. Kostimülasyonun bloke edilmesi etkili bir şekilde T hücre aktivasyonunu ve allogreft reddini önler. Böylelikle T hücreleri anerjik hale gelir ve İndüklenebilir Kostimülatör (ICOS) ekspres eder. Böylelikle düzenleyici bir rol oynarlar. CD28:B7 (CD80/86) ve CD40:CD40L'nin kostimülasyon sinyalleri kostimülasyon blokajı için en önemlileridir. CTLA-4, B7'ye bağlanarak T hücre aktivasyonunu inhibe eder. Aynı zamanda bu bağlanma, CTLA-4 düzenleyici CD4+ hücrelerde immünosüpresif faktör olan indoleamine 2,3-dioxygenase'yi (IDO) indükler. Kostimülasyon blokajında CD28:B7 (CD80/86) sinyal yolağında etkili ajanlar olan Abatacept ve Belatacept kullanılmaktadırlar ve bunlar CTLA-4 ve IgG1'in birleşim proteinlerinden oluşan füzyon proteinleridir. Alloreaktif T hücre tepkilerini güçlü bir şekilde inhibe ederler. Belatacept, Abatacept'e kıyasla daha etkilidir (35). Ancak, belatacept ile tedavi edilen hastalarda lenfoproliferatif bozukluklara, kalsinörin blokerlerinden daha fazla rastlandığı görülmüştür (36–38).

7. Kimerizm

Bu yaklaşım, sürekli immünosüpresyon gerektirmeyen dengeli bir bağışıklık sistemi oluşturmayı amaçlar.

Kimerizm tabanlı yaklaşımlar farklı donör kökenli hücrelerin alıcı hücrelerle

aynı organizmada bir arada var olabilmek konseptidir. Kimerizm, “Karışık” veya “mikrokimerizm” ve “tam” veya “makrokimerizm” olarak ayrılabilir. Karışık kimerizm (mikrokimerizm); alıcı kemik iliğinde hem donör hem de alıcı hücre hatlarının bir arada bulunması olarak tanımlanır. Tam kimerizm (makrokimerizm); alıcı hematopoetik hatlarının tamamen ortadan kaldırılmasını ve alıcı kemik iliğinin %100 donör hücreleri ile doldurulmasını ifade eder (39). Ana hedef, alıcıya saldırabilecek ve Graft Versus Host Hastalığına (GVHD) neden olabilecek donör hücrelerinin ortadan kaldırılması, aynı zamanda enfeksiyonlara karşı savunma yapabilen alıcının bağışıklık popülasyonlarını koruma ihtiyacıdır. Mikrokimerizm alıcının T hücrelerinin kısmi radyasyonu ile alıcının kemik iliğinin donör ve alıcı hematopoetik hücrelerinin gelişmesine ve donör dokusuna toleransın indüklenmesine izin verildiğinde gerçekleştirilebilir ve de tam miyeloablasyon gerekli olmadan gerçekleştirilebilir (40–42).

8. Tolerogenik Dendritik Hücreler (tolD-C'ler)

Dendritik hücreleri immünojenik olmaktan çok tolerogenik olacak şekilde değiştirmek, bağışıklık toleransını teşvik edebilir. Böylece, tolerogenik DC'ler (tolDC'ler), antijenleri bağışıklık tepkisi yerine tolerans indükleyecek şekilde sunar.

DC'ler, memelilerin bağışıklık sisteminde savunmanın ilk basamağında görev alan ve antijen sunan immünojenik veya tolerogenik doğal hücrelerdir. Bunlar antijenleri yakalayıp, işleyip T hücrelerine sunabilirler. Patojen ya da tümör hücresi gibi yabancı hücrelere karşı immün yanıtı başlatırlar. Dendritik hücrelerin son zamanlarda immün toleran-

sın düzenlenmesinde önemli rol oynadıkları gözlenmiştir. Yeni çalışmalardaki verilere göre DC'lerin allo- veya oto-antijenlerin toleransının indüklenmesinde ve hatta korunmasında da yer aldıkları bildirilmiştir. Ayrıca bazı çalışmalarda DC'lerin, immünosüpresif tedavi yokluğunda gerçekleştirilen organ nakli sonrasında Majör Histokompatibilite Kompleksi (MHC) engeline rağmen sağkalım süresini uzattığı tespit edilmiştir. DC alt gruplarından tolDC'lerin terapötik uygulama potansiyeline sahip olduğu ortaya çıkarılmıştır (43).

