



Balıklarda Viral Enfeksiyonlara Karşı İmmun Sistemin İşleyişi

Yüksel DURMAZ¹✉, Harun ALBAYRAK²

1. Veteriner Kontrol Enstitüsü, Balık Hastalıkları Laboratuvarı, Samsun, TÜRKİYE.
2. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Samsun, TÜRKİYE.

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
14.09.2015	12.08.2016	31.12.2016

Öz: Balıklarda lenfoid doku ve organlar, primer ve sekonder olmak üzere iki bölüme ayrılır. Primer lenfoid doku ve organları timus, böbrek, dalak, sekonder olanları ise karaciğer, deri ve bağırsaklar oluşturur. Balıklarda kemik iliği ve lenf düğümleri bulunmamakla birlikte immün sistem ile immün organ ve hücrelerinin çoğu memeliler ile aynı yapı ve işleve sahiptir. Balıklarda da immün sistemin doğal ve kazanılmış olmak üzere iki farklı yanıtı vardır. Doğal bağışıklık, enfeksiyondan sonra hızlı bir şekilde uyarılır, immünolojik belleğin yokluğu ile karakterizedir. Antijene spesifik uyarı olmayıp, genler ile kodlanmış moleküller tarafından modüle edilir. Kazanılmış bağışıklık mükemmel bir spesifiteye ve hafızaya sahiptir; anahtar humoral parametre ise B lenfositlerin reseptörleri tarafından eksprese edilen antikorlardır. Patojenler doğal savunma mekanizmasını aştıklarında kazanılmış bağışıklık sistemi aktivasyona başlar ve spesifik lenfositler çoğalarak uzun dönem hafıza hücreleri ve plazma hücrelerine farklılaşırlar. Organizma bu patojenlere bir sonraki maruz kalmalarda hızlı ve etkili immün yanıt gösterecektir. Balıkların viral patojenlere karşı savunmasında hem doğal hem de kazanılmış bağışıklık sistemi birbirleri ile etkileşim içinde çalışmaktadırlar. Bu derlemede balıkların lenfoid organ ve dokuları, immün sistem hücre ve medyatör molekülleri ile viral enfeksiyonlarda immün sistemin işleyişi hakkında bilgi verilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Balık, İmmün sistemin işleyişi, Viral enfeksiyon.

Regulation of The Immune System of Fish to Viral Infections

Abstract: In fish, lymphoid tissues and organs are divided into two groups as primary and secondary. The primary lymphoid tissues and organs consist of thymus, kidney, spleen while secondary ones consist of liver, skin and intestines. Although bone marrow and lymph nodes do not exist in fish, most of immunological organs and cells along with immune system have the same structure and function as the mammals. In fish, there are also two different responses of immune system as natural and acquired. Natural immunity is stimulated expeditiously following the infection, it is characterized with absence of immunologic memory. It is not antigen specific stimulus but is modulated by the molecules encoded with genes. Acquired immunity has an excellent specificity and memory; the key humoral parameter is the antibodies expressed by the receptors of B lymphocytes. When the pathogens pass over the natural defence mechanism, the acquired immune system begins activation and specific lymphocytes proliferate and differentiate into long term memory cells and plasma cells. The organism would exhibit a rapid and effective immune response upon subsequent exposures to these pathogens. In the defence of fish against viral pathogens, both natural and acquired immune system work interactively. In this review, the information about the lymphoid organs and tissues of fish, their immune system cells and mediators and functioning of immune system in case of viral infections are reported.

Keywords: Fish, Regulation of the Immune System, Viral infection.

GİRİŞ

Balık çiftliklerinde önemli ekonomik kayıplara neden olan hastalıkların çoğunluğu viral etiolojiye sahiptir. Viral enfeksiyonlarda tedavi olasılıkları sınırlı olup, yeni ortaya çıkan hastalıklar için oldukça yüksek bir risk mevcuttur. Kültürü yapılan balık türlerinden somon (som balığı) üretimi ağırlıklı olarak Norveç, Şili, İngiltere ve Kanada'da; gökkuşuğu alabalığı Şili, İran, Türkiye, Norveç, ABD, Danimarka ve Fransa'da; Pasifik salmón üretimi Şili'de yapılmaktadır. Yüzgeçli balıkların önemli viral hastalıklarının etiyolojik etkenlerinden çift iplikçikli RNA virüsleri; infeksiyöz pankreatik nekrozis virus (IPNV, *Aquabirnavirus*, *Birnaviridae*), püssine reovirus (PRV) yeni ismi ile atlantik salmón reovirusdur (ASRV, *Aquareovirus*, *Reoviridae*). Negatif polariteli tek iplikçikli RNA virüsleri; infeksiyöz hematopoetik nekrozis virus (IHNV, *Novirabdovirus*, *Rhabdoviridae*), viral hemorajik septisemi virus (VHSV, *Novirabdovirus*, *Rhabdoviridae*), pozitif polariteli tek iplikçikli RNA virüsleri; salmónid alfavirus (SAV, *Alfavirus*, *Togaviridae*), negatif polariteli segmentli tek iplikçikli RNA virüsleri; infeksiyöz salmón anemi virus (ISAV, *Isavirus*, *Orthomyxoviridae*) ve DNA virüsü; epizotik hematopoetik nekrozis virus (EHNV, *Ranavirus*, *Iridoviridae*) (1). Sazanların bahar viremi virüsü (SVCV), IHNV ve VHSV Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü (OIE) tarafından balıklarda ihbari mecburi olarak bildirilen 3 viral enfeksiyondur (2).

