"مقاله پژوهشی"

# اثر آلپرازولام بر تخمدان ماهی گورامی سه‌خال ( *Trichogaster trichopterus*) پس از تزریق بروموکریپتین

**یاسمن شیبانی[۱]، طاهره ناجی[۱*]، همایون حسین‌زاده صحافی[۲]**

۱-گروه علوم پایه، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۹/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۱۱

**چکیده**

این پژوهش، با هدف بررسی تاثیر آلپرازولام بر استروئیدهای جنسی، تکوین بافت تخمدان و فراساختار اووسیت ماهی گورامی سه‌خال (*Trichogaster trichopterus*)، پس از القای بروموکریپتین، انجام شد. تعداد ۹۰ قطعه ماهی گورامی سه‌خال ماده بالغ تهیه و به شش گروه ۱۵ تایی شامل گروه شاهد دست نخورده، شاهد حلال، شاهد بروموکریپتین و سه گروه تیماری دریافت کننده بروموکریپتین با دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم و آلپرازولام با سه دوز ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم، تقسیم شد. داروها بصورت عضلانی تزریق شد به این ترتیب که گروه‌های شاهد و تیماری در یک روز بروموکریپتین دریافت کردند و در روز بعد، گروه‌های تیماری، دوزهای مختلف آلپرازولام را گرفتند. پس از اتمام تزریقات، ماهی‌ها بدون درد و رنج، کشته و تشریح شدند. تخمدان ماهیان به منظور بررسی با میکروسکوپ نوری و الکترونی جدا شد. از مایع بافتی جهت اندازه‌گیری هورمون‌های استروئیدی به وسیله کیت الایزا، استفاده شد. در گروه شاهد بروموکریپتین، هورمون‌های استروئیدی، افت شدیدی داشتند و اووسیت‌ها در مرحله پیش‌هستکی بودند. در گروه تیماری با بروموکریپتین و آلپرازولام با دوز ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم، سطح ۱۷بتا-استرادیول و تستوسترون، بالاتر از تمامی گروه‌های کنترل و تیماری بود ($p<۰/۰۱$) و اووسیت‌ها در فاز ویتلوژنی قرار داشتند. می‌توان نتیجه گرفت که بروموکریپتین سبب انسداد محور HPG و آلپرازولام موجب تحریک مجدد این محور، رسیدگی اووسیت و ترشح استروئیدهای جنسی تخمدان شد.

**کلمات کلیدی:** آلپرازولام، ماهی گورامی سه‌خال، تخمدان، بروموکریپتین

* عهده‌دار مکاتبات: tnaji2002@gmail.com

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03 ]

[ DOI: 10.71901/jad-2024-1-803 ]

## مقدمه

گورامی سه‌خال (*Trichogaster trichopterus*) یک ماهی استخوانی، از خانواده اسفرونمیده و بومی شرق آسیا است (Degani, 2020). در ماهیان همانند سایر مهره‌داران، فعالیت تولید مثلی، تحت کنترل محور هیپوتالاموس_هیپوفیز_گناد (HPG) است (Fontaine *et al*., 2013). در پاسخ به ترشح GnRH از هیپوتالاموس، گنادوتروپین‌ها از هیپوفیز ترشح می‌شود. گنادوتروپین‌ها هم با اثر بر تخمدان، باعث آزادسازی هورمونهای استروئیدی جنسی می‌شوند (Bordini and Rosenfield, 2011). اووسیت در ماهی‌ها پیش از رسیدن به بلوغ مراحلی را طی می‌کند. در مرحله هسته کروماتینی، هسته‌ای بزرگ در مرکز سلول دیده می‌شود که حاوی دو تا سه هستک کوچک است و سیتوپلاسم با تک‌لایه سلول احاطه می‌شود. در مرحله پیش‌هستکی، پروتوپلاسم سلول و تعداد هستک‌ها افزایش می‌یابد، غشای هسته، حاشیه‌های نامنظم دارد و واکوئل‌ها به دور هسته ظاهر می‌شوند. در مرحله کورتیکال آلوئولار، تخمک با دو لایه تکا و گرانولوزا پوشیده شده است، سیستم حفرات کورتیکال تشکیل می‌شود و زونارادیاتا پدیدار می‌گردد. در مرحله ویتلوژنی، زرده (ویتلوژنین) که یک گلیکولیپوفسفوپروتئین حاوی کلسیم است در کبد و در پاسخ به افزایش ترشح هورمون ۱۷بتا-استرادیول سنتز می‌شود و از طریق جریان خون به تخمدان ماهی منتقل شده با اووسیت ترکیب می‌شود (Jackson west, 1990; *et al*., 1994). نهایتا در مرحله بلوغ نهایی و تخم‌ریزی، اووسیت در محیط آب رها می‌شود (Tyler and Sumpter, 1996).

دوپامین یک نوروترنسمیتر کاتکول‌آمینی در مغز است (Vallone *et al*., 2000) و با اثر بر سطوح بالایی (هیپوتالاموس و هیپوفیز) محور HPG، تولید مثل را مهار می‌کند (حسینی جبلی، ۱۴۰۰). بروموکریپتین، آلکالوئید نیمه‌صناعی ارگوت و آگونیست انتخابی رسپتور دوپامینی $D_2$ است که در این پژوهش با هدف انسداد محور HPG به ماهیان تزریق شد (Moustafa *et al*., 1999).

گاما آمینوبوتیریک اسید با نام اختصاری گابا، عمده‌ترین نوروترنسمیتر مهاری در سیستم عصبی مهره‌داران است $GABA_A$ ، نام گیرنده گابا است و چند جایگاه آلوستریکی بر روی آن وجود دارد که یکی از آنها، محل اتصال بنزودیازپین‌ها می‌باشد (Gavish *et al*., 1999; Roy-Byrne, 2005). بنزودیازپین‌ها پس از اتصال به جایگاه مخصوص خود بر روی گیرنده $GABA_A$، به صورت آگونیست گابا عمل کرده، اثر مهاری گابا را تقویت می‌کنند و سبب هایپرپلاریزاسیون غشای نورون می‌شوند (Verster and Volkerts, 2004). بنزودیازپین‌ها در بالین، به منظور خواب‌آوری، آرامبخشی و کنترل تشنج مورد تجویز قرار می‌گیرد (Madhusoodanan and Bogunovic, 2004). آلپرازولام نیز یک بنزودیازپین است. امروزه به دلیل مصرف شایع، گسترده و روزافزون داروهای اعصاب و روان از جمله بنزودیازپین‌ها در سطح ایران و جهان، بروز عوارض جانبی در مصرف‌کنندگان، امری اجتناب ناپذیر است (انصاری، ۱۳۸۶). عوارض جانبی،

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03 ]

[ DOI: 10.71901/jad-2024-1-803 ]

پاسخ‌های ثانویه بیولوژیک هستند که با مصرف دارو، در بدن ایجاد می‌شوند. این عوارض معمولا مضر و گاهی هم مفید واقع می‌شوند (Rieder, 1994). این پژوهش، با محوریت بررسی تغییر سطوح هورمون‌های استروئیدی مترشحه از تخمدان، تکامل اووسیت و فراساختار آن، طی تزریق بروموکریپتین و آلپرازولام صورت پذیرفت. علت استفاده از گورامی سه‌خال به عنوان مدل در مطالعات اندوکراینی، شباهت زیاد محور HPG آن با انسان، کوتاه‌تر بودن دوره رسیدن به مراحل انتهایی بلوغ نسبت به سایر حیوانات مدل مرسوم، نظیر موش و همچنین مقرون به صرفه بودن آن است (باقری زیاری، ۱۳۹۴).