Çeşitli mekanizmalarla dendritik hücreler tolerogenik olarak işlev görürler:

DC'lerin T hücrelerini etkili bir şekilde uyarak immün yanıtlara yol açması, DC'lerin özel patern tanıma reseptörleri aracılığıyla proinflamatuvar çevreden ek sinyaller almayı gerektirir; bunlar TLR'ler aracılığıyla uygun DC'ler (mDC'ler) tarafından algılanabilir. Buna karşılık, proinflamatuvar uyarıcıların yokluğunda T hücrelerinin uyarılmasının eksikliği, DC'lerin başlangıçta durağan durum koşullarında potansiyel olarak tolerogenik olgunlaşmamış yan ürünler olarak ortaya çıkmalarına yol açar (olgunlaşmamış DC'ler; iDC'ler). Apoptotik hücreler tarafından indüklenen yarı-toleranslı DC'ler, özel bir sitokin çevresi (örneğin IL-10 ve TGF- β) veya farmakolojik ajanlar tarafından da tolerogenik özellikler gösterebilir. Vücuttaki tolD-C'ler, merkezi ve periferik toleransta önemli rol oynarlar, bu da devam eden immün yanıtların çözülmesine ve otoimmüniteye karşı korunmaya destek olur. DC'ler, merkezi toleransın kazanılması sırasında timusta oto reaktif T hücrelerinin negatif seçilimi ve Treg hücrelerinin oluşturulması yoluyla immün toleransı teşvik ederler. Ayrıca çeşitli meka-

nizmalarla, periferde efektör T hücrelerinin farklılaşmasını sınırlar ve Treg'lerin oluşmasını teşvik ederler. Tolerogenik DC'ler, immünomodülatör molekülleri eksprese eder ve IL-10, TGF- β , IL-35 ve IDO gibi immüno-süpresif faktörler üretirler, bu da T hücresi anejisi ve apoptozunu ve Treg'lerin indüksiyonunu sağlar (44).

Anerji; CD80/CD86'nın bağlanmasından kaynaklanan kostimülatuar sinyallerin olmaması durumunda antijeni tanıyan T hücrelerinde indüklenir. Sonuç olarak, IL-2 üretimi engellenir ve T hücreleri aynı antijene yanıt veremezler (44).

Ayrıca anejji, PD-1 reseptörü ve sitotoksik T lenfosit antijeni 4 (CTLA-4) gibi koinhibitor sinyaller tarafından da oluşabilir. PD-1, DC'ler üzerindeki PD-L1 ve PD-L2'ye bağlanırken, CTLA-4 ise DC'ler üzerindeki CD80/CD86 ile etkileşime girerek anejjiye sebep olur (44).

TolDC popülasyonu, olgunlaşmamış DC'ler yani iDC'ler ve indüklenabilir olarak aktivasyonla karşı karşıya kalan DC'ler (yarı-olgun) olmak üzere iki gruba ayrılır (44).

iDC'lerin temel özelliği, sürekli olarak durağan durumda gerçekleşen yabancı antijenler ve apoptotik hücreler de dahil olmak üzere endositoz ve fagositoz kapasiteleridir. Olgunlaşmayı sağlayan uyarıcılarının eksikliği nedeniyle DC'lerin olgunlaşmamış bir halde tutulması, T hücre silinmesi, anejji ve düzenleyici bir fenotipe doğru polarizasyon yolu toleransa yol açar (44).

Tolerogenik DC'ler, CD80/CD86, ICOS-L, ILT3 ve ILT4 gibi birkaç yüzey molekülü aracılığıyla Treg oluşturabilirler. DC'lerin, MHC sınıf II antijenini CD80/CD86 ve ICOS-L gibi ek kostimülatuar sinyaller olmaksızın PD-L1/2 ve

ILT3/4 gibi bir koinhibitor sinyal ile birlikte sunarak toleransı indükleyebileceği bilinmektedir. Ayrıca, CTLA-4 tarafından CD80/CD86'nın bağlanması Treg diferansiyasyonunu teşvik ederken, CD80/CD86'nın CD28 tarafından yetersiz bağlanması tolerans indüksiyonuna yol açar. DC'ler tarafından eksprese edilen ICOS-L, T hücrelerindeki reseptörüne bağlanır ve Treg'lerin homeostazını sürdürülmesine katkı sağlarlar (44).

