

Fluoksetin-HCl'in (FLX) Zebra Balığı (*Danio rerio* Hamilton, 1822) Kalp Dokusu Üzerine Günlük Doza Bağlı Etkileri

Daily Dose Dependent Effects of Fluoxetine-HCl (FLX) on Heart Tissue of Zebrafish (*Danio rerio* Hamilton, 1822)

Figen Esin BATÇA KAYHAN*
Şeyma TARTAR KIZILKAYA
Harika Eylül ESMER DURUEL
Güllü KAYMAK

Marmara Üniversitesi, Fen Edebiyat
Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Göztepe,
İstanbul, Türkiye
E-mail: figenesink@gmail.com
E-mail: seymat@gmail.com
E-mail: harikaeyul@gmail.com
E-mail: gullukaymak@gmail.com

Öz

Bu çalışmanın amacı, Fluoksetin-HCl'in (FLX) zebra balığı kalp dokusunda antioksidan enzimler (CAT, GSH), lipid peroksidasyon (MDA) ve total protein (TP) düzeyleri üzerine insanlarda kullanılan günlük doza bağlı etkilerinin araştırılmasıdır. FLX, insanlarda antidepresan olarak kullanılan Prozac™'in etken maddesi ve SSRI (Selective Serotonine Reuptake Inhibitor) olarak bilinen bir serotonin geri alım inhibitörüdür. Bu çalışmada FLX'in günlük uygulama dozu zebra balıklarına adapte edilmiştir. Biyokimyasal analizler olan katalaz (CAT), glutatyon (GSH), lipid peroksidasyon düzeyleri (MDA) ve total protein (TP) miktarları spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmiştir. Bu çalışmada FLX'in belirlenen zaman aralıklarında zebra balığı kalp dokusu katalaz ve glutatyon aktivitesi, malondialdehit seviyeleri ve total protein düzeyleri üzerine olumsuz bir etkisi saptanmamıştır.

Anahtar kelimeler: *Danio rerio*, Fluoksetin-HCl, Kalp dokusu, Zebra balığı.

Abstract

The aim of this study is to investigate the daily dose dependent effects of Fluoxetine-HCl (FLX) on antioxidant enzymes (CAT, GSH), lipid peroxidation levels (MDA) and total protein (TP) levels of zebrafish heart tissue. FLX is the active compound of the antidepressant Prozac™. FLX acts as a selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) in humans. This study was planned as a model to investigate the dose dependent effects of daily intake doses of FLX, which adapted from human proportionally to weight of zebrafish. Biochemical analyses catalase (CAT), glutatyon (GSH), lipid peroxidation levels (MDA) and total protein (TP) were detected using spectrophotometric methods. In this study, there was not found any negative effects of FLX on catalase and glutatyon activity, malondialdehyde levels and total protein levels of zebrafish heart tissue during specified periods.

Key words: *Danio rerio*, Fluoxetine-HCl, Heart tissue, Zebrafish.

*Corresponding author
Handling Editor: Ö.F. Çolak

1. Giriş

Fluoksetin-HCl (FLX), SSRI's (Selective Serotonine Reuptake Inhibitor) olarak bilinen bir serotonin geri alım inhibitörüdür. Genellikle obsesif-kompulsif bozukluk, panik atak ve depresyon tedavilerinde kullanılmaktadır (Stoyek vd. 2017). FLX, ilk SSRI grubu antidepresanlardan biridir ve Türkiye'de 2001 yılından beri kullanılmaktadır. İlaçların çeşitli yan etkilerinin araştırıldığı çalışmalar genellikle sıçan, tavşan ve insan kan dokusu üzerinde yapılmaktadır. Ancak son yıllarda pek çok araştırmada omurgalı model organizma olarak sıklıkla kullanılan bir organizma daha vardır: Zebra balığı. Bilimsel açıdan popüler bir omurgalı model olmasının nedeni; birçok insan hastalık ve gelişim genlerinin çok benzerinin zebra balığının genomunda da bulunmasıdır. Zebra balığının tüm doku ve organları tüm dünyada genetik, moleküler, toksikolojik, biyokimyasal ve histolojik araştırmalarda kullanılmaktadır. Zebra balığının kalbi de insan ve diğer

