ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۵، شماره ٦، بهمن و اسفند ۱۳۹۹(شماره پی در پی ۱٤۳)

تأثیر داروی فلووکسامین بر سطوح هورمون‌های جنسی و بافت‌شناسی تخمدان در ماهی گورامی‌سه خال (*Trichogaster trichopterus*) پس از تزریق بروموکریپتین

شیدسا رشیدپور[۱]، طاهره ناجی[۱*]، همایون حسین‌زاده صحافی[۳]

[۱]گروه علوم پایه، واحد علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران ،[۲] موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی ، تهران ، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۹/۰۳/۳۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۷/۲۳

چکیده

زمینه و هدف: اثرگذاری داروها بر گیرنده‌های متفاوت موجب بروز اثر و هم‌چنین عوارض ناخواسته دارو می‌شود. به طور مثال داروهای دوپامینی علاوه بر آثار ضدپارکینسونی، موجب مسدود شدن بخش‌های بالاتر محور هیپوتالاموس ــ هیپوفیزــ گناد و ناباروری می‌شوند. لذا هدف از این پژوهش تعیین و تأثیر داروی فلووکسامین بر سطوح هورمون‌های جنسی و بافت‌شناسی تخمدان در گورامی‌سه خال پس از تزریق بروموکریپتین بود.

روش بررسی: در این مطالعه بنیادی که در سال ۱۳۹۸ در دانشگاه آزاد اسلامی انجام شد، تعداد ۹۰ قطعه ماهی با میانگین وزنی ۱±۳ گرم از مرکز پرورش ماهیان خانماهی واقع در دماوند تهیه شد. ماهی‌ها در ۶ گروه ۱۵ تایی شامل سه گروه کنترل دست نخورده، حلال(اتانول ۷۰ درصد) و بروموکریپتین و ۳ تیمار بروموکریپتین و فلووکسامین در دوزهای ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی قرار گرفتند. تزریق به صورت یک روز در میان، عضلانی و در زیر باله پشتی بود، بدین ترتیب که روز بعد از تزریق ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بروموکرپتین، فلووکسامین با دوزهای مشخص تزریق شد و همچنان این روند ادامه یافت.۲۰ روز پس از تزریق، ماهی‌ها تشریح و بافت تخمدان آنها جهت بیومتری و بررسی با میکروسکوپ نوری جداسازی شد. با استفاده از مایعات بافتی هورمون‌های استروئیدی ۱۷ـ بتااسترادیول، تستوسترون و پروژسترون به وسیله کیت مخصوص سنجیده شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و دانکن تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: نتایج حاصل از سطح هورمون استرادیول و پروژسترون و شاخص گنادی نشان داد که گروه‌های دریافت کننده داروی فلووکسامین و بروموکریپتین اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل دارند($p\leq0/05$)، که این اختلاف وابسته به دوز بود. به طوری که میزان این هورمون‌ها در گروه کنترل بروموکریپتین کاهش یافته و در تیمارهای دریافت کننده فلووکسامین افزایش یافت. در تصاویر میکروسکوپ نوری در گروه کنترل دست نخورده و حلال فاز غالب اووسیت‌ها مرحله کورتیکال است، اما این سلول‌ها در گروه کنترل بروموکریپتین در مرحله پیش هستکی اولیه و ثانویه مانده‌اند. هم‌چنین در تیمار فلووکسامین ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اووسیت‌ها در مرحله ویتلوژنز بوده و حرکت وزیکول زایا به سمت قطب جانوری نیز قابل رویت است.

نتیجه‌گیری: می‌توان نتیجه گرفت که داروی بروموکریپتین باعث بلاک محور HPG شده و داروی فلووکسامین باعث تحریک دوباره‌ی مسیر GnRH می‌شود، به طوری که تخمدان در تیمار دریافت کننده بالاترین دوز داروی فلووکسامین در مرحله غالب ویتلوژنز بوده و شاخص‌گنادی در بیشترین مقدار خود بود، بنابراین امکان حضور گیرنده سروتونین بر سطح گناد وجود دارد.

واژه‌های کلیدی : بروموکریپتین، فلووکسامین، ماهی گورامی‌سه خال، محور هیپوتالاموس ـ هیپوفیزـ گناد، هورمون‌های جنسی

[*]**نویسنده مسئول: طاهره ناجی**، تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم پزشکی تهران، گروه علوم پایه

Email: tnaji2002@gmail.com

مقدمه

امروزه عوارض ناخواسته داروها از مشکلات مهم و آزاردهنده برای بیماران است که موجب کاهش پذیرش بیماران می‌شود. از جمله عوارض ناخواسته دارو می‌توان به مشکلات جنسی اشاره کرد که در موارد بسیاری باعث قطع دارو به وسیله بیمار شده است(۱). بسیاری از بیماران دریافت‌کننده داروهای آگونیست دوپامین مانند مبتلایان به پارکینسون، از عوارض جنسی این داروها رنج می‌برند(۲). هورمون‌های جنسی استروژن، پروژسترون و استرادیول در فرآیند بارور شدن جنس ماده مؤثر هستند به طوری که فقدان یا کمبود این هورمون‌ها موجب ناباروری می‌شود(۳). میزان ساخت و ترشح این هورمون‌ها به طور مستقیم از هورمون‌های لوتئینی‌کننده(LH)[1] و محرک فولیکولی(FSH)[2] اثر می‌پذیرد(۴). ساخت و آزادسازی این دو هورمون به وسیله هیپوفیز است که خود تحت اثر هورمون آزادکننده گنادوتروپین(GnRH)[3] بوده که در نورون‌های واقع در هیپوتالاموس ساخته شده و از همانجا نیز آزاد می‌شود(۵). به عبارتی، ارگان‌های درگیر در فرآیندهای جنسی و تولید مثلی، تشکیل دهنده محور هیپوتالاموس ـ هیپوفیز ـ گناد(HPG)[4] هستند. اثر مهاری دوپامین بر سیستم تولیدمثلی بر سطوح بالایی این محور بوده و بر روی استروئیدهای گنادال اثری نمی‌گذارد(٦).

بروموکریپتین یک آگونیست گیرنده‌ی D2 است که به خوبی از سد خونی ـ مغزی عبور کرده و منجر به بلاک مسیر GnRH می‌شود(۷). در صورت فقدان و یا کمبود دوپامین و یا گیرنده‌های دوپامین در جسم سیاه علایم پارکینسون بروز پیدا خواهد کرد که شایع‌ترین علایم آن شامل؛ کندی حرکت، لرزش در زمان استراحت، سفتی عضلات و بی‌ثباتی موضعی است. برخی علایم از جمله افسردگی و اضطراب نیز در این بیماران بروز پیدا می‌کند(۸).[4]

اصلی‌ترین دلیل افسردگی کمبود سروتونین و یا ناکارآمدی گیرنده‌های سروتونرژیک است. سروتونین یا هیدروکسی تریپتامین با فرمول C10H12N2O نام انتقال دهنده عصبی هست که از مشتقات تریپتوفان است. این ماده در سیستم عصبی مرکزی، پلاکت‌های خون و دستگاه گوارش وجود دارد. پژوهش‌ها نشان می‌دهد که بیشترین مقدار سروتونین در سلول‌های انتروکرومافینی متمرکز است که به صورت پراکنده در غشای دستگاه گوارش موجود می‌باشند(۹). مقدار کمتری از سروتونین به وسیله شبکه عصبی سروتونرژیک سیستم اعصاب مرکزی سنتز شده و کارکردهای گوناگونی دارد. این کارکردها شامل تنظیم حالات روحی، اشتها و خواب می‌باشد. از دیگر کارکردهای سروتونین القای تولید مثل است بدین صورت که اثر مثبتی بر اندام‌های تولید مثلی می‌گذارد(۱۰). اس اس آر آی یا مهارکننده‌ی انتخابی بازجذب سروتونین دسته‌ای از داروها هستند

1-Luteinizing Hormone(LH)
2-Follicle-Stimulating Hormone(FSH)
3-Gonadotropin-Releasing Hormone(GnRH)
4-Hypothalamic-Pituitary-Gonadal(HPG)

که در افسردگی و اضطراب در کودکان و بزرگسالان استفاده می‌شود(۱۱). SSRIها با مهار باز جذب سروتونین موجب افزایش آن در بدن می‌شوند. در بین داروهای SSRI می‌توان گفت که داروهای فلوکستین، سرترالین، پاروکستین، سیتالوپرام و فلووکسامین در خط اول درمان افسردگی دیده می‌شوند که اختصاصی عمل کردن این SSRIها در انتقال عصبی سروتونرژیک اختصاصی بودنشان در درمان افسردگی و اضطراب را توضیح می‌دهد(۱۲).