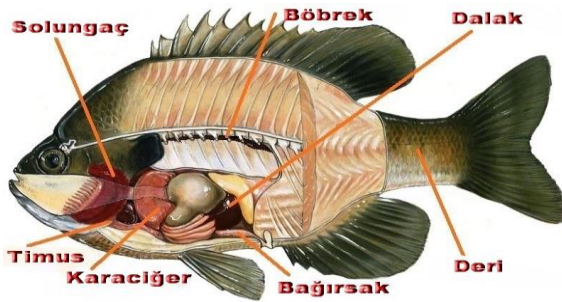
Balıkların viral patojenlere karşı savunmasında hem doğal hem de edinsel bağışıklık sistemi birbirleri ile etkileşim içinde çalışmaktadır. Doğal immun sistem, virüslere karşı ilk savunma hattı olup, edinsel bağışıklık sisteminin aktivasyonuna kadar geçen sürede viral replikasyonu sınırlandırmaktadır. Viral patojenlerin immun kaçış mekanizmaları gibi bazı metotları kullanarak replikasyon sağlayabilmeleri nedeni ile doğal immun, sistem balıkları korumada her zaman yeterli olamamaktadır. Edinsel bağışıklık sistemi etkilidir fakat bağışıklık gelişmesi uzun zaman almaktadır (2-4).

BALIKLARDA İMMUN SİSTEMİN YAPISI

Lenfoid Organlar ve Dokular

Balıklarda lenfoid organlar ve dokular primer ve sekonder olmak üzere iki kategoriye ayrılırlar. Primer lenfoid organları timus, böbrek, dalak, sekonder lenfoid organları ise karaciğer, deri bağırsaklar ve mukoza ile ilişkilendirilmiş lenfoid dokular oluşturur. Primer lenfoid doku ve organlar, lenfositler için kök ve progenitör hücrelerin bulunduğu, lenfositlerin immunkompetan hale geldikleri bölgelerdir (5). Memelilerde kan hücreleri kemik iliğinde üretilirken, balıklarda kemik iliği ve lenf düğümleri bulunmaz (6,7). Timus, operkulumun dorsalinde, yutağın epitel dokusu altına yerleşmiş iki lobdan oluşan bir organdır (Şekil 1). Makrofajların toplanma yeri olarak bilinir. Timus T hücrelerinin üretilmesinden sorumludur (7,8). Balık böbreği anterior ve posterior olmak üzere iki kısımdan oluşur. Vücut boşluğunun üst kısmına yerleşmiş, kanın yapılması, antijenlerin tutulması, antikor üretimi, kortikosteroidler ve diğer hormonların salınımı yönünden görevli bir organdır. Böbrek küçük yapıda endokrin bezleri de içermektedir. Bu bezler, solungaçlardan kalsiyum absorpsiyonunu durduran teleokalsin hormonu salgırlar. Böbreğin anterior kısmının renal bir fonksiyonu yoktur. Balıklarda bu bölüm lenf düğümünün analoğu olup hemopoiezis için özelleştirilmiştir. Posterior böbrek hem renal hem de hemopoetik görevi üstlenmiştir. Dalak midenin gerisinde ince bağırsak duvarına tutunmakta olan bir organdır. Balıklarda dalak, eritrositlerin parçalanmasında, makrofajların antijenleri fagosite etmelerinde, immun sistemin reaktivasyonunda, antijen sunumunda, adaptif immun yanıtın başlatılmasında ve kan hücrelerinin oluşumunda görevlidir (5,7,9). Karaciğerin balık vücuduna dışarıdan giren yabancı molekülleri yakalama görevi vardır. Deri ve mukus tabakası, balığın sahip olduğu birincil korunma kalkanıdır. Mukus solungaçlar ve derideki goblet hücreleri

tarafından sürekli salgılanarak balık vücudu üzerine patojen etkenlerin kolonizasyonunu engellemektedir. Mukus, proteinler, glikoproteinler, proteoglikanlar, immunoglobulinler, komplement, lizozim, lektin ve antibakteriyel peptitler gibi savunma faktörlerini içerir. Gastrointestinal kanal, sahip olduğu düşük pH, tripsin, ve pepsin gibi sindirim enzimleri ve safra etkisi ile invazyonlar için bariyer oluşturur. Bazı balıklarda bağırsakla ilişkili lenfoid doku (GALT) benzeri folliküller mevcuttur. Balıklarda bağırsağın posterior kısmı makromoleküllerin emildiği ana bölgedir. Makromoleküllerin emilimi ve antijenlerin sindirilmemesi dolaşım sistemine ve hemopoetik organlara transferi balıklar için immunolojik önem taşımaktadır (8-11).



Şekil 1. Kemikli Balıkların İmmun sistem organları (12).

Figure 1. Immune system organs in teleost fish (12).