memeli türleriyle oldukça yakın benzerlikler göstermesi nedeniyle kardiyovasküler araştırmalarda önerilmektedir (Briggs 2002; Chi vd. 2008, Rider vd. 2012; Dvornikov vd. 2014; Stoyek vd. 2015; Stoyek vd. 2017). Evrimsel gelişim açısından her ne kadar uzak olsalar da zebra balığı kalbinin, insan kalbine çok yakın genetik benzerlikler göstermesi nedeniyle, bilim adamları kalp hastalıklarının farklı birçok yönünü, özellikle de kalp anomalilerine neden olabilecek genetik mutasyonların rolünü incelemek için zebra balıklarının araştırmalarında sıklıkla kullanılmaktadırlar. Oksidatif stres, serbest radikal üretimi ve antioksidan kapasitesi arasındaki bozulmuş dengenin oksidatif ürün birikimi ile sonuçlanması olarak tanımlanmaktadır (Mishra vd. 2017). Hücre fonksiyonlarının bir kısmı serbest radikaller tarafından düzenlenmektedir ve bu nedenle birçok patolojik durumda önemli rol oynarlar. Antioksidan savunma mekanizması vücudu radikal oksijen türlerinin

zararlı etkilerinden korumakla görevlidir. Bu nedenle tedavi amacıyla kullanılan farmasötik bileşiklerin antioksidan dengeyi koruması ve desteklemesi çok önemlidir (Kalichaka vd. 2016; Stoyek vd. 2017; Shafik ve Cifuentes 2018). Bu çalışmanın amacı, insanlarda antidepresan olarak kullanılan Prozac™'in etken maddesi olan FLX'in zebra balığı kalp dokusu antioksidan enzimleri katalaz (CAT), glutatyon (GSH), lipid peroksidasyon (MDA) düzeyleri ile total protein (TP) miktarları üzerine günlük doz kullanımına bağlı olası zararlı etkilerinin araştırılmasıdır.

2. Materyal ve Metot

2. 1 Model Organizma: Zebra Balığı

Zebra balığı 90'lardan beri bilimsel araştırmalarda kullanılmaktadır. Zebra balığı genomu insan genomunun yarısı kadar olmakla birlikte insan genomundan daha fazla gene sahiptir. Bu durum zebra balığında gen dublikasyonu ile açıklanmaktadır. Gen dublikasyonunda düzenleyici bölgelerin kopyalanması memeli genlerinin fonksiyonunu anlamak açısından oldukça fayda sağlar. İnsanlara ait birçok hastalık ile ilgili genlerin zebra balığında ortoloğunun bulunması, bu tip araştırmalarda yeni bir görüş kazandırır. Örneğin; lösemi, inflamasyon, diyabet, nörolojik bozukluklar, Alzheimer ve kalp hastalıkları ile ilgili genler zebra balığında klonlanabilir ve ileri düzeyde araştırmalar yapılabilir (Stoyek vd. 2017; Zeng 2018). Zebra balıklarının çiftleştirilmeleri ve bakımları da kolaydır. Özellikle embriyoları mikroenjeksiyon, hücre transplantasyonu gibi deneysel manipülasyonlara dirençlidir. Zebra balığı, beslenmesinin kolay ve yüksek üreme potansiyeline sahip olması, üreme döngüsünün kısa olması, hızlı gelişmesi, embriyoların yarı saydam oluşu ve insan genomuna yakın homolojisi gibi özellikler nedeniyle bu araştırmada tercih edildi.

2. 2 Deney Düzeni

Bu çalışma için FLX'in insanlarda kullanılan günlük dozu balıklara adapte edildi. Zebra balıkları dört hafta süreyle akvaryumda klorsuz suda, 14 saat aydınlık/10 saat karanlık koşullarında günde iki kez beslenerek bakıldı. Balıklar, kontrol grubu dışında 5 gruba ayrıldı. Gruplar sırasıyla: 1. grup (15 dk./doz uygulama), 2. grup (30 dk./doz uygulama), 3. grup (60 dk./doz uygulama), 4. grup (4 gün/doz uygulama) ve 5. grup (8 gün/doz uygulama) olarak planlandı. Toplam 60 balık olacak şekilde her grup için akvaryuma 10 balık yerleştirildi. Her akvaryuma ergin balık başına 0.150 ng/l olacak şekilde FLX uygulandı. Belirlenen süreler sonunda balıklar soğuk şoku ile bayıltıldı ve operkül hareketinin durması beklendi. Ayrıca yüzgeç dokunmalarına tepki vermediği gözlemlendikten sonra ergin balıklar ventral orta hat üzerinden kesildi ve kalpleri Stoyek vd. (2016) prosedürüne göre dissekte edildi. Deney süresince kullanılan tüm zebra balıklarının bakımı ve idamesi hayvan refahı standartlarına göre gerçekleştirildi. Deneye ait etik kurul raporu Marmara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alındı (Protokol kodu: 72.2018.mar, Tarih: 09.07.2018).