ماهی گورامی‌سه خال با نام علمی *Trichogaster trichopterus* از خانواده *Anabantidae* بوده و بومی‌جنوب شرق آسیا است. علت استفاده از ماهی گورامی‌سه خال به عنوان مدل در مطالعات اندوکرینی، شباهت زیاد محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد با انسان، نگه‌داری آسان و مقرون به صرفه بودن است(۱۳).

از هورمون‌های مؤثر در محور HPG گنادوتروپین‌ها هستند که از سلول‌های گنادوتروپ در هیپوفیز قدامی‌ترشح می‌شوند. این هورمون‌ها با تحریک سنتز ویتلوژن کبدی و تولید ۱۷ـ بتا استرادیول در سلول‌های گرانولوز سبب رشد و بلوغ تخمک و باروری می‌شوند(۱۴).

نظر به این که شناخت مسیرهای فارماکولوژی از اهمیت بالایی برخوردار است، لذا هدف از این پژوهش تعیین و تأثیر داروی فلووکسامین بر سطوح هورمون‌های جنسی و بافت‌شناسی تخمدان در گورامی‌سه خال پس از تزریق بروموکریپتین بود.

روش بررسی

در این مطالعه بنیادی که در سال ۱۳۹۸ در دانشگاه آزاد اسلامی انجام شد، بر اساس نتایج حاصل از تحقیقات پیشین، حجم نمونه برابر با ۱۰ عدد ماهی در هر گروه محاسبه می‌شود و تعداد ماهی مورد نیاز برای ۶ گروه، ۶۰ عدد خواهد بود. با در نظر گرفتن ۲۵ درصد احتمال شکست در انجام مراحل آزمایشگاهی حجم نمونه ۷۵ عدد می‌باشد، ولیکن به دلیل شباهت زیاد ماهی‌های نر و ماده و احتمال خطا در تعیین جنسیت ماهی‌ها تعداد ماهی در هر گروه ۱۵ عدد در نظر گرفته شد، لذا تعداد ۹۰ قطعه ماهی گورامی‌سه خال ماده با میانگین وزنی ۱±۳ گرم در تاریخ مرداد ماه ۱۳۹۸ از مرکز پرورش ماهی خانماهی واقع در دماوند خریداری شد. پس از کلرزدایی آب آکواریوم‌ها، ماهی‌ها به صورت تصادفی به ۶ گروه شامل؛ کنترل دست نخورده (C)، کنترل حلال اتانول ۷۰ درجه (C_0)، گروه کنترلBr(۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی بروموکریپتین) و ۳ گروه تیمار با ۱ ، ۵ و ۱۰میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی از داروهای فلووکسامین و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی از داروی بروموکریپتین و هر گروه شامل ۱۵ قطعه ماهی گورامی‌سه خال، در آکواریوم‌های شیشه‌ای رهاسازی شدند و به مدت یک هفته با محیط سازگار شدند. برای تمامی‌آکواریوم‌ها هر ۲۴ساعت یک بار وضعیت سلامت ماهی‌ها، دمای آب و pH محیط صورت گرفت و شرایط نگهداری و تغذیه برای همه گروه‌ها یکسان در نظر گرفته شد.

برای محاسبه حجم نمونه مورد نیاز از فرمول زیر استفاده شد:

$$\text{sample size}=\frac{2\,SD^2\left(Z\frac{\alpha}{2}+Z\beta\right)^2}{d^2}$$

که در این فرمول با توجه به این که احتمال خطا ۵ درصد و توان ۸۰ درصد در نظر گرفته شده است، بر اساس جداول مقدار $Z\frac{\alpha}{2}$ معادل ۱/۹۶ و مقدار Zβ معادل ۰/۸۴۲ در نظر گرفته می‌شود(۱۵).

برای محاسبه مقدار فلووکسامین و بروموکریپتین مورد نیاز، پژوهش‌ها و مقالات پیشین بررسی شد. در میان نتیجه‌های به دست آمده، دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی برای داروی فلووکسامین به عنوان بالاترین دوز(۱۶) و دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن داروی بروموکریپتین به عنوان تک دوز مؤثر از دارو انتخاب شد(۱۷).

برای تهیه محلول‌های دارویی برای تزریق، مقدار ۲ گرم از پودر خالص ماده مؤثره داروی بروموکریپتین و فلووکسامین از شرکت داروسازی ایران هورمون و عبیدی خریداری شد. پس از تعیین وزن ماهیان و محاسبه دوز تیمارها برحسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی، مقادیر دوز مورد نیاز در هر تیمار و همچنین گروه کنترل بروموکریپتین(۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی) و گروه‌های تیمار فلووکسامین با سه دوز ۱، ۵ و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم وزن شد. سپس پودر وزن شده جهت هر تیمار در ۵ میلی لیتر اتانول ۷۰ درجه به عنوان حلال حل شد. در نهایت محلول آماده تزریق تیمارها در ظروف شیشه‌ای کوچک در بسته نگه‌داری شد. برای بیهوش نمودن ماهیان از عصاره گل میخک استفاده شد. جهت تزریق از سرنگ انسولین به مقدار ۰/۰۱ میلی‌لیتر از محلول دارویی آماده شده به صورت عضلانی(IM) پس از قرار دادن پنبه مرطوب بر روی آبشش ماهی و مهار نمودن سر و دم، بین باله پشتی و خط جانبی، تزریق شد.تزریق حلال(اتانول ۷۰ درجه)، داروهای بروموکریپتین و فلووکسامین به مدت ۲۰ روز، یک روز درمیان(بلاک محور HPG با داروی بروموکریپتین در یک روز) و روز بعد داروی فلووکسامین و به همین ترتیب تا پایان تزریقات ادامه یافت. پس از پایان تزریق به مدت ۱ روز هیچ فعالیتی بر روی ماهی‌ها صورت نگرفت و بعد از آن تشریح ماهی‌ها آغاز شد.

در روز بیست و دوم ماهی‌ها تشریح شدند و کبد و تخمدان ماهی‌ها جدا شد و هرکدام جداگانه روی ترازوی دیجیتال وزن شد. بافت تخمدان جهت بررسی با میکروسکوپ نوری در فرمالین ۱۰ درصد به عنوان فیکساتیو قرار داده شد، پس از فیکس کردن نمونه‌ها طی مراحلی(پاساژ بافت) برای قالب‌گیری آماده شد. سپس برای تهیه قالب پارافینی پس از ریختن پارافین در قالب فلزی، تخمدان به وسیله پنس گرم به آهستگی داخل آن قرار گرفت. زمانی که پارافین کاملاً سفت و سخت شد آن را از قالب جدا کرده و بلوک‌ها تا زمان برش‌گیری در داخل یخچال قرار گرفت. برای برش بافت از دستگاهی به نام میکروتوم استفاده شد و برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرون تهیه شد. پس از

سوار کردن برش‌ها بر روی لام، لام‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در آون ۶۰ درجه سانتی‌گراد گذاشته شدند تا پارافین آن‌ها ذوب و آب اضافه تبخیر شود و عمل رنگ‌آمیزی بهتر صورت گیرد. برای رنگ‌آمیزی برش‌های بافتی از روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ـ ائوزین(H&E) استفاده شد. پس از آماده‌سازی لام‌ها به وسیله میکروسکوپ نوری نیکون دارای مانیتور دیجیتالی از آن‌ها عکس‌برداری صورت گرفت.

