Acta Aquatica Turcica

E-ISSN: 2651-5474

Home Page: https://dergipark.org.tr/actaquatr 18(0): 000-000, 2022 DOI: 10.22392/actaquatr.1001378

Research Article **Araştırma Makalesi**

Tiazolidin'in Zebra Balığı (Danio rerio) Solungaç ve Karaciğer Dokusunda AChE Enzim Aktivitesi ve Toplam Protein Seviyesi Üzerine Etkileri

Effects of Thiazolidine on AChE Enzyme Activity and Total Protein Level in Zebrafish (*Danio rerio*) Gill and Liver Tissue

Figen Esin Kayhan[1]*, Harika Eylül Esmer Duruel[2], Şeyma Kızılkaya[1], Güllü KAYMAK[3], Cansu Akbulut[4], Hayriye Genç[5], Mustafa Zengin[5], Nazan Deniz Yön Ertuğ[4]

[1]Marmara Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 34722, İstanbul.
[2]Kahramanmaraş İstiklal Üniversitesi, Elbistan Meslek Yüksek Okulu, Laborant Sağlığı ve Veterinerlik Programı, 46340, Kahramanmaraş. 0000-0002-0792-2062
[3]Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Simav Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikleri Bölümü, 43100, Simav, Kütahya. G.K. 0000-0001-6309-0208
[4]Sakarya Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 54050, Sakarya.
[5]Sakarya Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 54050, Sakarya.

* Sorumlu yazar: fekayhan@marmara.edu.tr

Geliş: 06.10.2021 **Kabul:** 02.02.2022 **Yayın:** 00.00.2000

Alıntılama: Kayhan, F. E., Esmer Duruel, H., Kızılkaya, Ş. Kaymak, G., Akbulut, C., Genç, H., Zengin, M., & Yön Ertuğ, N. D. (2022). Tiazolidin'in Zebra Balığı (*Danio rerio*) Solungaç ve karaciğer dokusunda AChE enzim aktivitesi ve toplam protein seviyesi üzerine etkileri. *Acta Aquatica Turcica, 18*(0), 000-000. https://doi.org/10.22392/actaquatr.1001378

Özet: Bu çalışmanın amacı, tiazolidin'in (Tiazolidin-4-karboksilik asit (4S)-2- (4-hidroksi-3-metoksifenil) zebra balığı (*Danio rerio*) solungaç ve karaciğer dokusunda asetilkolinesteraz enzim (AChE) aktivitesi ve total protein (TP) düzeyleri üzerindeki etkilerinin araştırılmasıdır. Zebra balıkları tiazolidin'in 0,2 ppm, 0,4 ppm ve 0,6 ppm farklı dozlarına 96 saat süreyle maruz bırakılmıştır. AChE enzim aktivitesi karaciğer dokusunda, tiazolidin'in 0,2 ppm, 0,4 ppm ve 0,6 ppm doz gruplarında, kontrol grubuna oranla artmıştır. Solungaç dokusunda ise, tiazolidin'in 0,2 ppm, 0,4 ppm ve 0,6 ppm doz gruplarında, kontrol grubuna oranla AChE enzim aktivitesinin azaldığı görülmüştür. Total protein seviyesi karaciğer dokusunda, tiazolidin'in 0,2 ppm, 0,4 ppm ve 0,6 ppm doz gruplarında, kontrol grubuna oranla azalmıştır. Solungaç dokusunda ise, tiazolidin'in 0,2 ppm, 0,4 ppm ve 0,6 ppm doz gruplarında, kontrol grubuna oranla total protein seviyelerinin önemli sayılabilecek oranda arttığı görülmüştür. Sonuç olarak, bu araştırmada tiazolidinin zebra balığı solungaç ve karaciğer dokuları üzerinde az da olsa zararlı etkilere neden olabileceği görülmüştür.