İmmun Sistem Hücreleri ve Medyator Moleküller

Doğal sitotoksik hücreler (NK), sitotoksik T hücreleri (Tc) ile sitotoksik lenfositlerinin (CTL) gelişimi tamamlanana kadar konağın enfeksiyon etkenlerinden ve tümör hücrelerinden korunmasını sağlarlar. Enfekte hücreleri yıkmaları, antiviral yanıtın diğer parçasını harekete geçirmek için anahtar sitokinlerin üretilmesini uyarırlar (2,3). Balıkların immun yanıtında makrofajlar, nötrofiller, mast hücreleri, eozinofiller, dentritik hücreler ve lenfositler gibi lökositler görevlidir. Balıklarda makrofajlara ilişkin melanin, lipofuksin ve hemosiderin pigmentleri vardır. Makrofajlar ve nötrofiller fagositoz yaparlar. Lökositler, antikorların üretilmesinden, antijenlerin sunulmasından, patojen partiküllerin indirgenmesinden, nitrik oksit,

sitokinler, kemokinler ve diğer çözünebilir faktörlerin üretilmesinden sorumludurlar (2,7,10). Sitokinler ve kemokinler immun sistemin çözülebilir habercileri olup inflamatuvar özelliktedirler. İmmun yanıtın başlatılması ve amplifikasyonun düzenlenmesini, immun hücrelerin enfeksiyon ile yaralanma bölgelerine göçü ve yapışmasını, immun aktivasyonun yenilenmesini sağlarlar (7). Balık antikorları (immunoglobulinler, Ig) virus partiküllerinin yüzeyine yapışarak onları nötralize ederler. Bu antikorlar B lenfositler tarafından üretilirler, spesifik immun sistem aktivasyonunun başlatılması, lenfositlerin çoğalması ve aktive olmalarında görevlidirler. Serum, doku sıvısı, sindirim kanalı ve mukus içinde bulunurlar (6). IgD, IgM ve IgT gibi immunoglobulinlerin kemikli balıklarda varlığı bildirilmiştir. IgM ve IgD izotipi solungaç yüzeylerini koruyucu özelliğe sahiptir (13,14). Komplement sistemi virüslere karşı doğal immuniteye katkıda bulunur, humoral savunma ile yangısal reaksiyonlarda görevlidir, muhtemelen balıkların farklı organlarının gelişiminde de rol almaktadır (3,8,11). Antiviral peptitler (katelisin, defensin, heptisin, pisin), lektinler, inhibitörler, interferon (IFN), myxovirus (Mx) proteinleri, ribozomal proteinler, transferrin, seruloplazmin, metalloprotein ve histon türevleri hayvanlar ile bitkilerin doğal savunma mekanizmasında yer alırlar. Bu maddeler humoral ve hücrel doğal parametrelerin üretimi ve ekspresyonunu çoğaltır veya regüle ederler ve bazı antikor türleri için gen kodlarının aktivasyonunu sağlarlar (7,9). Balıklarda major histokompatibility kompleks (MHC) molekülleri yabancı peptitler ile antijenlerin işlenmesi ve sunulmasında görev alarak edinsel immun yanıt oluşumuna katkı sağlarlar (14).

DOĞAL İMMUN YANIT

Doğal bağışıklık, enfeksiyondan sonra hızlı bir şekilde uyarılır ve immunolojik belleğin yokluğu ile karakterizedir. Antijene spesifik uyarı olmayıp, genler ile kodlanmış moleküller tarafından modüle edilir. Vertebralılarda doğal savunma mekanizmasının hızlı uyarılması viral replikasyonun önlenmesi için kritiktir. Doğal immun yanıt mekanizması hem humoral hem de hücrel immun

yanıtları kapsamaktadır. Bu immün yanıtlar enfekte hayvanlardaki virüsleri direkt ve seçkin bir şekilde elimine eder (2).

Balıklarda virüslere karşı savunmanın ilk hattı, deri, solungaç ve bağırsak gibi dokular ile dış çevre arayüzünde gerçekleşir (8). Yüzgeç tabanları virüslerin başlıca giriş bölgeleridir (15). Solungaçlar ve deriden salgılanan mukus salgısı bir tür savunma bariyeri oluşturur. Mukus salgısının biyokimyasal kompozisyonunda lizozim, proteaz, katepsin B, alkaline fosfataz gibi moleküllerin bulunduğu tespit edilmiştir (2,11).

Viral enfeksiyonlarda immün yanıtın etkinliği için inflamasyon kritik ve etkili bir reaksiyondur. Bu reaksiyonlar spesifik sitokinlerin sistemik yolla serbest bırakılması ile aktive olmaktadır. Örneğin; interleukin (IL)1 β , tümör nekroz faktör(TNF)- α , kemokinler ve IL8 aracılığı ile nötrofiller, makrofajlar kemotaksik yol ile inflamasyon bölgesine göç ederler. Sitokinlerin çoğunluğu salmonid balıklarından tanımlanmıştır (16). VHS enfeksiyonları, erken pro-inflamator sitokinleri IL1- β 1, IL1- β 2 ve IL1- β 3 ekspresyonunu uyarabilmektedir. Gökkuşaklı alabalıklarında IHNV enfeksiyonundan 3 gün sonra IL1- β 1, TNF- α 1 ve TNF- α 2 geninin güçlü bir şekilde uyarıldığı saptanmıştır. Alfavirus ve rabdoviruslara karşı salmonidlerde inflamasyonun güçlü erken savunma mekanizması olduğu görülmüştür (17). Atlantik salmonlarının SAV3 enfeksiyonlarında IL8/CXCL8-L1 gen ekspresyonu, dalak ve kalp dokusunda infiltrasyon ile inflamasyon hücrelerinin artışına neden olmuştur. (18).

