

Gebeliğin Farklı Evrelerinde NK (CD56) ve IFN- γ Etkileşimi Üzerine Farklı Dozlardaki Alkolün Etkisi

Sibel Akyol¹, Halil Tunalı¹

¹Istanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

Özet

Amaç: Gebelikte maternal reddin egellenmesi, immün toleransın gelişmesi inhibitör veya stimülatör faktörlerin etkisiyle olmaktadır. Gebeliğin devamı, immünsupresyon ile sağlanmaktadır. Bu süreçte teratojenik faktörler direkt fetusu etkileyerek tolerans mekanizmasını değiştirmektedir. Araştırmamızda, gebeliğin farklı evrelerinde, farklı dozda alkolün hem doğal hem de spesifik immün sistemin kilit hücreleri olan NK(CD56) ve sitokinleri ile etkileşimini incelemeyi planladık.

Yöntem: Çalışmamızda 60 wistar albino soyu dişi sıçanla 6 çalışma grubu oluşturuldu. (Kontrol grubu, %17.5 diyet etanol uygulanan grup, %30 gavaj etanol uygulanan grup, kontrol gebe, %17.5 diyet etanol uygulanan gebe, %30 gavaj etanol uygulanan gebe). NK (CD56); Antikandidal İndeks Tayin Metodu, CD19, IL-2r (CD25), Flow Sitometrik Yöntemiyle ve IL-1, IL-2, IFN- γ , ELISA yöntemiyle tayin edildi.

Bulgular: Bulgularımızda gebeliğin 3. evresinde (17. gün) özellikle gavaj etanol uygulanan gruplarda güçlü supresyonun olduğunu gösterdik.

Sonuç: Sonuç olarak, direkt ve indirekt uyguladığımız etanolün supressif etkisinin gebeliğin ileri evresinde güçlü olduğu ve uygulanan alkolün bu dozların kritik seviyelerde olduğunu bulduk. Daha yüksek dozda alkolün abortus riskini arttıracığını ve fetal anomaliyi arttıracığı yönünde bulgular bu düşüncüyü güçlendirmektedir.

Anahtar kelimeler: Gebelik, NK (CD56), alkol, sitokin, CD19

Cerrahpaşa Tıp Derg 2008; 39: 121-127

The interaction of alcohol at various doses with NK and IFN-gamma at each pregnancy stage

Abstract

Objectives: During pregnancy, the factors affecting maternal rejection are immune tolerance development inhibitors or stimulators. Pregnancy progresses as a result of immunosuppression. Teratogenic factors which directly affect the fetus alter tolerance mechanisms. This study examined the interaction effect of alcohol at different dose rates with both natural and specific lock NK(CD56) and cytokines at various stages of pregnancy.

Methods: In this study 60 female Wistar albino rats were randomly assigned to 6 groups: For non pregnant and pregnant rats there were three groups (a) controls, (b) control pregnant (c) alcohol 17.5% of diet, (d)pregnant rats treated similarly (e) alcohol 30% by gavage (f) pregnant group received ethanol through gavage NK(CD56) levels were determined by the Anticandidal Index Determination Method, CD 19 and IL-2r(CD25) by the Flow Cytometric Method and IL-1, IL-2 and IFN- γ ; by the ELISA method.

Results: Suppression at (the advanced stage of pregnancy) stage 3 (17 days) in the both alcohol groups was markedly higher than controls and suppression in the 30% alcohol group significantly higher than in the 17.5% group.

Conclusion: This is supported by findings that higher doses of alcohol increase the risk of abortion and fetal abnormalities.

Key words: Pregnancy, alcohol, NK (CD56), cytokine, CD19

Cerrahpasa J Med 2008; 39: 121-127

Gebelik sürecinde alkol kullanımı maternal organizmaya bağlı olarak embriyo/fetus gelişiminde etki-

lerini geniş spektrumda gösterir [1,2]. Gebelikte alınan alkol, plasenta yoluyla direkt fetusa geçer ve anne karnındaki miktarla eşitlenir. Gebeliğin 1. trimesterinde alınan alkol direkt olarak embriyo üzerine etki eder. Organ gelişimi döneminde çeşitli organlarda malformasyonlara neden olur. Gebeliğin 2. trimesterinden

