

ALKOLİK YAPILAN GEBE SIÇANLAR VE YAVRULARINDA NK AKTİVASYONU İLE IL-2, IFN- γ ve CD19 ETKİLEŞİMİ*

Sibel AKYOL, Halil TUNALI,
Bayram KIRAN, Özdemir İLTER

Background.- Our study aims to show how the NK cells interact with the parameters of IL-2, IFN- γ and CD 19 in the alcoholic pregnant rats and their offspring. Several experimental animal models have been described for the study that was carried out on a total number of 80 Wistar albino female rats.

Design.- In our study, rats were divided into 8 groups; 1) Control group (K) (n=10) 2) Group that received ethanol through gavage (G) (n=10) 3) Control pregnant group (KG) (n=10) 4) Pregnant group that received ethanol through gavage (GG) (n=10) 5) Control offspring (10 days old) (KY10) (n=10) 6) Control offspring (30 days old) (KY30) (n=10) 7) 10-day-old offspring of pregnant rats that received ethanol through gavage (GY10) (n=10) 8) 30 day old offspring of pregnant rats that received ethanol through gavage (GY30) (n=10).

Results.- Data from this study show that there has been a considerable decrease in the NK values the successive groups [(K: % 54.90 \pm 10.86 and G: % 38.40 \pm 3.43), (KG: % 40.00 \pm 2.1 and GG: % 37.1 \pm 2.10)] and the groups of 10 to 30 day old offspring of rats [(KY10: %30.2 \pm 2.1 and GY10: %13.0 \pm 0.7), (KY30: %32.28 \pm 2.6 and GY30: %20.75 \pm 1.2)] respectively. A significant decrease is observed in the IL-2 values between the

consecutive groups [(K: 86.5 \pm 1.3 pg/ml and G: 71.0 \pm 2.4 pg/ml), (KG: 65.9 \pm 1.1 pg/ml and GG: 60.9 \pm 2.1 pg/ml)] and the groups of 10 to 30 day old offspring of rats [(KY10: 75.4 \pm 3.2 pg/ml and GY10: 63.0 \pm 3.2 pg/ml), (KY30: 76.0 \pm 3.4 pg/ml and GY30: 70.0 \pm 2.6 pg/ml)] respectively.

The IFN- γ values indicated a considerable decrease among the successive groups [(K: 1250 \pm 29.6 pg/ml and G: 860 \pm 27.3 pg/ml) (KG: 720 \pm 13.6 pg/ml and GG: 570 \pm 9.1 pg/ml)] and the groups of 10 to 30 day old offspring of rats [(KY10: 850 \pm 25.0 pg/ml and GY10: 520 \pm 17 pg/ml) (KY30: 900 \pm 10 pg/ml and GY30: 640 \pm 16.10 pg/ml)] respectively. No significant changes were observed in the CD-19 values between the groups [(K: % 25.73 \pm 3.07 and G: % 23.83 \pm 1.6) while there was a significant decrease between the groups (KG: %23.98 \pm 1.7 and GG: % 18,46 \pm 1.7)] The CD-19 values displayed a considerable increase among the consecutive groups of [(KY10: %11.15 \pm 1.7 and GY10: % 32.5 \pm 2.0) (KY30: %21.35 \pm 1.2 and GY30: % 30.8 \pm 1.8)] respectively.

Conclusions.- It has been observed that in the female pregnant rats that received alcohol through gavage, the NK activity falls considerably according to the control group and in parallel to that there is a decrease in the levels of the parameters CD 19, IL-2 and IFN- γ . Compared to the 30-day old-offspring, a more suppressive effect was observed in the NK, IL-2 and IFN- γ levels of the 10 day old offspring of the rats that received alcohol during the period of pregnancy. Also in the CD-19 level, a significant increase is observed both in 10 and 30 day old offspring. These results point out the fact that the teratogenic factors like alcohol are primarily responsible for the profound and harmful effects on the special immune tolerance systems that have developed through the period of pregnancy of the mother.

Akyol S, Tunalı H, Kiran B, İter Ö. The NK activation and the interaction of the parameters IL-2, IFN- γ and CD19 in the alcoholic pregnant rats and their offspring. *Cerrahpaşa J Med* 2001; 32: 43-50.