Anahtar kelimeler
- Tiazolidin
- Zebra balığı
- Solungaç
- Karaciğer
- AChE Enzim Aktivitesi

Abstract: The aim of this study was to investigate the effects of thiazolidine (4S)-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl) thiazolidine-4-carboxylic acid) on acetylcholinesterase enzyme (AChE) activity and total protein (TP) levels in zebrafish (*Danio rerio*) gill and liver tissue. Zebrafish were exposed to 0.2 ppm, 0.4 ppm and 0.6 ppm different doses of thiazolidine for 96 hours. AChE enzyme activity increased in liver tissue in 0.2 ppm, 0.4 ppm and 0.6 ppm dose groups of thiazolidine compared to the control group. In the gill tissue, AChE enzyme activity was decreased in 0.2 ppm, 0.4 ppm and 0.6 ppm dose groups of thiazolidine compared to the control group. Total protein level in liver tissue decreased in 0.2 ppm, 0.4 ppm and 0.6 ppm dose groups of thiazolidine compared to the control group. In the gill tissue, total protein levels were significantly increased in the 0.2 ppm, 0.4 ppm and 0.6 ppm dose groups of thiazolidine compared to the control group. In conclusion, it was seen that thiazolidine may cause some harmful effects on zebrafish gill

Keywords
- Thiazolidine
- Zebrafish
- Gill
- Liver
- AChE Enzyme Activity

Bu makale, Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi tarafından Atıf 4.0 Uluslararası (CC BY 4.0) lisansı altında yayınlanmaktadır. http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

and liver tissues in this study.

1. GİRİŞ

Bu çalışmanın amacı, tiazolidin'in (Tiazolidin-4-karboksilik asit (4S)-2- (4-hidroksi-3-metoksifenil) zebra balığı (*Danio rerio*) solungaç ve karaciğer dokusunda asetilkolinesteraz (AChE) enzim aktivitesi ve total protein (TP) düzeyleri üzerindeki etkilerini araştırmaktır. Tiazolidin'ler biyoloji, tıp ve farmakolojide kullanılan beş üyeli heterosiklik organik bileşiklerdir (Saxena vd., 2001). Tiazolidinler, tiyolün aldehid veya keton ile yoğunlaştırılmasıyla sentezlenir. Bu süreç geri dönüşümlü olduğu için tiazolidinler suda tekrar aldehid ve tiole ayrışırlar. Tiazolidin türevleri antimikrobiyal aktivite gibi bazı önemli biyolojik ve farmakolojik özelliğe sahiptir (Shanmugapandiyan vd., 2010). Bhoot ve arkadaşları yaptıkları çalışmada *Bacillus megaterium, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Proteus vulgaris* gibi çeşitli bakteri suşları ile *Aspergillus niger* ve *Candida albicans* mantarlarını kullanarak tiazolidin bileşiklerinin antimikrobiyal ve antifungal aktivitelerini gözlemlemişlerdir (Bhoot vd., 2006). Gram (+) ve gram (-) bakteri türlerine karşı antibakteriyel aktivitesinin gözlendiği başka bir çalışma da mevcuttur (Akbulut vd., 2017).

Tiazolidin türevleri aynı zamanda antibiyotik, antidiyabetik, antienflamatuvar ve antiepileptik aktivitelere de sahiptir. Bu nedenle tiazolidin türevleri çok çeşitli ilaç gruplarının içerisinde bulunur (Altan vd., 2006; Silva vd., 2001; Sohda vd., 1982). Örneğin, bir antidiyabetik ilaç olan pioglitazon bir adet tiazolidin halkası içerir. Tiazolidin halkası içeren başka bir ilaç ise antibiyotik penisilin'dir. Zebra balığı son yıllarda toksikolojik araştırmalarda sıklıkla kullanılan bir omurgalı model organizmadır. Genomu, insan genomu ile %70 oranında homolog olduğu için zebra balığı ile çalışmanın bazı önemli avantajları vardır. Zebra balığı aynı zamanda çeşitli toksikantlara karşı dayanıklı bir tür olarak da bilinmektedir (Zhao vd., 2021). Zebra balığının şeffaf embriyolara sahip olması, bakımının kolay ve ucuz olması ve sık yumurtlayan bir tür olması onları araştırma laboratuvarları için ideal bir model organizma haline getirmiştir (Zhu vd., 2019; Akbulut vd., 2017; Hanumantharao vd., 2005; Kutluyer ve Aksakal 2013).

2. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışmada zebra balıkları tiazolidin'in 0,2 ppm, 0,4 ppm ve 0,6 ppm farklı dozlarına 96 saat süreyle akvaryum koşullarında maruz bırakıldı. Karaciğer metabolik fonksiyonu yüksek bir organdır. Bu nedenle çevresel kirleticilerin etkilerinin biyokimyasal ve histolojik metodlarla izlenmesi mümkün olmaktadır. Solungaçlar ise ortamda bulunan kirleticilerle ilk etkileşen organlardır ve bu nedenle toksikolojik araştırmalarda önemlidir. Zebra balıkları (*Danio rerio*) Cyprinidae familyasına ait bir tatlı su balığıdır. İnsan genomu ile homolog genlere sahip olması nedeniyle çeşitli hastalıklarının araştırılmasında kullanılan bir omurgalı model organizmadır (Chen vd., 2020; Ahkin Chin Tai ve Freeman, 2020; Keng vd., 2021).