Makrofajlar virus ve bakterilere karşı etkili olan pro-inflamator (IL1 β ve TNF- α), yardımcı T1 hücre (Th1) sitokinleri, interferonlar ve diğer çözünebilir faktörleri sonradan kazanılan immün sistemin aktivasyonu için üretirler (19). Salmonların SAV enfeksiyonlarında lökosit fagositik aktivitesinde artış ve rekombinant virus ile enfeksiyonlarında ise böbrek makrofajlarının solunum aktivitesi ile azot oksit üretiminde artış olduğu saptanmıştır. Bazı IPNV vakalarında makrofajlar enfekte edilebilmekte, fakat virüsü elimine etmek mümkün olamamaktadır. Post smolt atlantik salmonların makrofajlarından IPN virüsü tekrar izole edilmiş ve bu balıkların

asemptomatik taşıyıcı oldukları saptanmıştır. Bu vakada VP5 geninin kaçırma ve yayılma stratejisi, virüsün makrofajların içinde kalmasını sağlamıştır (20,21). Pro-inflamator faktörü IL8'in uyarılması antiviral yanıt olarak görülmektedir. Alabalıklarda dendritik hücrelerin varlığı elektron mikroskopu ile morfolojik yapılarının incelenmesi sonucunda belirlenmiştir. Başlıca antijen sunumu ile ilişkili olan dendritik hücreler güçlü tip I IFN uyarıcılarıdır ve virüslere karşı doğal immün sistemin aktif hücresel bileşenleridirler (22). NK hücreleri bir sitotoksik hücre grubudur. Enfekte hücreleri granzim merkezli ozmotik lizis ve apoptozis aracılığıyla yıkımlama fonksiyonları vardır (2). Bu hücreler antiviral yanıtın diğer parçasını harekete geçirmek için anahtar sitokinlerin üretilmesini uyarırlar (3).

Balıkların plazmasında birkaç tür protein vardır. Bu proteinlerin konsantrasyonu IPN ve IHN gibi viral enfeksiyonlardan sonra artarak komplement sisteminin aktive olmasına neden olur. Gökkuşaklı alabalıklarında IPNV (VP2) proteini kodlayan DNA aşısı ile komplement genleri ön böbrekte uyarılmaktadır. Yine gökkuşaklı alabalıklarının VHS enfeksiyonlarında komplement geninde net bir düşüş gözlemlenmiş, aktif komplement faktörleri C7 ve D β 'nin baskısı yoluyla viral komplementin kaçıış gözlemlenmiştir (23,24). Komplement proteinleri varlığında salmonid balıkların antikorları IHNV ve VHSV de dahil olmak üzere zarflı virüsleri nötralize etme yeteneğine sahiptir (8).

Potansiyel olarak her çekirdekli hücre virus varlığını reseptörler aracılığı ile çift iplikçikli RNA molekülü, özelleşmiş intraselüler reseptörler, retinoik asit indüklenbilir protein 1 (RIG-I) ve melanoma farklılaşma ilişkili gen 5 (MDA5) varlığı ile RNA virüslerinin replikasyonunu araştırarak yapar (2). Toll-Like reseptörleri (TLR)-3 dsRNA moleküllerini tanımakta olup bu genin IHNV enfeksiyonlarından sonra gökkuşaklı alabalıklarının dokularında lökositozu uyardığı saptanmıştır (25).

İnterferon üretimi viral enfeksiyonlara karşı düşük molekül ağırlığında Ph-rezistans sitokinler tarafından uyarılır (3). Antiviral özelliklere 50'nin üzerinde IFN uyarıcı genin ve interferonların katkısı olduğu düşünülmektedir. IFN aktivitesi IPNV ve SAV enfeksiyonlarına karşı balık hücrelerini

korumaktadır. Tip II IFN fonksiyonu virüslara karşı edinsel hücresel bağışıklık ile ilgilidir (26). IFN molekülü kodlayan ilk genin balık türlerinden izolasyonu 2003 yılında yapılmıştır. Akabinde atlantik salmonlarda ilk kez 2 IFN geni olan Sasa IFN- α 1 ve Sasa IFN- α 2 izole edilmiş, IFNa1-3, b1-4 ve c1-5 olarak gruplandırılan 11 genin keşfi yapılmıştır. Gökkuşuğu alabalıklarından 4 adet IFN geninin izolasyonu yapılarak 2 alt grupta, rtIFN1 ve rtIFN2 (grup 1) ile rtIFN3 ve rtIFN4 (grup2) olarak gruplandırılmışlardır. Gökkuşuğu alabalıklarında IFN, ön böbrek, dalak ve karaciğer tarafından uyarılmaktadır (2,8). Balıklarda IFN, IFN uyarıcı genler ve bunların fibroblastik hücre hatlarının başlıca katkılarına, IHNV, VHSV ve IPNV ye karşı direnç oluşturulması olduğu saptanmıştır (26).

Mx proteinleri virüslara karşı hücresel bağışıklıkta önemli rol üstlenirler. Viral enfeksiyonları takiben interferonlar ile uyarılarak hücrelerin sitoplazma veya çekirdeğinde birikirler (27). VHSV enfeksiyonları ile uyarılan endoplazmik retikulum ilişkili virus inhibisyon proteinini (VIG-1) kodlayan gen ilk kez gökkuşuğu alabalıklarında izole edilmiş ve viperin olarak isimlendirilmiştir. Protein kinaz R (PKR), virus uyarıcı üçlü motif içeren TRIM proteini ve ubiquitin like proteini (ISG15) kodlayan gen, salmonid türü balıklardan tanımlanmış ve antiviral savunmada görevli oldukları bildirilmiştir. TRIM ailesinin bazı üyeleri IFN'ler yoluyla uyarılmakta ve kapsit içerisinde transkripsiyon, virus partiküllerinin toplanması, IFN'nin indirekt regülasyonu gibi çok yönlü antiviral etkileri bulunan bir grup molekül topluluğu olarak bilinirler (2,8,28).