* İÜ Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir (Proje No. 883-090896); *Anahtar Kelimeler:* Gebelik, Etanol, İmmünite, NK, IL-2, CD19, Yavrular; *Key Words:* Pregnancy, Ethanol, Immunity, NK, IL-2, CD19, Offspring; *Alındığı Tarih:* 27 Haziran 2000; *Doktora Öğr. Sibel Akyol, Prof. Dr Halil Tunalı: İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı; Doktora Öğr. Bayram Kiran: İÜ İstanbul Tıp Fakültesi DETAE İmmünoloji Bilim Dalı; Prof. Dr. Özdemir İter: İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Emekli Öğretim Üyesi. Yazışma Adresi (Address): S. Akyol, İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, 34303, Cerrahpaşa, İstanbul. <http://www.ctf.istanbul.edu.tr/dergi/online/2001v32/s1/011a7.htm>*

Sağlıklı gebeliklerin oluşması kalıtsal ve kalıtsal olmayan nedenlerle oluşan fetal malformasyonlar ile genetik bozuklukların oluşumunun engellenmesiyle sağlanır. Gelişen embriyoyu etkileyerek fetal anomaliye neden olan teratojenik faktörlerin başında alkol, nikotin, eroin ve ilaçlar gelmektedir. Bu maddelerin etkileri direkt ve indirekt olmaktadır.¹⁻⁴

Alkolik anneden geçerek yeni doğanları, gerek immünolojik gerekse genetiksel olarak etkileyen fetal alkol sendromu (FAS) belirtileri vardır. İmmün sistem bütün antijenik yapılara özgül yanıt geliştirebilme özelliğine sahip olmasına rağmen, gebelik sürecinde fetusun bir transplant olarak algılanmasını engellemek için özel tolerans sistemleri geliştirir.^{5,6}

İmmün tolerans, inhibitör hücre veya faktörün aktif üretimine bağlı olabilir ya da immün cevabın stimule edilmemesi nedeniyle pasif olabilir. Gebeliğin erken döneminden başlayarak, maternal reddin engellenmesi, fetusun yaşam süreci, doğum terminin belirlenmesi, immün parametrelerin supresyonu ile sağlanabilmektedir. Gebelik sürecinde lenfositlerin sitotoksik etkisi azalmakta interlökin üretimi baskılanmaktadır. Gebeliğin devamı için gerekli olan immünsupresyon mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Gebelik döneminde immün tolerans mekanizması teratojenik faktörlerin etkisiyle de değişime uğramaktadır.

Seeling,⁷ tarafından yapılan çalışmada gebelik döneminde alınan etanolün T ve B lenfosit cevabını engelleyerek, IL-2, TNF sitokin üretimini baskıladığı gösterilmiştir.

Postnatal dönemde % 20 sıvı etanol diyetle beslenmiş fare yavrularında dalak lenfosit antijenleri üzerinde yapılan çalışmada, Thy1, 2, CD4+, CD8+ ve IgG (CD19) sayılarının azaldığı belirlenmiştir.⁸

Weinberg ve ark,⁹ tarafından yapılan

çalışmada, Fetal Alkol Sendromlu sıçanlarda, B hücre proliferasyonunun, IL-2'ye timosit cevabının, dalak lenfosit sayısının çok anlamlı değiştiği gösterilmiştir.

Norman,¹⁰ yaptığı çalışmada, FAS (Fetal Alkol Sendromu) gebelik döneminde immün değişmelere neden olduğunu ve intrauterin yaşamda alkol uygulanan sıçanlarda T hücre mitojenlerinin ve IL-2 üretiminin, T blast hücrelerinin proliferatif cevaplarının baskılandığını belirtmiştir.

Jerrels,¹¹ etanol uygulanmış sıçanlar üzerinde yaptığı çalışmada, timus, dalak, periferik kanda lenforal hücre sayısının azaldığını, T hücreler için önemli büyüme faktörü olan IL-2 yetersizliğinin T hücre defektine yol açtığını göstermiştir.

Chang,¹² yaptığı çalışmada intrauterin etanol uygulanan ergin sıçanlarda IL-2 sitokininin baskılanmasına bağlı, T proliferasyonunda da azalma olduğu vurgulanmıştır.

Kuhnert,¹³ normal gebeliğin devamı için gerekli lenfosit alt gruplarını göstermek için yaptığı çalışmada WBC'de anlamlı artış, B lenfositlerinde fazla bir değişimin olmadığı gebeliğin özellikle ilk trimesterinde (<14 hafta) NK düzeyinde anlamlı baskılanmanın olduğu belirtilmiştir.

Jokhi,¹⁴ gebeliğin ilk trimesterinde plenta ve uterna yüzeyindeki hücrelerde IL-1, IL-2, IFN α , IFN γ , TNF α sitokin reseptörlerinin varlığını göstermiş maternal immüntoleransta etkin oldukları vurgulanmıştır.

Quenby,¹⁵ yaptığı çalışmada düşük yapan kadınların endometriyumunda CD4, CD8, CD14, CD16 ve özellikle CD56 (NK) hücrelerinin yüksek düzeyde olduğunu göstermiştir.

Bu bilgiler doğrultusunda sağlıklı gebeliğin sürdürülmesinde rol oynayan spesifik ve nonspesifik immün parametrelerin

gebelikte kullanılan alkol ile nasıl bir değişime uğrayacağı ve yavruların immün sistemine nasıl yansıtacağı çalışmamızın temelini oluşturmaktadır.

