فصلنامه علمی زیست‌شناسی کاربردی دانشگاه الزهرا(س)
دوره ۳۴، شماره ۲، پیاپی ۶۸، تابستان ۱۴۰۰، ص ۱۲۹-۱۴۵
نوع مقاله: مقاله پژوهشی

The Quarterly Scientific Journal of Applied Biology
Vol.34, No.2, Ser. 68, Summer 2021, p. 129-145
Article type: Research paper

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۹/۵

وب سایت نشریه: https://jab.alzahra.ac.ir
10.22051/JAB.2020.29585.1342

بررسی اثر داروی اس‌سیتالوپرام بر تغییرات استروئیدهای جنسی و فراساختار اووسیت در ماهی گورامی سه خال پس از افزایش سطح دوپامین با تزریق بروموکریپتین

مناسادات حسینی‌جبلی[۱]، طاهره ناجی*[۱]، همایون حسین‌زاده صحافی[۲]

چکیده

مطالعات نشان داده است که شناخت مسیرهای اثرگذاری نوروترنسمیترهای عصبی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. دوپامین نوروترنسمیتری است که اثر آن بر گیرنده ی نوع دوم دوپامین در مغز منجر به بلاک محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد(HPG) و اختلالات جنسی می شود. در این پژوهش بررسی اثر داروی سروتونرژیک اس‌سیتالوپرام بر سیستم تولیدمثل ماهی گورامی سه خال پس از القای دوپامین با تزریق بروموکریپتین به‌عنوان هدف انتخاب شده است. تعداد ۹۰ قطعه ماهی گورامی سه خال ماده با میانگین وزنی ۱ ±۳ گرم از مرکز پرورش ماهیان دماوند تهیه شد. ماهی‌ها در شش گروه ۱۵تایی قرار گرفتند:گروه کنترل دست‌نخورده، کنترل حلال (اتانول ۷۰°) کنترل بروموکریپتین و سه گروه تیمار که دریافت کننده‌ی بروموکریپتین و اس‌سیتالوپرام در سه دوز ۱،۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی آزمایشات با۳بار تکرار بودند. تزریق به صورت عضلانی(IM) و یک روز در میان صورت گرفت. سپس ماهی ها تشریح شدند و بافت تخمدان برای بررسی با میکروسکوپ نوری و الکترونی جداسازی شد.پس از تهیه‌ی مایعات بافتی هورمون‌های استروئیدی به روش Elisa اندازه‌گیری شد. با توجه به نتایج به دست آمده از ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی از داروی اس‌سیتالوپرام به همراه بروموکریپتین، که مرحله ی غالب ویتلوژنز بود و شاخص گنادی و هورمون‌های استروئیدی در بیشترین مقدار خود بود می‌توان نتیجه گرفت که امکان حضور گیرنده سروتونین در سطوح پایینی محور HPG وجود دارد. این نوع از گیرنده می تواند در آینده به عنوان هدف دارویی برای بارور کردن جنس ماده مورد مطالعه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: تخمدان، دوپامین، سروتونین، گنادوتروپین

۱- گروه علوم پایه، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
*(نویسنده مسئول: naji_t@iaups.ac.ir/ tnaji2002@gmail.com)
۲- موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

