

Viral Hemorajik Septisemi Virüsünün Gökkuşığı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) Doku Malondialdehit ve Antioksidan Düzeylerine Etkisi

The Effect of Viral Hemorrhagic Septicemia Virus on the Tissue Malondialdehyde and Antioxidant Levels in RainbowTrouts (*Oncorhynchus mykiss*)

Merve ÖZCAN¹ , Ali ERTEKİN¹ 

¹ Ondokuz Mayıs University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Biochemistry, Samsun, TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 12.05.2020, Kabul Tarihi: 07.07.2020

Bu makaleye atıf için: Özcan M, Ertekin A. Viral Hemorajik Septisemi Virüsünün Gökkuşığı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) Doku Malondialdehit ve Antioksidan Düzeylerine Etkisi. Van Sag Bil Derg 2020;13(2): 17-23.

ÖZET

Amaç: Bu çalışma, viral hemorajik septisemi virüsünün (VHSV) gökkuşığı alabalığı doku malondialdehit ve antioksidan düzeyleri üzerine etkisini irdelemek amacıyla planlandı.

Materyal ve Metot: Çalışmada 15-30 cm uzunluğunda, 40-100 g ağırlığında 20 Gökkuşığı alabalığı kullanıldı. Balıklar rastgele iki gruba ayrıldı. Birinci grup virüs enjekte edilen alabalıklardan, ikinci grup kontrol alabalıklarından oluştu. Uygulama süresi 21 gün olarak planlandı. Uygulamanın sonunda alabalıklardan kas doku örnekleri alındı. Örneklerde malondialdehit (MDA), katalaz (CAT), redükte glutatyon (GSH), vitamin C ve total protein miktarları ölçüldü.

Bulgular: Alabalık kas dokusu MDA düzeylerindeki artışlar kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$). GSH ve total protein düzeylerinde saptanan düşüşler ve CAT aktivitesi ile vitamin C miktarlarında gözlenen artışlar istatistiki açıdan bir anlam ifade etmedi ($p>0.05$). Deneme grubunda MDA, antioksidan ve total protein düzeylerinde değişiklikler gözlemlendi.

Sonuç: Bu değişimler kas dokusu hücrelerinde oksidatif hasardan kaynaklı kısmi yıkımlanmadan kaynaklanabilir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidanlar, Gökkuşığı alabalığı, Malondialdehit, Viral hemorajik septisemi virüsü

ABSTRACT

Objectives: This study was planned to investigate the effects of viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) on the levels of malondialdehyde and antioxidant in rainbow trout tissue.

Material and Methods: In the study, 20 rainbow trout weighing between 40 and 100 g and weighing between 15 and 30 cm were used. The fishes were randomly divided into two groups. The first group consisted of from trouts injected with virus and the second group consisted of from control trouts. The application period was planned as 21 days. Muscle tissue samples were taken from rainbow trout at the end of the period.

Results: Malondialdehyde (MDA), catalase (CAT), reduced glutathione (GSH), vitamin C and total protein amounts were measured in the samples. Increases in MDA levels of the rainbow trout muscle tissue were statistically significant ($p<0.05$) compared to the control group. Decreases in GSH and total protein levels as well as increases in CAT activity and vitamin C levels were not statistically significant ($p>0.05$). Changes in MDA, antioxidant and total protein levels were observed in the experimental group.

Conclusion: These changes may result from partial destruction of muscle tissue cells due to oxidative damage.

Keywords: Antioxidants, Malondialdehyde, Rainbow trout, Viral hemorrhagic septicemia virus.

GİRİŞ

VHSV (*Piscine novi rhabdo virus*) Rhabdoviridae ailesi Novirhabdoviridae cinsine ait bir virüsdür. Gökkuşığı alabalıklarını etkileyen ciddi viral patojendir. Viral hemorajik septisemi hastalığı (VHS) özellikle yavru balıkların duyarlı olduğu,

birçok deniz balıkları ve tatlı su balık türlerinde de görülen yaygın bir enfeksiyondur (Besse, 1995). VHSV genotipinin neden olduğu enfeksiyonlar gökkuşığı alabalığı yetiştiriciliğinde gözlenen en ciddi viral hastalıklar arasındadır ve gökkuşığı alabalıklarında %80-100'e, küçük ve yaşlı balıklarda ise %10-50'ye varan oranlarda ölümlere neden

olmaktadır (Vennerström ve ark., 2017). Virüs konağa girişini genellikle balığın yüzgeç bölgesinden yapar. Kronik olarak enfekte balıklar vücutlarındaki virüsü vücut sıvılarıyla yayarak bulaşmayı gerçekleştirirler. Akut enfeksiyon semptomları olarak koyulaşmış vücut rengi, uyusukluk, sarmal yüzme biçimi, ekzoftalmi, yüzgeç kanamaları ve soluk solungaçlar görülür. Virüs girdiği bölgelerde peteşiyal ya da ekimatöz hemorajiler oluşturduğu için genellikle kendine hedef olarak, kasları ve iç organlarda bulunan endotelial kan damarlarını belirler (Skall, 2005).