Alındığı Tarih: 08 Şubat 2008
Yazışma Adresi (Address): Dr. Sibel Akyol
İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı
34098 - Cerrahpaşa - İstanbul
e-posta: sibelakyol2000@hotmail.com

sonra hücre çoğalmasının hızlı olduğu dönemlerde toksik etkisiyle merkezi sinir sistemi üzerinde hasarlara neden olabilmektedir. Günlük alınan alkol miktarının artması fetusta anormal durumların oluşmasıyla doğru orantılı olarak artmaktadır [3,4]. Fetusun, gelişimi sırasında sürekli ve yoğun alkole maruz kalması sonucunda oluşan olumsuz etkilerin hepsi Fetal Alkol Sendromu (FAS) olarak tanımlanır. Sağlıklı gebelik olgusunda fetal malformasyonların ve genetik bozuklukların engellenmesi için maternal immün supresyonun gerekliliği ortaya çıkar.

Gebelik döneminde oluşan immün tolerans mekanizmasının teratojenik faktörlerden nasıl etkilendiği cevaplanmamış bir sorudur. Hayvan modeli çalışmalarında, alkolik gebelerde FAS gelişimi ve intrauterin büyüme defektleri üzerinde durulmaktadır [3,4]. Buna rağmen alkolün, gebelerde ve fetusta hücresel ve humoral immün sistem üzerinde etkisini inceleyen çok az çalışma bulunmaktadır [1-3].

Son yıllarda yapılan çalışmalarda hem akut hem de kronik alkol kullanımının immün sistem üzerindeki olumsuz etkilerinden sorumlu mekanizmaları açıklamakta yeterli olmadığı görülmektedir. Araştırmamız, gebeliğin farklı evrelerinde farklı dozlarda alkolün, NK (CD56) ve IFN- γ etkileşimi üzerine etkisini saptamak amacıyla planlandı.

Gereç ve Yöntem

Çalışmamızda İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Biriminden temin edilen, ortalama ağırlıkları 180-220 g. olan 10-12 haftalık Wistar albino soyu dişi sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar, Kontrol grubu (C) (n=10), %17.5 diet etanol uygulanan grup (E) (n= 10), %30 gavaj etanol uygulanan grup (GE) (n=10), Kontrol gebe grubu (CG) (n=10), %17.5 diet etanol uygulanan gebe grup (EG) (n=10), %30 gavaj etanol uygulanan gebe grup (GEG) (n=10) olmak üzere 6 grup (n=60) oluşturuldu.

Sıçanlar 21 ± 2 °C'deki odalarda hepsi aynı ışık periyotlarında bırakıldılar. Sıçanlar ad-libidum olarak beslendiler. Diyet etanol uygulanan gruba 4 ay boyunca günde 8.75 g/kg %17.5 etanol (içme suyuna konularak),

gavaj uygulanacak gruba ise 2 ay boyunca günde 6 g/kg gelecek şekilde (direkt olarak mideye entübe yöntemi) %30 etanol uygulandı.

Gebe bırakılacak sıçanların menstrual sikluslarının düzenli olup olmadığı vajinal smear tekniği ile tayin edildi. Bu uygulamanın ardından gebe bırakıldılar. Gebelik süresince etanol uygulamasına devam edildi. Gebeliğin 3. günü (1. evre) ve 17. günü (3. evre) sıçanların kuyruklarından venöz kan örnekleri alındı. Bu alınan kan örneklerinde; NK(CD56) ELISA plaklarında antikan-didal indeks tayin yöntemiyle, CD19, IL-2r (CD25) Flow Sitometrik yöntemle (Ancell, ABD), IL-1, IL-2, IFN- γ ELISA yöntemiyle (Biosource, BLG) tayin edildi.

NK (CD56) Antikandidal İndeks Tayin Yöntemi

NK hücrelerinin sitotoksik etkisinin gösterilmesi için mililitrede bir milyon konsantrasyonundaki lenfosit *Candida stelloidea* mantar suşunda inkübe edildi. Kristal boya ile boyanıp lugol ile tespit edilen candida mantarı PBS içerisinde patlatılarak, %0.2 Tritron-X ile maksimum dansite okuması yapılarak yüzde (%) öldürme aktivasyonu tayin edildi.

Flow Sitometrik Yöntem

Lenfositlerin monoklonal antikorlarla işaretlenmesi esasına dayalı ve tam kanın inkubasyonundan sonra mevcut eritrosit lizisine dayanan bu yöntemle, floresan işaretli spesifik lenfosit alt grupları Coulter Epics Profile II flow sitometri cihazında analiz edildi.