Bu bağlamda antijenlere özgü olmayan T ve B lenfositlerinden farklı yapı gösteren NK hücrelerinin, alkolik yapılan gebe sıçanlar ve yavrularında IL-2, IFN- γ ve CD19 ile nasıl etkileşim içinde olduğunu göstermek amacıyla çalışmamızı planladık.

Bu bilgiler doğrultusunda antijenlere özgü olmayan T ve B lenfositlerden farklı yapı gösteren NK (doğal öldürücü) hücrelerinin alkolik yapılan gebe sıçanlar ve yavrularında IL-2, IFN- γ ve CD19 ile nasıl bir etkileşim içinde olduğunu göstermek amacıyla çalışmamızı planladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmamız İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD, İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD İmmünoloji Laboratuvarı ve İÜ DETAE İmmünoloji Bilim Dalında yapıldı. Çalışmamızda ortalama ağırlıkları 180-200 g. olan 10-12 haftalık a/a Wistar albino soyu dişi sıçanlar kullanıldı.

Sıçanlar;

- 1- Kontrol grubu (K) (n=10)
 - 2- Gavajla etanol uygulanan grup (G) (n=10)
 - 3- Kontrol gebe grubu (KG) (n=10)
 - 4- Gavajla etanol uygulanan gebe grubu (GG) (n=10)
 - 5- Kontrol 10 günlük yavru (KY10) (n=10)
 - 6- Kontrol 30 günlük yavru (KY30) (n=10)
 - 7- Gavajla etanol uygulanan gebenin 10 günlük yavrusu (GY10) (n=10)
 - 8- Gavajla etanol uygulanan gebenin 30 günlük yavrusu (GY30) (n=10)
- olmak üzere 8 grup (n=80) oluşturduk.

Sıçanlar 21±2°C deki odalarda hepsi aynı ışıık periyotlarında bırakıldı. Bu oluşturulan gruplarda gebe bırakılacak dişi sıçanlara 2 ay boyunca günde kg. başına 6 g. gelecek şekilde %30'luk etanol, gavaj yöntemiyle uygulandı. Gebe bırakılacak sıçanların menstural siklus-

larının düzenli olup olmadığı "vajinal smear" tekniği ile tayin edildi. Bu uygulamanın ardından gebe bırakıldılar. Gebelik süresince alkol uygulamasına devam edildi. Kandaki alkol düzeyi Adli Tıp Kurumunda KANGA-3 MTH yöntemiyle ölçüldü. Periferik kanda, NK Sitotoksik etki (Antikandidal index tayini), CD19 (Flow cytometric yöntemle), IL-2 (Elisa yöntemiyle), IFN- γ (Elisa yöntemiyle) immünolojik parametreleri tayin edildi.

İstatistiksel değerlendirme tek yönlü varyans analizi, ANNOVA (DUNCAN testi) ile yapılmıştır.

BULGULAR

NK sayısı, gavajla etanol uygulanan grupta (G: %38.40±3.43) kontrol grubuna (K: %54.90±10.86) göre çok anlamlı (p<0.001), gavajla etanol uygulanan gebe grupta (GG: %37.1 ± 2.10) kontrol gebe grubuna (KG: %40.00±2.1) göre anlamlı (p<0.01) düşüş saptandı (Tablo I).

IL-2 , gavajla etanol uygulanan grupta (G: 71.0±2.4 pg/ml) kontrol grubuna (K: 86.5±1.3 pg/ml) göre, gavajla etanol uygulanan gebe grupta (GG: 60.9±2.1 pg/ml) kontrol gebe grubuna (KG: 65.9±1.1 pg/ml) göre anlamlı (p<0.01) düşüş gözlemlendi (Tablo I).

IFN- γ , gavajla etanol uygulanan grupta (G: 860±27.3 pg/ml) kontrol grubuna göre (K:1250±29.6 pg/ml), gavajla etanol uygulanan gebe grupta (GG: 570±9.1 pg/ml) kontrol gebe grubuna (KG: 720±13.6 pg/ml) göre çok anlamlı (p<0.001) düşüş saptandı (Tablo I).

CD-19, gavajla etanol uygulanan grupla (G: % 23.83±1.6), kontrol grubu (K: % 25.73±3.07) arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı. Ancak gavajla etanol uygulanan gebe grupta (GG: %18.46±1.7) kontrol gebe gruba (KG: %23.98±1.7) göre anlamlı (p<0.01) bir azalma görüldü (Tablo I).

Doğum sonrası yavrularda immün parametrelere baktığımızda; NK; gavajla etanol alan gebelerin 10 günlük yavrula-

Tablo I. Sağlıklı Kontrol Grubu ile Gavajla Etanol Uygulanan ve Gebe Bırakılan Sıçanların NK, IL-2, IFN- γ ve CD19 İmmün Parametrelerine Ait İstatistiksel Anlamlılık Değerleri ve Karşılaştırılması.