9. T Hücre Anejji İndüksiyonu

T hücresi anejjisinin, T hücresi toleransının korunmasında oynadığı rol tam olarak açık olmasa da, otoimmün hastalıkların önlenmesinde, aşı reddinin önlenmesinde ve tümörlerin bağışıklık tahribatından kaçma yeteneğini kolaylaştırmada rol oynayabileceği gösterilmiştir (45). T hücre anejjisinde rol oynayan birçok mekanizma ortaya konmuştur. Bunlar:

1) Anejji, T hücrelerinde, TCR sinyalinin ve IL-2 ekspresyonunun aktif baskılanması ile ortaya çıkan, uzun süreli tepki vermeme durumudur. Anejjinin çeşitli biçimleri tanımlanmış ve son birkaç yılda artan sayıda "anejrik faktör" gün ışığına çıkarılmıştır. Yakın zamanda mTOR, diğer ilgili metabolik sensörler ve düzenleyicilerin rolünün ortaya konulmasıyla anejjiyi indükleyen sinyallere ilişkin görüşümüzü genişletmemiz gerektiğinin önemi artmıştır (45).

2) T hücresi klonal anejjisinin, CD28 ligasyonunun aracılık ettiği ikinci bir kostimülatör sinyalin yokluğunda, sinyal 1 olarak adlandırılan antijene spesifik reseptörü yoluyla T hücresi aktivasyonunun sonucu olarak tanımlanmıştır. Öte yandan, yalnızca sinyal 1'i içeren T hücresi aktivasyonu, yetersiz IL-2 transkripsiyonuna ve Kalsinörin (CaN)/

NFAT yolağının aktive edilmemesi sonucu T hücre anejisi gerçeleşir (46).

3) T hücre klonal anejisinin belirgin özelliklerinden biri, tekrar tetiklenme durumunda, rasMAP-kinaz yolaklarının aktivasyonunda bir engel oluşturmastır. Bu durumun en dikkat çekici yönlerinden biri de uzun ömürlü olmasıdır. Yani, ilk uyarıdan bir hafta ila 10 gün sonra, tekrar tetiklenme durumunda, anejik T hücreleri normal Ca^{++} ve NF-KB aracılı sinyalizasyona sahip olmalarına rağmen azalmış ERK fosforilasyonu sergilerler ve anejik olmaya devam ederler (45).

4) Baskın negatif baskılama da, anejiyi uygulamanın bir yolu olarak önerilmiştir; Anejiden kaynaklanan bir baskılayıcının, anejik T hücreleri ile ölümsüzleştirilmiş bir T hücre hattı olan Jurkat hücreleri arasında heterokaryonlar oluşturularak, anejik hücrelerden elde edilen bir baskılayıcının Jurkat kaynaklı IL-2 üretimini inhibe edebileceği gösterilmiştir (45).

5) Anejik T hücreleri, indüklenabilir Treg hücrelerinin bir havuzunu oluşturabilir. Anejisi ile Treg hücreleri arasındaki kesin bağlantı hala biraz tartışmalı olmasına rağmen, hem in vitro hem de in vivo ortamlarda oluşturulan Treg hücrelerinin anejik olduğu gösterilmiştir. Treg hücrelerinin antijene yanıt olarak proliferasyon yeteneğine sahip olduğu modellerde bile, bu hücrelerin fonksiyonel olarak anejik olduğu ortaya konmuştur. IL-2 ve IFN- γ üretmemeleri bunun göstergesidir. Bu nedenle, T hücresi kostimülasyon eksikliğinde antijenle karşılaştığında veya IL-10 ve TGF- β varlığında yalnızca anejik hale gelmekle kalmayabilir, indüklenebilir Treg hücresi haline de gelebilir (45).

Anejinin oynadığı kesin rol ne olursa olsun,

in vivo anejisi modelleri, potansiyel farmakolojik hedefler açısından önemli kavramlar sunmaktadır. Otoimmünite ve nakil durumunda amaç T hücresi aktivasyonunu inhibe etmek ve aynı zamanda TCR tarafından indüklenen tolerans indüksiyonuna izin vermektedir (45).

SONUÇ

Doku ve organ nakli, son evre hastalıklar için hayat kurtarıcı bir çözüm sunarken, bu süreçte bağışıklık sisteminin verdiği tepkiler nedeniyle birçok zorlukla karşılaşmaktadır. Bağışıklık sistemi, yabancı dokuya karşı tepki göstererek grefti reddedebilir ve bu da hastaların yaşam boyu immünosüpresif ilaç kullanmasını gerektirebilir.