2. 3 %10 Doku Homojenatının Hazırlanması

Kalp doku örnekleri ayrı ayrı serum fizyolojik ile yıkanıp kanı temizlendikten sonra bir süzgeç kağıdı ile kurutularak tartıldı. Cam boncukların yardımıyla serum fizyolojik sıvısı içinde dismembranatörde parçalandı. Doku homojenatları ayrı ayrı ependorf tüpler içerisine konularak etiketlendi ve -20°C'de analiz zamanına kadar saklandı.

2. 4 Biyokimyasal Analiz Yöntemleri

Bu çalışmada kalp dokusu örneklerinin antioksidan enzim düzeylerini belirlemek için katalaz ve glutatyon aktivitelerine, lipid peroksidasyonunu belirlemek için MDA düzeylerine bakıldı. Enzim aktivitelerini U/mg protein olarak belirtebilmek için de tüm örneklerin total protein miktarları ölçüldü.

2. 5 Kalp Dokusunda Katalaz Aktivitesi (CAT) Tayini

Katalaz aktivitesi tayini Aebi (1984) yöntemine göre yapıldı. Yöntem, H₂O₂ substratının, katalaz ile enzimatik yıkılmasının 240 nm'de okunması temeline dayanır (Aebi 1984).

2. 6 Kalp Dokusunda Glutatyon Aktivitesi (GSH) Tayini

Bu yöntemde Elmann ayırıcı, 5'-5' ditiyobis 1-2 nitro benzoik asit ile sülfidril gruplarının reaksiyonu sonucu oluşan sarı renkli ürünün spektrofotometrik olarak değerlendirilmesi esasına dayanır (Beutler 1975). Hazırlanan homojenatta GSH düzeyleri, seyreltme faktörü ve oluşan sarı renkli ürünün 412 nm'de ekstinksiyon katsayısı (13600/M-1cm⁻¹) kullanılarak GSH µg/mg protein cinsinden hesaplandı.

2. 7 Kalp Dokusunda Malondialdehit (MDA) Tayini

MDA tayini Ledwozyw (1986) yöntemine göre belirlendi. Yöntem, dokularda oluşan lipid peroksidasyonunun (LPO) göstergesi olan MDA ile tiyobarbitirik asit arasındaki reaksiyon sonucu oluşan pembemsi rengin absorbansının spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanır. Doku homojenatında LPO düzeyleri MDA için saptanmış ekstinksiyon katsayısı (1.56.105 M-1cm⁻¹) kullanılarak nmolMDA/mg protein cinsinden hesaplandı (Ledwozyw 1986).

2. 8 Kalp Dokusunda Total Protein Miktarlarının Hesaplanması

Total protein miktarını belirlemek için Bradford (1976) yöntemi uygulandı. Yöntem, Coomassie Brilliant Blue G-250 boyasının proteinlere bağlanması sonucunda oluşturduğu renkli çözeltilerin 595 nm'de absorbansının ölçülmesi ilkesine dayanır (Bradford 1976).