Gruplar (Tablo I)	Kontrol (K) (n=10)	Gavajla Etanol (G) (n=10)	P
NK (%)	54.90±10.86	38.40±3.43	p<0.001
IL-2 (pg/ml)	86.5±1.3	71.0±2.4	p<0.001
IFN- γ (pg/ml)	1250±29.6	860±27.3	p<0.001
CD19 (%)	25.73±3.07	23.83±1.6	p=0.01
	Kontrol Gebe (KG) (n=10)	Gavajla Etanol (GG) Uygulanan Gebe (n=10)	P
NK (%)	40.0±2.1	37.1±2.10	p<0.01
IL-2 (pg/ml)	65.9±1.1	60.9±2.1	p<0.01
IFN- γ (pg/ml)	720±13.6	570±9.1	p<0.001
CD19 (%)	23.98±1.7	18.46±1.7	p<0.01

rında (GY10: %13.0±0.7), kontrol yavrulara (KY10: %30.2±2.1) göre çok anlamlı (p<0.001) düşüş saptandı. Gavajla etanol alan gebelerin 30 günlük yavrularında (GY30: %20.75±1.2), kontrol yavrulara (KY30: %32.28±2.6) göre çok anlamlı (p<0.001) düşüş gözlemlendi (Tablo II).

IL-2, gavajla etanol alan gebelerin 10 günlük yavrularında (GY10: 63.0±3.2 pg/ml), kontrol yavrulara (KY10: 75.4±3.2 pg/ml) göre, gavajla etanol alan gebelerin 30 günlük yavrularında (GY30: 70±2.6 pg/ml) kontrol 30 günlük yavrulara (KY30: 76.0±3.4 pg/ml) göre anlamlı (p<0.01) düşüş saptandı (Tablo II).

IFN- γ , gavajla etanol alan gebelerin 10 günlük yavrularında (GY10: 520±17 pg/ml) kontrol 10 günlük yavrulara (KY10: 850±25.0 pg/ml) göre, gavajla etanol alan gebelerin 30 günlük yavrularında (GY30: 640±16.10 pg/ml) kontrol 30 günlük yavrulara (KY30: 900±10.0 pg/ml) göre çok anlamlı (p<0.001) düşüş bulundu (Tablo II).

CD19, gavajla etanol alan gebelerin 10 günlük yavrularında (GY10: %32.5±2), kontrol 10 günlük yavrulara göre (KY10: %11.15±1.7), gavajla etanol alan gebelerin 30 günlük yavrularında (GY30: %30.8±1.8) kontrol 30 günlük yavrulara (KY30:

Tablo II. 10 ve 30 Günlük Kontrol Yavrular ile, 10 ve 30 Günlük Alkolik Gebe Sıçanların Yavrularının NK, IL-2, IFN- γ , ve CD19 İmmün Parametrelerine Ait İstatistiksel Değerleri ve Karşılaştırılması

GRUPLAR	Kontrol yavru (KY) (n=10) (10 gün)	Gavajla Yavru (GY) (10 gün) (n=10)	P
NK (%)	30.2±2.1	13.0±0.7	p<0.001
IL-2 (pg/ml)	75.4±3.2	63.0±3.2	p<0.001
IFN- γ (pg/ml)	850±25.0	520±17	p<0.001
CD19 (%)	11.15±1.7	32.5±2.0	p<0.001
	Kontrol Yavru (KY) (n=10) (30 gün)	Gavajla Yavru (GY) (n=10) (30 gün)	P
NK (%)	32.28±2.6	20.75±1.2	p<0.001
IL-2 (pg/ml)	76.0±3.4	70.0±2.6	p<0.01
IFN- γ (pg/ml)	900±10	640±16.10	p<0.001
CD19 (%)	21.35±1.2	30.8±1.8	p<0.001

%21.35±1.2) göre çok anlamlı ($p<0.001$) artış gözlemlendi (Tablo II).

TARTIŞMA

Fetusun immungraft olarak reddinin engellenmesi, yaşayabilmesi ve gelişmesi için, anneden farklı olduğu sinyali anneye ulaştırarak lokal immün supressif mekanizmaları işletmesi gerekir.

Gebelik sürecinde gelişen immüntolerans anne ve fetus için oluşacak tehlikeleri önler. Gebenin immün sistemi süreç içinde hormonlar, lokal immünsupressif maddeler plesanta proteinleri (PP), erken gebelik faktörleri (EPF) ve steroidler gibi faktörlerin etkisiyle işlevine devam etmektedir.^{16,17} Gebelik sürecinde oluşan immun yanıt değişimlerine rağmen, anne ve fetus enfeksiyonlara karşı savunma mekanizması geliştirmektedir. Gebelik döneminde organogenesis evresinde alkol, ilaç, haşhaş gibi teratojenik faktörlerin oluşturacağı malformasyonlar doza, fetusa ulaşma şekline ve süreye bağlı olarak değişmektedir.¹⁸ Teratojenik faktörlerden alkol gebelerde fetusa, fetal/ plasental markırlar üzerinden etkilidir.