2.1. Zebra balıklarının eldesi ve laboratuvara uyumu

Çalışmamızda kullanılan 4-5 cm boylarındaki erkek ve dişi zebra balıkları ticari akvaryumculardan temin edildi. Laboratuvar ortamında zebra balıklarının sirkadiyen ritmini dengede tutmak amacıyla 14:10 aydınlık:karanlık sistem oluşturuldu. Her grup için sürekli havalandırılan, 10 litrelik klorsuz su dolu akvaryumlarda on adet balık bulunduruldu (n=40). Balıklar günde iki kez kuru yemle beslendi. Akvaryumların sıcaklığı ortalama 28±1°C ve suyun pH'ı 6,9-7,2 olarak sabit tutuldu. Balıklara, deney süresince hayvan refahına uygun standart kurallar uygulandı.

2.2. Solungaç ve karaciğer doku homojenatının hazırlanması

Solungaç ve karaciğer örneklerinin homojenizasyonu amacıyla dokular tartıldı. Soğutulmuş homojenat tamponu ile eppendorf tüplerine koyuldu ve cam boncuklar yardımı ile homojenizatörde parçalandı. Çalışmanın her aşamasında örnekler buz içerisinde korundu. Homojenatlar 4°C'de 10000

rpm devirde, 20 dakika süre ile santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatant kısmı alındı ve biyokimyasal analizler uygulandı.

2.3. Biyokimyasal parametrelerin tayini

Deney düzeneğinde zebra balıkları 96 saat süreyle tiazolidinin farklı dozlarına maruz bırakıldı. Deney grupları; 0,2 ppm grubu, 0,4 ppm grubu, 0,6 ppm grubu ve kontrol grubu olarak düzenlendi. Süre sonunda balıklar soğuk şoku ile bayıltılarak solungaç ve karaciğer organları dissekte edildi. Daha sonra biyokimyasal analizler için solungaç ve karaciğer dokularının %10'luk homojenatları hazırlandı. Asetilkolin esteraz enzim aktivitesi (AChE) ve total protein (TP) seviyelerini belirlemek için uygun prosedürler uygulandı. Deneyler üç kez tekrarlandı.

2.4. Asetilkolin esteraz (AChE) enzim aktivitesinin belirlenmesi

AChE, dokularda asetilkolinin inbisyonunda görev yapan bir enzimdir (Firidin vd., 2015; Oruç, 2010). AChE enzim aktivitesi tayini, DNTB ile dokudaki alifatik tiyol bileşiklerinin hafif alkali ortamda reaksiyonu sonucunda tiyol molekülü başına oluşan p-nitrofenol anyon miktarının 412 nm'de spektrofotometrik ölçümü esasına dayanır (Ellman vd., 1961).

2.5. Total Protein (TP) seviyesinin belirlenmesi

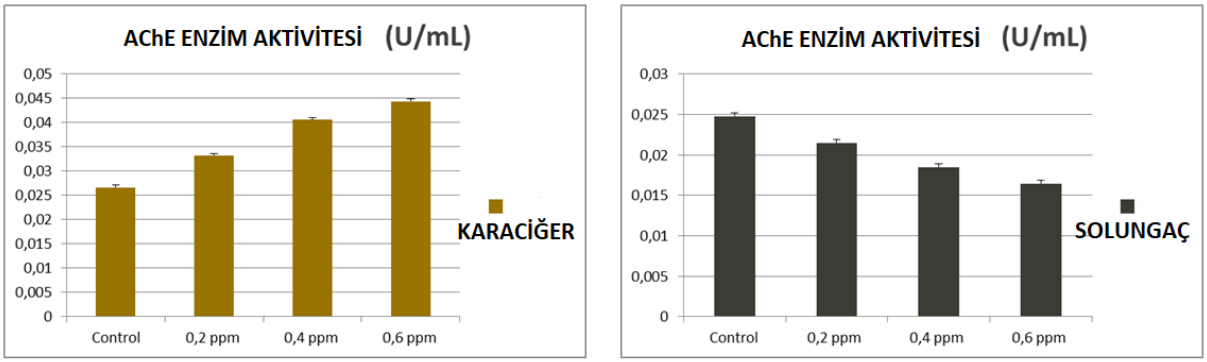
Bradford yöntemi ile protein tayininde Coomassie Brilliant Blue (G-250) boyası kullanıldı. Bu boya proteinlere bağlanarak, proteinlerdeki asidik ve bazik gruplar ile etkileşme neticesinde renkli bir çözelti oluşturdu. Elde edilen renkli sıvı 595 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü (Bradford, 1976).