ELISA Yöntemi

Bu yöntemde sitokinler ve bu sitokinlere özgü biotin işaretli monoklonal antikorlar eş zamanlı (3 saat) olarak inkübe edildi. 2 kez yıkama işleminden sonra streptavidin HRP ilave edilerek 30 dk inkübe edildi. İnkübasyondan ve tüm serbest enzimleri uzaklaştırmak için yapılan yıkamadan sonra, bağlı enzimler üzerinde etkili olan substrat solüsyonu ilave edildi. Elde edilen renkli ürünün yoğunluğu örneklerde bulunan sitokin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

İstatistiksel değerlendirmeler tek yönlü varyans analizi ANOVA (Duncan Testi) ile yapıldı.

Bulgular

Araştırmamızda gruplar kendi içlerinde karşılaştırıldı (Tablo 1, 2).

Alkolik gebe sıçanlarda gebeliğin 3. günü (1. evre) immün parametrelerin kendi kontrol grupları ile karşılaştırılması verilmistir (Tablo: 1).

Kontrol grubu (C) ile kontrol gebe grubu (CG) karşılaştırıldığında, CG'de IL-1'de çok anlamlı artış ($p<0.001$), IL-2r ve IFN- γ 'da çok anlamlı azalma ($p<0.001$) gözlemlendi. CD56'da (NK) az anlamlı artış ($p<0.05$) saptandı. Diyet etanol ile diyet etanol gebe, gavaj etanol ile gavaj etanol gebe grupları karşılaştırıldığında gebe gruplarında IL-1 sitokini çok anlamlı artış ($p<0.001$), IL-2r ve IFN- γ 'da ise çok anlamlı azalma ($p<0.001$) görüldü.

IL-2, kontrolleri ile kıyaslandığında, diyet etanol gruplarında az anlamlı azalma ($p<0.05$), gavaj gruplarında ise anlamlı azalma ($p<0.01$) bulundu. Diyet etanol grubunda CD19 anlamlı azalma ($p<0.01$) gösterirken, gavaj grubunda anlamlı bir farklılık gözlemlenmedi.

Alkolik gebe sıçanlarda gebeliğin 17. günü (3. evre) immün parametrelerin kendi kontrol grupları ile karşılaştırılması verilmistir (Tablo: 2).

Gebeliğin 17. gününde (3. evre) kontrol grubu (C) ile kontrol gebe grubu (CG) karşılaştırıldığında gebe grubunda CD56 (NK), IL-2r, IFN- γ 'da çok anlamlı azalma ($p<0.001$), IL-1'de çok anlamlı artış ($p<0.001$) gözlemlendi.

Diyet etanol ve gavaj etanol grupları kendi gebe grupları ile karşılaştırıldığında gebe gruplarında IL-1 çok anlamlı artış ($p<0.001$), IL-2, IL-2r, IFN- γ 'da çok anlamlı azalış ($p<0.001$), CD19 ise az anlamlı azalış ($p<0.05$) saptandı (Tablo 2).

Tartışma

Gebelik, annede immün tolerans gelişiminin zorunlu olduğu ve immün sisteme özgü maternal-fetal çift yönlü bir dengenin oluşmaya başladığı özel bir süreçtir. Bu süreçte fetal antijen sunumu, antijenlere karşı annede geliştirilen immünolojik tanıma reaksiyonları gebeliğin başarılı veya başarısız sürdürülmesinde etkin rol oynamaktadır.

Yapılan çalışmalarda gebeliğin devamı için gerekli immün supresyon mekanizmaları konusunda fikir birliği bulunmamaktadır [3-5].

Tablo 1. Alkolik gebe sıçanlarda gebeliğin 3. günü (1. evre) immün parametrelerin kendi kontrol grupları ile karşılaştırılması. Veriler ortalama \pm SD şeklinde verilmiştir.