Apoptosis ya da programlı hücre ölümleri virüslara karşı bir savunma mekanizmasıdır. Enfekte hücrelerin erken yıkılması ile patojenin konak içerisinde yayılması sınırlandırılır (8,29). Apoptosis inaktif kaspazların aktive edilmesiyle uyarılmaktadır. Kaspazlar hücre DNA'sının internükleozomal aralıklarını kırarak apoptozisi gerçekleştirirler. IPNV ile doğal enfekte gökkuşuğu alabalıklarında apoptozisin, virus replikasyonunun gerçekleştiği karaciğer, iskelet ve kalp kası ile solungaçların sekonder lamellerde etkin olduğu görülmüştür (30).

Bazı virüsler immün sistemden protein transasyonu, IFN ve apoptozis için kullanılan özel

yolları kullanarak kaçabilmektedirler. Bu kaçış mekanizması konağın viral enfeksiyona verdiği yanıt ile aynı zamanda olmaktadır. Protein sentezinin durdurulması, enfekte hücrelerin bir bölümünde antiviral yanıtı engelleyebilir veya virus için bir kaçış mekanizması olabilir. Salmon hücrelerinde viral enfeksiyonları takiben IFN'nin baskılandığı ve IPNV'nin raportör gen seviyesi düşürülerek IFN sinyallerinin inhibe edildiğine dair raporlar bildirilmiştir. Viral partiküllerin hazır hale getirilip hücreden serbest bırakılmasına kadar geçen sürede apoptozisin inhibisyonu yolu ile enfekte hücrelerin canlı kalması bir kaçış stratejisi olarak virüsler tarafından kullanılmaktadır. IPNV VP5 proteinin yapay yollarla hücreler içerisinde aşırı derecede eksprese edilmesinin anti apoptotik özellik gösterdiği belirlenmiştir (2,31).

Antimikrobiyal peptidler her iki humoral ve hücresel parametrelerin üretimi ve ekspresyonunu çoğaltır veya regüle ederler fakat burada immün bellek olmadığından aynı patojen ile ikinci kez karşılaşmada kazanılmış immün yanıtta görüldüğü gibi güçlü bir yanıt olmayacaktır (4). Balık mukusunda bulunan antimikrobiyal peptidler viral replikasyonu inhibe etmektedirler. Katelisin (CATH-1, -2), defensin (DB-1, -2, -3), heptisin (heptisin LEAP-1, -2) ve pissidin hızlı antibakteriyel ve antiviral aktiviteleri olan peptitler olup, bazı antikor türleri için gen kodlarının aktivasyonunu sağlarlar. Gökkuşuğu alabalığı primer lökosit kültürlerinde viral mimik poly I:C, katelisin ve b-defensin genlerinin ekspresyonunu uyarılmaktadır (2,8).

Tuz, sıcaklık, oksijen seviyesi gibi çevresel faktörler virüsler ve stres ile etkileşerek balıkların bağışıklık sistemini indirekt olarak etkilemektedirler (32). Virüsler replikasyonda, dar sıcaklık aralıklarını kolay tolere edebilmekte ve replikasyon ile immün yanıtın kinetiği arasındaki denge viral hastalıkların ortaya çıkışını belirlemektedir (33). Salmonlarda antiviral peptid poly I:C' ye karşı IFN yanıtı düşük sıcaklıklarda daha uzun sürelidir. VHSV ye karşı Mx protein indüksiyonu düşük sıcaklıklarda geciktirilmektedir. Oksijen konsantrasyonu balıklarda enfeksiyondan sonraki viral yükü etkilemektedir. Gökkuşuğu alabalıklarının "herbisit

pendimetalin" gibi kirlilik oluşturan maddelere maruz kalması sonucunda VHSV'den dolayı mortalite oranlarında yükselme gözlemlenmiştir. Stres, immunité, virülens ve immün yanıtın viral patojenlere göre değişimi arasında bir etkileşim bulunmaktadır (34,35).

EDİNSEL İMMÜN YANIT

Edinsel immün sistem mükemmel bir spesifiteye ve hafızaya sahiptir (6). Eğer bir patojen doğal savunma mekanizmasını aşarsa bundan sonraki dönemde edinsel bağışıklık sistemi aktivasyona başlar ve bağışıklığın antijene spesifik lenfositleri klonal genişleme gösterirler. Organizma bir sonraki patojene maruz kalmalarda hızlı ve etkili immün yanıt gösterir. İki tip edinsel immünite vardır. Bunlar humoral ve hücreyel immünitedir (7,11).

Humoral İmmünite

Humoral immunitenin aktif görevli hücreleri B lenfositlerdir. Bu hücreler memelilerde kemik iliğinde, kanatlılarda bursa fabrisiyusta ve balıklarda böbreklerde üretilirler (4-6). B lenfositler ürettikleri antikorlar aracılığıyla cevap oluşturdular ve hücre dışı mikrobik antijenleri tanırlar. Bu antikorlar dolaşıma ve mukoza sıvılarına salgılanarak kanda, gastrointestinal kanalda ve solunum yolları gibi mukoza içeren organların lümenlerinde bulunabilen patojenleri veya bunların toksinlerini etkisiz hale getirirler (3,4). B hücreleri plazma ve bellek hücrelerini oluştururlar. Plazma hücreleri hem antikorları üretirler hem de antijen sunumunda görev alırlar. Gökkuşuğu alabalıklarında IgM ve IgD'nin solungaç yüzeylerini koruyucu bir role sahip olduğu bildirilmiştir. Balıkların serumunda en çok bulunan Ig izotipi IgM'dir. Bu Ig türleri sistemik enfeksiyonlara karşı koruyucu bağışıklık kazandırmada önemli rol oynarlar. IgM serum haricinde derinin mukozal yüzeylerinde, bağırsaklarda ve solungaç epitellerinde de tespit edilmiştir. IgT izotipi bağırsaklar, deri ve mukozal korunma ile ilişkili olup mukus ve mukozal yüzeylerdeki titresini, serumda tespit edilenden 100 kat daha yüksektir (14,36).