## مواد و روش‌ها

این پژوهش پس از دریافت کد اخلاق IR.IAU.PS.REC.1400.271، از کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی تهران، در ماه‌های دی و بهمن ۱۴۰۰، در آزمایشگاه آبزیان دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم دارویی، انجام شد. ۴۸ ساعت قبل از ورود ماهی‌ها، فضای آزمایشگاه با آبگیری آکواریوم‌ها، اتصال پمپ‌های هوا و کلرزدایی آب، آماده شد. تعداد ۱۳۰ ماهی گورامی سه‌خال بالغ ماده، از یک کارگاه پرورش ماهی در همدان، تهیه شد و ۴۸ ساعت با محیط آزمایشگاه سازگار شدند. سپس، طول کل بدن و وزن ماهی‌ها اندازه‌گیری شد و به طور تصادفی ۹۰ ماهی با میانگین وزنی کلی ۰/۰۳±۴/۴۳ گرم در گروه‌های ۱۵ عددی به آکواریوم‌ها وارد شد. ماهیان در هر گروه به لحاظ میانگین طول و وزن، یکسان توزیع شد. پس از انتخاب دوزهای تزریقی بر حسب میلی‌گرم برکیلوگرم، محاسبات براساس میانگین وزنی ماهی‌ها در هر گروه انجام شد و وزن مورد نیاز از پودر مواد موثره دارویی بدست آمد. مقدار محاسبه شده توزین و در اتانول ۷۰ درجه حل شد. یک گرم پودر میخک در یک لیتر آب مقطر پراکنده شد و عصاره میخک بدست آمد. جهت تزریق دارو با کمترین درد و زجر، هر ماهی بطور متوسط به مدت ۵۰ ثانیه در عصاره میخک قرار گرفت تا بطور نسبی تعادل و هوشیاری خود را از دست داد (Ribas *et al.*, 2007). تزریق به ماهی‌ها بصورت عضلانی با سرنگ انسولین BD و در هر نوبت به اندازه دو خط کوچک سرنگ، معادل ۰/۰۲ میلی‌لیتر، انجام شد. گروه کنترل دست نخورده(شاهد) هیچ تزریقی نگرفت. گروه کنترل حلال در هر نوبت تزریق، اتانول ۷۰ درجه دریافت کرد. گروه کنترل بروموکریپتین، در یک روز، بروموکریپتین با دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم و در روز بعد اتانول ۷۰ درجه دریافت کرد. سه گروه تیماری، در یک روز، بروموکریپتین با دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم و در روز بعد، آلپرازولام با دوزهای ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم، دریافت کردند (Pieróg *et al.*, 2018؛ رشیدپور، ۱۳۹۹ ؛ تک‌زارع، ۱۳۸۹) کلیه تزریق‌ها دو روز در میان صورت گرفت، به این ترتیب که ماهی‌ها دو روز پشت سر هم دارو گرفتند و یک روز به آنها استراحت داده شد. پس از اتمام تزریق‌ها در نوبت بیستم، تا ۲۴ ساعت بعد، ماهی‌ها بدون هیچ تزریق یا مداخله‌ای، زنده نگهداشته شدند و پس از آن، تشریح ماهی‌ها آغاز شد. تخمدان ماهیان پس از تشریح، در فرمالین۱۰٪ فیکس گردید. سپس از هر گروه، طی مراحل پاساژ، قالب‌گیری، برش‌گیری و رنگ‌آمیزی بافتی، لام تهیه شد و با میکروسکوپ نوری مورد مطالعه

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03 ]
[ DOI: 10.71901/jad-2024-1-803 ]

قرارگرفت (Tyler and Sumpter, 1996). به دلیل کوچک بودن اندازه ماهیان، امکان خونگیری فراهم نبود. پس از تخلیه امعا و احشای ماهی‌ها در مرحله تشریح، بدن آنها داخل دستگاه آسیاب برقی هموژن شد و به لوله‌های آزمایش منتقل شد. لوله‌ها سانتریفیوژ شد و مایع بافتی جدا گشت و مقادیر هورمون‌های استروئیدی به وسیله کیت‌های الایزای شرکت *مونوبایند*، سنجش شد. جهت مطالعه با میکروسکوپ الکترونی، بافت تخمدان در گلوتارآلدئید ۲/۵٪ و تترااکسید اسمیم ۱/۵٪ و بافر فسفات، فیکس شد. سپس نمونه ها در سری الکل صعودی (۵۰، ۷۰ و ۹۵٪)، استون و مخلوط استون-رزین (۵۰/۵۰٪) آبگیری شد، در رزین پلیمریزه شد و بعد برش‌گیری انجام شد. برش‌ها روی شبکه مسی (گرید) مش ۳۰۰ قرار گرفت و رنگ آمیزی شد. در آخر، گریدها با میکروسکوپ الکترونی عبوری (EM208، Philips، Nederland) در ولتاژ شتاب دهنده ۱۰۰ کیلو ولت مورد بررسی قرارگرفت (Reynolds, 1963).

جهت تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از سه بار تکرار در گروههای شاهد و تحت تیمار و بررسی میزان معنی‌دار بودن اختلافات مشاهده شده، از ورژن ۲۶ نرم‌افزار SPSS و روش آماری آنالیز واریانس یکطرفه (one way Anova) استفاده شد. به منظور مقایسه میانگین‌ها، از آزمون دانکن و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel ورژن ۲۰۱۹ استفاده شد.