Bu derleme, bağışıklık toleransı mekanizmalarına odaklanarak, tolerans indüksiyon stratejilerindeki gelişmeleri kapsamlı bir şekilde ele almıştır. Graft toleransını artırmayı amaçlayan doğal bağışıklık sisteminin manipülasyonu, timik eğitim, lenfodepletif strateji, düzenleyici T ve B hücreleri, kostimülasyon blokajı, kimerizm, tolerojenik dendritik hücreler ve T hücre anejisi gibi birçok farklı yaklaşım incelenmiştir.

Özellikle düzenleyici T hücreleri (Tregs) ve tolerojenik dendritik hücrelerin (tolD-C'ler) immünolojik toleransın sağlanmasında önemli roller oynadığı ve bu hücrelerin klinik uygulamalarda potansiyel tedavi seçenekleri sunduğu görülmektedir. Ayrıca, T hücre anejisi gibi mekanizmalar da immün yanıtın kontrolünde önemli bir rol oynayabilir.

Tüm bu stratejiler, immünosüpresif ilaçlara olan bağımlılığı azaltma ve organ nakli sonrası uzun vadeli başarı oranlarını artırma potansiyeline sahiptir. Gelecekteki araştır-

malar, bu stratejilerin klinik uygulamalara entegrasyonu ve hastalar üzerindeki etkilerini daha da derinleştirmeye yönelik olacaktır. Organ nakli alanında bu tür gelişmeler, hastaların yaşam kalitesini artırmak ve nakil sonrası komplikasyonları en aza indirmek adına büyük bir umut vaat etmektedir.

BİLDİRİMLER

Çıkar Çatışması

Yazarlar arasında çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek

Bu çalışmada maddi destek alınmamıştır.

Yazar Katkıları

Çalışma konsepti/tasarımı: ST, SKT, Veri toplama: ST, SKT Veri analizi ve yorumlama: ST, SKT, Yazı taslağı: ST, SKT, İçeriğin eleştirisel incelenmesi: ST, SKT Son onay ve sorumluluk: ST, SKT

KAYNAKLAR

- Orlando G, Hematti P, Stratta RJ, Burke GW, Cocco P Di, Pisani F, et al. Clinical Operational Tolerance After Renal Transplantation. *Ann Surg*. 2010 Dec;252(6):915–28.
- Ashton-Chess J, Giral M, Brouard S, Soullillou JP. Spontaneous Operational Tolerance After Immunosuppressive Drug Withdrawal in Clinical Renal Allograft Transplantation. *Transplantation*. 2007 Nov 27;84(10):1215–9.
- Brent L. The discovery of immunologic tolerance. *Hum Immunol*. 1997 Feb;52(2):75–81.
- Owen RD. Immunogenetic Consequences of Vascular Anastomoses Between Bovine Twins. *Science* (1979). 1945 Oct 19;102(2651):400–1.
- Feng G, Wood KJ, Bushell A. Interferon- γ Conditioning Ex Vivo Generates CD25+CD62L+Foxp3+ Regulatory T Cells That Prevent Allograft Rejection: Potential Avenues for Cellular Therapy. *Transplantation*. 2008 Aug 27;86(4):578–89.
- Francis RS, Feng G, Tha-In T, Lyons IS, Wood KJ, Bushell A. Induction of transplantation tolerance converts potential effector T cells into graft-protective regulatory T cells. *Eur J Immunol*. 2011 Mar 17;41(3):726–38.
- Afzali B, Lechler RI, Hernandez-Fuentes MP. Alloreognition and the alloresponse: clinical implications. *Tissue Antigens*. 2007 Jun 23;69(6):545–56.
- Salisbury EM, Game DS, Lechler RI. Transplantation tolerance. *Pediatric Nephrology*. 2014 Dec 10;29(12):2263–72.
- Griesemer AD, Sorenson EC, Hardy MA. The Role of the Thymus in Tolerance. *Transplantation*. 2010 Sep 15;90(5):465–74.
- Page E, Kwun J, Oh B, Knechtle S. Lymphodepletional Strategies in Transplantation. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2013 Jul 1;3(7):a015511–a015511.
- Lourenço E V., La Cava A. Natural regulatory T cells in autoimmunity. *Autoimmunity*. 2011 Feb 23;44(1):33–42.
- Hoffman BE, Martino AT, Sack BK, Cao O, Liao G, Terhorst C, et al. Nonredundant Roles of IL-10 and TGF- β in Suppression of Immune Responses to Hepatic AAV-Factor IX Gene Transfer. *Molecular Therapy*. 2011 Jul;19(7):1263–72.
- Martin E, O’Sullivan B, Low P, Thomas R. Antigen-Specific Suppression of a Primed Immune Response by Dendritic Cells Mediated by Regulatory T Cells Secreting Interleukin-10. *Immunity*. 2003 Jan;18(1):155–67.
- Abdel-Gadir A, Massoud AH, Chatila TA. Antigen-specific Treg cells in immunological tolerance: implications for allergic diseases. *F1000Res*. 2018 Jan 10;7:38.
- Sakaguchi S, Kawakami R, Mikami N. Treg-based immunotherapy for antigen-specific immune suppression and stable tolerance induction: a perspective. *Immunotherapy Advances*. 2023 Jan 1;3(1).
- Chruscinski A, Sadozai H, Rojas-Luengas V, Bartczak A, Khattar R, Selzner N, et al. Role of Regulatory T Cells (Treg) and the Treg Effector Molecule Fibrinogen-like Protein 2 in Alloimmunity and Autoimmunity. *Rambam Maimonides Med J*. 2015 Jul 30;6(3):e0024.