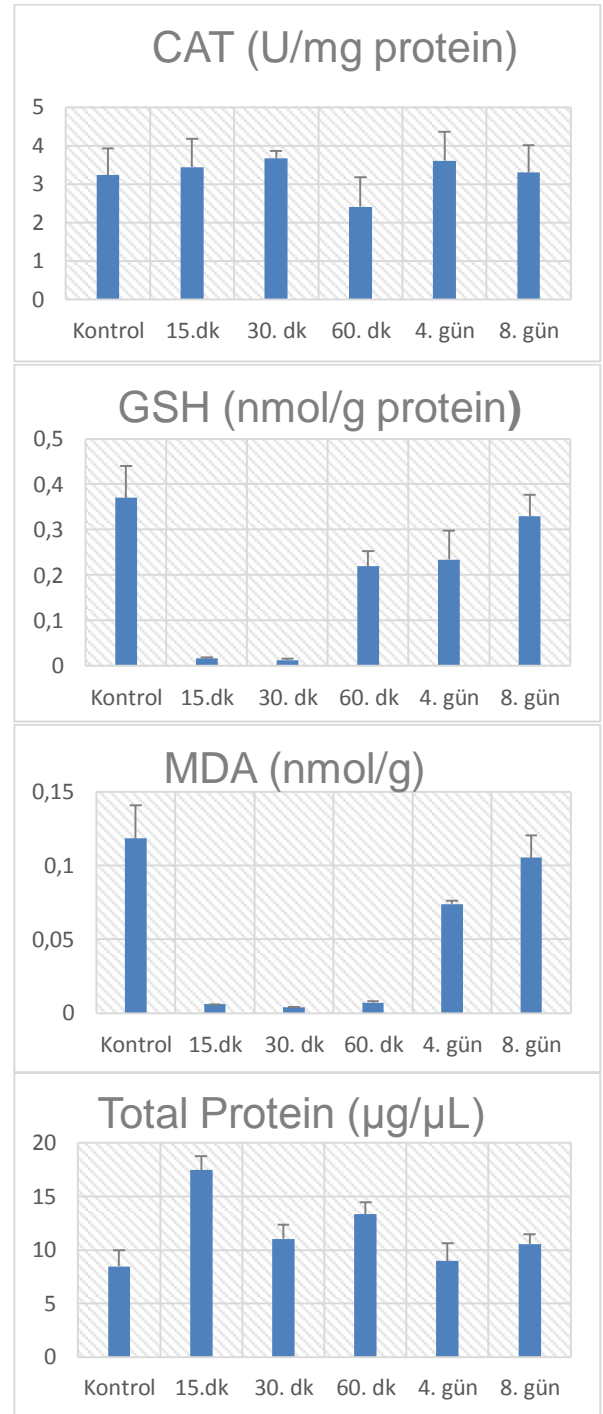
2. 9 İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler için SPSS 17.0 (Statistical Package for the Social Sciences Chicago, IL, USA) paket programı kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırmalarda normal dağılım

gösteren değişken için Student's-t testi, normal dağılım göstermeyen değişkenler için Mann-Whitney U testi kullanıldı. $P < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. Bulgular