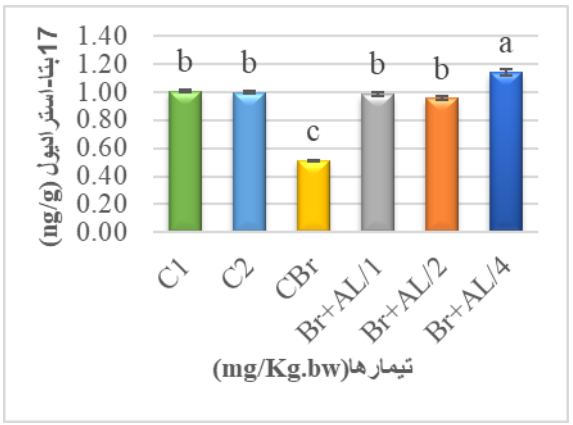
## نتایج

### هورمون‌های استروئیدی

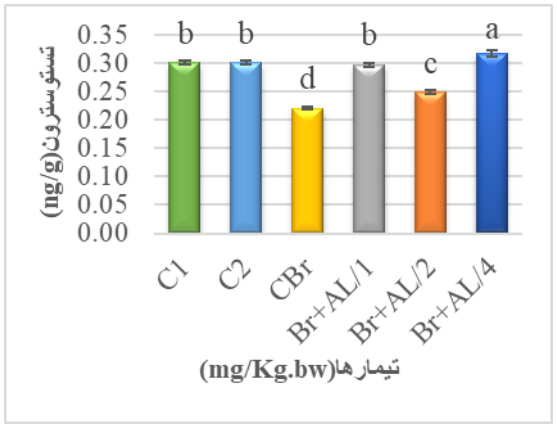
نتایج نشان داد که میان گروه شاهد دست‌نخورده و شاهد حلال، از نظر میزان ۱۷بتا-استرادیول ($E_2$) و تستوسترون، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p>0/05$). در گروه شاهد بروموکریپتین، میزان $E_2$ و تستوسترون، با اختلافی معنی‌دار ($p<0/01$)، کمتر از گروه‌های شاهد دست‌نخورده، حلال و سه گروه تیمار شده با بروموکریپتین و دوزهای مختلف آلپرازولام بود. $E_2$ و تستوسترون در گروه‌های تیمارشده با بروموکریپتین و دوزهای مختلف آلپرازولام، به‌طور معنی‌دار ($p<0/01$)، نسبت به گروه شاهد بروموکریپتین، افزایش یافت و میزان این دو هورمون، در گروه تیمار شده با بروموکریپتین و آلپرازولام با دوز ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم، به حداکثر مقدار خود رسید و از گروه شاهد نیز، به صورت معنی‌دار($p<0/01$)، بیشتر شد (شکل۱، الف و ب). میان گروه شاهد دست نخورده و شاهد حلال، از نظر میزان هورمون ۱۷آلفا-هیدروکسی‌پروژسترون (۱۷P) اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p>0/05$). ۱۷P در گروه شاهد بروموکریپتین، با اختلافی معنی‌دار ($p<0/01$)، کمتر از گروه‌های کنترل دست‌نخورده، حلال و گروه‌های تیمار شده با بروموکریپتین و آلپرازولام با دوزهای ۱ و ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم، بود. ۱۷Pدر گروه‌های تیمارشده با بروموکریپتین و دوزهای ۱ و ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم از آلپرازولام، به‌طور معنی‌دار ($p<0/01$)، نسبت به گروه شاهد بروموکریپتین، افزایش یافت. در گروه تیماری بروموکریپتین و آلپرازولام با دوز ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم، میزان ۱۷P نسبت به گروه شاهد بروموکریپتین تغییر معنی‌داری نداشت ($p>0/05$) (شکل ۱، ج).

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03 ]

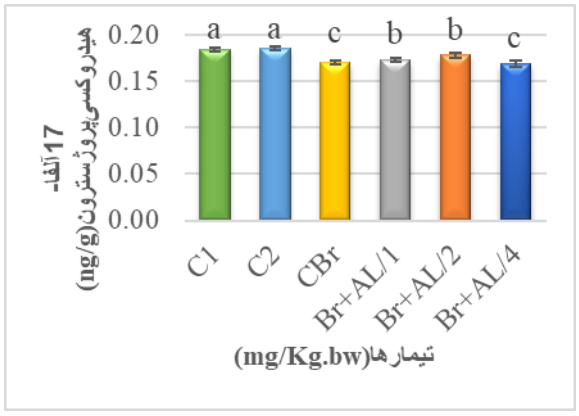
[ DOI: 10.71901/jad-2024-1-803 ]




الف




ب




ج

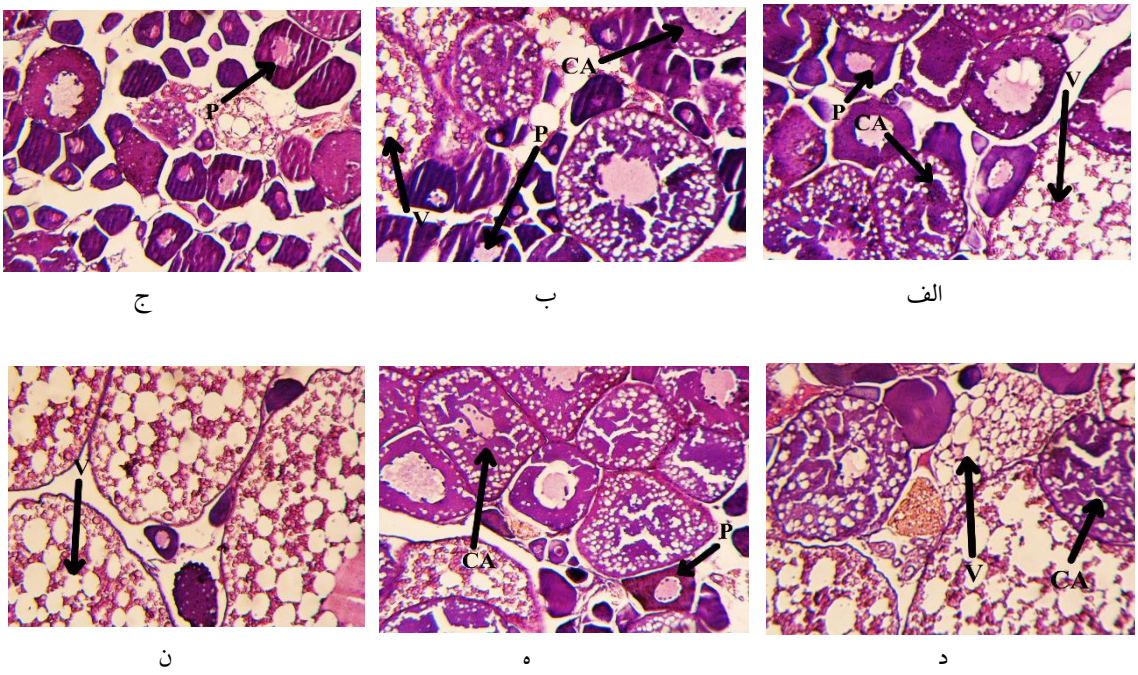
شکل ۱: تغییرات سطوح هورمون‌های استروئیدی، الف) ۱۷بتا-استرادیول ($E_2$) ب) تستوسترون ج) ۱۷آلفا_هیدروکسی‌پروژسترون (۱۷P)، C1 نشان دهنده گروه کنترل دست‌نخورده (شاهد)، C2 نشان دهنده گروه کنترل حلال (اتانول ۷۰ درجه)، CBr نشان دهنده گروه کنترل بروموکریپتین و AL نشان دهنده داروی آلپرازولام است که با سه دوز ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم، تزریق شده است. حروف مشابه در نمودارها به معنی عدم وجود اختلاف در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ است.

## مشاهده بافت تخمدان با میکروسکوپ نوری

در مقاطع تخمدانی حاصل از گروه‌های کنترل دست‌نخورده و کنترل حلال (شکل ۲، الف و ب)، اغلب اووسیتها در مرحله کورتیکال آلوئولار و پیش‌هستکی و عده‌ای در فاز ویتلوژنی قرار داشتند. در گروه کنترل بروموکریپتین (شکل ۲، ج)، بیشتر اووسیت‌ها در مرحله پیش‌هستکی مانده بودند. در گروه تیماری بروموکریپتین و آلپرازولام با دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی (شکل ۲، ه)، اغلب اووسیت‌ها در مرحله پیش‌هستکی و کورتیکال‌آلوئولار قرار داشتند. تظاهرات بافتی در گروه تیماری بروموکریپتین و آلپرازولام با دوز ۱ و ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی (شکل ۲، د و ن)، حاکی از پیشرفت اکثر اووسیت‌ها به مرحله ویتلوژنی بود.