جهت اندازه‌گیری سطوح هورمون‌های ۱۷ـ بتا استرادیول، تستوسترون، پروژسترون مایعات بافتی تهیه شد و طبق پروتکل اندازه‌گیری هورمون‌ها با کیت مخصوص اندازه‌گیری شد.

کلیه نکات اخلاقی کار با حیوانات بر طبق دستورالعمل‌های اخلاقی انجمن بین‌المللی کار با حیوانات انجام گرفت و ملاحظات اخلاقی در رابطه با بیهوشی، تزریق و تشریح حیوان در این پژوهش رعایت شد.

جهت بررسی تغییرات اندازه گناد و کبد شاخص گنادوسوماتیک و هپاتوسوماتیک برای ماهی‌ها به روش زیر محاسبه شد.

$$HSI = \frac{WL}{W} \times 100 \qquad GSI = \frac{WG}{W} \times 100$$

در این فرمول‌ها، W وزن کل بدن ماهی (گرم)، WG وزن تخمدان(گرم) و WL وزن کبد(گرم) است.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و دانکن تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

در مقایسه آماری بین گروه کنترل دست نخورده و گروه کنترل دریافت کننده اتانول، اختلاف معنی‌داری از لحاظ شاخص گنادی دیده نشد که نشان می‌دهد حلال اتانول بر روند بلوغ تخمدان بی‌تأثیر می‌باشد($p<0/05$). این شاخص در ماهی‌های گروه کنترل بروموکریپتین به طور چشمگیری کاهش پیدا کرد. در ادامه، در گروه‌های تیمار فلوکسامین و بروموکریپتین روند صعودی وابسته به دوز در نمودار قابل رویت است(نمودار ۲). بیشترین شاخص گنادوسوماتیک متعلق به تیمار سوم بوده که دریافت‌کننده ۱۰ میلی‌گرم فلوکسامین در ازای هر کیلوگرم از وزن بدن می‌باشد(نمودار ۲).

نتایج حاصل از هورمون سنجی هورمون ۱۷ـ بتا استرادیول نشان داد که اختلاف معنی‌داری در مقدار این هورمون بین گروه‌های کنترل دست نخورده و گروه کنترل حلال اتانول وجود نداشت، که نشان داد حلال اتانول بر سطح این هورمون تأثیرگذار نبوده است($p>0/05$). گروه دریافت کننده بروموکریپتین کمترین مقدار ۱۷ـ بتا استرادیول را در میان تمامی‌گروه‌ها داشت؛ به طوری که با تمامی‌گروه‌ها اختلاف معنی‌دار وجود دارد($p<0/05$)(نمودار ۳). بیشترین مقدار هورمون ۱۷ـ بتا استرادیول در تیمار سوم فلوکسامین با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از وزن بدن و بروموکریپتین شناسایی شد. هم‌چنین مقدار این هورمون در تیمار دریافت کننده ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم از تیمار سوم فلوکسامین کمتر و بیشتر

از تیمار دریافت کننده ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن فلووکسامین می‌باشد که نشان می‌دهد احتمالاً اثر فلووکسامین بر روی این هورمون نیز وابسته به دوز می‌باشد.

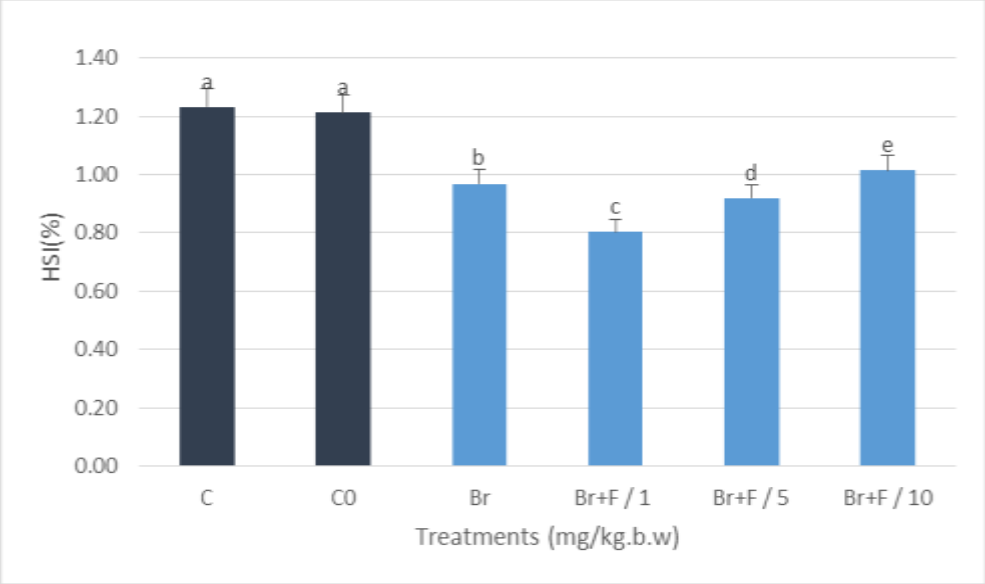
در ماهی‌های ماده، بین غلظت هورمون تستوسترون در گروه کنترل دست نخورده و گروه کنترل حلال، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد($p<0/05$)، می‌توان نتیجه گرفت حلال اتانول بر روی هورمون تستوسترون در جنس ماده بی‌تأثیر است. غلظت هورمون تستوسترون در جنس ماده نیز در گروه کنترل بروموکریپتین کاهش یافت که نشان می‌دهد مقدار این هورمون نیز تحت تأثیر اثر مهاری دوپامین بر هیپوفیز قدامی‌کاهش یافته است. در بین تیمارهای دریافت کننده فلووکسامین(با دوزهای ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در ازای هر کیلوگرم از وزن بدن) و بروموکریپتین میزان هورمون تستوسترون تفاوت معنی‌داری نداشت($p>0/05$). میزان هورمون تستوسترون در گروه‌های تیمار فلووکسامین و بروموکریپتین اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل داشت($p<0/05$) و مقدار این هورمون در تیمارهای دریافت‌کننده فلووکسامین از گروه‌های کنترل کمتر بود(نمودار ۴).

در بررسی نمودار هورمون سنجی هورمون پروژسترون، می‌توان مشاهده کرد که تفاوت معنی‌داری بین میزان این هورمون در گروه کنترل حلال و کنترل دست نخورده وجود ندارد، هم چنین می‌توان دریافت که حلال اتانول تأثیری بر سطح این هورمون ندارد($p>0/05$). کاهش میزان بروموکریپتین در گروه کنترل، نشان از بلاک مسیر GnRH به وسیله داروی بروموکریپتین دارد. بیشترین مقدار این هورمون در دوز بالای فلووکسامین(۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و بروموکریپتین دیده شد، هم‌چنین روند نمودار هورمون سنجی هورمون پروژسترون در تیمارهای دریافت‌کننده فلووکسامین به ترتیب افزایش دوز(۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن ماهی) روندی صعودی بوده که می‌توان دریافت که تحریک تخمدان توسط فلووکسامین احتمالا وابسته به دوز می‌باشد و این مسئله بیانگر این است که امکان حضور گیرنده سروتونین از نوع تحریکی در سطوح پایینی محور GnRH وجود دارد(نمودار ۵).