	CD56 (%)	IL-1 (pg/ml)	IL-2 (pg/ml)	IL-2r (%)	IFN- γ (pg/m)	CD19 (%)
Knt.(C) (n:10)	52.0 \pm 2.9	35.9 \pm 2.7	85.2 \pm 2.1	35.5 \pm 2.0	1270 \pm 21.0	26.2 \pm 1.5
Knt.Geb.(CG) (n:10)	59.7 \pm 2.1	52.0 \pm 3.0	80.5 \pm 1.7	20.0 \pm 1.9	680 \pm 16.0	24.0 \pm 1.7
	*	***	*	***	***	
Diyet Et.(E) (n:10)	45.5 \pm 1.7	42.0 \pm 2.5	79.0 \pm 2.0	25.5 \pm 2.4	980 \pm 14.7	18.5 \pm 1.3
Diyet Et.G.(EG) (n:10)	49.0 \pm 2.0	61.0 \pm 2.7	71.5 \pm 2.5	9.7 \pm 1.2	590 \pm 13.2	11.0 \pm 1.0
		***	*	***	***	**
Gav. Et.(GE) (n:10)	39.5 \pm 2.5	37.5 \pm 1.2	73.0 \pm 1.7	28.0 \pm 2.0	855 \pm 23.0	20.0 \pm 1.2
Gav.Et.G.(GEG)(n:10)	30.0 \pm 1.6	59.0 \pm 1.9	65.6 \pm 2.0	11.5 \pm 1.3	520 \pm 11.0	16.6 \pm 2.5
		***	**	***	***	

(Knt.(C); Kontrol grubu, Knt.Geb.(CG); Kontrol gebe, Diyet Et.(E); Diyet etanol uygulanan grup, Diyet Et.G.(EG); Diyet etanol uygulanan gebe grup, Gav. Et.(GE); Gavaj etanol uygulanan grup, Gav.Et.G.(GEG); Gavaj etanol uygulanan gebe grup)
* $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$

Tablo 2. Alkolik gebe sıçanlarda gebeliğin 17. günü (3. evre) İmmün parametrelerin kendi kontrol grupları ile karşılaştırılması. Veriler ortalama \pm SD şeklinde verilmiştir.

	CD56 (%)	IL-1 (pg/ml)	IL-2 (pg/ml)	IL-2r (%)	IFN- γ (pg/ml)	CD19 (%)
Knt.(C)(n:10)	54.9 \pm 3.8	37.4 \pm 2.3	86.5 \pm 1.3	36.2 \pm 2.4	1250 \pm 29.0	25.7 \pm 2.0
Knt.Geb.(CG) (n:10)	40.0 \pm 2.1 ***	47.9 \pm 1.9 ***	65.9 \pm 1.1 ***	21.7 \pm 1.9 ***	620 \pm 13.6 ***	23.9 \pm 1.7
Diyet Et.(E) (n:10)	33.0 \pm 2.5	43.5 \pm 1.7	81.7 \pm 3.5	28.0 \pm 2.6	985 \pm 17.0	19.9 \pm 1.5
Diyet Et.G.(EG) (n:10)	30.2 \pm 2.2	58.3 \pm 2.5 ***	60.5 \pm 1.4 ***	12.5 \pm 1.7 ***	540 \pm 14.0 ***	13.9 \pm 2.6 *
Gav. Et.(GE) (n:10)	38.4 \pm 2.4	39.6 \pm 1.1	71.0 \pm 2.1	31.5 \pm 1.8	860 \pm 27.0	23.8 \pm 1.6
Gav.Et.G.(GEG)(n:10)	34.1 \pm 2.1	51.4 \pm 2.0 ***	60.9 \pm 1.9 ***	14.7 \pm 1.2 ***	500 \pm 9.1 ***	18.5 \pm 1.7 *

(Knt.(C); Kontrol grubu, Knt.Geb.(CG); Kontrol gebe, Diyet Et.(E); Diyet etanol uygulanan grup, Diyet Et.G.(EG); Diyet etanol uygulanan gebe grup, Gav. Et.(GE); Gavaj etanol uygulanan grup, Gav.Et.G.(GEG); Gavaj etanol uygulanan gebe grup)
*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001

İmmünolojik olarak ayrıcalıklı bir dönem olan gebelikte teratojenik (alkol gibi) faktörler immün tokrans mekanizmasını nasıl etkilediği konusu çok iyi bilinememektedir.

Gebeliğin değişik evrelerinde hangi immün parametrelerin değişime uğradığı sorularına yanıt olarak, çalışmamızda alkolik gebe sıçanlarda gebeliğin farklı evrelerinde IL-1, IL-2, IL-2r(CD25), IFN- γ , CD56(NK) VE CD19 değişimleri incelenerek konuya açıklık getirilmeye çalışılmıştır.