17. Ikegawa S, Matsuoka K ichi. Harnessing Treg Homeostasis to Optimize Posttransplant Immunity: Current Concepts and Future Perspectives. *Front Immunol.* 2021 Aug 30;12.
18. Shevyrev D, Tereshchenko V. Treg Heterogeneity, Function, and Homeostasis. *Front Immunol.* 2020 Jan 14;10.
19. Steiner R, Pilat N. The potential for Treg-enhancing therapies in transplantation. *Clin Exp Immunol.* 2023 Mar 16;211(2):122–37.
20. Sasaki K, Kubo M, Wang Y chao, Lu L, Vujević V, Wood-Trageser MA, et al. Multiple infusions of ex vivo-expanded regulatory T cells promote CD163+ myeloid cells and kidney allograft survival in non-lymphodepleted non-human primates. *Kidney Int.* 2024 Jan;105(1):84–98.
21. Oo YH, Ackrill S, Cole R, Jenkins L, Anderson P, Jeffery HC, et al. Liver homing of clinical grade Tregs after therapeutic infusion in patients with autoimmune hepatitis. *JHEP Reports.* 2019 Oct;1(4):286–96.
22. Redfield RR, Rodriguez E, Parsons R, Vivek K, Mustafa MM, Noorchashm H, et al. Essential role for B cells in transplantation tolerance. *Curr Opin Immunol.* 2011 Oct;23(5):685–91.
23. Newell KA, Asare A, Kirk AD, Gisler TD, Bourcier K, Suthanthiran M, et al. Identification of a B cell signature associated with renal transplant tolerance in humans. *Journal of Clinical Investigation.* 2010 Jun 1;120(6):1836–47.
24. Eng HS, Bennett G, Tsiopelas E, Lake M, Humphreys I, Chang SH, et al. Anti-HLA Donor-Specific Antibodies Detected in Positive B-Cell Crossmatches by Luminex® Predict Late Graft Loss. *American Journal of Transplantation.* 2008 Nov;8(11):2335–42.
25. Lefaucheur C, Suberbielle-Boissel C, Hill GS, Nochy D, Andrade J, Antoine C, et al. Clinical Relevance of Preformed HLA Donor-Specific Antibodies in Kidney Transplantation. In: *Humoral Immunity in Kidney Transplantation.* Basel: KARGER; 2008. p. 1–12.
26. Terasaki PI, Cai J. Human Leukocyte Antigen Antibodies and Chronic Rejection: From Association to Causation. *Transplantation.* 2008 Aug 15;86(3):377–83.
27. Lee PC, Zhu L, Terasaki PI, Everly MJ. HLA-Specific Antibodies Developed in the First Year Posttransplant are Predictive of Chronic Rejection and Renal Graft Loss. *Transplantation.* 2009 Aug 27;88(4):568–74.
28. Liu C, Noorchashm H, Sutter JA, Naji M, Prak EL, Boyer J, et al. B lymphocyte-directed immunotherapy promotes long-term islet allograft survival in nonhuman primates. *Nat Med.* 2007 Nov 28;13(11):1295–8.
29. Schneider P, MacKay F, Steiner V, Hofmann K, Bodmer JL, Holler N, et al. BAFF, a Novel Ligand of the Tumor Necrosis Factor Family, Stimulates B Cell Growth. *J Exp Med.* 1999 Jun 7;189(11):1747–56.
30. Mackay F, Schneider P, Rennert P, Browning J. BAFF and APRIL: A Tutorial on B Cell Survival. *Annu Rev Immunol.* 2003 Apr;21(1):231–64.
31. Xu H, He X, Liu Q, Shi D, Chen Y, Zhu Y, et al. Abnormal High Expression of B-Cell Activating Factor Belonging to the TNF Superfamily (BAFF) Associated With Long-Term Outcome in Kidney Transplant Recipients. *Transplant Proc.* 2009 Jun;41(5):1552–6.
32. Zarkhin V, Li L, Sarwal MM. BAFF May Modulate the Rate of B-Cell Repopulation After Rituximab Therapy for Acute Renal Transplant Rejection. *Transplantation.* 2009 Nov 27;88(10):1229–30.
33. Vo AA, Lukovsky M, Toyoda M, Wang J, Reinsmoen NL, Lai CH, et al. Rituximab and Intravenous Immune Globulin for Desensitization during Renal Transplantation. *New England Journal of Medicine.* 2008 Jul 17;359(3):242–51.
34. Jenkins MK, Schwartz RH. Antigen presentation by chemically modified splenocytes induces antigen-specific T cell unresponsiveness in vitro and in vivo. *J Exp Med.* 1987 Feb 1;165(2):302–19.
35. Larsen CP, Pearson TC, Adams AB, Tso P, Shirasugi N, Strobert E, et al. Rational Development of LEA29Y (belatacept), a High-Affinity Variant of CTLA4-Ig with Potent Immunosuppressive Properties. *American Journal of Transplantation.* 2005