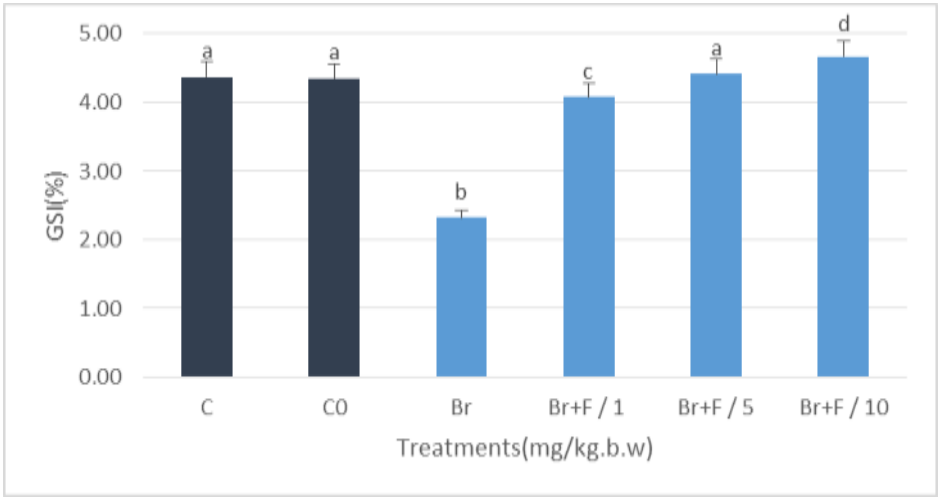
تصاویر میکروسکوپ نوری از گروه کنترل دست‌نخورده نشان داد که فاز غالب اووسیت‌ها کورتیکال و پیش‌هستکی بوده و تعدادی از اووسیت‌ها در مرحله‌ی ویتلوژنز و در حال جذب زرده می‌باشند (شکل ۱ـالف). هم‌چنین در گروه کنترل حلال اتانول نیز اغلب اووسیت‌ها در مرحله کورتیکال و پیش هستکی بوده(شکل ۱ـب). تصاویر نشان داداین گروه تفاوت چندانی با گروه کنترل دست نخورده ندارد، لذا می‌توان تصدیق کرد که حلال اتانول تأثیری بر تکوین تخمدان ندارد. از طرفی گروه در کنترل بروموکریپتین اغلب اووسیت‌ها در مرحله پیش هستکی اولیه و ثانویه قرار دارند(شکل ۱ـج). در گروه تیمار اول

فلوکسامین(۱ میلی‌گرم در ازای هر کیلوگرم از وزن ماهی) و بروموکریپتین فاز غالب کورتیکال است، لیکن تعدادی از اووسیت‌ها در مرحله پیش‌هسته‌کی اولیه و ثانویه مانده‌اند(شکل ۱ـد). در دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم از وزن بدن ماهی فلوکسامین و بروموکریپتین علاوه بر فاز پیش‌هسته‌کی ثانویه و کورتیکال، فاز ویتلوژنز نیز قابل رویت است(شکل ۱ـ ه) که نشان می‌دهد دوز ۵ میلی‌گرم از داروی فلوکسامین نسبت به یک میلی‌گرم از آن، اثر بهتری بر تحریک تخمدان بعد از القای بروموکریپتین داشته است.

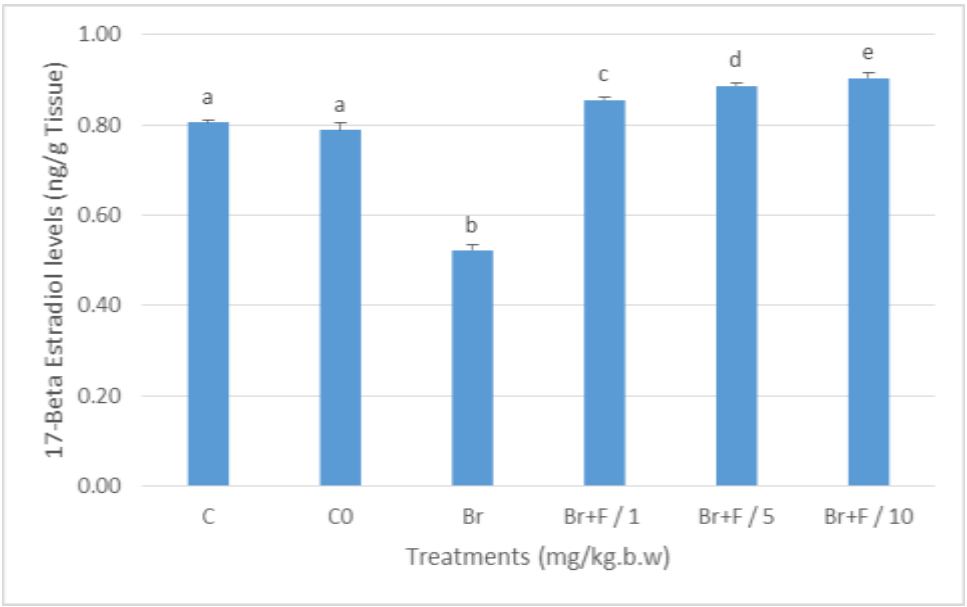
در تصاویر حاصل از میکروسکوپ نوری تیمار سوم فلوکسامین(۱۰ میلی‌گرم در ازای هر کیلوگرم از وزن) و بروموکریپتین تحریک تخمدان قابل مشاهده است(شکل ۱ـ و)، به طوری که اغلب اووسیت‌ها در فاز ویتلوژنز بوده و همچنین حرکت وزیکول زایا به سمت قطب جانوری قابل رویت است.



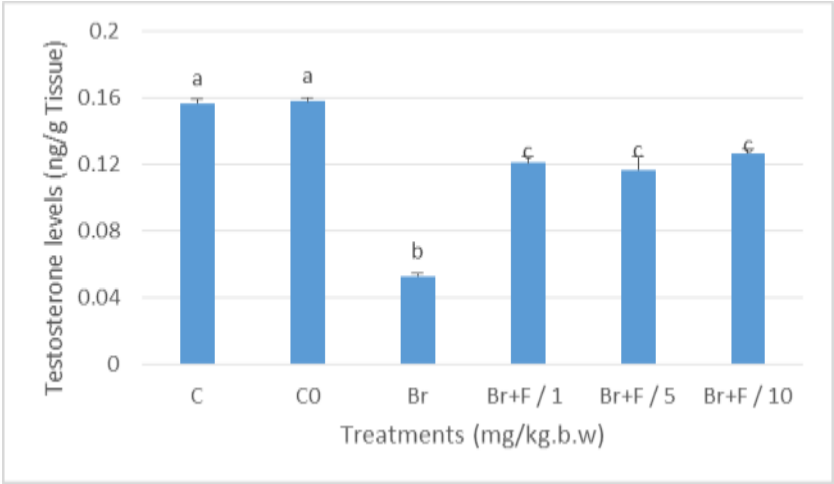
نمودار ۱: تغییرات شاخص هپاتوسوماتیک(HSI) در گروه‌های تحت تیمار و کنترل، (حروف غیرمشابه (a,b,c,d,e)) نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های کنترل دست نخورده، اتانولی و تیمارها می‌باشد($p<0/05$). C نشان‌دهنده‌گروه کنترل دست نخورده، C0 نشان‌دهنده کنترل اتانول ۰/۷۰ Br نشان‌دهنده کنترل بروموکریپتین، F نشان‌دهنده داروی فلوکسامین است که در سه دوز ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تزریق شده است