Alkolik gebe sıçanlar ve yavruları üzerinde yaptığımız daha önceki çalışmalarımızda spesifik ve nonspesifik parametrelerin farklı gruplarda, farklı yanıtlar oluşturduğu ve birbirini dengeleyen bir etkileşim içinde olduğu gözlenmiştir [1,2].

İmmün yetmezlik nedenleri çoğunlukla hücrel immün sistemle ilgili bulunmuş humoral immün sistemin indirekt etkili olduğu saptanmıştır. Gebelikte toleransla ilgili mekanizmalar spesifik immün hücreler, hormonlar, sitokinler, enzimler ve nörotransmitterler yönünde araştırılmaktadır [5,6].

Gebeliğin başlangıcında maternal spesifik immün sistemin baskılandığı, doğal immün sistemin ise ilk sa-

vunma hattını oluşturmak üzere kuvvetlendiği bildirilmektedir [4-11].

Araştırmamızda gebeliğin 3. gününde (1.evre) CD56(NK) değerlerinde kontrol grubuna göre, kontrol gebe grubunda az anlamlı bir supresyon gözlenirken, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da en güçlü supresyonun gavaj etanol uygulanan gebe grubunda olduğu bulunmuştur (Tablo 1).

17. günde (3. evre) ise, diyet etanol grubunda supresyonun 1. evreye göre güçlendiği saptanmıştır. CD19'da kontrol grubunda anlamlı değişim olmazken, gavaj ve etanol uygulanan gruplarda gebeliğin 1. ve 3. evresinde supresyon belirlenmiştir.

Wolcott ve ark. [13], neonatal dönemde etanole maruz bırakılan C57Bl/6 farelerde yaptıkları çalışmada T ve NK hücrelerinde anlamlı bir değişim gözlenmezken, B hücrelerinin sayısında artış olduğu bildirmişlerdir.

Szabo ve ark. [14], alkolün T, B hücreleri ve spesifik mikroorganizmalara karşı etkilerinin ters olduğu, enfeksiyonlara duyarlılığın arttığı, alkol intoksikasyonunun travmatik yaralanmalar sonrası meydana gelen immün-supresyonu arttırdığını göstermişlerdir. Etanol uygulanan hayvanların CD19 (B lenfositler) hücrelerinde de-

fektlerin olduğu, ancak T lenfosit gelişimindeki yetersizliğin daha öncelikli olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır [15].

Etanol uygulanan hayvanlar ve doğum öncesi alkol kullanan gebelerin yavrularında immün bozuklukların temelinde CD19 ve T hücreleri arasında bağlantı kusurlarının olduğu vurgulanmaktadır [15]. Spontan abortuslu gebelerde CD19 ve özellikle CD56(NK) hücrelerinin yüksek seviyede olduğu gösterilmiştir [16]. Yapılan çalışmalarda alkol alan gebelerde CD19 düzeyinin anlamlı olarak düştüğü ve T lenfosit düzeyinin değiştiği gösterilmiştir [17-19].

Etanolün immün sistem üzerine etkisine ait fikir birliği bulunmamaktadır. Etanol kullanımı ile gebelikte T hücre proliferasyonu ve aktivasyonu düşmekte CD3 yoluyla etkilenmekte buna bağlı olarak CD19'da anlamlı bir azalma gözlenmektedir [11-13]. Humoral immün sistemin göstergesi olarak aldığımız CD19 değerindeki azalma (karaciğer, dalak gibi) lenfoid dokuların aktivasyonunun alkolün toksik etkisi sonucu baskılandığını göstermektedir. CD56(NK) aktivitesi gebelikte 3. aya doğru azalmaktadır. Gebeliğin devamı için NK aktivasyonunun inhibisyonu gereklidir. Etanol uygulanan gebe sıçanların abortusa meyillerinin fazla olması NK(CD56,CD56/16+) hücrelerinin aktivitelerinin yüksek olmasından meydana geldiği gösterilmiştir. Etanol uygulanan rekuran spontan abortuslu gebelerde, etanol dozuna bağımlı olarak NK(CD56) aktivitesinin yüksek olduğunu gösteren çalışmalar yapılmıştır [20-23].