Etanol kullanımı sonucu periferik kan, dalak ve timusta lenfoid hücrelerin kaybı, özellikle T hücreye bağlı immün cevaplarda kayıplar, IL-2 yolunun kullanılmaması, TNF sitokin değişiklikleri olarak özetlenebilir.¹⁹

Yapılan çalışmalarda fetal alkol sendromlu sıçan modellerinde, merkezi sinir sisteminde davranışlarda, endokrin faaliyette değişimlerin olduğu, immün sistemin zayıfladığı prenatal ve postnatal büyüme evrelerinde yavaşlamanın olduğu sonucuna varılmıştır.²⁰

Alkol ve immün parametreler arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda etanolün immün sistem üzerinde derin etkilerinin olduğunu göstermektedir. Ancak etanolün gebelik sürecinde immün sistem

üzerine etkileri konusunda fazla bilgi bulunmamaktadır.

Araştırmamızda 'alkolik yapılan gebe sıçanlar ve yavrularında NK aktivasyonu ile IL-2, IFN- γ ve CD 19 etkileşimini' inceleyerek farklı yaklaşımlar getirmeye çalıştık.

Çalışmamızda sağlıklı kontrol grubuna göre gavajla etanol uygulanan grupta NK, IL-2 ve IFN- γ aktivitesinde çok anlamlı ($p<0.001$) bir düşüş saptandı (Tablo D).

NK hücreleri, IFN- γ , TNF, IL-2 sitokinleri ile hedef hücreleri lizise uğratma yeteneklerini arttırmırlar.^{21,22} Hedef hücrelerin NK tarafından öldürülmesi için IgG ile önceden kaplanması gerekmektedir.²³ Antikor üreten B lenfositlerin göstergesi olan CD19, sağlıklı kontrol grubuna göre gavajla etanol uygulanan grupta anlamlı bir değişime uğramamıştır. CD19 değişimleri, antikor düzeyini de etkilemektedir. CD19 düzeyinin değişmemesi, NK hücrelerinin hedef hücreyi tanımasını sağlayan IgG üretimini de etkileyeceğinden, NK aktivasyonunda azalma görülebilir.²⁴ Çalışmamızda etanolün sitokinler üzerindeki supressif etkisi CD19 düzeyinin değişmemesine rağmen NK aktivasyonuna da yansımıştır.

Yine Ben Eliyahu²⁵ tarafından yapılan çalışmada, NK hücrelerinin faaliyetinin etanol ile baskılandığı gösterilmiştir.

Kontrol grubu ile gavajla etanol uygulanan gebe grubu karşılaştırıldığında NK, IL-2, CD19 düzeylerinde anlamlı ($p<0.01$), IFN- γ düzeylerindeki çok anlamlı ($p<0.001$) azalmanın olduğu gözlemlendi.

Gebelikte 3 aya doğru NK aktivitesi azalmaktadır. Başarılı bir gebeliğin devamı için NK aktivitesinin inhibisyonu gereklidir. NK (CD56, CD56/16) hücre aktivitesinin yüksek olmasının, etanol uygulanan gebe sıçanların abortusa meyillerinin fazla olmasına neden olabileceği ileri sürülmektedir.^{15,26}

Ben Eliyahu,²⁵ etanol uygulanan tekrarlayan spontan abortuslu sıçanlarda doza bağımlı olarak NK aktivitesinin yüksek olduğunu göstermiştir. Çalışmada CD19 düzeyindeki azalmaya bağlı olarak NK düzeyinde de anlamlı azalma olduğu vurgulanmıştır.

Chao ve ark,^{27,28} tarafından yapılan çalışmada normal gebelikte NK aktivitesinin baskılandığını, tekrarlayan düşüklerde B hücreleri (CD19) ve NK hücrelerinde artış olduğu saptanmıştır. Bu bulgular araştırma sonuçlarımızla paralellik göstermektedir.