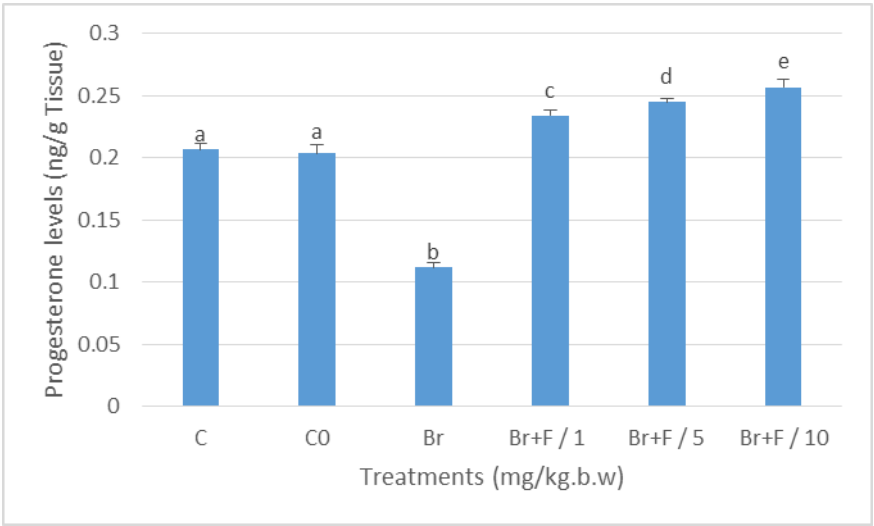
نمودار۲: تغییرات شاخص گنادوسوماتیک(GSI) در گروه های تحت تیمار و کنترل، (حروف غیرمشابه (a,b,c,d) نشان دهنده تفاوت معنی دار بین گروههای کنترل دست نخورده، اتانولی و تیمارها می‌باشد(p<۰/۰۵)). C نشان‌دهنده‌گروه کنترل دست نخورده، C0 نشان‌دهنده‌ی کنترل اتانول ۷۰ درجه ، Br نشان‌دهنده‌ی کنترل بروموکریپتین، F نشان‌دهنده‌ی داروی فلووکسامین است که در سه دوز ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تزریق شده است



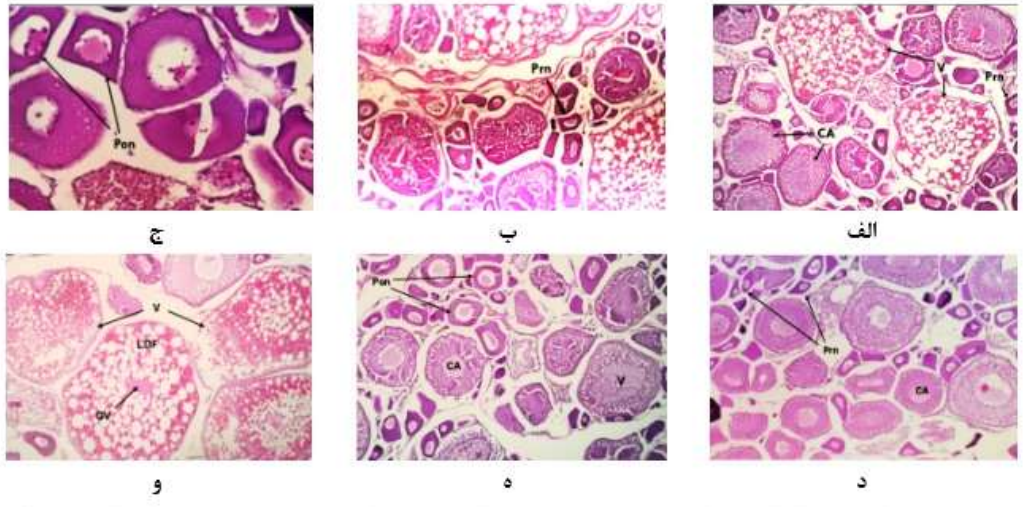
نمودار۳: تغییرات هورمون ۱۷-بتا استرادیول در تیمار های مختلف داروی فلووکسامین در ماهی گورامی‌سه خال پس از مهار محور HPG(حروف غیرمشابه(a,b,c,d,e) نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروههای کنترل دست نخورده، اتانولی و تیمارها می‌باشد(p<۰/۰۵)) C نشان‌دهنده گروه کنترل دست نخورده، C0 نشان‌دهنده کنترل اتانول ۷۰ درجه ، Br نشان‌دهنده‌ی کنترل بروموکریپتین، F نشان‌دهنده داروی فلووکسامین است که در سه دوز ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تزریق شده است



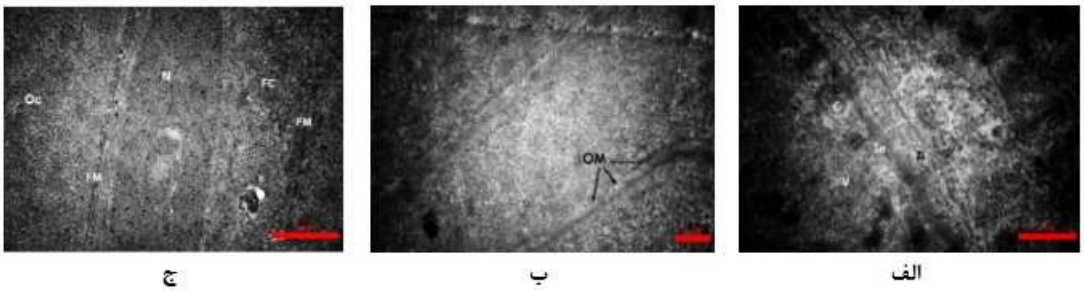
نمودار ۴: تغییرات هورمون تستوسترون در تیمارهای مختلف داروی فلووکسامین در ماهی گورامی‌سه خال پس از مهار محور HPG(حروف غیرمشابه (a,b,c) نشان دهنده تفاوت معنی دار بین گروههای کنترل دست نخورده، اتانولی و تیمارها می‌باشد(p<۰/۰۵)) C نشان‌دهنده‌گروه کنترل دست نخورده، C0 نشان‌دهنده‌ی کنترل اتانول ۷۰ درجه ، Br نشان‌دهنده‌ی کنترل بروموکریپتین، F نشان‌دهنده داروی فلووکسامین است که در سه دوز ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تزریق شده است.



نمودار۵: تغییرات هورمون پروژسترون در تیمارهای مختلف داروی فلووکسامین در ماهی گورامی‌سه خال ماده پس از مهار محور HPG(حروف غیرمشابه (a,b,c,d,e) نشان دهنده تفاوت معنی دار بین گروههای کنترل دست نخورده، اتانولی و تیمارها می‌باشد(p<۰/۰۵)) C نشان دهنده گروه کنترل دست نخورده، C0 نشان‌دهنده کنترل اتانول ۷۰ درجه ، Br نشان دهنده کنترل بروموکریپتین، F نشان دهنده داروی فلووکسامین است که در سه دوز ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تزریق شده است.