Bulgularımızda CD19 düzeyindeki azalmaya paralel olarak NK düzeyinde de anlamlı bir azalma bulunmuştur. Hedef hücrenin NK tarafından ortadan kaldırılması için IgG ile önceden kaplanması (antikor aracılıklı sitotoksitesite) gerekmektedir. CD19 düzeyindeki azalma, NK hücrelerinin hedefi tanımasını sağlayan antikor üretimini de etkileyeceğinden, NK aktivasyonunda azalma görülebilir.

Wu ve ark. [24], gebe sıçanlara tek doz (5.0 - 7.0 g/kg) etanol vererek yaptıkları deneyde NK aktivitesinin baskılandığını ve bu baskılanmanın dozun verilmesinden 12 hafta sonra bile maksimum düzeyde olduğunu gösterdiler. NK aktivitesinde, verilen etanol dozunun

önemli rol oynadığı konusu üzerinde durulmaktadır. Bizim çalışmamızda da diyet etanol uygulanan gruba göre gavaj etanol uygulanan grupta CD56 (NK) supresyonun az olduğu gözlenmiştir. Gavaj etanolün supressif etkisinin güçlü olması nedeniyle immün savunma dengesinin korunması açısından NK üzerindeki etki azalırken diğer hücre ve sitokinler üzerinde bu etkinin güçlendiği görülmektedir [22,24,25]. Bu supresyonun NK(CD56) hücre sayısında olması, NK aktivasyonunun sınırlandırılması ve kontrolü açısından önemli olabilir.

Gebeliğin sağlıklı sürdürülmesi açısından, Th1 ve Th2 farklılaşmasını kontrol eden anahtar sitokinler maternal-fetal doku yüzeylerinde antagonist etkileşim içinde bulunabilirler. Bu olay sitokin etkinliğini kontrol eden temel regülatör elemanlarla düzenlenmektedir [25,26].

Etanol uygulanmış gebelerde spesifik immün sistemde kalıcı değişimlerin olduğu, sitokin dengelerinin değiştiği ve immün defektlerin olduğu saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda prenatal evrede etanol uygulanan erişkin sıçanlarda, NK hücre sitotoksik aktivitesinde azalma ile bağlantılı olarak IFN- γ ve granzim B'nin fizyolojik ritminde anlamlı değişimler gösterilmiştir [27,28].

Bulgularımızda alkolik gebe sıçanlarda 3. gün (1. evre) ve 17. gün (3.evre) de IFN- γ gerek gavaj ve gerekse diyet etanol uygulanan gruplarda, kendi kontrolleriyle kıyaslandığında güçlü supresyonun olduğu gözlenmiştir.

NK hücreleri IFN- γ sitokinleriyle hedef hücreleri lizise uğratma yeteneklerini arttırlar. IFN- γ gibi sitokinlerle sentezi uyarılan IL-1, CD19-B lenfosit proliferasyonunu artırır. Ancak çalışmamızda gebelik süresince IL-1 artışına karşın IL-2, IL-2r, IFN- γ ve CD19 da, gebeliğin her iki evresinde (1. ve 3. evre) görülen güçlü supresyonun NK(CD56) aktivitesini dengelediğini bununda gebeliğin devamı için gerekli olduğunu göstermiştir.

Artan IL-1, IL-2 ile dengeli bir ilişki oluşturmaktadır. Hücrelerarası sitokin etkileşiminde IL-2 nin sentez ve salgısı hücrede IL-2r dengesine ve IL-1 sitokin uyarılmasına bağlı olarak regüle edilmektedir. CD19-B lenfositlerde yüzeyinde IL-2r taşırlar. IL-2r yoğunluğu, IL-2 sito-

kin düzeyine göre up veya down regülasyon mekanizmaları ile sınırlandırılmaktadır. IL-2 etkisinin kontrol edilmesi açısından IL-2r yoğunluğu önemlidir. Çalışmamızda IL-2 azalmasının, IL-2r ile karşılıklı etkileşim sonucu olduğu ve IL-2'nin etkisinin kontrolü açısından IL-2r varlığının önemi bulgularımızda gösterilmiştir. IL-2 düzeyinin IL-2r ile birlikte artması abortus riskini arttırdığı belirtilmiştir.

Burns ve ark. [29], preterm doğum yapan kadınlarda IL-2r'nin, termde doğum yapanlara göre yüksek düzeyde olduğunu saptamışlardır [29-31].