Hücreyel İmmünite

İntraselüler enfeksiyonların eliminasyonunda virüs ile enfekte hücrelerin hücreyel immunité yoluyla imhası en önemli strateji olarak kabul edilmektedir (37). Balıklarda CD4 ve CD8 T hücre yanıtları hücreyel immunitéde görev üstlenirler. CD8+ T hücreleri virus ile enfekte hücrelerin sitolitik öldürme işlemlerini yerine getirir. CD4+ T hücre alttıpleri ise immün sistemin diğer hücrelerine MHC II moleküllerinden eksprese edilen antijenlerin tanınmasında yardımcı olurlar (14). T-lenfositler sadece mikrobik antijenleri tanımlarına karşın, B lenfositlerin ürettiği antikorlar protein, karbohidrat ve lipit içeren yabancı pek çok değişik molekül tipini de tanırlar. T hücreleri antijen ile indirekt ilişki kurarak onları yıkımlarlar. CD8 + katil T hücreleri kanser hücrelerini kontrol ederler. CD4 + Yardımcı T hücreleri B hücrelerine antikor üretiminde yardımcı olurlar ve CD4+CD25 + düzenleyici T hücreleri otoimmün yanıtları önlerler (7,9,37). Farklı CD4 yardımcı T hücrelerinin alt tipleri tarafından salgılanan sitokinler salmonlarda tanımlanmıştır (14). GATA-3 sitokinleri humoral immün yanıtın oluşturulmasında ve sürdürülmesinde görevli olup, bu sitokinlerin ekspresyonu Th1 sitokin kromatinlerinin Th2 sitokin salgılayan hücrelere dönüşmesine neden olur. GATA-3 kinetiği aşılmalarda oluşan antikor yanıtı üzerine de etki etmektedir. IPNV ye karşı aşılmalardan önce tespit edilen antikor seviyeleri ve GATA-3 ekspresyonu arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur (36). Enfekte balıklarda GATA-3 artışı ile virus yokluğu veya düşük virus titresini arasında negatif bir korelasyon bulunmuştur. Bu genin yukarı regüle edilmesi balıklarda IPNV enfeksiyonlarına karşı koruma sağlamaktadır (14). Balıklarda B hücreleri ve baskılayıcı T- hücreleri 4 haftalık olduklarında fonksiyonel hale gelirlerken yardımcı T hücreleri ve bellek hücreleri ise 8 haftalık olduktan sonra fonksiyonel hale geçerler (38). Virusa spesifik hücreyel merkezli sitotoksité yapan balıklarında ve IPNV ile enfekte CFS hücre hatlarında gösterilmiştir. Balıklarda CD8+ T hücreleri ile ilişkili birçok gen klonlanarak tanımlanmıştır. Akut

enfeksiyon süresince granzim-A ekspresyonu ile viral yükün artışı arasında yüksek oranda korelasyon bulunmuştur (36). Salmonlarda IPNV enfeksiyonları, CD8+gen ekspresyonunu ve naif CD8 T hücrelerinin efektör CTLs dönüşümünü uyarmaktadır (14).

MUKOZAL İMMUN YANITLAR

Balıkların mukozal yüzeyleri olan deri, bağırsak, solungaçlar ve üro-genital sistem yapısı ilk savunma hattıdır. Su ortamında mukozalar sürekli patojenlerle etkileşim halindedirler (14). Yaygın olarak kullanılan balık aşılama yöntemleri; intraperitoneal enjeksiyon (i.p.), intramuskular enjeksiyon (i.m.), immersiyon (banyo/sprey) ve oral aşılama yöntemidir. Balıklarda i.p. ve i.m. aşı uygulamaları ile sadece internal immun yanıtlar oluşurken, immersiyon yöntemi ile aşıl deri, solungaç ve bağırsaklardan emildikten (içildikten) sonra lokal yanıtları da uyarmaktadırlar. İmmersiyon aşılması ile oluşan hiperozmotik streslerin çoğunlukla mukozal yüzeylerde yüksek seviyede yanıtlar oluşturduğu rapor edilmektedir. Balıklarda oral yolla uygulanan antijenler taşınarak bağırsakların son segmentine (2.ci segment) ulaştırılır ve yeterli miktarda antijen bu segmente ulaştırılırsa hem lokal hem de sistemik antikor yanıtı uyarılır (11,39). IgM, IgT/Z ve IgD'nin çok çeşitli balık türlerinde varlığı bildirilmiştir. IgT mukozal immuniteden sorumlu başlıca immunglobulin tipidir. İntestinal IgM ve IgT'ler B hücrelerinden köken almaktadırlar. Balık IgT/Z'si ile memeli IgA'sı birçok fonksiyonel benzerlikler içermektedir (11). Bazı balık türlerinde maternal antikorların yumurta ve yavrulara geçtiği belirlenmiştir. Maternal antikorların birincil görevi yumurtaları belirli patojenler için vertikal bulaşmaya karşı korumaktır. Maternal IgM'ler muhtemelen balıkların yumurtadan çıktıktan sonraki ilk gelişme evrelerinde fagositozis veya komplement sisteminin aktivasyonuna da yardımcı olmaktadır (8,13).