شکل ۱: الف: مقطعی از بافت تخمدان ماهی کنترل دست نخورده، ب: مقطعی از بافت تخمدان ماهی گروه کنترل حلال اتانول، ج:مقطعی از بافت تخمدان ماهی گروه کنترل بروموکریپتین، د:مقطعی از بافت تخمدان ماهی تیمار بروموکریپتین و فلووکسامین دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ه:مقطعی از بافت تخمدان ماهی تیمار بروموکریپتین و فلووکسامین دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، و:مقطعی از بافت تخمدان ماهی تیمار بروموکریپتین و فلووکسامین دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (رنگ آمیزی: H&E، بزرگنمایی: ۴۰× ، مرحله کورتیکال (CA)، مرحله ویتلوژنز (V)، مرحله پیش هستکی اولیه (Prn)، مرحله پیش هستکی ثانویه (Pon)، حرکت وزیکول زایا (GV) به سمت قطب جانوری، اتصال ذرات چربی (LDF))



شکل ۲:الف: تصویر میکروسکوپ الکترونی از مقطعی از سلول تخمک در گروه کنترل دست نخورده ، ب: تصویر میکروسکوپ الکترونی از مقطعی از سلول تخمک در گروه کنترل بروموکریپتین، ج:تصویر میکروسکوپ الکترونی از مقطعی از سلول تخمک در تیمار بروموکریپتین و فلووکسامین دوز ۱۰ میلی‌گرم برکیلوگرم(SCALE BAR: 1µm) ، وزیکول(V) ، زونارادیاتای داخلی(Zi)، زونا رادایاتای خارجی (Ze)، غشای اووسیت(OM)، سلول اووسیت(OC)، هسته(N)، سلول فولیکولی(FC)، غشای فولیکول(FM))

بحث

بیماران مبتلا به پارکینسون با مصرف داروی بروموکریپتین دچار اختلالات جنسی و باروری می‌شوند. همچنین این بیماران به دلیل سن و مشکلات زمینه‌ای دیگر غالباً از افسردگی نیز رنج می‌برند، لذا هدف از این پژوهش تعیین و تأثیر داروی فلووکسامین بر سطوح هورمون‌های جنسی و بافت‌شناسی تخمدان در گورامی‌سه خال پس از تزریق بروموکریپتین بود.

شاخص گنادوسوماتیک از مهم‌ترین شاخص‌های تعیین بلوغ تخمدان است، به طوری که ارتباط مستقیمی‌بین GSI و بلوغ تخمدان وجود دارد(۱۸). نظر به این که این شاخص در گروه کنترل بروموکریپتین کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل حلال و دست نخورده داشته می‌توان دریافت که محور HPG به وسیله داروی بروموکریپتین بلاک شده است. در گروه‌های دریافت کننده فلووکسامین و بروموکریپتین، میزان این شاخص نسبت به گروه کنترل بروموکریپتین افزایش چشم‌گیری داشته، بیشترین شاخص گنادوسوماتیک متعلق به تیمار سوم بوده که دریافت‌کننده ۱۰ میلی‌گرم فلووکسامین در ازای هر کیلوگرم از وزن می‌باشد. علت بالا بودن شاخص گنادی را می‌توان این گونه استدلال کرد که مواد تشکیل دهنده زرده تخم(ویتلوژنین) که یک گلیکوفسفوپروتئین است در کبد ساخته شده و با تکامل تخمک به تدریج از طریق جریان خون وارد اووسیت شده و موجب افزایش قطر تخمک می‌شود. رشد اووسیت‌ها وابسته به جذب گلیکولیپوفسفوپروتئین یا ویتلوژنین است، که پیش‌ساز زرده می‌باشد. با بلوغ جنسی، زرده‌سازی با منشا کبدی آغاز می‌شود که به موجب آن سطوح پلاسمایی استرادیول و ویتلوژنین به همراه درصد HSI به تدریج صعود می‌کنند، لذا از این متغیرها می‌توان جهت اثبات بلوغ گنادی استفاده کرد. چن و همکاران دریافتند که داروی فلوکستین موجب افزایش شاخص هپاتوسوماتیک می‌شود(۱۹).

ردینگ و همکاران نشان دادند که ویتلوژنین در پاسخ به هورمون ۱۷- بتا استرادیول در کبد سنتز می‌گردد(۲۰). ویتلوژنین پس از این که از هپاتوسیت‌ها به جریان خون ترشح شد از طریق لایه‌های فولیکولی که اووسیت را احاطه کرده اند، عبور می کند. آن‌ها با تمایل بالا به رسپتورهای ویتلوژنینی در سطح اووسیت‌ها متصل شده و از طریق پدیده اندوسیتوز به داخل سلول راه می‌یابد. مشاهده شده است که هم‌زمان با افزایش قطر فولیکول‌ها، جذب ویتلوژنین نیز افزایش می‌یابد. هم‌چنین افزایش وزن گناد با افزایش مقدار هورمون‌های استروئیدی مرتبط است که این امر به علت افزایش ویتلوژنین در گناد است(۲۱).

در نتایج حاصل از هورمون سنجی مشاهده شد که میزان هورمون‌های استرادیول، تستوسترون و پروژسترون در گروه کنترل بروموکریپتین نسبت به گروه‌های کنترل دست نخورده و حلال کاهش پیدا کرد که می‌تواند نشان دهنده مهار محور هیپوتالاموس هیپوفیز گناد به وسیله داروی بروموکریپتین باشد. در تحقیقات پیشین مشاهده شده داروی بروموکریپتین موجب مهار تکثیر سلول در هیپوفیز قدامی‌موش‌های نر می‌شود و هم‌چنین داروی پیموزاید(که برخلاف بروموکریپتین، آنتاگونیست دوپامین است) فرآیندهای میتوزی در هیپوفیز قدامی‌را افزایش می‌دهد(۲۲). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که کاهش هورمون ۱۷- بتا استرادیول در گروه کنترل بروموکریپتین به دلیل مهار محور HPG از هیپوفیز می‌باشد. در تیمارهای دریافت کننده فلووکسامین و بروموکریپتین

میزان هورمون ۱۷ـ بتا استرادیول نسبت به گروه کنترل بروموکریپتین بسیار افزایش یافته که نشان دهندهامکان حضور گیرنده تحریکی سرتونین در سطوح پایینی محور HPG است. علاوه بر آن امکان وجود مسیر دیگری نیز در مغز که با افزایش سروتونین منجر به افزایش سطح این هورمون شده باشد وجود دارد. در تحقیقی که بر روی صدف *Zebra mussle Dreissena polymorpha* به وسیله لازارا و همکاران انجام شد، یافتهها حاکی از آن بود که با القای داروی فلوکستین به محیط پرورش این صدف میزان تخمریزی و هورمون استرادیول در این جانور افزایش مییابد(۲۳). سعد و همکاران با بیان این موضوع که بروز علایم افسردگی در زنان یائسه به دلیل کاهش سطح استرادیول است، اثر داروی ونلافاکسین را بر روی میزان استرادیول موش ماده بررسی کردند و مشاهده شد که میزان استرادیول خون با مصرف خوراکی ونلافاکسین در موش ماده افزایش پیدا میکند(۲٤).

میزان هورمون تستوسترون در تیمارهای دریافت کننده فلووکسامین بالاتر از کنترل بروموکریپتین بوده، ولی این سه مقدار کمتر از میزان هورمون تستوسترون در گروههای کنترل حلال و دست نخورده است. این مسئله میتواند نشان دهندهتبدیل زیاد تستوسترون به ۱۷ـ بتا استرادیول به وسیله آنزیم آروماتاز باشد که باعث کاهش سطح تستوسترون نسبت به گروه کنترل شده است. منینگن و همکاران بر روی گلد فیش ماده انجام دادند مشاهده کردند داروی فلوکستین که یک داروی SSRI است، باعث کاهش سطح تستوسترون نسبت به گروه کنترل در این جنس شد، همچنین فعالیت آنزیم آروماتاز تشدید شد(۲۵).