Normal gebelerde IL-2 ve IFN- γ 'nın azaldığı gebeliğin 3. trimesterinde IL-2 ve IFN- γ 'nın çok düştüğü gösterilmiştir. Farelerde ve alkol kullanma alışkanlığı olan insanlarda 2 hafta süreyle alkol uygulanması sonucu IFN- γ cevaplarının azaldığı, 3-13 hafta %20 diyet etanol uygulanan C57B1/6 veya BALB/C farelerde IFN- γ ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir [32]. Etanol uygulanan hayvanlarda, IL-2/IL-2r etkileşimli intraselüler sinyal bağlantılarında ve immün fonksiyon yanıtlarında bozuklukların olduğu gösterilmiştir [33-36].

Çalışmamızda alınan etanolün gebeliğin farklı dönemlerinde IL-1 artışına rağmen IL-2r aktivasyonunu engelleyerek IL-2, CD19, CD56(NK) ve IFN- γ üretimini baskıladığı bulgularımızda gözlenmiştir.

Sonuç olarak, çalışma gruplarının kendi aralarında karşılaştırılmasında da görüldüğü gibi direkt ve indirekt etanol uygulaması immün sistemde sitokinler üzerinde immüsupresyona neden olurken, bu etkinin gebelikte daha da arttığı kısa süreli yüksek doz etanol uygulanan sıçanlarda uzun süreli etanol uygulanan gruplara göre supresyonun daha güçlü olduğu belirlendi.

Çalışmamızda uygulanan gerek diyet gerekse gavaj etanol dozlarının gebelik için kritik seviyede olduğunu, ancak gavajın uygulanma şekline bağlı olarak, toksik etkisinin daha güçlü olduğunu, bununda hem abortus riskine hem fetal anomaliye neden olabileceğini düşünmekteyiz.

Bir sonraki adımda, gebelik sürecinde etanol uygulanan gruplarda bu immüsupresyonun hangi sitokin reseptörleri aracılığı ile ve hangi hücrel aktivasyonlar üzerinden gerçekleştiğinin araştırması gereklidir.

Kaynaklar

1. Akyol S, Tunalı H. Alkolik yapılan gebe sıçanlar ve yavrularında NK aktivasyonu ile IL-2, IFN- γ ve CD19 etkileşimi. Cerrahpaşa Tıp Derg 2001; 32: 43-50.
2. Akyol S, Tunalı H. Etanolün uygulanma dozu ve süresine bağlı olarak alkolik gebelerde immün sistem değişimleri. Cerrahpaşa Tıp Derg 2005; 36: 181-223.
3. Plackett TP, Kovacs EJ. Acute models of ethanol exposure to mice. Methods Mol Biol 2008; 447: 3-9.
4. Coleman RA, Young BM, Turner LE, Cook RT. A practical method of chronic ethanol administration in mice. Methods Mol Biol 2008; 44: 49-59
5. Vacchio MS, Jiang SP. The fetus and the maternal immune system: pregnancy as a model to study peripheral T-cell tolerance. Crit Rev Immunol 1998; 15: 2677-2683.
6. Jiang SP, Vacchio MS. Multiple mechanisms of peripheral T cell tolerance to the fetal "allograft". J Immunol 1998; 160: 3086-3090.
7. Mincheva-Nilsson L. Pregnancy and gama/delta T cells: Taking on the hard question. Reproductive Biology and Endocrinology 2003; 1: 120-125.
8. Shi YY, Ling B, Zhou Y, Gao T, Feng DQ, Xiao M, Feng L. Innate immune defences in the human uterus during pregnancy. Placenta 2007; 28: 1099-1106.
- 9- Wasowka BA, Lee CY, Halushka MK, Baldwin WM 3r. New concepts of complement in allorecognition and graft rejection. Cell Immunol 2007; 248: 18-30.
10. Koch CA, Platt JL. T cell recognition and graft rejection. Cell Immunol 2007; 248: 18-30.
11. La Rosa DF, Rahman AH, Turka LA. The innate immune system in allograft rejection and tolerance. J Immunol 2007; 15: 7503-7509.
12. Wolcott RM, Jennings SR, Chervenak R. Effects of in utero alcohol exposure on B-cell development in the murine fetal liver. Alcohol Clin Exp Res 1995; 19: 170-176.
13. Szabo G, Klenk G, Veer A. Effects of in utero alcohol exposure on B-cell development in the murine fetal liver. Alcohol Clin Exp Res 1998; 22: 1706-1712.
14. Szabo G, Klenk G, Veer A. Correlation between the combination of alcohol consumption and smoking in oral cancer (screening of the population at risk) Orv Hetil 1997; 28: 3297-3299.