مقدمه

نورون‌ها سلول‌های بسیار فعالی هستند و فرآورده‌های آن‌ها در سوخت و ساز و ایجاد ارتباط بین نورون ها و کارکردهای مختلف مانند حالات روانی، یادگیری و تولید مثل نقش اساسی دارند. هورمون آزاد کننده ی گنادوتروپین در نورون های واقع در هیپوتالاموس ساخته و از همان نورون ها نیز آزاد می شود و بر ساخت و آزاد سازی هورمون لوتئینی کننده (LH) و نیز محرک فولیکولی (FSH) از هیپوفیز اثر گذار است (Wada *et al.*, 2006). این دو هورمون بر میزان ساخت و ترشح هورمون های جنسی مانند پروژسترون، استرادیول و تستوسترون مؤثر هستند که وجود این سه هورمون در فرآیند بارور شدن جنس ماده بسیار مهم است به طوری که فقدان و یا کمبود این هورمون ها منجر به عدم باروری خواهد شد (Lydon *et al.*, 1995). ارگان‌های درگیر در این فرآیند، تشکیل دهنده‌ی محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد (HPG) هستند. می‌توان گفت اثر مهار بر سیستم تولید مثلی توسط دوپامین در سطوح بالای این محور است . لذا دوپامین در شبکه ی عصبی نقش سرکوب‌گر تولید مثلی را دارد در عین حال که با آزادسازی و تعدیل استروئیدها از گناد ارتباط مستقیم ندارد (Liu & Herbison, 2013) بروموکریپتین یک آگونیست گیرنده‌ی دوپامین نوع دوم است که به خوبی از سد خونی-مغزی عبور کرده و منجر به بلاک مسیر HPG خواهد شد (Davis *et al.*, 2009). سروتونین یا هیدروکسی تریپتامین نام ماده ی شیمیایی مهمی است که به عنوان انتقال دهنده ی عصبی عمل می‌کند. این ماده در سیستم عصبی مرکزی، پلاکت های خون و دستگاه گوارش وجود دارد. تحقیقات نشان می‌دهد که ۹۰درصد سروتونین در سلول های انتروکرومافین که به‌صورت پراکنده در غشای دستگاه گوارش موجودند، متمرکز است و درنتیجه این امر تحرکات روده تنظیم می‌شود. مقدار کمتری از سروتونین با شبکه عصبی سروتونرژیک سیستم اعصاب مرکزی سنتز شده و کارکردهای گوناگونی دارد. این کارکردها شامل تنظیم حالات روحی، اشتها و خواب می باشد. گیرنده های سروتونین (۵ HydroxyTryptamine Receptor) در بخش مرکزی و محیطی سیستم عصبی پراکنده‌اند. این گیرنده ها به هفت دسته از لحاظ ساختار تقسیم می شوند که تحریکی یا مهاری هستند. سروتونین اثر تحریکی بر روی مسیر HPG از طریق فسفولیپاز گاما ۱ در سلول های هیپوتالاموس می گذارد. SSRIها[1] (داروهای مهارکننده انتخابی بازجذب سروتونین) دسته‌ای از داروها هستند که در درمان افسردگی و اضطراب در کودکان و بزرگسالان استفاده می‌شوند (Jacobsen *et al.*, 2015). SSRIها با مهار بازجذب سروتونین موجب افزایش آن در بدن می‌شوند. در بین دارو های SSRI دارو های اس‌سیتالوپرام، سیتالوپرام، فلووکسامین و سرترالین بر گیرنده های غیر سروتونینی کمترین اثر را می گذارند و می‌توان گفت فقط ناقل سروتونین هستند و اثرات چندگانه بر سیستم اعصاب مرکزی (CNS) نمی‌گذارد (Bhattarai *et al.*, 2014).

[1] Selective Serotonin Reuptake Inhibitors

ماهی گورامی سه خال با نام علمی *Trichogaster trichopterus* و اسامی عمومی Three spot Gourami، Blue Gourami از خانواده *Anabantidae* و بومی جنوب شرق آسیا (زیستگاه اصلی آن کامبوج، تایلند، لائوس و ویتنام) است. علت استفاده از ماهی گورامی سه خال به عنوان مدل در مطالعات اندوکرینی شباهت زیاد محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد آن با انسان، نگه‌داری آسان و مقرون به صرفه بودن است(Bagheri *et al.*, 2015). از هورمون‌های مؤثر در این محور گنادوتروپین‌ها هستند که از سلول‌های گنادوتروپ در هیپوفیز قدامی ترشح می‌شوند. این هورمون‌ها با تحریک سنتز ویتلوژن کبدی و تولید ۱۷-بتا استرادیول در سلول‌های گرانولوز سبب رشد و بلوغ تخمک و باروری می‌شوند (Swanson, 1994). در واقع افزایش هورمون های بخش پایینی محور HPG شامل ۱۷-بتا استرادیول، پروژسترون و تستوسترون نشان دهنده ی افزایش فعالیت جنسی در ماهی خواهد بود (Greenberg & Wingfield, 1987). مطالعه‌ی نسبت وزنی گناد به وزن کل ماهی (GSI) می‌تواند به عنوان شاخص تخم ریزی ماهی مطرح گردد و این تغییرات در ماهیان ماده معمولا بیشتر است. برای بررسی آثار هر عامل داخلی و یا خارجی مؤثر بر روند بلوغ نیز از شاخص هایی نظیر HSI می توان بهره برد(Hismayasari *et al.*, 2015).

