

# İMMUNOSTİMULANLAR

*Doç. Dr. M. Bora Ergönül*

Balık hastalıklarıyla mücadelede sadece aşuların kullanımı ile başarı sağlanması mümkün değildir. Ayrıca balıkların savunma mekanizması temelde non-spesifik immüniteye bağlı olduğu için non-spesifik immün sistemi uyaran immunostimulanların kullanımı öne çıkmaktadır.



*Doç. Dr. M. Bora Ergönül*

Non-spesifik veya spesifik immün sistemi uyaran herhangi bir kimyasal, ilaç veya müdahale **immunostimulan** olarak adlandırılmaktadır. Son 20 yılda balık sağlığı üzerine yapılan çalışmaların çoğunluğu hastalıkların tedavisinden ziyade immunostimulanların kullanımına ağırlık vermektedir. Bunun nedenleri;

-Hastalıkların tedavisinde kullanılan çoğu kimyasalın insan sağlığı üzerinde tehdit oluşturması ve dolayısıyla pekçok ülkede yasaklanması.

-Kullanılan profilaktik kimyasalların çevre sağlığı açısından tehdit oluşturması ve doğal populasyonları etkilenmesi.

Özellikle de antibiyotik kullanımı sonucunda tesis etrafındaki doğal ortamda antibiyotiklere dirençli suşların gelişebilmesi.

Genel olarak immunostimulanlar 5 grup altında toplanmaktadır

- 1. Ölü patojenler ve ürünleri
- 2. Sentetik kimyasallar
- 3. Bitkisel ürünler
- 4. Hayvansal ürünler
- 5. Mikronutrientler

Doç. Dr. M. Bonga/Ergönül

### 1. Ölü Patojenler ve Ürünleri

**Freund's Complete Adjuvant:** FCA mikobakteriyel hücre duvarının mineral yağ içinde çözülmesi ile elde edilen bir süspansiyon balıklarda immunstimulatif etkiye sahiptir.

**Kolera toksini ve Non-toksik B alt birimi:** Kolera toksininin (CT) ve non-toksik B alt biriminin (CTB) balıklarda adjuvan olarak kullanılmaktadır.

**Muramil peptidler:** Muramil dipeptid biyolojik olarak aktif bir mikobakteriyel peptidoglukan türevidir (N-acetyl-muramyl-L-alanyl-D-isoglutamine) Muramil dipeptidlerin balıklarda hastalık direncini arttırdığı belirlenmiştir.

Doc. Dr. M. Borgia Ergonul

**Lipopolisakkaritler:** *Salmonella typhimurium* veya *Escherichia coli* gibi gram negatif bakterilerden elde edilen lipopolisakkaritler (LPS) endotoksin içeren karışımlar halinde kullanılmaktadır.

**BCG (Bacille Calmette Guerin):** BCG *Mycobacterium bovis*'ten elde edilen bir hücre duvarı preparasyonudur ve adjuvan olarak kullanılmaktadır.



Doc. Dr. M. Borgia Ergonul

## 2. Sentetik Kimyasallar

**Levamisole:** Levamisole aslında ruminantlarda parazitik enfeksiyonların tedavisinde kullanılmak üzere geliştirilmiş bir ilaçtır (Raa, 1996). Balıklarda 2-10 mg levamisole/kg vücut ağırlığı gibi dozların immunostimulatif etkileri olduğu gösterilmiştir.

**FK-565:** FK-565 *Streptomyces olivaceogriseus*'dan ekstrakte edilen bir laktol tetrapeptiddir (Raa, 1996).



## 3. Bitkisel Maddeler

**Quil-A:** *Quillaja saponaria* adı verilen bitkiden elde edilen bir saponindir.



**Glisirizin:** *Glycyrrhiza glabra*'dan elde edilen ve glisiritinik asit içeren bir saponindir.



Doç. Dr. M. Bonga Ergönül

«Saponinler çeşitli bitki türlerinde bulunan bir kimyasal bileşik sınıfıdır. Genellikle sulu çözeltilerle karıştırıldığında sabun benzeri kalıcı köpük bırakırlar.

Saponinler soğukkanlı hayvanlarda toksik etki gösterirler ayrıca antifungal ve antibiyotik etkiye sahiptirler. Yüksek oranda saponin içeren bitkiler acı bir tat verdiği için hayvanlar ve insanlar tarafından tüketilmezler.»

#### Diğer bazı bitkisel ekstraktlar

*Ocinum sanctum*'dan elde edilen bir ekstraktın tilapya balıklarında (*Oreochromis niloticus*) nötrofil aktivitesini arttırdığı bulunmuştur.