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03 ]

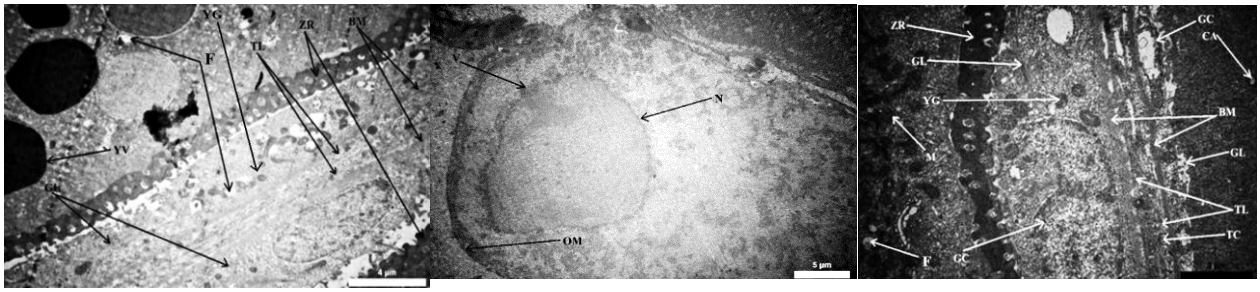
[ DOI: 10.71901/jad-2024-1-803 ]




شکل۲: مقاطع بافت تخمدان، الف) گروه کنترل دست‌نخورده (شاهد)، ب)کنترل حلال، ج) کنترل بروموکریپتین، د) بروموکریپتین و آلپرازولام با دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی، ه) بروموکریپتین و آلپرازولام با دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی، ن) بروموکریپتین و آلپرازولام با دوز ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی، P: پیش‌هستکی، C: کورتیکال‌آلوئولار، V: ویتلوژنی، F: ذرات چربی، رنگ‌آمیزی H&E، بزرگنمایی ×۱۰۰

تصویر میکروسکوپ الکترونی بدست آمده از گروه شاهد دست‌نخورده (شکل ۳، الف)، سطح مقطع دو اووسیت را در مجاورت هم نشان داد. در یکی از آن‌ها، فولیکول، به شکل دو لایه با ضخامت کم قرار گرفته بود و درون سیتوپلاسم، منطقه‌ای همگن دیده شد که حاوی تعداد اندکی حفرات کورتیکال بود. همچنین، قسمتی از یک اووسیت دیگر مشاهده شد که در آن، زونا رادیاتا تشکیل شده بود و گرانول‌های زرده در حال نفوذ به اووسیت بودند بعلاوه، تعداد زیادی میتوکندری به چشم خورد. در گروه شاهد بروموکریپتین (شکل ۳، ب)، هسته بزرگ، تقریبا کروی و واضح بود، غشای آن، حاشیه‌های نامنظمی داشت و حدود یک سوم حجم سیتوپلاسم را اشغال کرد. درون هسته منطقه‌ای دانه‌دار و همگن وجود داشت و واکوئل‌هایی دور هسته مشاهده شد. در گروه تیماری بروموکریپتین و دوز بالای آلپرازولام (شکل ۳، ج)، تعداد زیادی وزیکول زرده در اووپلاسم تشکیل شده بود. قسمت کوچکی از فولیکول اووسیت مجاور نیز دیده شد که ضخامت زیادی داشت و نفوذ زرده به داخل آن، دیده شد.

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03 ]
[ DOI: 10.71901/jad-2024-1-803 ]




الف ب ج

شکل ۳: تصاویر میکروسکوپ الکترونی از مقطع بافت تخمدان الف)گروه شاهد دست‌نخورده (شاهد) (SCALE BAR: 2µm) ب) گروه شاهد بروموکریپتین (SCALE BAR: 5µm) ج) تیمار بروموکریپتین و آلپرازولام با دوز ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی ( SCALE BAR: 4µm) ، در این تصاویر، لایه تکا (TL) و سلول‌های تشکیل دهنده آن (TC)، لایه گرانولوزا (GL) و سلول‌های تشکیل دهنده آن (GC)، غشای پایه (BM)، زونارادیاتا (ZR)، میتوکندری(M)، گرانول زرده (YG)، حفره کورتیکال (CA) و وزیکول زرده (YV)، غشای اووسیت (OM)، هسته (N)، واکوئل‌های اطراف هسته (V) و ذرات چربی (F) مشخص شده‌اند.

## بحث

هورمون‌های استروئیدی به‌طور اساسی در فیزیولوژی تولید مثل ماهی‌ها نقش دارند ( Tokarz *et al.*, 2015). ۱۷بتا_استرادیول ($E_2$) در ویتلوژنز و اووژنز، نقش تعیین‌کننده دارد. تستوسترون در جنس ماده، در سلول‌های تکا بیوسنتز می‌شود و طی پدیده انتشار به سلول‌های گرانولوزا می‌رسد و به $E_2$ تبدیل می‌شود (Yaron and Levavi-Sivan, 2011). در ماهی‌ها، پروژسترون، به خودی خود، فعالیت بیولوژیکی ندارد اما یک واسطه کلیدی در بیوسنتز تستوسترون، ۱۷بتا-استرادیول و سایر استروئیدهای جنسی است. پروژسترون توسط آنزیم $P\text{-}450_{17\alpha}$ تبدیل به ۱۷آلفا-هیدروکسی‌پروژسترون (۱۷P) می‌شود. تزریق حلال داروها (اتانول ۷۰٪) به ماهیان، سطح استروئیدهای تخمدانی را تغییر نداد که احتمالا به معنای عدم تاثیر اتانول بر سطح این هورمون‌ها است. در تایید این مطلب، تزریق اتانول ۹۶٪، تغییر معنی‌داری بر سطوح هورمون‌های استروئیدی $E_2$ ، تستوسترون و ۱۷Pدر ماهی گورامی سه‌خال ایجاد نکرد (بطحایی، ۱۳۹۸). تزریق تک دوز بروموکریپتین، سبب افت شدید میزان هورمون‌های استروئیدی شد. در ماهی‌های استخوانی، نورون‌های دوپامینرژیک، اثر مهاری بر محور HPG دارند و مستقیما هیپوفیز و سلول‌های گنادوتروف را تحت تاثیر قرار می‌دهند ( Trudeau *et al.*, 2000). دوپامین، با فعالسازی رسپتورهای $D_2$ در نورون‌های دوپامینرژیک هیپوتالاموس، سبب کاهش ترشح GnRH می‌شود (Bryant *et al.*, 2016). در مطالعه‌ای مشابه، تزریق بروموکریپتین، سبب کاهش چشمگیر هورمون‌های ۱۷بتا-استرادیول، تستوسترون و پروژسترون در ماهی گورامی سه‌خال شد (رشیدپور،۱۳۹۹). با القای برون‌تن دوپامین به مغز ماهی سیکلید و تحریک رسپتور $D_2$، سلول‌های ترشح کننده GnRH، در هیپوتالاموس مهار شد ( Bryant *et al.*, 2016). با القای آگونیست‌های دوپامینی $D_2$ بر هیپوفیز ماهی قزل‌آلا، بروموکریپتین سبب کاهش GnRH شد (Vacher *et al.*, 2000). تزریق دوپامین و آپومورفین، سبب کاهش قابل توجه گنادوترپین در سرم گلدفیش شد (Chang *et al.*, 1984). با استناد به این پیشینه تحقیقاتی، پس از تزریق بروموکریپتین با دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم، احتمالا سطح GnRH و سنتز

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03 ]
[ DOI: 10.71901/jad-2024-1-803 ]