Gökkuşuğu alabalığı, yapay olarak yumurta yetiştirilmesinin kolaylığı ve kuluçka zamanının kısa olması gibi özellikleri nedeniyle yetiştiricilikte çok fazla tercih edilen balık türüdür. Vücudu uzun ve basık yapıda olup, sırt kısımlarında sahip oldukları yağ yüzgeçleri ile karakteristiktir (Emre ve Kürüm, 2007).

Serbest radikaller, kovalent bağlı normal bir moleküldeki bağların homolitik olarak parçalanarak elektronlardan her birinin farklı atomlar üzerinde kalmasıyla, radikal özelliğe sahip olmayan moleküldeki bağların heterolitik olarak parçalanması veya tek bir elektronun kaybolmasıyla ve radikal özelliği bulunmayan moleküle bir elektronun eklenmesiyle üç farklı şekilde oluşurlar (Özcan ve ark., 2015). Lipit peroksidasyonu, biyomoleküllere çok fazla hasar verme özelliğine sahip bir zincir reaksiyonudur. Membran yapısındaki doymamış yağ asitleri serbest radikaller ile reaksiyona girerek peroksidasyon ürünlerinin oluşumuna sebep olurlar. Lipit peroksidasyon sonucu oluşan ürünler doğrudan membran yapısına katılarak geri dönüşümsüz hasar oluşturarak reaktif aldehytlerin ortaya çıkmasını sağlarlar ve bunun sonucunda diğer hücre bileşenlerinde zarara yol açarak doku hasarının yayılmasıyla çeşitli bozulumlara sebep olurlar (Wang ve Quinn, 1999).

Bu çalışmada, viral hemorajik septisemi virüsünün gökkuşuğu alabalığı doku malondialdehit ve antioksidan düzeyleri üzerine etkisini irdelemek amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Çalışma Samsun Veteriner Kontrol Enstitüsü 29/11/2016-11-1 nolu Etik Kurul Kararı ile izin verilen "Escherichia coli Ekspresyon Sistemine Dayalı Rekombinant Viral Hemorajik Septisemi Virüsü Glikoprotein G'nin Üretilmesi ve İmmünolojik Etkinliğinin Araştırılması" isimli projenin sonunda hasat edilen alabalıklardan alınan kas doku örneklerinde yapıldı. Tez çalışması

Samsun Veteriner Kontrol Enstitüsü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (31.05.2018 tarihli 19572899/031-46 sayılı ve 2018/6 nolu karar).

Deney hayvanları

Çalışmanın materyalini 15-30 cm uzunluğunda, 40-100 g ağırlığında 20 Gökkuşuğu alabalığı oluşturdu. Balıklar Trabzon Maçka Sümer Alabalık İşletmesinden sağlandı. Balık deneme ünitesine nakli yapılan balıklar tanklarda 15 gün süre ile bekletilerek çevre koşullarına adaptasyonları sağlandı. Ortalama 11±1 °C sıcaklık ve 10±0,7 mg/L oksijen içeren su koşullarında 12/12 aydınlık/karanlık periyodu uygulanarak doğal koşullardaki ortam sağlanmaya çalışıldı. Ticari yem kullanılarak günde üç kez yemleme yapıldı. Balıkların uyum süreci ve deneysel enfeksiyon süresi boyunca rutin olarak günlük kontrolleri, tankların temizliği ve oksijen ölçümleri yapıldı.