یافتهها حاکی از آن است که هورمون پروژسترون القا کنندهی بلوغ نهایی است به طوری که بیشترین مقدار آن همزمان با تجزیه هسته زاینده، به هم پیوستن قطرات چربی و حل شدن دانههای زرده مشاهده شد(۲٦). در بررسی نمودار هورمون سنجی هورمون پروژسترون مشاهده شد میزان این هورمون در گروه کنترل بروموکریپتین به شدت کاهش یافته که نشان از بلاک مسیر HPG به وسیله داروی بروموکریپتین است. بیشترین مقدار این هورمون در دوز بالای فلووکسامین(۱۰ میلیگرم بر کیلوگرم وزن بدن) و بروموکریپتین دیده شد، همچنین روند نمودار هورمون سنجی هورمون پروژسترون در تیمارهای دریافت کننده فلووکسامین به ترتیب افزایش دوز(۱، ٥ و ۱۰ میلیگرم بر کیلوگرم وزن ماهی) روندی صعودی بوده که میتوان فرض این پژوهش را تصدیق کرد که داروی سروتونرژیک فلووکسامین موجب افزایش سطح هورمون پروژسترون پس از القای دوپامین شده است. همچنین میتوان دریافت که تحریک تخمدان به وسیله فلووکسامین احتمالاً وابسته به دوز میباشد و که این مسئله بیانگر این است که امکان حضور گیرنده سروتونین از نوع تحریکی در سطوح پایینی محور HPG وجود دارد. بادیس و

همکاران نشان دادند که سروتونین می‌تواند موجب افزایش سطح پروژسترون در انسان شود(۲۷).

از بهترین روش‌ها برای تشخیص مراحل تکوین و بلوغ جنسی در جانوران مشاهده ریخت‌سنجی بافت به وسیله میکروسکوپ نوری است. ریخت‌سنجی بافتی به اندازه‌گیری بافت‌ها و اجزای مختلف موجود در آن پرداخته و در حقیقت محاسبه کمی‌تغییرات بافت‌ها و اجزای تشکیل دهنده آن‌ها را با استفاده از تصاویر دو بعدی ممکن می‌سازد(۲۸). در طی بررسی با میکروسکوپ نوری مشاهده شد داروی فلووکسامین در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن پس از مهار مسیر HPG به وسیله داروی بروموکریپتین، قادر به تحریک مجدد تخمدان شده و اغلب اووسیت‌ها در مرحله ویتلوژنز به سر می‌برند، در نتیجه امکان وجود گیرنده‌های سروتونین در سطوح پایین این محور وجود دارد. میزان بلوغ تخمدان در تیمار سوم بیشتر از دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن است و همچنین میزان بلوغ در دوز ۵ میلی‌گرم بیشتر از دوز یک میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن است. دوفور و همکاران نشان دادند که با تزریق داروی آگونیست دوپامین به ماهی، محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- گناد بلاک شده و اووسیت‌های تخمدان عمدتاً در مرحله ی پیش هستکی مانده‌اند(۲۹).

در این پژوهش، مدل انتخابی ماهی گورامی سه خال در نظر گرفته شد که با این که شبیه‌ساز مناسبی برای انسان است، اما پیشنهاد می‌شود این پژوهش بر روی مدل انسانی نیز انجام شود. همچنین، با توجه به مصرف خوراکی داروهای فلووکسامین و بروموکریپتین و استفاده از این داروها به صورت تزریقی در این پژوهش، توصیه می‌شود تا مدل حیوانی به مایس یا هر مدلی که قدرت بلع دارو را دارد، تغییر کند. همچنین با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش، بررسی رسپتورهای سروتونرژیک سطح تخمدان در ماهی گورامی‌سه خال و سایر موجودات جهت تأیید مطلب پیشنهاد می‌شود.

نتیجه‌گیری

با توجه به یافته‌های حاصل از این پژوهش ، آنالیز نمودارهای شاخص گنادی ، هورمون ۱۷ــ بتا استرادیول ، تستوسترون و پروژسترون، می‌توان نتیجه گرفت که داروی بروموکریپتین باعث بلاک محور HPG شده و داروی فلووکسامین باعث تحریک دوباره‌ی مسیر GnRH شد که این تحریک احتمالاً به دلیل وجود گیرنده‌های سروتونین بر روی گناد است. تحریک داروی فلووکسامین در هورمون‌های ۱۷ــ بتا استرادیول و پروژسترون وابسته به دوز بود، اما در رابطه با تستوسترون افزایش دوز بی‌تأثیر بود. همچنین تصاویر میکروسکوپ نوری از این پژوهش نشان داد که در دوز ۱۰میلی‌گرم بر کیلوگرم از داروی فلووکسامین، بافت تخمدان به شدت تحریک شده و اووسیت‌ها در مرحله‌ی ویتلوژنز به سر

می‌بردند، کـه مـی‌تـوان نتیجـه گرفـت امکـان حضـور گیرنده سروتین از نوع تحریکی در بخـش‌هـای پـایینی محورHPG(گناد) وجود دارد.

تقدیر و تشکر

این مقاله بر گرفتـه از پایـان نامـه دانشـجویی مقطع دکترای رشته داروسازی دانشگاه آزاد اسـلامی با کد اخلاقIR.IAU.PS.REC.1397.376 مـی‌باشـد، بـدین وسیله نویسندگان مقاله از پرسـنل آزمایشـگاه فـیش لب زیبا کلویی کمال تشکر و قدردانی را می‌نمایند.

REFERENCES

1.Rosenberg KP, Bleiberg KL, Koscis J, Gross C. A survey of sexual side effects among severely mentally ill patients taking psychotropic medications: impact on compliance. Journal of Sex & Marital Therapy 2003; 29(4): 289-96.
2.Melis MR, Argiolas A. Dopamine and sexual behavior. Neuroscience & Biobehavioral Reviews 1995; 19(1): 19-38.
3.Lydon JP, DeMayo FJ, Funk CR, Mani SK, Hughes AR, Montgomery CA, et al. Mice lacking progesterone receptor exhibit pleiotropic reproductive abnormalities. Genes & Development 1995; 9(18): 2266-78.
4.Chen H, Guo JH, Lu YC, Ding GL, Yu MK, Tsang LL, et al. Impaired CFTR-dependent amplification of FSH-stimulated estrogen production in cystic fibrosis and PCOS. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 2012; 97(3): 923-32.
5.McLachlan RI, Dahl KD, Bremner WJ, Schwall R, Schmelzer CH, Mason AJ, et al. Rccombinant human activin-A stimulates basal FSH and GnRH-stimulated FSH and LH release in the adult male macaque, *Macaca fascicularis*. Endocrinology 1989; 125(5): 2787-9.
6.Liu X, Herbison AE. Dopamine regulation of gonadotropin-releasing hormone neuron excitability in male and female mice. Endocrinology 2013; 154(1): 340-50.
7.Davis LM, Michaelides M, Cheskin LJ, Moran TH, Aja S, Watkins PA, et al. Bromocriptine administration reduces hyperphagia and adiposity and differentially affects dopamine D2 receptor and transporter binding in leptin-receptor-deficient Zucker rats and rats with diet-induced obesity. Neuroendocrinology 2009; 89(2): 152-62.
8.Tandberg E, Larsen JP, Aarsland D, Laake K, Cummings JL. Risk factors for depression in Parkinson disease. Archives of Neurology 1997; 54(5): 625-30.
9.Nozawa K, Kawabata-Shoda E, Doihara H, Kojima R, Okada H, Mochizuki S, et al. TRPA1 regulates gastrointestinal motility through serotonin release from enterochromaffin cells. Proceedings of the National Academy of Sciences 2009; 106(9): 3408-13.
10.Sirotkin AV, Schaeffer HJ. Direct regulation of mammalian reproductive organs by serotonin and melatonin. Journal of Endocrinology 1997; 54(1):1-5.
11.Jacobsen NW, Hansen CH, Nellemann C, Styrishave B, Halling-Sørensen B. Effects of selective serotonin reuptake inhibitors on three sex steroids in two versions of the aromatase enzyme inhibition assay and in the H295R cell assay. Toxicology in Vitro 2015; 29(7): 1729-35.
12.Westenberg HG, Sandner C. Tolerability and safety of fluvoxamine and other antidepressants. International Journal of Clinical Practice 2006; 60(4): 482-91.
13.Bagheri Ziari S, Naji T, Hosseinzade Sahafi H. Comparison and evaluation the ultra-structural changes in the oocyte and pituitary in immature *Trichogaster trichopterus* treated with LHRH-A2, 17beta-estradiol and hydroalcoholic extract of air branch of *Origanum vulgare*. Nova Biologica Reperta 2015; 2(2): 131-9.
14.Swanson P. Regulation of gametogenesis in fish by gonadotropins. InHigh Performance Fish: Proceedings of an International Fish Physiology Symposium 1994; 24: 130-6.
15.Charan J, Biswas T. How to calculate sample size for different study designs in medical research. Indian Journal of Psychological Medicine 2013; 35(2): 121.
16.Rehavi M, Attali G, Gil-Ad I, Weizman A. Suppression of serum gonadal steroids in rats by chronic treatment with dopamine and serotonin reuptake inhibitors. European Neuropsychopharmacology 2000; 10(3): 145-50.
17.Price AK, Bridges RS. The effects of bromocriptine treatment during early pregnancy on postpartum maternal behaviors in rats. Developmental psychobiology 2014; 56(6): 1431-7.
18.Fountoulakis N, Magda Tsolaki, Aristides Kazis K. Target symptoms for fluvoxamine in old age depression. International Journal of Psychiatry in Clinical Practice 2000; 4(2): 127-34.
19.Chen H, Zeng X, Mu L, Hou L, Yang B, Zhao J, et al. Effects of acute and chronic exposures of fluoxetine on the Chinese fish, topmouth gudgeon Pseudorasbora parva. Ecotoxicology and Environmental Safety 2018; 160: 104-13.
20. Redding JM, Patino R, Evans DH. Reproductive Physiology: The Physiology of Fishes 1993: 503-34.
21.Imanpoor MR, Safari R. Effect of maturation stages on gonadal indices and Chemical composition of gonad in Cyprnius carpio (Cyprinidae). J Agric Sci Natur Resour 2009; 16(1): 35-41.