گنادوتروپین‌ها در مغز ماهی گورامی سه‌خال کاهش یافت و به تبع آن، بیوسنتز هورمون‌های استروئیدی، افت چشمگیری پیدا کرد. بنابراین می‌توان گفت که تک دوز بروموکریپتین، سطوح بالایی محور HPG را در ماهی گورامی سه‌خال، بلاک کرد. در گروه‌های تیماری، هورمون‌های $E_2$ و تستوسترون نسبت به گروه کنترل بروموکریپتین، افزایش یافت و هر دوی این هورمون‌ها، در گروه تیمار شده با بروموکریپتین و دوز بالای آلپرازولام، به حداکثر مقدار خود رسید و از گروه شاهد نیز بیشتر شد. طی دوره زرده‌سازی و تکامل گنادی، همزمان با افزایش میزان استرادیول در طول مرحله ویتلوژنز، مقدار تستوسترون نیز افزایش یافته و به حداکثر میزان خود می‌رسد (سلطانزاده، ۱۳۹۲). از آنجا که مقاطع تخمدان در گروه‌های تیماری، پیشرفت اووسیت‌ها به فاز ویتلوژنی را نشان می‌دهد، بنابراین افزایش همزمان $E_2$ و تستوسترون، قابل انتظار بود. در گروه‌های تیمارشده با بروموکریپتین و دوز کم و متوسط آلپرازولام، هورمون ۱۷P تنها نسبت به گروه کنترل بروموکریپتین، افزایش یافت اما مقدار آن، همچنان کمتر از گروه شاهد و حلال بود. ۱۷P، در فاز رسیدگی اووسیت و تخمک‌گذاری که تنها در حضور ماهی نر، رخ می‌دهد، افزایش می‌یابد اما در فاز ویتلوژنی و قبل از آن، افزایش چشمگیری ندارد (Dequattro *et al*., 2012; Degani, 2020). لذا افزایش اندک هورمون ۱۷P و سپس عدم تغییر آن، روندی طبیعی است. بنظر می‌رسد پس از مهار سطوح مغزی محور HPG توسط بروموکریپتین، آلپرازولام بصورت غیر وابسته به دوز، طی مکانیسمی تحریکی، ساخته شدن هورمون‌های استروئیدی در تخمدان را مجددا راه‌اندازی کرده است. این شواهد، احتمال حضور گیرنده‌ای را برای آلپرازولام با اثر تحریک استروئیدوژنز، در تخمدان ماهی گورامی سه‌خال، تقویت می‌کند. در تایید این فرضیه، برخی پژوهش‌ها، از حضور گیرنده‌ای برای بنزودیازپین‌ها موسوم به گیرنده محیطی بنزودیازپین (PBR) در بافت‌های غیر عصبی شامل بیضه و تخمدان، گزارش داده‌اند. مطالعات درون‌سلولی نشان داده‌اند که رسپتورهای محیطی بنزودیازپین، در غشای خارجی میتوکندری‌های موجود در سلول‌های استروئیدساز، حضور دارند. نقش این رسپتور در گنادها، دخالت در بیوسنتز هورمون‌های استروئیدی است (Gladkevich *et al*., 2006; Gavish, 1995). از سویی دیگر، روش RT-PCR، نشان داده است که ژنهای سازنده زیرواحدهای رسپتور $GABA_A$، در بافتهای محیطی رت، شامل غدد فوق کلیه، جفت، رحم، تخمدان و بیضه، بیان می‌شوند (Gladkevich *et al*., 2006). زیرواحدهای سازنده رسپتورهای $GABA_A$ نیز، در تخمدان ماهی باس دهان‌بزرگ شناسایی شده است که با بلوغ اووسیت، میزان این زیرواحدها بیشتر می‌شود. همچنین گابا در بافت‌های غیر عصبی شامل غدد فوق کلیه، جفت، بیضه و تخمدان نیز وجود دارد و در تخمدان، تنظیم جریان خون و تنظیم ترشح هورمون‌های جنسی را بر عهده دارد (Schaeffer and Hsueh, 1982). این داده‌ها از اثر احتمالی گابا و یا داروهای گابارژیک بر تخمدان مهره‌داران، حمایت می‌کند (Biggs, 2013). موسکیمول (آگونیست گابا)، میل اتصالی بالایی به سلول‌های گرانولوزای تخمدان دارد (Del rio and Caballero, 1980). RT-PCR نشان داده است که با القای برون تن موسکیمول بر سلول های جدا شده از آسپیراسیون فولیکولی تخمدان بیماران

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03 ]
[ DOI: 10.71901/jad-2024-1-803 ]

تحت IVF، mRNA های رونویسی‌کننده از ژن آروماتاز، افزایش یافت. آروماتاز، تنظیم‌کننده کلیدی در بیوسنتز استروژن در سلول‌های گرانولوزای تخمدان است (Hou and Yalcinkaya, 2008). با تجویز موضعی گابا بر تخمدان موش، ترشح ۱۷بتا-استرادیول، افزایش و ترشح پروژسترون کاهش یافت (Erdõ *et al.*, 1985). القای برون‌تن گابا بر سلول‌های گرانولوزای خرگوش، باعث تحریک ترشح استروژن و مانع از ساخته شدن پروژسترون شد (*Wei et al.*, 1999). آلپرازولام، پیوستگی و اتصال گابا را به گیرنده $GABA_A$، افزایش می‌دهد (Petty *et al.*, 1995) و به عنوان آگونیست غیر مستقیم گابا در نظر گرفته می‌شود (Keene *et al.*, 1998). تغییرات سطوح هورمون‌های استروئیدی در این پژوهش، ممکن است مرتبط با تاثیر آلپرازولام بر گیرنده‌های گابا، در تخمدان ماهی گورامی سه‌خال باشد. هم‌راستا با این مطالعه، در دو پژوهش دیگر، با القای دیازپام (بنزودیازپین) بر سلول‌های تخمدان موش، تغییری در میزان استرادیول مشاهده نشد، تستوسترون را به صورت وابسته به دوز یافت و پروژسترون را در ابتدا افزایش و سپس کاهش پیدا کرد (Van Wemmel *et al.*, 2005). همچنین القای برون‌تن دیازپام بر سلول‌های گرانولوزای تخمدان رت، سبب افزایش چشمگیر پروژسترون شد (Amsterdam and Suh, 1991). بنظر می‌رسد که نتایج باتوجه به نوع دارو و حیوان مدل، متفاوت باشد اما آنچه در داده‌های این پژوهش و سایر مطالعات مشابه به چشم می‌خورد، حاکی از احتمال تاثیر ترکیبات گابارژیک بر سطوح هورمون‌های جنسی می‌باشد. گابا و رسپتورهای آن، نقش مهمی در تنظیم محور HPG و تولید مثل دارد. شبکه گسترده‌ای از فیبرهای نورونی گابارژیک، در هیپوتالاموس وجود دارد که با نورون‌های ترشح کننده GnRH در تعامل هستند (Bencic *et al.*, 2013). در ماهی‌ها، گابا، اثر تحریکی بر ترشح GnRH دارد (Tsai and wang, 2000). گابا، با اثر مستقیم بر گیرنده‌هایش در سلول‌های گنادوتروف هیپوفیز ماهی‌های استخوانی، ترشح گنادوتروپین‌ها را افزایش می‌دهند (Arvat *et al.*, 2002). بنزودیازپین‌ها نیز به طریق واسطه‌های گابارژیک در هیپوتالاموس یا هیپوفیز، بر ترشح گنادوتروپین‌ها تاثیرگذار هستند. سیستم دوپامینرژیک و گابارژیک در مغز، با هم تداخل دارند. گابا و بنزودیازپین‌ها، انتقالات عصبی دوپامینرژیک در مغز را مهار می‌کنند. با تزریق گابا به لامپری، ترشح GnRH در مغز این ماهی، افزایش یافت (Root *et al.*, 2004). در ماهی شانک، گابا، اثر تحریکی بر ترشح GnRH داشت (Senthilkumaran *et al.*, 2001). تزریق گابا باعث افزایش میزان گنادوتروپین‌ها درگلدفیش شد. تزریق مهارکننده‌ی گاباترنس‌آمیناز (آنزیم تجزیه‌کننده گابا)، باعث افزایش وابسته به دوز گنادوتروپین‌ها و افزایش محتوای گابا در هیپوتالاموس و هیپوفیز را گلدفیش شد. القای گابا به‌صورت برون‌تن بر قطعات مختلف هیپوتالاموس، سبب افزایش وابسته به دوز میزان GnRH شد که توجیه قابل قبولی برای افزایش میزان گنادوتروپین‌ها با تزریق گابا به گلدفیش بود (Kah *et al.*, 1992). تزریق موسکیمول به رت‌های ماده، منجر به افزایش LH و FSH و تزریق بیکوکولین (آنتاگونیست گابا)، منجر به کاهش ترشح LH و FSH شد (Moguilevsky *et al.*, 1991). تحریک ترشح استروئیدهای تخمدانی در این پژوهش پس از مهار محور HPG توسط بروموکریپتین، می‌تواند مرتبط با تاثیر آلپرازولام بر گیرنده‌های گابا در