Deney hayvanlarının gruplara ayrılması ve yapılan uygulamalar

Alabalıklar her bir grupta 10 balık bulunacak şekilde deney ve kontrol olarak iki gruba ayrıldı. Virusun titrasyonu mikrotitrasyon yöntemi ile yapıldı. Bu amaçla, viruslar 96 gözlü mikro titrasyon pleytlerinde her bir sulandırma oranı için 4 göz olacak şekilde 10⁻¹'den 10⁻¹⁶'ya kadar log₁₀ tabanında 100 µl hacminde sulandırıldı. Sulandırılan gözler üzerine ml'de 300.000 hücre içeren vasattan 50 µl konularak, soğutmalı inkubatörde 15°C'de inkubasyona bırakıldı. Günlük olarak doku kültürü mikroskobu ile sitopatik etki yönünden kontrol edildi. 7 günlük inkubasyonun sonunda virusun DKID₅₀ (doku kültürü enfektif doz 50) değerleri Reed ve Muench (1938) metodu ile hesaplandı. Deney grubuna 10⁻¹¹ doku kültürü enfektif dozunda intraperitoneal olarak virüs enjekte edildi Kontrol grubuna ise fosfat buffer solüsyonu enjekte edildi. Balıklar virüs enjeksiyonunu takiben ortalama 11±1 °C sıcaklıktaki suda 21 gün bekletildi.

Doku örneklerinin alınması ve analizler için hazırlanması

21 gün sonra alabalıkların sağ ve sol yanlarından kas doku örnekleri alındı. Yapılan tüm müdahaleler öncesinde MS-222 (30 mg/l) ile balıklar anestezide alındı. Kas doku örnekleri 1/10 oranında soğuk serum fizyolojik ile sulandırılarak homojen hale getirildi. Homojenize edilen örnekler 4000 rpm/30 dk santrifüj edildi. Üstte kalan süpernatant ependorf tüplere pipetlendi.

Doku MDA tayini Sushil ve ark. (1989)'nın bildirdiği metoda göre, doku GSH ölçümü için değiştirilmiş Ellman metodu (Yüzüak ve ark., 2014)

kullanılarak spektrofotometrik olarak yapıldı. Doku C vitamini ölçümü Omaye ve ark. (1979)'nın metoduna göre, doku Katalaz aktivitesi tayini ise Aebi' nin (1984) metoduna göre spektrofotometre ile çalışıldı. Doku total protein miktarı ölçümlerinde biüret metodu kullanıldı (Tiftik, 1996).

İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analizler için SPSS 21.0 paket programı Bağımsız Gruplarda T Testi kullanıldı. Veriler ortalama±standart hata olarak hesaplandı.

BULGULAR

Kontrol ve deneme grubu kas doku örnekleri MDA, GSH, vitamin C ve total protein düzeyleri ile CAT enzim aktivitesi Tablo 1' de sunulmuştur. Kontrol grubu verilerine göre deneme grubu verileri karşılaştırıldığında alabalık kas dokusu örneklerinde ölçülen MDA düzeylerindeki artışlar istatistik olarak bir anlam ifade etti ($p<0.05$). GSH ve total protein düzeylerinde saptanan düşüşler ve CAT aktivitesi ile vitamin C miktarlarında gözlenen artışlar istatistiki açıdan bir anlam ifade etmedi ($p>0.05$).

Tablo 1. Kontrol ve deneme grubu MDA, GSH, vit. C, total protein ve CAT düzeyleri.

Gruplar	Parametreler					
	n	MDA ($\mu\text{mol/g}$ doku)	GSH ($\mu\text{mol/g}$ doku)	CAT (k/g doku)	Vitamin C (mg/100 g doku)	Total Protein (% g)
Kontrol Grubu	10	16.197±2.255	15.496±0.678	34.705±6.855	169.9±9.737	6.991±1.409
Deneme Grubu	10	23.800±1.724*	14.322±0.577	59.297±13.892	172.4±9.542	6.437±1.161

TARTIŞMA

Rhabdoviridae familyasına ait Novirhabdovirus cinsinin bir üyesi olan VHSV çeşitli deniz ve tatlı su balık türlerini enfekte eden bir RNA virüsüdür (King ve ark., 2012). VHSV enfekte olan balıkların böbreklerinde, derilerinde, kaslarında ve iç organlarında kanamalar oluşturmasının yanı sıra % 40-60 gibi yüksek oranda mortalite gösterir. VHSV virüsü ciddi ekonomik kayıplara sebep olur. Her ne kadar DNA aşılı VHSV enfeksiyonunu kontrol etmek için geliştirilmiş olsa da, bunların kitle aşılamaındaki zorlukları ve ticari amaçlar için düşük mevcudiyeti nedeniyle uygulamaları sınırlıdır (Cho ve ark., 2017). Uygun antiviral ajanların olmaması nedeniyle, enfeksiyonun erken evrelerinin kontrol edilmesi, balıklarda VHSV enfeksiyonunun salgınlarının azaltılması için uygulanabilir bir yaklaşım olabilir. Enfeksiyonun ilk aşamalarında virüs, antiviral ajanların etkisine duyarlıdır; bununla birlikte, enfeksiyonun sonraki aşamalarında, virüs bu tür etkilere kısmen dirençli hale gelir (Khapersky ve ark., 2014).