Yapılan bu çalışmada FLX'in insanlar için günlük kullanım dozu zebra balıklarına adapte edildi ve farklı zaman aralıklarında (15 dk., 30 dk., 60 dk., 4 gün ve 8 gün) uygulandı. Balıklar kontrol grubu dışında 5 gruba ayrıldı. Balık başına belirlenen miktar olan 0.150 ng/l etken madde ortam suyuna eklendi. Gruplar: 1. grup (15 dk./doz uygulama), 2. grup (30 dk./doz uygulama), 3. grup (60 dk./doz uygulama), 4. grup (4 gün/doz uygulama) ve 5. grup (8 gün/doz uygulama) olarak düzenlendi. Bu araştırmada kalp dokusunda CAT düzeyleri için kontrol grubu ile diğer gruplar karşılaştırıldığında CAT enzim düzeylerinin çok az bir miktarda artış gösterdiği belirlenmiştir. CAT aktivitesi ortamda bulunan hidrojen peroksitin konsantrasyonu doğru orantılı olarak artar. Bu veriler bize ortamda minimum seviyede bulunan oksidatif stres olabileceğini ve bu nedenle CAT enzim aktivitesinin 3. grupta azaldığı, diğer gruplarda ise çok az bir miktarda arttığını göstermektedir. Balıklarda zararlı etkiler oluşmadan önce belirlenen CAT aktivitesi oksidatif stres için hassas bir biyobelirteçtir. Çalışmamızda katalaz aktivitesi açısından fluoksetinin aşırı zararlı bir etkisinin bulunmadığı görülmüştür. Glutasyon (GSH) düzeyleri için kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 1. grup ve 2. grupta ani bir azalma olduğu görülmüştür. 3. grupta biraz artış gözlenirse de değerler kontrol grubunun altında kalmıştır. 4. grupta ve 5. grupta ise GSH seviyeleri yükselmekle birlikte kontrol grubunun altında kaldığı gözlenmiştir. Bu durum bize özellikle oksidatif hasara karşı glutasyon mekanizmasının devreye girmediğini dolayısıyla fluoksetinin oksidatif stres açısından önemli bir etkiye neden olmadığını göstermiştir. Malondialdehit (MDA) düzeyleri için elde edilen veriler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 1. grup, 2. grup ve 3. grupta MDA düzeylerinde azalma olduğu gözlenmiştir. 4. ve 5. grupta ise MDA seviyeleri biraz yükselmekle birlikte kontrol grubunun altında kaldığı gözlenmiştir. MDA, lipid peroksidasyonu sonucu oluşan ürünlerden biridir. Oksidatif hasarı belirlemede sıklıkla kullanılır. MDA seviyelerinin yüksek bulunması yüksek lipid peroksidasyonuna işaret eder. LPO'nun hiç meydana gelmemesi veya düşük düzeylerde olması oksidatif enzimlerin koruyucu etkilerini ispatlar. Bizim bu çalışmadan elde ettiğimiz veriler bize fluoksetinin belirlenen farklı zaman aralıkları içerisinde günlük kullanım dozlarının zebra balığı kalp dokusunda herhangi bir oksidatif strese neden olmadığını göstermektedir. Total Protein (TP) miktarları için kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hemen hemen tüm grupların kontrolden daha yüksek bir miktarda oldukları bulunmuştur. Bu çalışmada ticari olarak temin edilen zebra balıklarına fluoksetinin günlük kullanım dozu farklı zaman aralıklarıyla uygulanmış ve kalp dokusunda antioksidan enzimlerden CAT, GSH, lipid peroksidasyonu (MDA) ve total protein seviyeleri Şekil: 1, 2, 3 ve 4'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Fluoksetin-HCl'in günlük kullanım dozunun farklı zaman aralıklarında uygulandığı zebra balıklarının kalp dokusuna ait CAT, GSH, MDA ve total protein seviyeleri.

4. Tartışma ve Sonuç

Araştırmacılar zebra balığı embriyolarını mikroskopta inceleyerek, kalp gibi hayati organların anormal gelişimini kolaylıkla izleyebilirler. Zebra balığı embriyoları kalp rahatsızlıklarının henüz bilinmeyen yönlerini araştırmak için iyi bir model olabilir. Zebra balığı embriyolarının mikroskopta incelenmesi sonucu kalp gibi hayati organların anormal gelişimi kolaylıkla izlenebilir ve bu nedenle zebra balığı embriyoları kalp rahatsızlıklarının henüz bilinmeyen yönlerini araştırmak için iyi bir model