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03 ]

[ DOI: 10.71901/jad-2024-1-803 ]

هیپوتالاموس و هیپوفیز ماهی گورامی سه‌خال نیز باشد. این احتمال وجود دارد که آلپرازولام با تقویت انتقالات گابارژیک، سبب تحریک ترشح GnRH، گنادوتروپین‌ها و به تبع آن، تحریک استروئیدوژنز، شده باشد. رشد و بلوغ اووسیت‌ها در ماهیان استخوانی، پس از طی شدن مراحل مختلف و تحت کنترل هورمون‌های استروئیدی، هماهنگ با گنادوتروپین‌ها، رخ می‌دهد (سلطانزاده، ۱۳۹۲). حلال داروها تاثیری بر تکوین تخمدان نداشت چراکه فاز اووسیت‌ها در گروه‌های شاهد و کنترل حلال شبیه به هم بود. علت حضور اغلب اووسیت‌ها در مرحله پیش‌هستکی در گروه کنترل بروموکریپتین می‌تواند بلاک شدن محور HPG در سطح مغز، کاهش سطوح هورمون‌های استروئیدی، توقف زرده‌سازی و نتیجتا توقف رشد اووسیت باشد. در مطالعه‌ای مشابه، تجویز خوراکی بروموکریپتین به ماهی‌های ماده و بالغ گامبوزیا سبب مهار رشد فولیکولی در ماهی گامبوزیا شد (Bhat and Ganesh, 2019). در غیاب ماهی نر (شرایط این پژوهش)، اووسیت‌ها در صورت رشد، می‌توانند نهایتا تا مرحله ویتلوژنی، پیش بروند. تظاهرات بافتی در گروه تیماری با بروموکریپتین و آلپرازولام با دوز ۱ و ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی، حاکی از پیشرفت اکثر اووسیت‌ها به مرحله ویتلوژنی بود. پس از تحریک ترشح استرادیول، زرده‌سازی در کبد ماهی رخ می‌دهد و زرده از طریق جریان خون به تخمدان ماهی می‌رسد، عرض فولیکول‌ها را طی می‌کند و از طریق اندوسیتوز، وارد اووسیت می‌شود (Moussavi *et al*., 2009). احتمالا کبد با دریافت سیگنال از تخمدان، زرده‌سازی را افزایش داده است و اووسیت‌ها با جذب ویتلوژنین، به مرحله ویتلوژنی رسیده‌اند. در گروه بروموکریپتین و آلپرازولام با دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی، رشد اووسیت‌ها در مقایسه با گروه‌های تیمار شده با دوز کم و متوسط آلپرازولام، کمتر بود و در برخی اووسیت‌ها، ظهور حفرات کورتیکال و شمار اندکی از ذرات ویتلوژنین، نمایان بود. بنابراین آلپرازولام به صورت غیر وابسته به دوز سبب تکوین اووسیت‌ها شد. طی یک پژوهش با قرارگیری ماهی Fathead minnow در معرض دیازپام، روندی افزایشی در تعداد تخم مشاهده شد (Lorenzi *et al*., 2016) که همانند مطالعه ما، موید اثر محرک بنزودیازپین‌ها بر تکامل اووسیت بود. از طرفی تجویز خوراکی آلپرازولام به موش صحرایی، سبب کاهش فولیکول‌های بالغ تخمدان شد که در تضاد با نتایج ما بود (شادخواست، ۱۳۹۷). تظاهرات فراساختاری اووسیت در عکس‌های میکروسکوپ الکترونی، در تطابق با نتایج بدست آمده طی مطالعه بافت تخمدان با میکروسکوپ نوری بود. در گروه شاهد، اووسیت‌ها در مرحله کورتیکال آلوئولار و ابتدای ویتلوژنی بودند، در گروه کنترل بروموکریپتین، اووسیت در فاز پیش‌هستکی قرار داشت و در گروه تیماری با بروموکریپتین و دوز بالای آلپرازولام، دو اووسیت مجاور، در اوج مرحله ویتلوژنی بودند زیرا تعداد زیادی از گرانول‌های زرده در اووپلاسم تشکیل شده بود (Jackson *et al*., 1994; West, 1990).

با آنالیز مقادیر هورمون‌های ۱۷بتا-استرادیول، تستوسترون و ۱۷آلفا-هیدروکسی‌پروژسترون، می‌توان نتیجه گرفت که داروی بروموکریپتین با دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی، سبب بلاک شدن محور HPG و داروی آلپرازولام خصوصا با دوزهای ۱ و ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی، منتج به

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03 ]
[ DOI: 10.71901/jad-2024-1-803 ]

تحریک مجدد این محور شده است. تصاویر میکروسکوپ نوری و الکترونی گرفته شده از بافت تخمدان، نشان داد که بروموکریپتین، منجر به توقف رشد اووسیت‌ها شد، زونا رادیاتا تشکیل نشد و واکوئل‌هایی به دور هسته مشاهده شد که نشانگر مرحله پیش‌هستکی بود. در گروه تیماری با بروموکریپتین و آلپرازولام با دوز ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی ، تخمدان به شدت تحریک شده بود و تقریبا تمام اووسیت‌ها سرشار از ذرات ویتلوژنین بودند. فراساختار اووسیت نیز ظهور لایه زونا رادیاتا و تجمع وزیکول‌های زرده را نشان داد که همگی دال بر رشد اووسیت و تکامل گنادی بود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که امکان حضور گیرنده برای گابا یا آلپرازولام، در تخمدان ماهی گورامی سه‌خال، وجود دارد. این گیرنده، می‌تواند در آینده بعنوان هدف سنتز دارو جهت باروری ماهیان ماده در صنعت شیلات، مورد پژوهش قرارگیرد.

## سپاسگزاری

بدینوسیله، نویسندگان مقاله، از افرادی که در به انجام رساندن این کار پژوهشی همکاری کردند تشکر و قدردانی می نمایند.

## منابع

۱. انصاری، ح.، آبشناس، م.، خان زاده، ق.، مسعودی، غ.، ۱۳۸۶. بررسی عوامل مرتبط با مصرف داروهای اعصاب و روان در دانشجویان دانشگاه علوم پزشکی زاهدان در سال ۱۳۸۶. مجله اصول بهداشت روانی، ۳۶(۹)، ۵۵-۳۳.

۲. باقری زیاری، ص.، ناجی، ط.، حسین زاده صحافی، ه.، ۱۳۹۴. مقایسه و بررسی تغییرات فراساختاری تخمک و هیپوفیز در ماهی گورامی سه‌خال نابالغ تحت تیمار با $LHRH\text{-}A_2$، ۱۷بتا استرادیول و عصاره هیدروالکلی سرشاخه هوایی مرزنجوش. مجله یافته‌های نوین در علوم زیستی، ۲(۲)، ۱۳۱-۱۳۹.