VHSV enfeksiyonunun etkileri üzerine çeşitli çalışmalar yayınlanmıştır. Takami ve ark. (2010), VHSV enfeksiyonuna karşı pisi balığının korunmasında interferonun rolünü çalışmışlardır. Aquilino ve ark. (2014), gerçek zamanlı PCR ile VHSV ile enfekte gökkuşuğu alabalık solungaçlarında viral immünite ile ilgili ondokuz

farklı gen bölgesini incelemişlerdir. Verrier ve ark. (2013), gökkuşuğu alabalığındaki VHSV enfeksiyonuna direnç ile ilişkili fenotiplerle ilgili çalışmalar yapmışlar ancak gözlenen tepkilerin biyolojik mekanizmasını ve VHSV enfeksiyonuna direncini açık bir şekilde açıklayamamışlardır.

Su ürünleri, sağlıklı ve dengeli beslenmede gerekli ve yüksek protein değeri ile önemli gıda kaynaklarından biridir. Dünya genelinde tüketilen hayvansal proteinin % 17'sini, tüm protein kaynaklarının ise % 6.5'ini su ürünleri oluşturmaktadır. Endüstriyel büyüme ve üretimdeki artışla birlikte kültür koşullarındaki ani sıcaklık değişimleri, kötü su ve stres gibi istenmeyen olası faktörler önemli ekonomik kayıplara neden olan enfeksiyöz hastalıkların ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bakteri, mantar, virüs ve parazitler birçok enfeksiyöz hastalığa sebep olmaktadır ve bu etkenlere karşı antimikrobiyal bileşenler kullanılmaktadır. Bakteriyel hastalıkların tedavilerinde antibiyotiklerin yoğun kullanılmaları balık dokularında rezidü oluşumuna neden olmakta ve antibiyotiğe dirençli patojenlerin gelişimi artmaktadır. Ayrıca antibiyotikler balık dokusunda birikerek tüketici için potansiyel bir risk oluşturmaktadır (Görmez ve ark., 2017).

MDA çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna yol açan ve böylece oksidatif strese neden olan ana zincir reaksiyonlarının parçalanma ürünüdür (Yang ve ark., 2010). Lipit

peroksidasyonu son ürünü olan MDA oldukça zararlı bir bileşik olup hücre membranı iyon geçişlerinin bozulmasına sebep olabilir. MDA, DNA bazlarının mutajenik özellik kazanmasına da sebep olabilir. Artan ROS üretiminden kaynaklı oksidan/antioksidan dengesizlik, hücresel yapıların ve moleküllerin oksidatif hasarındaki ana nedensel faktörlerdir. Özellikle, doymamış yağ asitleri açısından zengin biyolojik membranlar serbest radikal saldırısına maruz kalan hücresel yapılardır (Moslen, 1994).