شناخت مسیر های فارماکولوژی از اهمیت بالایی برخوردار است. بسیاری از بیماران دریافت کننده ی داروهای دوپامینی (مثل مبتلایان به فیبرومیالژیا) از عوارض دارو از جمله اختلالات جنسی رنج می برند(Melis & Argiolas, 1995). حضور گیرنده ی سروتونین در سطوح پایینی محور HPG می تواند برای اهداف بعدی مورد توجه قرار گیرد. در این پژوهش با مهار سطوح بالاتر محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد توسط داروی دوپامینرژیک بروموکریپتین ، اثرات داروی سروتونرژیک اس سیتالوپرام بر سطوح پایین‌تر این محور بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

تعداد ۹۰ قطعه ماهی گوارمی سه خال ماده با میانگین وزنی ۱±۳ گرم در تاریخ مرداد ماه ۱۳۹۸ از مرکز پرورش ماهی خانماهی دماوند خریداری شد. ماهی‌ها به صورت تصادفی به ۶ گروه شامل گروه کنترل دست نخورده ،گروه کنترل حلال(تزریق با اتانول۷۰º)، گروه کنترلB(بروموکریپتین) و ۳گروه تیمار با ۱ ،۵ و ۱۰میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی از داروهای اس‌سیتالوپرام و ۱ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی از داروی بروموکریپتین و هرگروه شامل ۱۵ قطعه ماهی گورامی سه خال در آکواریوم های شیشه‌ای رهاسازی شدند. برای تمامی آکواریوم ها هر ۲۴ساعت یک بار وضعیت سلامت ماهی‌ها، دمای آب و pH محیط صورت گرفت.که دمای آب در طول آزمایش ۴± ۲۲ وpH آب ۱±۶ ثبت گردید.

برای تهیه‌ی محلول‌های دارویی برای تزریق، مقدار ۲ گرم از پودر خالص ماده‌ی مؤثره‌ی داروی بروموکریپتین و اس‌سیتالوپرام از شرکت داروسازی ایران‌هورمون و عبیدی خریداری شد. پس از تعیین وزن ماهیان و محاسبه‌ی 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 گروه های تیمار اس‌سیتالوپرام با سه دوز ۱، ۵ و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی(جدول ۱) با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم وزن شد. سپس پودر وزن شده برای هر تیمار در ۵ میلی لیتر اتانول ۷۰ درجه به عنوان حلال حل شد. در نهایت محلول آماده ی تزریق تیمارها در ظروف شیشه‌ای کوچک در بسته نگه‌داری شد. برای بیهوش نمودن ماهیان از عصاره‌ی گل میخک استفاده شد (سلطانی و همکاران ،۱۳۸۰). برای تزریق از سرنگ انسولین به مقدار ۰/۰۱ میلی لیتر 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 گردید.تزریق حلال(اتانول۷۰º)، دارو های بروموکریپتین و اس سیتالوپرام به مدت ۲۰ روز، یک روز درمیان (بلاک محور HPG با داروی بروموکریپتین در یک روز) و روز بعد داروی اس سیتالوپرام و به همین ترتیب انجام شد آزمایشات ۳ بار تکرار شد. پس از پایان تزریق به مدت ۱ روز هیچ فعالیتی بر روی ماهی ها صورت نگرفت و بعد از آن تشریح ماهی ها آغاز گردید

جدول ۱: غلظت های مختلف داروی بروموکریپتین و اس سیتالوپرام در ماهی گورامی سه خال

ردیف	تیمار	غلظت تزریقی (میلی‌گرم /کیلوگرم وزن بدن)
تیمار ۱	کنترل دست نخورده	-
تیمار ۲	کنترل حلال(تزریق با اتانول ۷۰ درجه)	-
تیمار ۳	کنترل B (بروموکریپتین)	1mg/kg.bw
تیمار ۴	اس سیتالوپرام/بروموکریپتین	1mg/kg.bw B-1mg/kg.bw Es
تیمار ۵	اس سیتالوپرام/بروموکریپتین	1mg/kg.bw B-5mg/kg.bw Es
تیمار ۶	اس سیتالوپرام/بروموکریپتین	1mg/kg.bw-10mg/kg.bw Es

B نشان‌دهنده‌ی داروی بروموکریپتین و Es نشان‌دهنده‌ی داروی داروی اس‌سیتالوپرام است.