olabilir (Shafik ve Cifuentes 2018). Zebra balığının biyolojik araştırmalarda kullanılması ayrıca çoğu klinik kardiyovasküler hastalığın altında yatan karmaşık mekanizmalara genel bir bakış sağlanmaktadır (Kithcart vd. 2017). Stoyek ve arkadaşları zebra balığı kalbinde serotoninin rolünü ve etkilerini incelemişler ve zebra balığının çok uygun bir model organizma olduğunu belirtmişlerdir (Stoyek vd. 2017). Son yıllarda endüstriyel gıda maddeleri, boyalar, kozmetikler ve farmasötik bileşikler gibi sentetik formülasyonlar nedeniyle organizmaların gelişim ve üreme fonksiyonlarında bozukluklar görülmektedir. Organizmalarda başarılı bir gelişim birçok enzim, hormon ve bunların etkileşimi ile gerçekleşen kimyasal dengeler sistemine bağlıdır (Sun ve Liu 2017). Abreu vd (2016) yaptıkları araştırmada diazepam ve fluoksetinin zebra balığı üzerinde stres yanıtlarını incelemek amacıyla kortizol seviyelerini belirlemişlerdir. Araştırmacılar çalışmalarında psikoaktif ilaçların sucül ekosistemlerde yaşayan balıkların nöroendokrin bozukluk fonksiyonlarına sebep olabileceğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada fluoksetinin zebra balığının kalp dokusunda antioksidan aktiviteler üzerine zararlı bir etkisi gözlenmemiştir. Antioksidan enzimlerin seviyeleri, organizmanın antioksidan durumunun bir indikatörü ve oksidatif stresin biyobelirteci olarak kullanılmaktadır. Fakat yapılan bazı araştırmalarda FLX'in dokularda stres oluşturabileceği rapor edilmiştir (Chen vd. 2015; Ding vd. 2016). Yine bazı araştırmalarda ise FLX'in enerji rezervlerini azaltmak suretiyle zebra balıklarında embriyogenezin olumsuz etkilendiğini, karaciğer fonksiyonlarının ve normal nörodavranışlarının bozulduğu ileri sürülmüştür (Kalichaka vd. 2016; Wu vd. 2017). Katalaz aktivitesi ortamda bulunan hidrojen peroksitin konsantrasyonu ile doğru orantılı olarak artar. Eğer ortamda düşük konsantrasyonda bile hidrojen peroksit bulunuyorsa bu bileşiği substrat olarak kullanan katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimler devreye girerek zararlı bileşiği ortamdaki uzaklaştırırlar. Biyolojik sistemlerde hücrel antioksidan savunma sistemi çevresel kirlenmelere maruz kaldığında bozulur ama buna karşın antioksidan seviyeleri oksidatif stresin neden olduğu dengesizliği düzeltmek için artar (Airhart vd. 2007). Antidepresanların bağışıklık sistemi üzerindeki olumsuz etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada amitriptilin ve fluoksetinin antioksidan kapasiteyi azalttığı, oksidatif stresi indüklediği ve zebalarda bağışıklık ile ilgili fizyolojik ve kimyasal parametreleri değiştirdiğini rapor etmişlerdir (Yang vd. 2014; Gonzales Rey ve Bebianno 2013; Mika vd. 2015). Bizim çalışmamızda, fluoksetinin antioksidan sistem üzerine olumsuz ve engelleyici etkilere sebep olmadığı belirlenmiştir. Kayhan vd. (2017) zebra balığı karaciğer dokusu üzerine fluoksetinin subletal etkilerinin araştırıldığı bir araştırmada katalaz aktivitesinin fluoksetin uygulamasının ilk 15 ve 30. dakikalarında arttığı, bir saat sonunda azaldığını ve 4. ve 8. günlerinde ise yeniden arttığını belirtmişlerdir. Çalışmada fluoksetinin karaciğer dokusu üzerine kısmen zararlı etkilerinin olduğunu rapor etmişlerdir. Mishra vd. (2017) çalışmalarında fluoksetinin subletal dozlarına maruz kalan zebra balığı embriyolarında önemli metabolik profil değişikliklerine neden olduğunu belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda

fluoksetinin zebra balığı kalp dokusu CAT aktivitesi üzerine zararlı bir etkisinin bulunmadığı belirlenmiştir. GSH, oksijen radikali yakalayıcısı olarak antioksidan savunmada önemlidir. Hücrel GSH miktarı hücrel işlevlerin korunmasında önemlidir ve detoksifikasyon ve oksidatif stres durumlarında oksidatif strese karşı koyabilmek amacıyla seviyeleri artar (Oliveira 2016; Sehring vd. 2016). Çalışmamızda balıklara farklı zaman aralıklarıyla uygulanan fluoksetinin günlük kullanım dozlarının kontrol grubuna oranla genel olarak düşük seviyelerde kalması balık kalp dokusunda zararlı bir etkinin olmadığını düşündürmektedir. Malondialdehit (MDA), lipid peroksidasyonu (LPO) sonucu oluşan ürünlerden biridir ve oksidatif hasarı göstermede sıklıkla kullanılan bir parametredir. MDA miktarının yüksek bulunması, yüksek lipid peroksidasyonuna işaret eder. LPO meydana gelmemesi veya düşük olması oksidatif enzimlerin koruyucu etkilerini gösterir. Bizim çalışmamızda, MDA seviyelerinin, tüm zaman aralıklarında kontrol grubunun altında kaldığı görülmektedir. Bu nedenle fluoksetinin olası bir zararının kalp dokusunda görülmediği söylenebilir. Biyolojik sistemlerde hücrel antioksidan savunma sistemi çevresel kirlenmelere maruz kaldığında bozulur ama buna karşın antioksidan seviyeleri oksidatif stresin neden olduğu dengesizliği düzeltmek için artar. Bizim çalışmamızda, fluoksetinin zebra balığı kalp dokusunda antioksidan sistemler üzerine olumsuz ve engelleyici etkilere sebep olmadığı görülmüştür. GSH, oksijen radikali yakalayıcısı olarak antioksidan savunmada önemlidir. Çalışmamızda balıklara farklı zaman aralıklarıyla uygulanan fluoksetinin günlük kullanım dozlarının kontrol grubuna oranla genel olarak düşük seviyelerde kalması balık kalp dokusunda zararlı bir etkinin olmadığını düşündürmektedir. Malondialdehit (MDA), lipid peroksidasyonu (LPO) sonucu oluşan ürünlerden biridir ve oksidatif hasarı göstermede sıklıkla kullanılan bir parametredir. MDA miktarının yüksek bulunması, yüksek lipid peroksidasyonuna işaret eder. Bizim çalışmamızda, MDA seviyelerinin, tüm zaman aralıklarında kontrol grubunun altında kaldığı görülmektedir. Bu nedenle fluoksetinin kalp dokusunda herhangi bir zararının olmadığı söylenebilir. Tüm dünyada yaygın olarak kullanılan SSRI grubu farmasötik bileşiklerin insanlarda oluşturabileceği olası zararlı etkileri en aza indirmek için daha kapsamlı moleküler ve fizyolojik araştırmalara gerek vardır. Ayrıca, gerçek ortamlardaki suda yaşayan organizmalar tipik olarak bir dizi farmasötik olarak aktif bileşiğe ve birçok başka kirlenmelere maruz kaldıklarından, karışım etkileri ve potansiyel ilaç-ilaç etkileşimleri ile ilgili araştırmalar, bu bileşiklerin ekolojik risk değerlendirmelerini güçlendirmeye yardımcı olabilir.

Teşekkür: Bu çalışma Marmara Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu (BAPKO) tarafından FEN-A-111115-0511 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

Conflicts of Interest: No conflict of interest was declared by the authors.