Yaptığımız çalışmada kontrol grubu MDA düzeyleri 16.197 ± 2.255 $\mu\text{mol/g}$ doku, deneme grubundaki MDA seviyeleri ise 23.800 ± 1.724 $\mu\text{mol/g}$ doku düzeylerinde tespit edildi. Tespit edilen artış kontrol grubuna göre istatistik olarak $p < 0.05$ kadar bir anlam ifade etti. Kontrol grubuna göre deneme grubunda anlamlı oranda artmış kas dokusu MDA düzeyleri, daha yüksek oranda oksidatif metabolik aktivite ve oksidasyona maruz kalmış membran çoklu doymamış yağ asitleri konsantrasyonuna bağlı olabilir. Lipit peroksidasyonuna maruz kalan grupta artmış olan MDA düzeyi, çeşitli reaktif oksijen türleri üzerine bir veya daha fazla faktörün sinerjik etkisine bağlı olarak, hücresel zarlara daha yüksek oranda bir serbest radikal hareketi olduğunu gösterebilir. Önceki birkaç çalışma, mitokondriyal elektron transportunun inhibisyonu ve virüs enfeksiyonunun bir sonucu olarak ROS üretiminde bir artış olduğunu bildirmiştir (Korenaga ve ark., 2005; Song ve ark., 2009). Hepatit C virüsü ile enfekte karaciğerde yapılan bir çalışmada (Choi ve Ou, 2006), mitokondriyal ROS düzeylerinin daha düşük glutatyon düzeylerine bağlı olarak arttığı görülmüştür. ROS aşırı üretildiğinde, proteinlere ve DNA'ya zarar verir, lipit peroksidasyonunu artırır ve ATP sentezini inhibe eder. Aynı zamanda hücre içi serbest Ca^{2+} , membran peroksidasyonu ve yıkımında da bir artışa neden olur (Aruoma, 1988). Bir başka çalışmada Schwarz (1996), viral enfeksiyonlardan kaynaklı ROS üretiminde bir artış olduğunu ve bu artışa karşılık antioksidan düzeylerinde bir azalma olduğunu bildirmiştir. Artan bu ROS seviyelerinin, hücre ölümlerinde önemli bir patojenik faktör olduğu literatürde bildirilmiştir (Bandyopadhyay ve ark., 1999). Bir çalışmada, RNA virüs enfeksiyonu yoluyla oksidatif stresin, enflamatuvar yanıt ve viral replikasyon dahil olmak üzere viral hastalık patogenezinin çeşitli yönlerine katkıda bulunduğu gösterilmiştir. ROS, oksidatif patlamalar yoluyla virüsleri ve komşu hücreleri yok etmek için aktif

nötrofiller tarafından üretilir (Reshi ve ark., 2014). ROS enfeksiyonlarla mücadelede önemli rol oynamaktadır ve ev sahibi hücrenin apoptosine katkıda bulunan bir koruma mekanizması olarak görülmektedir. Bununla birlikte, viral çoğalmanın ilerlemesiyle daha fazla ROS oluşur ve hücre homeostazda ve oksidatif strese bir dengesizliğe neden olur, bu durumda, bu hücreler DNA, lipit ve protein hasarı geçirir, hücre bütünlük ve işlevsellik kaybına yol açar (Jacobson, 1996).

Yapılan çalışmalarda balıklarda antioksidan savunma sisteminin, suyun sıcaklığına ve oksijenine, mevsimlerden kaynaklı farklılıklara, hastalık durumlarına, strese, stoktaki balık yoğunluğuna, suyun kirliliğine, ortamın gürültüsüne ve ışık gibi sayabileceğimiz çevreden kaynaklı şartlara ve besleme stratejisine bağlı olarak değişim gösterdiği bildirilmiştir (Keleştemur ve Özdemir, 2011).

Hücreler tarafından oksidatif strese karşı savunma mekanizması olarak kullanılabilen GSH doğal indirgeyici bir güç kaynağıdır. Antioksidan aktivitesini oksidatif stres durumunda yapısında bulunan sülfidril grubunu ayırarak gerçekleştirir. GSH ROS'e karşı koruyucu aktivitesini gösterirken glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz gibi antioksidan enzimlerle ortak çalışır. Hücrede en uygun GSH/GSSG oranının sağlanması hücre canlılığının devamı ve korunması için önemlidir. Bu nedenle sağlıklı sistemlerde bu oran optimum değerlerde bulunur. GSH' da olası eksiklik hücreyi oksidatif hasara karşı risk altına sokar. H_2O_2 ve O_2^{\bullet} gibi serbest radikallerin miktarında meydana gelen aşırı artışlar hücreler için oldukça toksiktir. Bu nedenle bu toksik bileşenleri metabolize ederek temizleyip ortamdaki uzaklaştıran sistemlerin fonksiyonları son derece önemlidir, bu sistem hücreler tarafından sıkı bir şekilde kontrol altında tutulur. CAT, SOD ve GPx serbest radikal ataklarından kaynaklı meydana gelebilecek muhtemel hasarlara karşı hücreyi korurlar. SOD, radikal niteliğindeki oksijeni hidrojen peroksit ve moleküler oksijene çevirir, CAT ise hidrojen peroksit ile tepkimeye girerek su ve moleküler oksijen meydana getirir (Kanat ve Akdemir, 2017).