2.6. İstatistiksel analizler

İstatistiksel analizlerde SPSS 16.0 paket programı kullanıldı. Çalışma verileri aritmetik ortalamalar ve standart sapmalar olarak verildi. Gruplar arasındaki farklılıkların anlamlılığını belirlemek için tek yönlü varyans analizi ve Student's *t*- testi kullanıldı. $p<0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

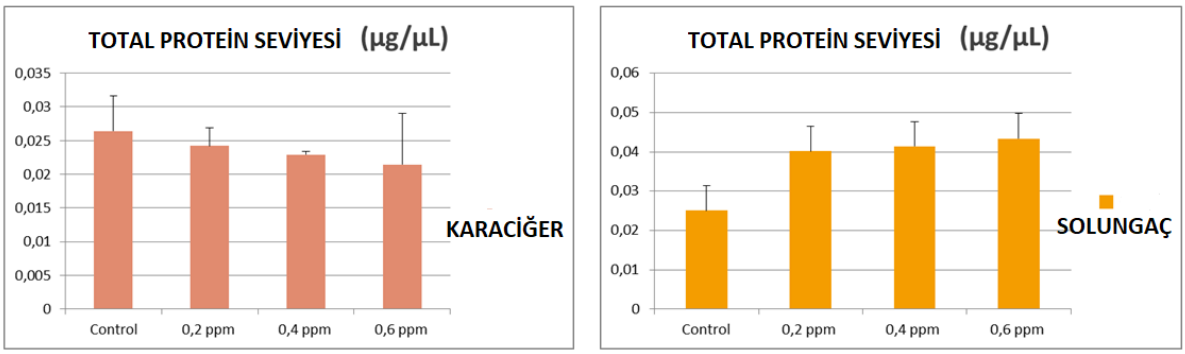
AChE enzim aktivitesi karaciğer dokusunda, tiazolidin'in 0,2 ppm, 0,4 ppm ve 0,6 ppm doz gruplarında, kontrol grubuna oranla arttı. Solungaç dokusunda ise, tiazolidin'in 0,2 ppm, 0,4 ppm ve 0,6 ppm doz gruplarında, kontrol grubuna oranla AChE enzim aktivitesinin azaldığı görüldü (Şekil 1). Zebra balığı karaciğer dokusunda tiazolidin'in 0,2 ppm, 0,4 ppm ve 0,6 ppm dozlarına 96 saatlik maruziyeti sonrası AChE enzim aktivitesindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,01$). Zebra balığı solungaç dokusunda tiazolidin'in 0,2 ppm, 0,4 ppm ve 0,6 ppm dozlarına 96 saatlik maruziyeti sonrası AChE enzim aktivitesindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,01$).



Şekil 1. Tiazolidin'in 0,2 ppm, 0,4 ppm ve 0,6 ppm dozlarına maruz kalan zebra balığı karaciğer ve solungaç dokusundaki asetilkolin esteraz (AChE) enzim aktivitesi seviyeleri.

Total protein seviyesi karaciğer dokusunda, tiazolidin'in 0,2 ppm, 0,4 ppm ve 0,6 ppm doz gruplarında, kontrol grubuna oranla azaldı. Solungaç dokusunda ise, tiazolidin'in 0,2 ppm, 0,4 ppm ve

0,6 ppm doz gruplarında, kontrol grubuna oranla total protein seviyelerinin önemli sayılabilecek oranda arttığı görüldü (Şekil 2). Zebra balığı karaciğer dokusunda tiazolidin'in tüm doz gruplarına 96 saatlik maruziyeti sonrası total protein seviyesindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,01$). Zebra balığı solungaç dokusunda tiazolidin'in 0,2 ppm, 0,4 ppm ve 0,6 ppm dozlarına 96 saatlik maruziyeti sonrası total protein seviyesindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).