۳. بطحائی، م.، ناجی، ط.، حسین زاده صحافی، ه.، ۱۳۹۸. بررسی سطح هورمون‌های استروئیدی و تکوین تخمک‌های ماهی ماده بالغ گورامی سه خال (*Trichogaster trichopterus*) در مواجهه با عصاره الکلی گیاه پنج انگشت ( *Vitex agnus castus*) و فلوکسیتین. مجله پژوهش‌های جانوری (مجله زیست شناسی ایران)، ۳۲(۲)، ۱۶۵-۱۵۵.

۴. تک زارع، ن.، بختیاریان، الف.، سعیدی، الف.، نیکوئی، و.، ۱۳۸۹. بررسی آثار تراتوژنیک آلپرازولام بر روی جنین موش صحرایی. مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۶۶(۱۰)، ۵۷۸-۵۸۲.

۵. حسینی جبلی، م.، ناجی، ط.، حسین زاده صحافی، ه.، ۱۴۰۰. بررسی اثر داروی اس‌سیتالوپرام بر تغییرات استروئیدهای جنسی و فراساختار اووسیت در ماهی گورامی سه خال پس از افزایش سطح دوپامین با تزریق بروموکریپتین. مجله زیست شناسی کاربردی، ۳۴(۲)، ۱۴۵-۱۲۹.

۶. رشیدپور، ش.، ناجی، ط.، حسین‌زاده صحافی، ه.، ۱۳۹۹. تأثیر داروی فلووکسامین بر سطوح هورمون‌های جنسی و بافت‌شناسی تخمدان در ماهی گورامی‌سه خال ( *Trichogaster*

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03 ]

[ DOI: 10.71901/jad-2024-1-803 ]

*trichopterus*) پس از تزریق بروموکریپتین. مجله ارمغان دانش، ۲۵(۶)، ۷۶۲-۷۴۶.

۷. سلطانزاده، ز.، نوری، الف.، سجادی، م.، ۱۳۹۲. بررسی روند تغییرات سطوح هورمون تستوسترون در ماهی *Abudefduf vaigiensis* در ساحل شمالی جزیره قشم، خلیج فارس. مجله نشریه علمی بوم شناسی آبزیان، ۳(۱)، ۷-۱.

۸. شادخواست، م.، حبیبیان، س.، آزادمنش، م.، ۱۳۹۷. اثرات داروی آلپرازولام بر روی رشد و نمو فولیکول های تخمدان موش صحرایی. مجله زنان مامایی و نازایی ایران، ۲۱(۳)، ۲۱-۱۵.

9. Amsterdam, A., Suh, B.S., 1991. An inducible functional peripheral benzodiazepine receptor in mitochondria of steroidogenic granulosa cells. Endocrinology, 48, 503-510.
10. Arvat, E., Giordano, R., Grottoli, S., Ghigo, E., 2002. Benzodiazepines and anterior pituitary function. Journal of Endocrinological Investigation, 25, 735-747.
11. Bencic, D.C., Villeneuve, D.L., Biales, A.D., Blake, L., Durhan, E.J., Jensen, K.M., Kahl, M.D., Makynen, E.A., Martinović-Weigelt, D. Ankley, G.T., 2013. Effects of the insecticide fipronil on reproductive endocrinology in the fathead minnow. Environmental Toxicology and Chemistry, 32, 1828-1834.
12. Bhat, S.K., Ganesh, C.B., 2019. Dopamine receptor agonist bromocriptine restrains the follicular development, hatchling success and puberty in Gambusia affinis. Journal of Applied Ichthyology, 35, 501-511.
13. Biggs, K., Seidel, J.S., Wilson, A., Martyniuk, C.J., 2013. Gamma amino-butyric acid (GABA) receptor subunit and transporter expression in the gonad and liver of the fathead minnow (*Pimephales promelas*). Comparative Biochemistry and Physiology, 166, 119-127.
14. Bordini, B., Rosenfield, R.L., 2011. Normal pubertal development. Pediatrics in Review, 32, 223-229.
15. Bryant, A.S., Greenwood, A.K., Juntti, S.A., Byrne, A.E., Fernald, R.D., 2016. Dopaminergic inhibition of gonadotropin-releasing hormone neurons in the cichlid fish (*Astatotilapia burtoni*). Journal of Experimental Biology, 219, 3861-3865.
16. Chang, J.P., Peter, R.E. Crim, L.W., 1984. Effects of dopamine and apomorphine on gonadotropin release from the transplanted pars distalis in goldfish. General and Comparative Endocrinology, 55, 347-350.
17. Degani, G., 2020. Brain control reproduction by the endocrine system of female blue gourami (*Trichogaster trichopterus*). Biology, 5, 109.
18. Del rio, R.M., Caballero, A.L., 1980. Presence of γ-aminobutyric acid in rat ovary. Journal of Neurochemistry, 34, 1584-1586.
19. Dequattro, Z.A., Peissig, E.J., Antkiewicz, D.S., Lundgren, E.J., Hedman, C.J., Hemming, J.D., Barry, T.P., 2012. Effects of progesterone on reproduction and embryonic development in the fathead minnow (*Pimephales promelas*). Environmental toxicology and chemistry, 31, 851-856.
20. Erdõ, S.L., Varga, B., Horváth, E., 1985. Effect of local GABA administration on rat ovarian blood flow, and on progesterone and estradiol secretion. European Journal of Pharmacology, 111, 397-400.
21. Fontaine, R., Affaticati, P., Yamamoto, K., Jolly, C., Bureau, C., Baloche, S., Gonnet, F., Vernier, P., Dufour, S., Pasqualini, C., 2013. Dopamine inhibits reproduction in female zebrafish (*Danio rerio*) via three pituitary $D_2$ receptor subtypes. Endocrinology, 154, 807-818.
22. Gavish, M., 1995. Hormonal regulation of peripheral-type benzodiazepine receptors. The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 53, 57-59.
23. Gavish, M., Bachman, I., Shoukrun,

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03 ]

[ DOI: 10.71901/jad-2024-1-803 ]