GSH, detoksifikasyon reaksiyonlarına katılan ve lipit peroksidasyonundan sorumlu olan bileşikler ortadan kaldırarak serbest radikal aracılı hasarı dengeleyen önemli bir endojen antioksidandır. Kullanımdaki artışa bağlı olarak oksidatif stres ile GSH düzeyleri arasında ters bir ilişki vardır (Gill ve ark., 2015). Sunulan çalışmada kontrol grubu GSH düzeyi 15.496 ± 0.678 $\mu\text{mol/g}$

doku olarak hesaplanırken deneme grubu alabalıklarda bu düzey $14.322 \pm 0.577 \mu\text{mol/g}$ doku olarak hesaplandı. Kontrol grubuna göre deneme grubunda tespit edilen azalmalar istatistik bir anlam ifade etmedi. Deneme grubunda GSH düzeylerindeki düşüş GPx veya GST ile hücre içi antioksidan kullanımının artmasına bağlı olabilir. Ek olarak, bu düşüş, ya GSH'nin inhibe edilmiş sentezine bağlı olarak ya da toksik kaynaklı serbest radikallerin detoksifikasyonu için GSH'nin artan kullanımından dolayı da olabilir (Singh ve ark., 2001). Viral karaciğer enfeksiyonlarında glutatyon güçlü bir antioksidandır. Bu bileşikler çeşitli etki mekanizmalarına sahiptir. Örneğin, GSH, reaktif moleküllere hidrojeni transfer ederek reaktif oksijen radikallerini nötralize edebilir ve böylece daha stabil bir kimyasal yapı oluşturabilir. Ancak, Hepatit C virüsü gibi RNA virüs enfeksiyonlarında, GSH ve GR'nin seviyeleri, kanda olduğu kadar epitel sıvısı ve plazmasında da anormal bulunmuştur. Tüketimin derecesi, vücuttaki virüsün ciddiyetine, doğasına ve süresine göre değişir (Sheu ve ark., 2006).

CAT, birçok araştırmacı tarafından SOD'den daha iyi, oksidatif stresin önemli ve hassas bir biyobelirteci olarak kabul edilir. CAT ayrıca ROS üretiminde artışa karşı korumadan sorumlu enzimdir. SOD'un katalitik reaksiyonu ile oluşturulan H_2O_2 , hem reaktif bir oksijen kaynağıdır hem de normal bir hücre metabolittir, GPx ve CAT ile detoksifiye edilir. H_2O_2 'nin katabolizması, süperoksit radikal anyonunun oluşumuna yol açar (Regoli ve ark., 2002). Yaptığımız ölçümlerde kontrol grubu alabalık kas dokusu CAT aktivitesi $34.705 \pm 6.855 \text{ k/g}$ doku olarak ölçülürken deneme grubu alabalıklarda kas dokusu CAT aktivitesi $59.297 \pm 13.892 \text{ k/g}$ doku düzeylerinde gözlemlendi. Alabalık kas doku örneklerinde gözlenen CAT'ın artmış aktivitesi, serbest radikallerin artan üretiminin bir sonucu olarak üretiminde veya aktivasyonunda bir artmaya bağlanabilir.

Vitamin C'nin süperoksit ve hidroksil radikallerini ortamdan temizleyerek etkilerini gösterdikleri rapor edilmiştir (Ertekin ve ark., 2003). Askorbik asitin zincir kırıcı özelliğe sahip olduğu, lipid peroksidasyonunu önlediği ve serbest radikal kaynaklı zincir reaksiyonlarını başlangıçta durdurduğu bildirilmiştir (Meister, 1988). Sunulan çalışmada kontrol grubu alabalıklara ait vitamin C düzeyleri $169.9 \pm 9.737 \text{ mg/100 g}$ doku düzeylerinde tespit edildi. Deneme grubu alabalık kas doku

örneklerinde bu düzey $172.4 \pm 9.542 \text{ mg/100 g}$ doku olarak ölçüldü. Deneme grubunda kontrol grubuna göre tespit edilen artış istatistik anlamda bir önem ifade etmedi. Çalışmalarda hücre içi GSH miktarının hücre içi askorbik asit redoks durumu tarafından kontrol edildiği bildirilmiştir. Askorbik asit antioksidan savunma mekanizmasının ilk basamağında bulunur, oksidasyonlara karşı oldukça duyarlıdır ve aynı zamanda iyi bir radikal temizleyicisidir (Olayinka ve Olukowade, 2010). Çoğu çalışmada askorbik asitin lipid peroksidasyonunu düşürdüğü gözlenmiştir (Barja ve ark., 1994; Tanaka ve ark., 1997)

Çalışmamızda kontrol grubu alabalıklarda total protein düzeyleri $6.991 \pm 1.409 \%$, deneme grubu alabalıklarda ise $6.437 \pm 1.161 \%$ düzeylerinde ölçüldü. Kontrol grubuna göre deneme grubunda gözlenen azalmalar istatistik olarak bir anlam ifade etmedi. İstatistik olarak bir anlam ifade etmeyen bu azalma oksidatif stresten kaynaklı olası karaciğer dokusu hasarına bağlı olabilir.