در روز بیست و دوم ماهی‌ها تشریح و کبد و تخمدان ماهی‌ها جدا شدند و هرکدام جداگانه روی ترازوی دیجیتال وزن گردیدند. بافت تخمدان برای بررسی با میکروسکوپ نوری در فرمالین ۱۰٪ 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 بریدن بافت از دستگاه Microtome مدل Leica ساخت کشور آلمان 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 ۱۰۰ درجه سانتی گراد گذاشته شدند تا پارافین آن‌ها ذوب و آب اضافه تبخیر شود تا عمل رنگ‌آمیزی بهتر صورت گیرد. برای رنگ‌آمیزی برش‌های بافتی از روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین_ائوزین (H&E) استفاده گردید. پس از آماده سازی لام‌ها، توسط میکروسکوپ نوری Nikon دارای مانیتور دیجیتالی از آن‌ها عکس‌برداری صورت گرفت.

برای تهیه گرید میکروسکوپ الکترونی ابتدا نمونه‌های تخمدان با استفاده از پنس و اسکالپل جدا گردید، سپس مراحل زیر برای مطالعه با میکروسکوپ الکترونی بر روی هر یک از نمونه‌ها صورت گرفت.

در فیکساسیون اولیه که به منظور حفظ ساختمان بافت زنده و جلوگیری از اتولیز صورت می‌گیرد، ابتدا هر کدام از نمونه‌های تخمدان در گلوتارآلدهید ۲/۵ درصد در دمای ۴ درجه به مدت یک ساعت قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها در زیر هود به محلول تتراکسید اسمیم به غلظت ۱/۵ درصد به مدت یک ساعت و نیم قرار گرفت. بعد از فیکساتیو اولیه برای حذف گلوترآلدهیدی که وارد واکنش نشده و درون بافت باقی مانده است، شستشو انجام می‌گیرد. شستشوی هر نمونه سه مرتبه و هر کدام به مدت ۵ دقیقه در بافر کاکودیلات سدیم ۰/۱ مولار صورت پذیرفت. سپس نمونه‌ها ۲ مرتبه با آب مقطر شسته شدند. رنگ‌آمیزی با محلول ۲ درصد آبی استات اورانیل به مدت ۲۰ دقیقه صورت گرفت.به منظور فیکساسیون ثانویه هر نمونه به مدت ۲۰ دقیقه در تتراکسید اسمیم ۱ درصد فیکس گردید. برای جایگزینی آب درون سلول به وسیله اتانول (۵۰، ۷۰ و ۹۵ درصد) آبگیری صورت پذیرفت. برای این که تمام قسمت‌های بافت به صورت جامد و سخت شکل گیرد، مرحله قالب‌گیری انجام گرفت، این کار به وسیله منومرهای اپوکسی رزین انجام شد که در ابتدا مایع هستند و در اثر حرارت و زمان پلیمریزه و سخت می‌شوند. سپس قالب‌ها در اتو با دمای ۶۰ درجه به مدت ۳-۲ روز گذاشته شد. سپس با دستگاه اولترامیکروتوم بر روی نمونه‌ی تخمدان برش‌هایی به ضخامت ۶۰-۵۰ نانومتر صورت گرفت. پس از آماده شدن نمونه‌ها بر روی صفحات مخصوص (گرید) برای بالا بردن کنتراست(رنگ‌آمیزی مثبت)، نمونه های تخمدان هر کدام را جداگانه در چاهک‌های مخصوص اورانیل استات به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق غوطه ور می‌کنیم و سپس آن‌ها را با پنس می‌گیریم و با آب مقطر شست و شو می‌دهیم. در انتها نیز گریدها با میکروسکوپ الکترونی مدل PHILIPS EM 208 S با ولتاژ ۷۰ کیلوولت و با مش مسی ۲۰۰ مورد مطالعه قرار گرفتند.