15. Aluvihare VR, Kallikourdis M, Betz AG. Regulatory T cells mediate maternal tolerance to the fetus. *Nat Immunol* 2004; 5: 266–271.
16. Laird SM, Tuckerman EM, Cork BA, Linjawi S, Blakemore AI, Li TC. A review of immune cells and molecules in women with recurrent miscarriage. *Hum Reprod Update* 2003; 9: 163-174.
17. Jerrells TR, Weinberg J. Influence of ethanol consumption on immune competence of adult animals exposed to ethanol in utero. *Alcohol Clin Exp Res* 1998; 22: 391-400.
18. Jerrells TR, Eckardt MJ, Weinberg J. Mechanisms of ethanol-induced immunosuppression. *Prog Clin Exp Res* 1990; 325: 173-180.
19. Chang MP, Wang Q, Norman DC. Diminished proliferation of B blast cell in response to cytokines in ethanol-consuming mice. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2002; 24: 69-82.
20. Coleman RA, Young BM, Turner LE, Cook RT. A practical method of chronic ethanol administration in mice. *Methods Mol Biol* 2008; 447: 49-59.
21. Jeannet G, Coudert JD, Held W. T and B lymphocytes exert distinct effects on the homeostasis of NK cells. *Eur J Immunol* 2006; 36: 2725-2734.
22. Taylor AN, Tio DL, Chiappelli F. Thymocyte development in male fetal alcohol-exposed rats. *Alcohol Clin Exp Res* 1999; 23: 465-470.
23. Zhou J, Zhang J, Lichtenheld MG, Meadows GG. A role for NF-kappa B activation in perforin expression of NK cells upon IL-2 receptor signaling. *J Immunol* 2002; 1: 1319-25.
24. Zhou J, Meadows GG. Alcohol consumption decreases IL-2-induced NF-kappaB activity in enriched NK cells from C57BL/6 mice. *Toxicol Sci* 2003; 73: 72-79.
25. Wu WJ, Wolcot 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.
26. Saito S, Shima T, Nakashima A, Shiozaki A, Ito M, Sasaki Y. What is the role of regulatory T cells in the success of implantation and early pregnancy? *J Assist Reprod Genet* 2007; 24: 379-386.
27. Arjona A, Sarkar DK. Are Circadian Rhythms the Code of Hypothalamic-Immune Communication? Insights from Natural Killer Cells. *Neurochem Res* 2007; 33: 708-718.
28. Arjona A, Boyadjieva N, Kuhn P, Sarkar DK. Changes in immune activation markers during pregnancy and postpartum. *J Reprod Immunol* 1999;42: 147-165.
29. Burns DN, Nourjah P, Wright DJ, Minkoff H, Landesman S, Rubinstein A, Goedert JJ, Nugent RP. Changes in immune activation markers during pregnancy and postpartum. *J Reprod Immunol* 1999; 42: 147-165.
30. 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.
31. Burchill MA, Yang J, Vang KB, Farrar MA. Interleukin-2 receptor signaling in regulatory T cell development and homeostasis. *Immunol Lett* 2007; 114: 1-8.
32. Zhang X, Sliwowska JH, Weinberg J. Chronic ethanol consumption by mice results in activated splenic T cells. *J Leukoc Biol* 2002; 72: 1109-16.
33. Taylor AN, Ben-Eliyahu S, Yirmiya R, Chang MP, Norman DC, Chiappelli F. Actions of alcohol on immunity and neoplasia in fetal alcohol exposed and adult rats. *Alcohol Alcohol Suppl* 1993; 2:69-74.
34. Zhang X, Sliwowska JH, Weinberg J. Prenatal alcohol exposure and fetal programming: effects on neuroendocrine and immune function. *Exp Biol Med* 2005; 230: 376-388.
35. Chang MP, Norman DC. Mechanism of ethanol-mediated immunosuppression in mice: ethanol suppresses T-cell proliferation without affecting IL2 production and IL2 receptor expression. *Int J Immunopharmacol* 1992; 14: 707-719.