Sonuç olarak, VHSV uygulanan alabalıkların kas dokusu MDA, antioksidan maddeler ve total protein düzeylerinde değişimler gözlemlendi. Bu değişimler kas dokusu hücrelerinde oksidatif hasardan kaynaklı kısmen yıkılanmanın sekillenmiş olabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Aebi H. Catalase in vitro. *Methods in Enzymol.* 1984; 105: 121-126.
- Aquilino C, Castro R, Fischer U, Tafalla C. Transcriptomic responses in rainbow trout gills upon infection with viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV). *Dev Comp Immunol.* 2014; 44: 12-20.
- Aruoma OI. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *J Am Oil Chem Soc.* 1998; 75: 199-212.
- Bandyopadhyay U, Das D, Banerjee RK. Reactive oxygen species: oxidative damage and pathogenesis. *Curr Sci.* 1999; 77: 658-66.
- Barja G, Lopez-Torres M, Perez C, et al. Dietary vitamin C decreases endogenous protein oxidative damage, malondialdehyde and lipid peroxidation and maintains fatty acid unsaturation in the guinea pig liver. *Free Radic Biol Med.* 1994; 17: 105-15.
- Besse P. Recherche sur L'etologie de L'anemie Infectieuse de la Truite. *Bull Acad Vet Fr.* 1995; 5: 194-198.
- Cho SY, Kwonb YK, Namb M, et al. Integrated profiling of global metabolomic and