Alkolik gebelerin yavrularında meydana gelecek immün değişimlerle ilgili fazla bilgi bulunmamaktadır. Çalışmamızda 10 günlük kontrol yavru grubuna göre gavajla etanol uygulanan 10 günlük yavru grubunda NK, IL-2, IFN- γ düzeylerinde çok anlamlı ($p < 0.001$) düşüş gözlemlendi. CD19 değerinde ise çok anlamlı bir artış söz konusudur. Bu artışa paralel antikor düzeyinde oluşacak artışa rağmen antikora bağımlı hücrel sitotoksik özelliği olan NK aktivitesinin stimüle edilemediğini göstermektedir. Bu da etanolün sitokinler üzerindeki güçlü supressif etkisinin sonucu olarak değerlendirilebilir.²⁹

Steven ve ark.³⁰'nın yaptıkları çalışmada etanol uygulanan sıçanların, laktasyon döneminde meme bezlerinde lökosit alt gruplarının dağılımı incelenmiş; gebelikte %18 protein diyetle kısa süreli etanol uygulanan hayvanlarda total IgA, CD19 (B lenfosit) ve T hücre sayılarında azalma, uzun süreli etanol uygulanan grupta ise IgA, CD19 ve T hücre sayılarında artış olduğu vurgulanmıştır. Laktasyon süresince maternal lökositlerin yenidoğana transferi yavrunun immünolojik yapısını belirlemektedir.

30 günlük kontrol yavru grubuna göre gavajla etanol uygulanan grupta NK, IL-2, IFN- γ değerlerinde çok anlamlı ($p < 0.001$) düşüş görülmektedir. CD19 değe-

rinde 10 günlük yavrularda görülen artış, 30 günlük yavrularda da çok anlamlı ($p < 0.001$) şekilde saptanmıştır.

IL-2, NK hücrelerini harekete geçiren ve onların sitolitik işlevlerini arttıran sitokinlerdir.³¹ IL-2 aynı zamanda B hücrelerine (CD19) etki ederek antikor sentezini uyarır.³²

Taylor,³³ fetal dönemde alkole maruz kalan yavrularda NK aktivasyonunun baskılandığını göstermiştir.

Na ve ark,³⁴ yaptıkları çalışmada gebelikte laktasyon sırasında immünte geçişinin yenidoğanın gelişiminde rol oynadığını, annenin etanol alımının yenidoğan immün sisteminde özellikle erken dönemde güçlü bir supresyona neden olduğunu vurgulamışlardır. Etanol alımı, süt ve kan hücrelerinde sitokin düzeyinde değişimlere neden olduğundan, immün sistem etkilenmektedir.³⁵

Sonuç olarak, NK hücreleri immün sistemin doğuştan gelen öldürücü hücreleri olarak kabul edilmektedir. İmmün regülasyonda etkin rol oynamaktadır.³⁶ NK hücreleri ve B hücre aktivasyonu yaşa, cinsiyete göre değişim göstermektedir. Son yapılan çalışmalar öldürücü aktivitelerde en güçlü lenfosit fraksiyonunun CD3, CD19, CD56 (NK) fenotipleri olduğunu göstermiştir.³⁷ Etanol gibi teratojenik faktörler NK aktivasyonu, CD19, IL-2 ve IFN- γ gibi sitokinler üzerinde supressif etki gösterirken, immün sistemin ayrı bir tolerans geliştirdiği gebelik döneminde de bu supresyon kuvvetlenmektedir.³⁸ Bu supressif etki komplike olayları tetiklemekte, immün yetmezliklere, tümör oluşumuna ve enfeksiyonlara meyli arttırmaktadır. Ancak bu olumsuzluk yanında gebeliğin devamı için supresyonun gereği unutulmamalıdır. İmmün sistemde birbirine ters çalışan bu mekanizmalar organizmanın yaşamını güçlü kılmaktadır.

ÖZET

Çalışmamız NK hücrelerinin, alkolik yapılan gebe sıçanlar ve yavrularında IL-2, IFN- γ ve CD 19 ile nasıl etkileşim içinde olduğunu göstermek amacıyla planlandı. Toplam 80 Wistar albino soyu dişi sıçanda yapılan araştırmanın grupları; 1) Kontrol Grubu (K) (n=10) 2) Gavajla etanol uygulanan grup (G) (n=10) 3) Kontrol gebe grubu (KG) (n=10) 4) Gavajla etanol uygulanan gebe grubu (GG) (n=10) 5) Kontrol 10 günlük yavru (KY10) (n=10) 6) Kontrol 30 günlük yavru (KY30) (n=10) 7) Gavajla etanol uygulanan gebenin 10 günlük yavrusu (GY10) (n=10) 8) Gavajla etanol uygulanan gebenin 30 günlük yavrusu (GY30) (n=10) şeklinde belirlendi.