Kaynaklar

- Abreu MS, Koakoski G, Ferreira D, Oliveira TA, Santos da Rosa JG, Gusso D, Varrone Giacomini AC, Piato AL, Barcellos LJJ. 2016.** Diazepam and Fluoxetine decrease the stress response in zebrafish. *PLUS ONE*, 9/7: 1–5.
- Aebi H. 1974.** Catalase in vitro in: *Methods of enzymatic analysis*. Edited by H U Bergmeyer (2nd ed, FL) 121.
- Airhart MJ, Lee DH, Wilson TD, Miller BE, Miller MN, Skalko RG. 2007.** Movement disorders and neurochemical changes in zebrafish larvae after bath exposure to fluoxetine (PROZAC). *Neurotoxicology and Teratology*, 29: 652–664.
- Beutler E. 1974.** *Glutathione in red cell metabolism: A manual of biochemical methods*, 2nd ed., Grune and Stratton, NY, pp. 112–114.
- Bradford MM. 1976.** A Rapid Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248–254.
- Briggs JP. 2002.** The zebrafish: a new model organism for integrative physiology. *AJP Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 282/R3–R9.
- Chen HH, Zha JM, Yuan LL, Wang ZJ. 2015.** Effects of fluoxetine on behavior, antioxidant enzyme systems, and multixenobiotic resistance in the Asian clam *Corbicula fluminea*. *Chemosphere*, 119: 856e862.
- Chi NC, Shaw RM, Jungblut B, Huisken J, Ferrer T, Arnaut R, Scott I, Beis D, Xiao T, Baier H, Jan LY. 2008.** Genetic and physiologic dissection of the vertebrate cardiac conduction system. *PLoS Biol*, 6:e109.
- Ding J, Lu G, Li Y. 2016.** Interactive effects of selected pharmaceutical mixtures on bioaccumulation and biochemical status in crucian carp (*Carassius auratus*). *Chemosphere*, 148:21e31.
- Dvornikov AV, Dewan S, Alekhina OV, Pickett FB, Tombe PP. 2014.** Novel approaches to determine contractile function of the isolated adult zebrafish ventricular cardiac myocyte. *The Journal of Physiology*, 592: 1949–1956.
- Gonzalez-Rey M, Bebianno MJ. 2013.** Does selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) fluoxetine affects mussel *Mytilus galloprovincialis*? *Environmental Pollution*, 173: 200–209.
- Kalichaka F, Idalencio R, Rosaa JGS, Oliveiraa TA, Koakoskia G, Gussoc D, Giacomini ACV, Barcellosa HHA, Fagundes M, Piato AL, Barcellos LJJ. 2016.** Waterborne psychoactive drugs impair the initial development of Zebrafish. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 41: 89–94.
- Kayhan FE, Süssleyici B, Kaymak G, Koldemir Gündüz M, Tartar Ş, Esmer HE, Akbulut C, Çevik M, Yön Ertuğ ND. 2017.** The sublethal disrupting effects of fluoxetine-HCl (FLX) on catalase (CAT) activity and malondialdehyde (MDA) levels in zebrafish *Danio rerio*. *Fresenius Environmental Bulletin*, 26/6: 3768–3772.
- Ledwozyw A, Michalak D, Stepień A, Kadziolka A. 1986.** The relationship between plasma triglycerides, cholesterol, total lipids and lipid peroxidation products during human atherosclerosis. *Clinica Chimica Acta*, 155:275–280.
- Mika J, Jurga AM, Starnowska J, Wasylewski M, Rojewska E, Makuch W, Kwiatkowski K, Malek N, Przewlocka B. 2015.** Effects of chronic doxepin and amitriptyline administration in naive mice and in neuropathic pain mice model. *Neuroscience*, 294: 38–50.
- Mishra P, Gong Z, Kelly BC. 2017.** Assessing biological effects of fluoxetine in developing zebrafish embryos using gas chromatography-mass spectrometry based metabolomics. *Chemosphere*, 1887157e167.
- Oliveira MR. 2016.** Fluoxetine and the mitochondria: A review of the toxicological aspects. *Toxicology Letters*, 256: 185–191.
- Rider SA, Tucker CS, del-Pozo J, Rose KN, MacRae CA, Bailey MA, Mullins JJ. 2012.** Techniques for the in vivo assessment of cardio-renal function in zebrafish (*Danio rerio*) larvae. *The Journal of Physiology*, 590: 1803–1809.
- Sehring IM, Jahn C, Weidinger G. 2016.** Zebrafish fin and heart: What's special about regeneration? *Current Opinion in Genetics & Development*, 40: 48–56.
- Shafik AM, Cifuentes D. 2018.** Zebrafish as a Tool to Study Congenital Heart Diseases. *Encyclopedia of Cardiovascular Research and Medicine*, 771–778.
- Stoyek MR, Croll RP, Smith FM. 2015.** Intrinsic and extrinsic innervation of the heart in zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Comparative Neurology*, 523: 1683–1700.
- Stoyek MR, Croll RP, Smith FM. 2016.** Zebrafish heart as a model to study the integrative autonomic control of pacemaker function. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 311: H676–H688.
- Stoyek RM, Jonz MG, Smith FM, Croll RP. 2017.** Distribution and chronotropic effects of serotonin in the zebrafish heart. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical*, 206: 43–50.
- Sun G, Liu K. 2017.** Developmental toxicity and cardiac effects of buthyl phthalate in zebrafish embryos. *Aquatic Toxicology*, 192: 165–170.
- Wu M, Liua S, Huc L, Qub H, Pana C, Leic P, Shenb Y, Yanga M. 2017.** Global transcriptomic analysis of zebrafish in response to embryonic exposure to three antidepressants, amitriptyline, fluoxetine and mianserin. *Aquatic Toxicology*, 192: 274–283.
- Yang M, Qiu W, Chen J, Zhan J, Pan C, Lei X, Wu M. 2014.** Growth inhibition and coordinated physiological regulation of zebrafish (*Danio rerio*) embryos upon sublethal exposure to antidepressant amitriptyline. *Aquatic Toxicology*, 151: 68–76.
- Zeng XI. 2018.** Zebrafish. *Encyclopedia of Cardiovascular Research and Medicine*, 759–770.