SONUÇ

Balıklarda doğal immun yanıt, edinsel immun yanıt ve mukozal immun yanıt mekanizmaları mevcuttur. Balıkların antiviral korunma mekanizmaları yüksek vertebralılara benzerlik

göstermekle birlikte türe spesifik farklılıkları da içermektedir. Balıklarda kemik iliği ve lenf düğümleri bulunmaz. Böbreğinin ön kısmı omurgalılarıdaki lenf düğümlerinin işlevini görmektedir. Balık böbreğinden, solungaçlardan kalsiyum absorpsiyonunu durduran teleokalsin hormonu salgılanır. Solungaçlar ve deriden salgılanan mukus salgısı ile bağırsaklardaki GALT folliküllerinin viral immunitede görevleri vardır. Balıklarda bağırsağın arka kısmı makro moleküllerin emilimi ve sindirilmeden organlara transferi yönünden immunolojik öneme sahiptir. NK hücreleri, sitokinler, interferonlar, antiviral peptitler, Mx, VIG-1, PKR, TRIM, ISG15 proteinleri, ribozomal proteinler, lektinler, inhibitörler, transferrin, metalloprotein ve histon türevleri balık hücrelerini korurlar ve antiviral savunma mekanizmasında görev alırlar. Bazı balık virusları makrofajları enfekte edilebilmekte ve konağın viral enfeksiyona verdiği yanıt ile eş zamanlı olarak immun sistemden kaçabilmektedirler. Konak hücrede protein sentezinin durdurulması, IFN'nin baskılanması, apoptozisin inhibisyonu virus için bir kaçış mekanizması olabilmektedir. Çeşitli balık türlerinde IgM, IgD ve IgT/Z izotiplerinin varlığı saptanmıştır. IgM ve IgD solungaç yüzeyleri, IgT izotipi bağırsaklar, deri ve mukozal korunma ile ilişkilidir. Balık IgT/Z'si ile memeli IgA'sı fonksiyonel benzerlikler içermektedir. Bazı balık türlerinde maternal antikorların yumurta ve yavrulara geçtiği belirlenmiştir. Tuz, sıcaklık, oksijen seviyesi Ph ve bulanıklık gibi çevresel faktörler viral immunité üzerine indirekt etki ederek mortalite oranlarında yükselmelere neden olmaktadır. Suyun oksijen konsantrasyonu balıklarda enfeksiyondan sonraki viral yükü etkilemektedir. Balıklarda viral immunitenin aydınlatılması konusunda moleküler tekniklerin keşfi ile büyük ilerlemeler kaydedilmiş ancak henüz tam olarak aydınlatılamamıştır.

KAYNAKLAR

1. Crane M., Hyatt A., 2011. Viruses of fish: An overview of significant pathogens. *Viruses*, 3, 2025-2046.
2. Collet B., 2014. Innate immune responses of salmonid fish to viral infection. *Developmental*

- and Comparative Immunology, 43, 160-173.
3. Adedeji BO., Onianwa O., Okerentugba PO., Okonko IO., 2012. Immune response of fish to viral infection. *Nature and Science*, 10, 70-76.
 4. Magnadóttir B., 2010. Immunological control of fish diseases. *Marine Biotechnology*, 12, 361-379.
 5. Bozkurt M., Eren Ü., 2009. Balıklarda lenfoid organlar. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 80, 13-18.
 6. Kav K., Erganiş O., 2008. Balıklarda bağışıklık sistemi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 24, 97-106.
 7. Kum C., Sekkin S., 2011. The immune system drugs in fish: immune function, immunoassay, drugs. In "Recent Advances in Fish Farms ", Ed., F Aral, 1st ed., 169-216, InTech Europe, Rijeka, Croatia.
 8. Uribe C., Folch H., Enriquez R., Morani G., 2011. Innate and adaptive immunity in teleost fish: a review. *Veterinari Medicina*, 56, 486-503.
 9. Altınterim B., 2011. Balık İmmünolojisi, bitkisel ve kimyasal immüno stimulantlar. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 1, 69-76.
 10. Ocak F., 2006. Balıklarda Lenfoid organlar ve immun sistemin özellikleri. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 3, 61-66.
 11. Rombout JHWM., Yang G., Kiron V., 2014. Adaptive immune responses at mucosal surfaces of teleost fish. *Fish and Shellfish Immunology*, 40, 634-643.
 12. Johnson S., 2014. Living in Water. In "Texas Aquatic Science", Ed., RA Rosen, 1st ed., 162-208, Texas A & M University Press, Corpus Christi.
 13. Zhang YA., Salinas I., Oriol-Sunyer J., 2011. Recent findings on the structure and function of teleost IgT. *Fish and Shellfish Immunology*, 31, 627-634.
 14. Munang'andu MH., Mutoloki S., Evensen Q., 2014. Acquired immunity and vaccination against infectious pancreatic necrosis virus of salmon. *Developmental and Comparative Immunology*, 43, 184-196.
 15. Harmache A., Leberre M., Droineau S., Giovannini M., Bremont M., 2006. Bioluminescence imaging of live infected salmonids reveals that the fin bases are the major portal of entry for novirhabdovirus. *Journal of Virology*, 80, 3655-3659.
 16. Mikalsen AB., Haugland O., Rode M., Solbakk IT., Evensen O., 2012. Atlantic salmon reovirus infection causes a CD8 T cell myocarditis in atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *PLoS One*, 7, 1-11.
 17. Van Der Aa LM., Chadzinska M., Tijhaar E., Boudinot P., Verburg Van Kemenade BML., 2010. CXCL8 chemokines in teleost fish: two lineages with distinct expression profiles during early phases of inflammation. *PLoS One*, 5, 1-13.
 18. Reyes Cerpa S., Reyes Lopez FE., Toro Ascuy D., Ibanez J., Maisey K., Sandino AM., Imarai M., 2012. IPNV modulation of pro and anti inflammatory cytokine expression in Atlantic salmon might help the establishment of infection and persistence. *Fish and Shellfish Immunology*, 32, 291-300.
 19. Liu G., Yang H., 2013. Modulation of macrophage activation and programming in immunity. *Journal of Cellular Physiology*, 228, 502-512.
 20. Tafalla C., Sanchez E., Lorenzen N., Dewitte-Orr SJ., Bols NC., 2008. Effects of viral hemorrhagic septicaemia virus (VHSV) on the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) monocyte cell line RTS-11. *Molecular Immunology*, 45, 1439-1448.
 21. Hong JR., Gong HY., Wu J., 2002. IPNV VP5 a novel anti apoptosis gene of the Bcl 2 family regulates Mcl 1 and viral protein expression. *Virology*, 295, 217-229.
 22. Bassity E., Clark TG., 2012. Functional identification of dendritic cells in the teleost model rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *PLoS One*, 7, 1-14.
 23. Jorgensen HB., Sorensen P., Cooper GA., Lorenzen E., Lorenzen N., Hansen MH., Koop BF., Henryon M., 2011. General and family specific gene expression responses to viral hemorrhagic septicaemia virus infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).