NK değerlerinin [(K: %54.90 \pm 10.86 ile G: % 38.40 \pm 3.43), (KG: %40.00 \pm 2.1 ile GG:%37.1 \pm 2.10)] grupları arasında, 10 ve 30 günlük yavru [(KY10: % 30.2 \pm 2.1 ile GY10: %13.0 \pm 0.7), (KY30: %32.28 \pm 2.6 ile GY 30: % 20.75 \pm 1.2)] grupları arasında anlamlı düşüş olduğu belirlendi. IL-2 değerlerinin [(K: 86.5 \pm 1.3 pg/ml ile G:71.0 \pm 2.4 pg/ml.) (KG: 65.9 \pm 1.1 pg/ml ile G.G: 60.9 \pm 2.1 pg/ml.)] grupları arasında, 10 ve 30 günlük yavru [(KY10: 75.4 \pm 3.2 pg/ml ile GY10: 63.0 \pm 3.2 pg/ml), (KY30: 76.0 \pm 3.4 pg/ml ile GY30: 70.0 \pm 2.6 pg/ml)] grupları arasında anlamlı düşüş olduğu görüldü. IFN- γ değerlerinin [(K:1250 \pm 29.6 pg/ml ile G: 860 \pm 27.3 pg/ml), (KG: 720 \pm 13.6 pg/ml ile GG: 570 \pm 9.1 pg/ml)] grupları arasında, 10 ve 30 günlük yavru [(KY10: 850 \pm 25.0 pg/ml ile GY10: 520 \pm 17pg/ml) (KY30: 900 \pm 10 pg/ml ile GY30: 640 \pm 16.10 pg/ml)] grupları arasında anlamlı azalma gözlemlendi. CD19 değerleri [(K: %25.73 \pm 3.07 ile G: %23.83 \pm 1.6) grupları arasında anlamlılık belirlenemedi. (KG: %23.98 \pm 1.7 ile GG: %18.46 \pm 1.7) grupları arasında anlamlı düşüş görüldü. 10 ve 30 günlük yavru [(KY10: %11.15 \pm 1.7 ile GY10: %32.5 \pm 2.0) (KY30: %21.35 \pm 1.2 ile GY30: %30.8 \pm 1.8)] grupları arasında anlamlı artış belirlendi.

Gavaj yöntemiyle alkol uygulanan dişi sıçanlarda ve bunların gebelik döneminde kontrol grubuna göre NK aktivitesinin anlamlı olarak azaldığı, buna paralel olarak CD-19, IL-2 ve IFN- γ düzeyinde de azalma olduğu görüldü. Gebelik döneminde alınan alkolün, 10 günlük yavrularda NK, IL-2, IFN- γ düzeyinde, 30 günlük yavrulara göre daha güçlü supresif etkisi olduğu belirlendi. Gerek 10 gerekse 30 günlük yavrularda CD19 düzeyinde anlamlı artışın olduğu gözlemlendi. Gebelik sürecinde anede gelişen özel immün tolerans sistemlerinin teratojenik faktörlerin başında gelen alkol ile değişime uğradığı sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

1. Lanzavechia A. Antigen specific interaction between T and B cells. *Nature* 1985; 314: 537-539.
2. Szekeres-Bartho J, Faunt Z. The expression of a progesterone-induced immunomodulatory protein in pregnancy lymphocytes. *Clin Exp Res* 1995; 19: 221-227.
3. Imrie HJ. Reduction in erythrocyte complement receptor 1 (CD1,CD35) and decay accelerating factor (DAF,CD55) during normal pregnancy. *J Reprod Immunol* 1996; 31: 221-227.
4. Gala RR. Shevach EM. Influence of PRL and Growth hormone on the activation of mouse lymphocytes in vivo. *Proc Soc Exp Biol Med* 1993; 204: 224-230.
5. Uksila A. Sex hormones, immune responses mechanism of sex hormone action. *Am J Pathol* 1990; 531-551.
6. Chao TC. Female sex hormones and immune system. *Chang Keng I Hsuuch* 1996; 19: 95-106.
7. Seelig LL. Jr. Steven WM. Stewart GL. Effects of maternal ethanol consumption on the subsequent development of immunity to *Trichinella spiralis* in rat neonates. *Alcohol Clin Exp Res* 1996; 20: 514-522.
8. Giberson PK, Blakley BR. Effect of postnatal ethanol exposure on expression of differentiation antigens of murine splenic lymphocytes. *Alcohol Clin Exp Res* 1994; 18: 21-28.
9. Weinberg J, Jerrells TR. Suppression of immune responsiveness: sex differences in prenatal ethanol effects. *Alcohol Clin Exp Res* 1991; 15: 525-531.
10. Norman DC, Chang MP, Wong, CM.Branch BJ,