Şekil 2. Tiazolidin'in 0,2 ppm, 0,4 ppm ve 0,6 ppm dozlarına maruz kalan zebra balığı karaciğer ve solungaç dokusundaki total protein (TP) seviyeleri.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Enzimler, memelilerde olduğu gibi sucul organizmalarda da metabolik olayları hızlandıran protein yapısındaki biyolojik katalizörlerdir. Asetilkolinesteraz molekülü her biri 80 kDa moleküler ağırlıkta olan ve dört alt birimden oluşan bir proteindir. Asetilkolinesteraz karaciğerde sentezlenir. İlk olarak Elektrikli balık'ın (*Torpedo marmoneta*) elektrik organından izole edilmiştir. Asetilkolinesteraz sinir dokusunda, eritrosit membranlarında ve iskelet kaslarında bulunur (Liu vd., 2020). Asetilkolin, asetilkolinesteraz enzimi tarafından hidroliz edilerek inaktif forma dönüşür ve kolin ve asetik asit olarak isimlendirilen iki inaktif molekül meydana gelmektedir. Dokularda asetilkolinin inhibisyonunda görev alan enzim asetilkolinesterazdır (Halliwell, 1995; Morales vd., 2004; Karabult ve Gülay, 2016; . AChE enziminin inhibisyonunun ölçülmesi, oksidatif stresten etkilenmenin bir biyobelirteci olarak kullanılmaktadır (Meng vd., 2021; Firidin vd., 2015).

Gökkuşağı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) eritrositleri üzerindeki karbosülfan'ın (karbamat grubu insektisit) olası zararlı etkilerini araştıran bir çalışmada 60 günlük kronik karbosülfan maruziyetinin ardından AChE enzim aktivitesinin üç hafta kadar süren inhibisyonu rapor edilmiştir. Bunun yanısıra, balıklarda hareketsizlik, renk koyulaşması, huzursuz davranış ve canlılık kaybı gibi fiziksel parametrelerin gözlendiği rapor edilmiştir. (Çapkın, 2011). Konyalıoğlu ve Perçin (2017), yaptıkları çalışmada kafeslerde yetiştirilen Mavi Yüzgeçli Atlantik Orkinos'u (*Thunnus thynnus*) örneklerinin kan dokusunda doğal ortamda serbest yaşayan bireylere göre stres kaynaklı antioksidan enzim düzeylerinin (katalaz, asetilkolinesteraz gibi) daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir (Konyalıoğlu ve Perçin, 2017). Başka bir araştırmada, çevresel kirleticilere karşı asetilkolin esteraz aktivitesindeki değişimlerin araştırılmasının uygun bir parametre olduğu ve aynı zamanda nörotoksisite izleme çalışmalarında kullanılabileceği rapor edilmiştir (Liu vd., 2020). Bizim çalışmamızda AChE aktivitesi karaciğer dokusunda tüm doz gruplarında kontrol grubuna göre biraz daha yüksek bulundu. Oksidatif stresin yani serbest radikallerin artması ile AChE salınımında bir artış olduğu ve bu yüzden AChE aktivitesinin artmış olabileceğini düşünüyoruz. Ayrıca karaciğerin metabolik bir organ olması nedeniyle stres etkilerini daha fazla göstereceği de olasıdır. Asetilkolin esteraz (AChE) enzimindeki aktivite artışının diğer bir nedeninin tiazolidin'in AChE enziminin yapısını bozarak düzgün çalışmasını engellemesi olduğu düşünülebilir. Solungaç dokusunda AChE enzim aktivitesi bütün doz gruplarında kontrol grubuna oranla azaldı. Bunun sebebi solungaçların

toksikantlarla ilk karşılaşılan organ olması sebebiyle akut bir yanıt vermeye henüz zaman bulamaması olabilir.

Toplam protein (TP) seviyeleri, sucul organizmalarda çevresel kirleticilerin olumsuz etkilerini belirlemek için kullanılan önemli bir biyokimyasal parametredir. Çünkü proteinler, tüm canlı türlerinin hayatta kalması için temel makromoleküllerdir ve organizmalarda doku ve organların büyüme ve gelişmesinin ana bileşenleridir (Fu vd., 2020; Guarda vd., 2003). Ayrıca enzimlerin, hormonların, nörotransmiterlerin ve kofaktörlerin öncüsüdürler (Qiu vd., 2019). Yapılan bir çalışmada, Güney Amerika tatlı su balığı olan *Leporinus obtusidens*, 8 gün boyunca farklı konsantrasyonlarda tarımsal bir herbisit olan klomazon'a maruz bırakıldı. Maruziyetin sonunda balıkların karaciğerindeki protein düzeylerinin arttığı bildirildi (Miron vd., 2008). Benzer şekilde, Moraes ve arkadaşları da pestisitler gibi etkenlerle karşılaşan balıklarda yüksek TP seviyeleri rapor etmişlerdir (Moraes vd., 2011).