- Molecular Immunology, 48, 1046-1058.
24. Reid A., Young KM., Lumsden JS., 2011. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) ladderlectin, but not intelectin, binds viral hemorrhagic septicemia virus IVb. Diseases of Aquatic Organisms, 95, 137-143.
 25. Iliiev DB., Skjæveland I., Jørgensen JB., 2013. CpG oligonucleotides bind TLR9 and RRM containing proteins in Atlantic salmon (*Salmo salar*). BMC Immunology, 14, 1-12.
 26. Sun B., Skjæveland I., Svingerud T., Zou J., Jørgensen J., Robertsen B., 2011. Antiviral activity of salmonid gamma interferon against infectious pancreatic necrosis virus and salmonid alphavirus and its dependency on type I interferon. Journal of Virology, 85, 9188-9198.
 27. Tafalla C., Chico V., Perez L., Coll JM., Estepa A., 2007. In vitro and in vivo differential expression of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) Mx isoforms in response to viral haemorrhagic septicemia virus G gene, poly I: C and VHSV. Fish and Shellfish Immunology, 23, 210-221.
 28. Seo JY., Yaneva R., Cresswell P., 2011. Viperin: a multifunctional, interferon-inducible protein that regulates virus replication. Cell Host Microbe, 10, 534-539.
 29. Sepulcre MO., Munoz I., Roca FJ., Lopez Munoz A., Mulero V., 2010. Molecular strategies used by fish pathogens to interfere with host programmed cell death. Developmental and Comparative Immunology, 34, 603-610.
 30. Toplu N., Albayrak H., Aydoğan A., Ekipmen ET., Metin N., 2010. Gökkuşluğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) enfeksiyöz pankreatik nekrozun patogenezisinde apoptozisin rolü. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 57, 191-196.
 31. Paulmann D., Magulski T., Schwarz R., Heitmann L., Flehmig B., Vallbracht A., Dotzauer A., 2008. Hepatitis A virus protein 2B suppresses beta interferon (IFN) gene transcription by interfering with IFN regulatory factor 3 activation. Journal of General Virology, 89, 1593-1604.
 32. Robertsen B., 2011. Can we get the upper hand on viral diseases in aquaculture of Atlantic salmon. Aquaculture Research, 42, 125-131.
 33. Collet B., Urquhart K., Noguera P., Larsen K., Lester K., Smail., Bruno DA., 2013. Method to measure an indicator of viraemia in Atlantic salmon using a reporter cell line. Journal of Virological Methods, 191, 113-117.
 34. Danion M., Lefloch S., Castric J., Lamour F., Cabon J., Quentel C., 2012. Effect of chronic exposure to pendimethalin on the susceptibility of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* L. to viral hemorrhagic septicemia virus. Ecotoxicology and Environmental Safety, 79, 28-34.
 35. Gadan K., Marjara IS., Sundh H., Sundell K., Evensen Q., 2012. Slow release cortisol implants result in impaired innate immune responses and higher infection prevalence following experimental challenge with infectious pancreatic necrosis virus in Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr. Fish and Shellfish Immunology, 32, 637-644.
 36. Munang'andu HM., Fredriksen BN., Mutoloki S., Dalmo RA., Evensen O., 2013. The kinetics of CD4+ and CD8+ T-cell gene expression correlate with protection in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) vaccinated against infectious pancreatic necrosis. Vaccine, 31, 1956-1963.
 37. Nakanishi T., Toda H., Shibasaki Y., Somamoto T., 2011. Cytotoxic T cells in teleost fish. Developmental and Comparative Immunology, 35, 1317-1323.
 38. Zapata A., Diez B., Cejalvo T., Guitierrez de Frias C., Cortes A., 2006. Ontogeny of the immune system of fish. Fish and Shellfish Immunology, 20, 126-136.
 39. Kim SH., Jang YS., 2014. Antigen targeting to M cells for enhancing the efficacy of mucosal vaccines. Experimental and Molecular Medicine, 46, 1-8.