22.Stępień H, Wolaniuk A, Pawlikowski M. Effects of pimozide and bromocriptine on anterior pituitary cell proliferation. Journal of Neural Transmission 1978; 42(3): 239-44.
23.Lazzara R, Blázquez M, Porte C, Barata C. Low environmental levels of fluoxetine induce spawning and changes in endogenous estradiol levels in the zebra mussel *Dreissena polymorpha*. Aquatic Toxicology 2012; 106: 123-30.
24.Saad MA, El-Sahar AE, Sayed RH, Elbaz EM, Helmy HS, Senousy MA. Venlafaxine mitigates depressive-like behavior in ovariectomized rats by activating the EPO/EPOR/JAK2 signaling pathway and increasing the serum estradiol level. Neurotherapeutics 2019; 16(2): 404-15.
25.Mennigen JA, Zamora JM, Chang JP, Trudeau VL. Endocrine disrupting effects of waterborne fluoxetine exposure on the reproductive axis of female goldfish, *Carassius auratus*. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology 2017; 202: 70-8.
26.Ortiz-Delgado JB, Porcelloni S, Fossi C, Sarasquete C. Histochemical characterisation of oocytes of the swordfish *Xiphias gladius*. Scientia Marina 2008; 72(3): 549-64.
27.Bódis J, Török A, Tinneberg HR, Hanf V, Hamori M, Cledon P. Influence of serotonin on progesterone and estradiol secretion of cultured human granulosa cells. Fertility and Sterility 1992; 57(5): 1008-11.
28.Abpeikar Z, Lohrasbi P, Mosefi MZ. The comparison of dill seed and leaf aqueous extracts (Anethum graveolens L.) on histomorphometrical changes of rat uterus and ovaries. Journal of Animal Research(Iranian Journal of Biology) 2015; 28: 116-24.
29.Dufour S, Weltzien FA, Sebert ME, Le Belle N, Vidal B, Vernier P, et al. Dopaminergic inhibition of reproduction in teleost fishes: ecophysiological and evolutionary implications. Annals of the New York Academy of Sciences 2005; 1040(1): 9-21.

The Effect of Fluvoxamine on Sex Hormone Levels and Ovarian Histology in *Trichogaster trichopterus* after Bromocriptine Injection

Rashidpour SH[1], Naji T[1*], Hosseinzadeh Sahafi H[2]

[1]Department of Basic Sciences, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran, [2]Institute of Fisheries Research, Agricultural Education and Extension Research Organization, Tehran, Iran

Received: 20 Jun 2020 Accepted: 14 Oct 2020

Abstract

Background & aim: The effect of drugs on different receptors causes the effect as well as side effects of the drug. For example, dopamine drugs, in addition to their anti-Parkinsonian effects, block the upper parts of the hypothalamic-pituitary-gonad axis and cause infertility. Therefore, the aim of this study was to determine the effect of fluvoxamine on sex hormone levels and ovarian histology in guar gum after injection of bromocriptine.

Methods: In the present basic study conducted at Islamic Azad University in 2020, 90 fish with an average weight of 1.3 g were prepared from the female fish breeding center located in Damavand. The fish were divided into 6 groups of 15 including three intact control groups: solvent (70% ethanol) and bromocriptine and 3 treatments of bromocriptine and fluvoxamine at doses of 1, 5 and 10 mg / kg body weight of fish. The injection was given intramuscularly and intramuscularly and under the dorsal fin, so that the day after injection of 5 mg / kg bromocriptine, fluvoxamine was injected in specific doses and this process continued. 20 days after injection, their ovaries were dissected and isolated for biometrics and light microscopy. Tissue hormones 17-beta-estradiol, testosterone and progesterone were measured using a special kit using tissue fluids. The collected data were analyzed using SPSS software (version 23) and one-way ANOVA and Duncan tests. Excel 2016 software was used to draw the charts.

Results: The results of Estradiol and Progesterone and Gonadal index revealed that the groups receiving Fluvoxamine and Bromocriptine had a significant difference with the control group ($P \leq 0.05$), and this difference was dose dependent. The results turned out that the levels of these hormones decreased in Bromocriptine control group and increased in Fluvoxamine-receiving treatments. Light microscopy images showed that the ovarian development stage in intact control and solvent control is commonly Cortical stage, but these cells remain in the primary and secondary prenuclear stage in the control group of Bromocriptine. Also in highest dose of fluvoxamine (10mg/kg.Bw) Oocytes are in the vitellogenesis stage and the gonadal index was at its highest. It can be concluded that Bromocriptine blocks the HPG axis while Fluvoxamine restimulates it, therefore there was a possibility of the presence of Serotonin receptors on the gonadal surface.

Conclusion: It can be concluded that bromocriptine causes blockade of HPG axis and fluvoxamine re-stimulates the GnRH pathway, so that the ovary in the treatment receiving the highest dose of fluvoxamine was predominantly in the vitellogenesis index and more it was its value, so it is possible for the serotonin receptor to be present on the gonadal surface.

Keywords: Bromocriptine, Fluvoxamine, three spot Gourami Fish, Hypothalamic-pituitary-gonadal axis, sex hormones

***Corresponding author:** Tahereh Naji, Department of Basic Sciences, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
Email: tnaji2002@gmail.com

Please cite this article as follows:
Rashidpour SH, Naji T, Hosseinzadeh Sahafi H. The Effect of Fluvoxamine on Sex Hormone Levels and Ovarian Histology in *Trichogaster trichopterus* after Bromocriptine Injection. Armaghane-danesh 2020; 25(6): 746-762.