Sucul ortama karışan çeşitli ilaç ve kimyasal kalıntılarının oksidatif hasar belirteçleri olarak antioksidan enzim aktivitesi ölçümlerinin doğal ortamlarında yaşayan balıklar üzerinde yapılması da ekotoksikolojik yönden önemlidir (Dai vd., 2014; Karaca vd., 2014; Kayhan vd., 2018). Pek çok kimyasal ve onların metabolitleri sucul organizmalarda oksidatif stres oluşturabilir. Hücresel homeostazinin korunmasında ve sürdürülmesinde rol oynayan antioksidan savunma sistemleri bu nedenle çok önemlidir. (Qiu vd., 2019; Kutluyer ve Aksakal, 2013; Karabulut ve Gülay, 2016; Zirong ve Shijun, 2007; Fırat vd., 2009). Protein içeriğinin azalması hücre yıkımlarının ve protein sentezinin bozulmasının işareti olabilir. Bizim çalışmamızda, solungaç dokusunda, her üç doz grubunda kontrol grubuna kıyasla toplam protein seviyeleri arttı. Karaciğer dokusunda ise tüm doz gruplarında kontrole oranla hafif bir azalma görüldü. Protein miktarındaki değişiklikler enzim sentezinin inhibisyonundan veya kimyasalların neden olduğu stres koşullarında ortaya çıkan yüksek enerji talebinden kaynaklanabilir (Tabassum vd., 2016; Oruç vd., 2006; Morales vd., 2004). Tiazolidin halkası biyolojik olarak aktif bir kimyasal yapıdır ve birçok farmakolojik aktivite ile ilişkilidir. Ancak tiazolidin halkası ile etkileşime girebilecek biyolojik moleküller henüz çok iyi bilinmemektedir. Sonuç olarak, bu çalışmada tiazolidinin zebra balığı solungaç ve karaciğer dokuları üzerinde az da olsa zararlı etkilere neden olabileceği görüldü.

TEŞEKKÜR
Bu çalışma 2014-02-20-002 proje numarası ile Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

FİNANS
Bu çalışma 2014-02-20-002 proje numarası ile Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI
Yazarlar, bu çalışmayı etkileyebilecek finansal çıkarlar veya kişisel ilişkiler olmadığını beyan eder.

YAZAR KATKILARI
Kurgu: FEK, NDYE, MZ, HG; **Metodoloji:** FEK, NDYE, MZ; **Deneyin gerçekleştirilmesi:** HEED, ŞK, GK, CA; **Veri analizi:** GK, HEED, ŞK, CA, FEK, NDYE; **Makale yazımı:** FEK, NDYE, HG; **Denetleme:** FEK, NDYE, HG, MZ. Tüm yazarlar nihai taslağı onaylamıştır.

ETİK ONAY BEYANI
Bu çalışma için etik kurul onayı bildirilmemiştir.

VERİ KULLANILABİLİRLİK BEYANI

Bu çalışmada kullanılan veriler makul talep üzerine ilgili yazardan temin edilebilir.

KAYNAKLAR

Ahkin Chin Tai, J.K., & Freeman, J.L. (2020). Zebrafish as an integrative vertebrate model to identify mRNA mechanisms regulating toxicity. Toxicology Reports, 7, 559-570, 10.1016/j.toxrep.2020.03.010.

Akbulut, C., Öztürk, B., Genc, H., Zengin, M., & Yön, N.D. (2017). Developmental Toxicity of (4S)-2- (4-hydroxy-3-methoxyphenyl) thiazolidine-4-carboxylic acid in Zebrafish (*Danio rerio*). Biological and Applied Sciences. Brazilian Archieves of Biology and Technology, 60, e17160547. http://dx.doi.org/10.1590/1678-4324-2017160547

Altan, N., Dinçel, S. A., & Koca, C. (2006). Diabetes mellitus ve oksidatif stres. Türk Biyokimya Dergisi, 31(2): 51-56.