Mar;5(3):443–53.

36. Larsen CP, Grinyó J, Medina-Pestana J, Vanrenterghem Y, Vincenti F, Breshahan B, et al. Belatacept-Based Regimens Versus a Cyclosporine A-Based Regimen in Kidney Transplant Recipients: 2-Year Results From the BENEFIT and BENEFIT-EXT Studies. *Transplantation*. 2010 Dec 27;90(12):1528–35.

37. Vanrenterghem Y, Bresnahan B, Campistol J, Durrbach A, Grinyó J, Neumayer HH, et al. Belatacept-Based Regimens Are Associated With Improved Cardiovascular and Metabolic Risk Factors Compared With Cyclosporine in Kidney Transplant Recipients (BENEFIT and BENEFIT-EXT Studies). *Transplantation*. 2011 May 15;91(9):976–83.

38. Medina Pestana JO, Grinyo JM, Vanrenterghem Y, Becker T, Campistol JM, Florman S, et al. Three-Year Outcomes From BENEFIT-EXT: A Phase III Study of Belatacept Versus Cyclosporine in Recipients of Extended Criteria Donor Kidneys. *American Journal of Transplantation*. 2012 Mar;12(3):630–9.

39. Carbone M, M. Neuberger J. Solid Organ Transplantation. In: *Regenerative Medicine Applications in Organ Transplantation*. Elsevier; 2014. p. 17–28.

40. Ildstad ST, Sachs DH. Reconstitution with syngeneic plus allogeneic or xenogeneic bone marrow leads to specific acceptance of allografts or xenografts. *Nature*. 1984 Jan;307(5947):168–70.

41. Sharabi Y, Sachs DH. Mixed chimerism and permanent specific transplantation tolerance induced by a nonlethal preparative regimen. *J Exp Med*. 1989 Feb 1;169(2):493–502.

42. Kaufman CL, Ildstad ST. Induction of donor-specific tolerance by transplantation of bone marrow. *Ther Immunol*. 1994 Apr;1(2):101–11.

43. Erdal Y. Dendritic cells and clinical applications in transplantation. *Istanbul Bilim University Florence Nightingale Transplantation Journal*. 2017 Nov 20;2(2):45–51.

44. Hasegawa H, Matsumoto T. Mechanisms of Tolerance Induction by Dendritic Cells In Vivo. *Front Immunol*. 2018 Feb 26;9.

45. Powell JD. The induction and maintenance of T cell anergy. *Clinical Immunology*. 2006 Sep;120(3):239–46.

46. Chappert P, Schwartz RH. Induction of T cell anergy: integration of environmental cues and infectious tolerance. *Curr Opin Immunol*. 2010 Oct;22(5):552–9.