R., Katz, Y., Veenman, L., Weisinger, G., Weizman, A., 1999. Enigma of the peripheral benzodiazepine receptor. Pharmacological reviews, 51, 629-650.
24. Gladkevich, A., Korf, J., Hakobyan, V.P., Melkonyan, K.V., 2006. The peripheral GABAergic system as a target in endocrine disorders. Autonomic Neuroscience, 124, 1-8.
25. Hou, L., Yalcinkaya, T.M., 2008. $GABA_A$ agonists increase aromatase gene and protein expression in human granulosa cells via specific $GABA_A$ receptors. Fertility and Sterility, 90, S123.
26. Kah, O., Trudeau, V.L., Sloley, B.D., Chang, J.P., Dubourg, P., Yu, K.L, Peter, R.E., 1992. Influence of GABA on gonadotrophin release in the goldfish. Neuroendocrinology, 55, 396-404.
27. Keene, J.L., Noakes, D.L.G., Moccia, R.D., Soto, C.G., 1998. The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture Research, 29, 89-101.
28. Lorenzi, V., Choe, R., Schlenk, D., 2016. Effects of environmental exposure to diazepam on the reproductive behavior of fathead minnow (*Pimephales promelas*). Environmental Toxicology, 31, 561-568.
29. Madhusoodanan, S., Bogunovic, O.J., 2004. Safety of benzodiazepines in the geriatric population. Expert opinion on drug safety, 3, 485-493.
30. Moguilevsky, J.A., Carbone, S., Szwarcfarb, B., Rondina, D., 1991. Sexual maturation modifies the GABAergic control of gonadotrophin secretion in female rats. Brain Research. 563, 12-16.
31. Moussavi, M., Nelson, E.R., Habibi, H.R., 2009. Seasonal regulation of vitellogenin by growth hormone in the goldfish liver. General and comparative endocrinology, 161, 79-82.
32. Moustafa, A.M., El-Sayed, E.M., Badary, O.A., Mansour, A.M., Hamada, F.M.A., 1999. Effect of bromocriptine on uterine contractility in near-term pregnant rats. Pharmacological research, 39, 89-95.
33. Petty, F., Trivedi, M.H., Fulton, M., Rush, A.J., 1995. Benzodiazepines as antidepressants: does GABA play a role in depression?. Biological Psychiatry, 38, 578-591.
34. Pieróg, M., Guz, L., Doboszewska, U., Poleszak, E. and Wlaź, P., 2018. Effects of alprazolam treatment on anxiety-like behavior induced by color stimulation in adult zebrafish. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry, *82*, 297-306.
35. Reynolds, E.S., 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. The Journal of cell biology, 17, 208.
36. Ribas, L., Flos, R., Reig, L., MacKenzie, S., Barton, B.A., Tort, L., 2007. Comparison of methods for anaesthetizing Senegal sole (*Solea senegalensis*) before slaughter: stress responses and final product quality. Aquaculture, 269, 250-258.
37. Rieder, M.J., 1994. Mechanisms of unpredictable adverse drug reactions. Drug Safety, 11, 196-212.
38. Root, A.R., Sanford, J.D., Kavanaugh, S.I., Sower, S.A., 2004. In vitro and in vivo effects of GABA, muscimol, and bicuculline on lamprey GnRH concentration in the brain of the sea lamprey (*Petromyzon marinus*). Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 138, 493-501.
39. Roy-Byrne, P.P., 2005. The GABA-benzodiazepine receptor complex: structure, function, and role in anxiety. Journal of Clinical Psychiatry, 66, 14-20.
40. Schaeffer, J.M. Hsueh, A.J., 1982. Identification of gamma-aminobutyric acid and its binding sites in the rat ovary. Life Sciences, 30, 1599-1604.
41. Senthilkumaran, B., Okuzawa, K., Gen, K., Kagawa, H., 2001. Effects of

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03 ]

[ DOI: 10.71901/jad-2024-1-803 ]

serotonin, GABA and neuropeptide Y on seabream gonadotropin releasing hormone release in vitro from preoptic-anterior hypothalamus and pituitary of red seabream(*Pagrus major*). Journal of Neuroendocrinology, 13, 395-400.
42. Tokarz, J., Möller, G., De Angelis, M.H., Adamski, J., 2015. Steroids in teleost fishes: A functional point of view. Steroids, 103, 123-144.
43. Trudeau, V.L., Spanswick, D., Fraser, E.J., Lariviere, K., Crump, D., Chiu, S., MacMillan, M., Schulz, R.W., 2000. The role of amino acid neurotransmitters in the regulation of pituitary gonadotropin release in fish. Biochemistry and Cell Biology, 78, 241-259.
44. Tsai, C.L., Wang, L.H., 2000. The alteration of γ-aminobutyric acid and glutamate contents in the discrete brain of female tilapia during certain stages of gonadal cycle. Neuroscience Letters, 291, 171-174.
45. Tyler, C.R., Sumpter, J.P., 1996. Oocyte growth and development in teleosts. Reviews in fish biology and fisheries, 6, 287-318.
46. Vacher, C., Mananos, E.L., Breton, B., Marmignon, M.H., Saligaut, C., 2000. Modulation of pituitary dopamine $D_1$ or $D_2$ receptors and secretion of follicle stimulating hormone and luteinizing hormone during the annual reproductive cycle of female rainbow trout. Journal of Neuroendocrinology, 12, 1219-1226.
47. Vallone, D., Picetti, R., Borrelli, E., 2000. Structure and function of dopamine receptors. Neuroscience & Biobehavioral Reviews. 24, 125-132.
48. Van Wemmel, K., Gobbers, E., Eichenlaub-Ritter, U., Smitz, J., Cortvrindt, R., 2005. Ovarian follicle bioassay reveals adverse effects of diazepam exposure upon follicle development and oocyte quality. Reproductive Toxicology, 20, 183-193.
49. Verster, J.C., Volkerts, E.R., 2004. Clinical pharmacology, clinical efficacy, and behavioral toxicity of alprazolam: a review of the literature. CNS Drug Reviews, 10, 45-76.
50. Wei, Z., Jiang, N., Longqing, C., Hui, Z., Jinghua, W., Limin, Z., 1999. Effect of inhibitory and excitatory amino acid on the production of estrogen and progesterone by granulosa cells of Rabbits in vitro. Basic Medical Sciences and Clinics, 19, 49-52.
51. West, G., 1990. Methods of assessing ovarian development in fishes, a review. Marine and freshwater research, 41, 199-222.
52. Yaron, Z., Levavi-Sivan, B., 2011. Endocrine regulation of fish reproduction. Encyclopedia of fish physiology: from genome to environment, 2, 1500-1508.

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03 ]

[ DOI: 10.71901/jad-2024-1-803 ]

# The effect of alprazolam on the ovary of *Trichogaster trichopterus* after bromocriptine injection.

**Sheybani, Y.[1], Naji, T.[1*], Hosseinzadeh Sahafi, H.[2]**

1- Department of Basic Sciences, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Science, Tehran Medical Science, Islamic Azad university, Tehran, Iran.
2- Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural research, education and promotion organization, Tehran, Iran.

**Received: 21 December 2023 Accepted: 31 January 2023**

## Abstract

This study was conducted with the aim of investigating the effect of alprazolam on sex steroids, ovarian tissue development and oocyte ultrastructure of three spot gourami after bromocriptine induction. A number of 90 adult female three spot gourami fish were purchased and divided into six groups of 15, including intact control group, solvent control group, bromocriptine control group, and three treatment groups receiving bromocriptine with a dose of 1 mg /kg and alprazolam with three doses of 1, 2, and 4 mg/kg. The drugs were injected intramuscularly in such a way that, control and treatment groups received bromocriptine in one day and the next day treatment groups received different doses of alprazolam. After completing the injections, the fish were euthanized and dissected. The ovaries of the fish were also removed to be examined by optical and electron microscopes. The tissue fluid was used to measure steroid hormones by ELISA kit. In the bromocriptine control group, steroid hormones had a sharp drop and the oocytes were in the peri-nucleolar stage. In treatment groups with bromocriptine and alprazolam at a dose of 4 mg/kg, the levels of 17β-estradiol and testosterone was higher than all control and treatment groups ($p$<0.01) and oocytes were in vitellogenin stage. Therefore, a high dose of Alprazolam was the stimulant of gonadal development and oocyte growth in three spot gourami fish. it can be concluded that bromocriptine blocked the HPG axis and alprazolam caused re-stimulation of this axis, oocyte maturation and ovarian sex steroid secretion.

**Keywords:** Alprazolam, *Trichogaster trichopterus*, Ovary, Bromocriptine

[ Downloaded from aqudev.lahijan.iau.ir on 2026-11-03 ]

[ DOI: 10.71901/jad-2024-1-803 ]

[*] *Corresponding Author: tnaji2002@gmail.com*