Bhoot DP, Khunt RC, Sankhavara VK., & Parekh HH. (2006). Synthesis of Some New Heterocyclic Compounds with Potential Biological Activity. Journal of Sciences, 17(4): 323-325. Corpus ID: 86201453.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantitites of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72, 248-250.

Chen, X., Teng, M., Zhang, J., Qian, L., Duan, M., Cheng, Y., Zhao, F., Zheng, J., & Wang, C. (2020). Tralopyril induces developmental toxicity in zebrafish embryo (*Danio rerio*) by disrupting the thyroid system and metabolism. Science of the Total Environment, 746: 141860. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141860

Çapkın, E. (2011). Effects of carbosulfan on erythrocyte acetylcholinesterase (AChE) activities of rainbow trout (*Oncorhyncus mykiss*)). Journal of Fisheries Sciences, 5 (3), 240-249. https://doi.org/10.3153/jfscom.2011028

Dai, YJ., Jia, YF., Chen, N., Bian, WP., Li, QK., Ma, YB., Chen, YL., & Pei, DS. (2014). Zebrafish as a model system to study toxicology. Environmental Toxicology and Chemistry, 33(1): 11-17. doi: https://doi.org/10.1002/etc.2406

Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andes, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochemical Pharmacology, 7, 88-92.

Fırat, Ö., Cogun, H. Y., Aslanyavrusu, S., & Kargın, F. (2009). Antioxidant responses and metal accumulation in tissues of *Oreochromis niloticus* under Zn, Cd and Zn+Cd exposures. Journal of Applied Toxicology, 29, 295-301. https://doi.org/10.1002/jat.1406

Firidin, G., Kargin, F., Fırat, Ö., Cogun, H.Y., Fırat, Ö., Firidin, B., & Yüzereroğlu, T.A. (2015). Antioxidant defence systems, lipid peroxidation and acetylcholinesterase activity of *Oreochromis niloticus* exposed to mercury and mercury+selenium. Fresenius Environmental Bulletin, 24(5), 1958-1965.

Fu, J., Tan, Y.X.R., Gong, Z., & Bae, S. (2020). The toxic effect of triclosan and methyl-triclosan on biological pathways revealed by metabolomics and gene expression in zebrafish embryos. Ecotoxicology and Environmental Safety, 189. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.110039

Guarda VLM, Pereira MA, De Simone CA, Albuquerque JFC, Galdino SL., & Chantegrel J. (2003). Synthesis and structural study of arylidene thiazolidine and benzothiazine compounds. Sulfur Letters, 26:17–27. https://doi.org/10.1080/0278611021000048712

Halliwell B. (1995). Antioxidant characterization, Methodology and mechanism. Biochemical Pharmacology, 49 (10), 1341-1348.

Hanumantharao P, Sambasivarao SV, Soni LK, Gupta AK., & Kaskhedikar SG. (2005). QSAR analysis of thiazole benzenesulfonamide substituted 3-pyridylethanolamines as beta3-adrenergic

receptor agonist. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2005; 15: 3167- 3173. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2005.03.119

Karabulut, H., & Gülay, M.Ş., (2016). Antioksidanlar. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 1 (1), 65-76. https://doi.org/10.24880/maeuvfd.260790

Karaca, M., Varışlı, L., Korkmaz, K., Özaydın, O., Perçin, F., & Orhan, H. (2014). Organochlorine pesticides and antioxidant enzymes are inversely correlated with liver enzyme gene expression in Cyprinus carpio. Toxicology Letters, 230, 198-207. doi:10.1016/j.toxlet.2014.02.013.

Kayhan, F.E., Kaymak, G., Esmer Duruel, H.E., & Tartar Kızılkaya, Ş. (2018). Biyolojik araştırmalarda zebra balığının (*Danio rerio* Hamilton, 1822) kullanılması ve önemi. Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi, 7:2, 38-45. https://dergipark.org.tr/tr/pub/gbad/issue/35699/358614

Keng P.L., Gong, Z.H., & Tse, W.K.F. (2021). Zebrafish as the toxicant screening model: Transgenic and omics approaches. Aquatic Toxicology, 234, 105813. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.105813

Konyalıoğlu, S., & Perçin, F. (2017). The comparison of lipid peroxidation, glutathione land antioxidant enzyme activities in blood obtained from captive and wild Northern Bluefin Tuna (*Thunnus thynnus* L., 1758). Free Radical Biology and Medicine, 10:8, S18-S107.