Cheimmun adı verilen bir bitkisel karışım (*Echinacea angustifolia*, *Eupatorium perfoliatum*, *Baptisia tinctoria*) intraperitoneal olarak alabalıklara enjekte edildiğinde lökosit migrasyonunun ve fagositozun arttığı saptanmıştır.



Doç. Dr. M. Bora Ergönel

**Glucan:** Çeşitli mantarlardan elde edilen glukanlar balık sağlığı yönetiminde en sık kullanılan immunostimulanlardır. Piyasada çeşitli oranlarda glucan içeren pek çok ticari ürün bulunmaktadır.

Örneğin *Saccharomyces cerevisiae*'den elde edilen glucan içeren preparasyon piyasada Macrogard adıyla satılmaktadır.

Benzer şekilde *Lentinus edodes* den elde edilen Lentinan

*Schizophyllum commune* den elde edilen Schizophyllan (VitaStim),

*Sclerotium glukanicum*'dan elde edilen ise Scleroglucan adıyla bilinen glukanlar balıklarda immunostimulant olarak kullanılmaktadır.

Doç. Dr. M. Bora Ergönül



*Lentinus edodes*



*Schizophyllum commune*

Doç. Dr. M. Bora Ergönül

### Algal Ekstraktlar

*Laminaria* spp. gibi kahverengi alglerden elde edilen çeşitli ekstraktlar balıklarda immunostimulan olarak kullanılmışlardır. Özellikle *Laminaria hyperborean*'dan elde edilen ekstraktın Atlantik alabalıklarında makrofaj aktivasyonuna yol açtığı saptanmıştır.



Doç. Dr. M. Barga Ergonul

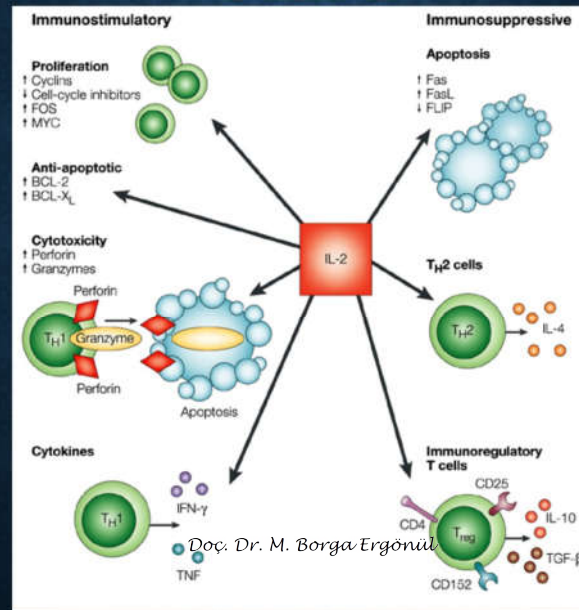
*Laminaria digitata* 'dan elde edilen ve piyasada **Ergosan** adıyla satılmakta olan ekstraktın kullanıldığı bir çalışmada 500 µg Ergosan enjeksiyonunun *Channa striata*'da immunostimulatif etkilerinin olduğu saptanmıştır.



Doç. Dr. M. Barga Ergonul

• 4. Hayvansal Maddeler

- **Sitokinler:** Çeşitli memeli hayvanlardan elde edilen IFN- $\gamma$ , IL-1, IL-4, IL-6, IL-8, MCP (Monocyte Chemotactic Protein) gibi sitokinler de balıklar üzerinde immunostimulan olarak kullanılmaktadır. Ancak sitokinlerin balık sağlığında kullanımı deneysel ve bilimsel amaçlı çalışmaların dışına çıkamamıştır.
- **Dimerize Lizozim (KLP-602):** Lizozim doğal olarak monomer halinde bulunmaktadır ve dimerize hali daha düşük aktiviteye sahiptir (Siwicki and Anderson, 1996; 1998). Karasal hayvanlarda dimerize lizozimin immunostimulatif etkilerinin gösterilmiş olması bu maddenin balıklarda da kullanılabileceği fikrini doğurmuştur.





**Laktoferrin:** Demir bağlayan bir glikoprotein olan laktoferrin tek zincirli bir peptiddir. Bovine laktoferrini ile yapılan bir çalışmada gökkuşuğu alabalıklarının ön böbrek lökositlerinde fagositik aktivitede artış olduğu saptanmıştır.

**Hormonlar:** Hormonların balıklar üzerinde kullanımını konu alan çalışmaları deneysel çalışmalar olup in vitro çalışmalarıdır.

**Beta-endorfin** içeren bir karışımda inkübe edilen gökkuşuğu alabalığı makrofajlarında fagositik aktivitenin arttığı bulunmuştur.