- Castle S, Taylor AN. Changes with age in the proliferative response of splenic T cells from rats exposed to ethanol in utero. *Alcohol Clin Exp Res* 1991; 15: 428-432.
11. Jerrells TR. Immunodeficiency associated with ethanol abuse. *Adv Exp Med Biol* 1991; 288: 229-236.
 12. Chang MP, Yamaguchi DT, Yeh M, Taylor AN, Norman DC. Mechanism of the impaired T cell proliferation in adult rats exposed to alcohol in utero. *Int J Immunopharmacol* 1994; 16: 345-357.
 13. Kuhnert M; Strohmeier R, Stegmullerm Halberstadt E. Changes in lymphocyte subsets during normal pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1998; 76: 147-151.
 14. Jokhi PP, King A, Loke YW. Cytokine production and cytokine receptor expression by cells of the human first trimester placental – uterine interface. *Cytokine* 1997; 9: 126-137.
 15. Quenby S, Bates M, Doing T, Lewis BJ, Jones DI, Johnson PM, Vince G. Pre-implantation endometrial leukocytes in – women with recurrent miscarriage. *Hum Reprod* 1999; 14: 2386-2391.
 16. Steven WM, Stewart GL, Seelin LL. Effects of levamisole on ethanol – induced suppression of lactational immune transfer in rats. *Alcohol Clin Exp Res* 1993; 17: 958-962.
 17. Gallucci RM, Meadows GG. Ethanol consumption suppresses the IL-2 induced proliferation of NK cells. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1996; 138: 90-97.
 18. Wu WJ, Wolcott RM, Pruett SB. Ethanol decreases the number and activity of splenic natural killer cells in a mouse model for binge drinking. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 271: 722-729.
 19. Laso FJ, Lapenta P, Madruga J, San-Miquel JF. Alterations in tumor necrosis factor alpha , interferon – gamma and IL – 6 production by natural killer cell – enriched peripheral blood mononuclear cells in chronic alcoholism; relationship with liver disease and ethanol intake. *Alcohol Clin Exp Res* 1997; 21: 1226-1231.
 20. Norton S. Basic animal research. *Rec Dev Alcohol* 1991; 9: 95-115.
 21. Minami Y, Kono T. The IL-2 receptor complex: Its structure, function and target genes. *Ann Rev Immunol* 1993; 11: 245-268.
 22. Trinchieri G, Wysocka A, D'Andrea. Natural killer cell stimulatory factor (NKSF) or IL-12 is a key regulator of immune response and inflammation. *Prog Growth Factor Res* 1993; 4: 355-368.
 23. Burton DR, Woof JM. Human antibody effector function. *Adv Immunol* 1992; 51: 1-84.
 24. Gallucci RM. Ethanol consumption reduces the cytolytic activity of lymphokine –activated killer cells. *Alcohol Clin Exp Res* 1995; 19: 402-409.
 25. Ben-Eliyahu S, Page GG, Yirmiya R, Taylor AN. Acute alcohol intoxication suppresses natural killer cell activity and promotes tumor metastasis. *Nat Med* 1996; 2: 457-460.
 26. Ochshorn-Adelson M, Bodner G. Effects of ethanol on human natural killer cell activity: in vitro and acute low dose in vivo studies. *Alcohol Clin Exp Res* 1994; 18: 1361-1367.
 27. Chao KH. Decidual natural killer cytotoxicity decreased in normal pregnancy but not in unembryonic pregnancy and recurrent spontaneous abortion. *Am J Reprod Immun* 1995; 34: 274-280.
 28. Wu WJ, Wolcott RM, Pruett SB. Ethanol decreases the number and activity of splenic natural killer cells in a mouse model for binge drinking. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 271: 722-729.
 29. Abul K, Lichtman AH, Pober JS. Effector mechanisms of T cell – mediated immune reactions. *Cell Molec Immunol* 1994; 13: 262-276.
 30. Steven WM, Barron RA, Stewart GL, Seeling LL. The effects of maternal ethanol consumption on the distribution of leukocyte subsets in the lactating mammary gland of rats. *Alcohol Alcohol* 1991; 26: 615-625.
 31. Herberman RB, Reynolds CW, Ortaldo J. Mechanisms of cytotoxicity by natural killer cells. *Ann Rev Immunol* 1986; 4: 651-680.
 32. Versteeg R. NK cells and T cells mirror images. *Immunology Today* 1992; 13: 244-247.
 33. Taylor AN, Ben Eliyahu S. Actions alcohol on immunity and neoplasia in fetal alcohol exposed and adult rats. *Alcohol sup* 1993; 2: 69-74.
 34. Na HR, Seeling LL. Effect of maternal ethanol consumption on in vitro tumor necrosis factor, IL-6 and IL-2 production by rat milk and blood leukocytes. *Alcohol Clin Exp* 1994; 18: 398-402.
 35. Chang MP, Yamaguchi DT. Mechanism of the impaired T cell proliferation in adult rats exposed to alcohol in utero. *J Immunopharmacol* 1994; 16: 345-357.
 36. Kos FJ. Regulation of adaptive immunity by NK cells. *Immunol Res* 1998; 17: 303-312.
 37. Cook RT, Li F, Vandersteen D. Ethanol and Natural Killer Cells. 1. Activity and immunophenotype in alcoholic humans. *Alcohol Clin Exp Res* 1997; 21: 974-980.
 38. Shinkai S, Konishi M, Shephard RJ. Aging, exercise, training and the immune system. *Exerc Immunol Rev* 1997; 3: 68-95.