Kutluyer, F., & Aksakal, E. (2013). Sucul model organizmalar ve biyoteknolojide kullanımı. Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi, 28(2), 101-107. ttps://dergipark.org.tr/tr/pub/omuanajas/issue/20217/214191

Liu, S., Deng, X., & Bai, L. (2020). Developmental toxicity and transcriptome analysis of zebrafish (*Danio rerio*) embryos following exposure to chiral herbicide safener benoxacor. Science of the Total Environment, 143273. 10.1016/j.scitotenv.2020.143273

Meng, Q., Yeung, K., & Chan, K.M. (2021). Toxic effects of octocrylene on zebrafish larvae and liver cell line (ZFL). Aquatic Toxicology, 236, 100-115. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.105843

Miron, D.S., Prettob, A., Crestani, M., Glusczak, L., Schetinger, M.R., Loro, V.L., & Morsch, V.M. (2008). Biochemical effects of clomazone herbicide on piava (*L. obtusidens*). Chemosphere, 74, 1–5. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.09.070

Moraes, B.S., Clasen, B., Loro, V.L., Pretto, A., Toni, C., De Avila, L.A., Marchesan, E., De Oliveira Machado, S.L., Zanella, R., & Reimche, G.B. (2011). Toxicological responses of *Cyprinus carpio* after exposure to a commercial herbicide containing imazethapyr and imazapic. Ecotoxicology and Environmental Safety. 74, 328-335. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.05.013

Morales, A.E., Perez-Jimenez, A., Hidalgo, M.C., Abellan, E., & Gabriel C.G. (2004). Oxidative stress and antioxidant defenses after prolonged starvation in *Dentex dentex* liver. Comporative Biochemistry and Physiology, 139(1-3), 153-161. https://doi.org/10.1016/j.cca.2004.10.008

Oruc, E. (2010). Oxidative Stress, Steroid Hormone Concentrations And Acetylcholinesterase Activity in *Oreochromis niloticus* Exposed to Chlorpyrifos. Pesticide Biochemistry And Physiology, 96,160–166. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2009.11.005

Qiu, L., Jia, K., Huang, L., Liano, X., Guo, X., & Lu, H. (2019). Hepatotoxicity of tricylazole in zebrafish (*Danio rerio*). Chemosphere, 232, 171-179. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.159

Saxena AK, Pandey SK, Seth P, Singh MP, Dikshit M., & Carpy A. (2001). Synthesis and QSAR Studies in 2-(N-aryl-N-aroyl)amino-4,5-dihydrothiazole Derivatives as Potential Antithrombotic Agents. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 9: 2025-2034. https://doi.org/10.1016/s0968-0896(01)00082-7

Shanmugapandiyan P, Denshing KS, Ilavarasan R, Anbalagan N., & Nirmala R. (2010). Synthesis and Biological Activity of 2-(Thiazolidin- 4-One) Phenyl]-1h-Phenylbenzimidazoles and 2-[4-(Azetidin-2-One)- 3-Chloro-4-Phenyl]-1h-Phenyl benzimidazoles. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research, 2(2): 115-119. http://ijpsdr.com/index.php/ijpsdr/article/view/94

Silva TG, Barbosa FSV, Brandao SSF, Lima MCA, Galdino SL, & Pitta IR. (2001). Synthesis and structural elucidation of new benzylidene imidazolidines and acridinylidene thiazolidines. Heterocyclic Communications, 7: 523–8.

Sohda T, Mizuno K, Tawada H, Sugiyama Y, Fujita T, & Kawamastu Y. (1982). Studies on antidiabetic agents. I. Synthesis of 5-[4-(2-methyl-2-phenylpropoxy)-benzyl]thiazolidine-2,4-dione (AL-321) and related compounds. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 30: 3563-3573.

Zhao, F., Zhang, M., Guo, M., Duan, M., Zheng, J., Chen, X., Liu, Y., & Qiu, L. (2021). Effects of sublethal concentration of metamifop on hepatic lipid metabolism in adult zebrafish (*Danio rerio*). Aquatic Toxicology, 238, 105938. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.105938

Zhu, X.Y., Xia, B., Wu, Y.Y., Yang, H., Li, C.Q., & Li, P. (2019). Fenobucarb induces heart failure and cerebral hemorrhage in zebrafish. Aquatic Toxicology, 209, 34-41. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.12.020

Zirong X., & Shijun B. (2007). Effects of waterborne Cd exposure on glutathione metabolism in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) liver. Ecotoxicology and Environmental Safety, 67, 89–94. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2006.04.006