**Alpha-melanocyte stimule edici hormonu** (alfa-MSH) ile inkübe edilen (1 nM) gökkuşuğu alabalıklarından izole edilen makrofajlarında fagositik aktiviteyi arttırdığı bulunmuştur.

Sentetik bir östrojen olan **zeranolün** (2-20 ppm) gökkuşuğu alabalıklarında doza bağlı olarak fagositik ve bakterisidal aktivitenin artmasını sağladığını tespit edilmiş.

#### • 5. Mikronutrientler

- Balıklar üzerinde immunostimulatif etkileri en detaylı araştırılan mikronutrientler Vitamin C ve E olmuştur. Vitaminler kültür balıkçılığında kullanılan en pahalı ek besinlerdir. Vitamin C ve Vitamin E hücrel makromolekülleri normal metabolizma sırasında veya enfeksiyon, stres ve kirliliğe maruz kalma sırasında oluşan serbest oksijen radikallerinin kontrolsüz oksidasyonundan korur.



Doç. Dr. M. Borçta Ergönül

- Pek çok teleost, L-gulonolactone oksidaz enzimi olmadığı için askorbik asit sentezleyemez. Bu nedenle balık yemlerinde eksojen Vit C ihtiyacı vardır. Ayrıca Vit C ile balığın immunitesi arasında bir korelasyon olduğu pek çok çalışmada gösterilmiştir.
- Vit E pek çok değişik formda bulunabilir; alfa-tocopherol en yüksek aktiviteye sahip formudur. Vit E yağda çözünebilen bir antioksidant olarak fonksiyon gösterir. Bol miktarda verildiğinde immün sistemi uyarıcı özelliğe sahiptir.

### İmmunostimulant Kullanımında Dikkat Edilmesi Gereken Faktörler

Uygun bir immunostimulandan beklenen optimum özellikler;

- uygulama şeklinin kolay olması
- ucuz olması
- koruyucu etkinliğinin yüksek olması
- uygulama kesildikten sonra etkinliğinin bir süre daha devam etmesidir.

Doç. Dr. M. Bora Ergönül

- İmmunostimulanların kullanımı ile ilgili dikkat edilmesi gereken konulardan birisi maruz bırakma veya uygulama süresidir. Örneğin Ete adlı immunostimulanın yılan balıklarına *A. hydrophyla* enjeksiyonundan 2 gün önce verilmesinin koruyucu etkisi olduğu ancak enjeksiyondan 2 gün sonra veya enjeksiyonla eşzamanlı olarak verilmesinin herhangi bir koruyucu etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

Doç. Dr. M. Bonga/Ergönül

Dikkat edilmesi gereken bir nokta da stimülasyonun çok yoğun olması durumunda balığın zarar görmesi ve hatta ölümüdür. Buna en iyi örnek insanlarda LPS (gram negatif bakterilerin hücre duvarı bileşeni) verilmesi ile birlikte gelişen septik şok ve ölümdür.

Ayrıca uygulama şekli de çok önemlidir. Genel olarak enjeksiyonla iyi sonuçlar alındığı bildirilmesine rağmen bu pratikte çok kullanışlı değildir ve 15 g altındaki balıklara uygulamak zordur. Oral yoldan uygulamanın da tatmin edici sonuçlar verdiği bildirilmiştir.

Verilecek doz da oldukça önemli bir konudur. Glukanın 0.1-1.0 µg/ml'si makrofaj aktivitesini artırırken, 10 µg/ml'lik dozun etkisiz olduğu hatta 50 µg/ml'lik dozun inhibitör etkisinin olduğu belirlenmiştir.

Doç. Dr. M. Bonga/Ergönül

Normal koşullarda balıkların immün sistemi hastalık etmenini etkisiz hale getirebilir.

Ancak birçok hastalıkta özellikle de viral ve bakteriyel hastalıklarda çoğu kez tedavi işe yaramaz. Ve yavrularda bu tip bir hastalık görüldüğünde sonuç genellikle % 80-90'a kadar çıkan toplu ölümdür.

İmmunostimulantlar genel olarak hastalıklara ve strese bağlı immunodepresyona karşı iyi bir çözüm olmalarına rağmen VHS ve *Cytophaga* sp. gibi bazı patojenlere karşı herhangi bir koruyucu etkilerinin olmadığı da bilinmektedir.

• **İmmunostimulantların avantajları**

- 1. Profilaktiktir
- 2. Spektrumu geniřtir
- 3. Çevreye etkisi yoktur veya yok denecek kadar azdır
- 4. Etkileri su sıcaklığından bağımsızdır
- 5. Yemlerle birlikte çok kolay uygulanabilir

Doç. Dr. M. Bonga/Ergönül