- transcriptomic responses to viral hemorrhagic septicemia virus infection in olive flounder. *Fish and Shellfish Immunology*. 2017; 71: 220-229.
- Choi J, Ou JH. Mechanisms of liver injury. III. oxidative stress in the pathogenesis of hepatitis C virüs. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2006; 290: 847-851.
- Emre Y, Kürüm V. Havuz ve kafeslerde alabalık yetiştiriciliği. Yenice Değerlendirme Sempozyumu, 2007, pp:272.
- Ertekin A, Karaca M, Akkan HA, Cemek M, Ormancı N. Köpeklerde gentamisin nefrotoksikozisinde lipit peroksidasyonu, antioksidan maddeler, antioksidan vitaminler ve bazı hematolojik-biyokimyasal parametre düzeylerinin araştırılması. *Turk J Vet Anim Sci*. 2003; 2: 535-540.
- Gill KK, Sandhu HS, Kaur R. Evaluation of lipid peroxidation and antioxidant antioxidant status on fenvalerate, nitrate and their co-exposure in *Bubalus bubalis*. *Pestic Biochem Physiol*. 2015; 123: 19-23.
- Görmez Ö, Diler Ö. Balık patojenlerine karşı bazı bitkisel uçucu yağların antibakteriyel aktivitesi. Süleyman Demirel Üniversitesi Yalvaç Akademi Dergisi. 2017; 2(1): 112-122.
- Jacobson MD. Reactive oxygen species and programmed cell death. *Trends Biochem Sci*. 1996; 21: 83-86.
- Kanat N, Akdemir S. Bakterilerde glutasyon ve önemi. *SAÜ Fen Bil Der*. 2017; 18(2): 111-117.
- Keleştemur G, Özdemir Y. Balıklarda antioksidan savunma ve oksidatif stres. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*. 2011; 4(1): 69-73.
- Khaperskyy DA, Emara MM, Johnston BP, et al. Influenza A virus host shutoff disables antiviral stress-induced translation arrest. *PLoS Pathog*. 2014; e1004217/1e14.
- King AMQ, Adams MJ, Carstens EB. *Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*, Elsevier Academic Press, London. 2012; pp. 651-782.
- Korenega M, Wang T, Li Y, et al. Hepatitis C virus core protein inhibits mitochondrial electron transport and increases reactive oxygen species (ROS) production. *J Biol Chem*. 2005; 280: 37481-37488.
- Meister A. Glutathione metabolism and its selective odification. *J Biol Chem*. 1988; 263: 17205-8.
- Moslen MT. Reactive oxygen species in normal physiology, cell injury and phagocytosis, free radicals in diagnostic medicine. Editor: D. Armstrong, Plenum Press, New York, 1994; pp. 1-15.
- Olayinka ET, Olukowade IL. Effect of amoxycillin/clavulanic acid (Augmentin 625®) on antioxidant indices and markers of renal and hepatic damage in rats. *J Toxicol Environ Health Sci*. 2010; 2(6): 85-92.
- Omaya ST, Turnbull JD, Sauberlich HE. Selected methods for the determination of ascorbic acid in animal cells, tissues and fluids. In: *Methods in enzymology*, Ed; McCormick DB, Wright LD, Academic Press, New York. 1979; 62: 3-11.
- Özcan O, Erdal H, Çakırcal G, Yönden Z. Oksidatif stres ve hücre içi lipit, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *J Clin Exp Inves*. 2015; 6(3): 331-336.
- Reed LS, Muench H. A simple method of estimating fifty percent end points. *Am. J. Hyg*. 1938; 27: 493-497.
- Regoli F, Gorbi S, Frenzilli G, Nigro M, Corsi I, Focardi S. Oxidative stress in ecotoxicology: from the analysis of individual antioxidants to a more integrated approach. *Mar Environ Res*. 2002; 54(3-5): 419-23.
- Reshi ML, Su Yi-Che, Hong JR. RNA viruses: ROS-mediated cell death. *Int J Cell Biol*. 2014; id:467452.
- Schwarz KB. Oxidative stress during viral infection: a review. *Free Radic Biol Med*. 1996; 21: 641-649.
- Sheu SS, Nauduri D, Anders MW. Targeting antioxidants to mitochondria: a new therapeutic direction. *Biochim*. 2006; 1762(2): 256-265.
- Singh SP, Coronella JA, Beneš H, Cochrane BJ, Zimniak P. Viral haemorrhagic septicaemia virus in marine fish and its implications for fish farming. *J Fish Dis*. 2005; 28: 509-529.
- Skall HF, Olesen NJ, Mellergaar S. Viral haemorrhagic septicaemia virus in marine fish and its implications for fish farming. *J Fish Dis*. 2005; 28: 509-529.
- Song X, Wang Y, Mao W, et al. Effects of cucumber mosaic virus infection on electron transport and antioxidant system in chloroplasts and mitochondria of cucumber and tomato leaves. *Physiol Plant*. 2009; 135: 246-257.
- Sushil JK, Mcvie R, Duett J, Herbst JJ. Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glycosylated hemoglobin in diabetes. *Diabetes*. 1989; 38: 1539-1543.
- Takami I, Kwon SR, Nishizawa T, Yoshimizu M. Protection of Japanese flounder paralichthys

- olivaceus from viral hemorrhagic septicemia (VHS) by poly (I:C) immunization. *Dis Aquat Organ.* 2010; 89: 109-115.
- Tanaka K, Hashimoto T, Tokumaru S, Iguchi H, Kojo S. Interactions between vitamin C and vitamin E are observed in tissues of inherently scorbutic rats. *J Nutr.* 1997; 127: 2060-4.
- Tiftik AM. Biüret metoduyla total protein tayini, *Klinik Biyokimya, Mimoza Yayınları, Konya.* 1996, shf. 291-292.
- Vennerström P, Välimäki E, Lyytikäinen T, et al. Viral haemorrhagic septicaemia virus (VHSV Id) infections are detected more consistently using syndromic vs. active surveillance. *Diseases of aquatic organisms.* 2017; 126: 111-123.
- Verrier ER, Dorson M, Mauger S, et al. Resistance to a rhabdovirus (VHSV) in rainbow trout identification of a major QTL related to innate mechanism. *Plos one.* 2013; 8(2).e55302, doi: 10.1371.
- Wang X, Quinn PJ. Vitamin E and its function in membranes. *Progress in lipid Research.* 1999; 38: 309-336.
- Yang L, Tan GY, Fu YQ, Feng JH, Zhang MH. Effects of acute heat stress and subsequent stress removal on function of hepatic mitochondrial respiration, ROS production and lipid peroxidation in broiler chickens. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 2010; 151(2): 204-8.
- Yüzüak H, Akbulut KG, Yüzüak S. Yaşlanma sürecinde melatoninin pankreas dokusundaki oksidan ve antioksidanlara etkisi. *J Clin Exp Inves.* 2014; 5(4): 583-588.