برای اندازه گیری سطوح هورمون های ۱۷-بتا استرادیول، تستوسترون، پروژسترون به علت کوچک بودن اندازه ی ماهیان امکان خونگیری فراهم نشد، لذا از بافت ماهی و روش هموژنایزر استفاده گردید، سپس مایعات بافتی توسط دستگاه سانتریفوژ یخچال دار با دور ۳۰۰ به مدت ۵ دقیقه جداسازی گردید. برای سنجش هورمون ها از کیت مخصوص و از روش Elisa استفاده شد.

شاخص گنادوسوماتیک[1] و هپاتوسوماتیک[2] برای ماهی‌ها به روش زیر محاسبه شد.

$$GSI=\frac{W.G}{W}\times 100 \qquad HSI=\frac{W.L}{W}\times 100$$

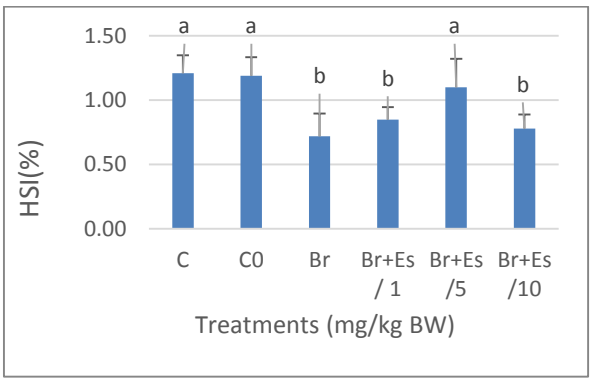
W.L = وزن کبد W.G = وزن تخمدان W = وزن کل بدن

[1] Gonadosomatic Index
[2] Hepatosomatic Index

برای تجزیه و تحلیل داده ها و بررسی میزان معنادار بودن اختلافات مشاهده شده در تیمار های مختلف از نظر شاخص گنادوسوماتیک، شاخص هپاتوسوماتیک و سنجش استروئید های خونی از نرم افزار SPSS و روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) و مقایسه میانگین توسط آزمون دانکن استفاده شد. برای ترسیم نمودار ها از نرم افزار Excel استفاده گردید.

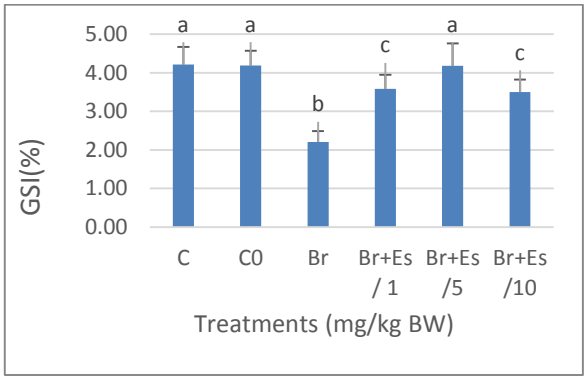
نتایج و بحث

نتایج حاصل از تغییرات شاخص گنادی (GSI) و شاخص کبدی (HSI) به شرح زیر است.



نمودار ۱: تغییرات شاخص هپاتوسوماتیک(HSI) در گروه‌های تیمار و کنترل (حروف مشابه به معنی عدم اختلاف در سطح معناداری ۰/۰۵است)

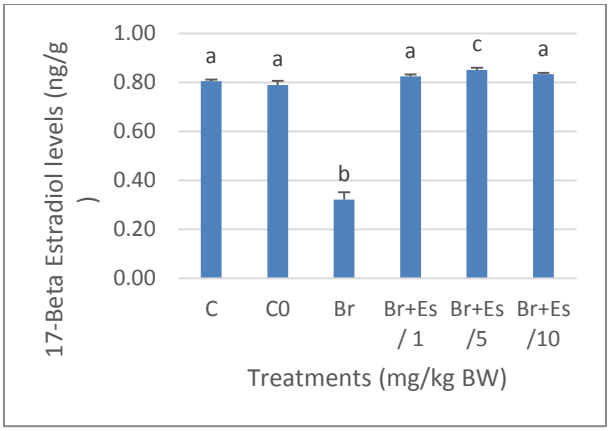
C نشان‌دهنده‌گروه کنترل دست نخورده، C0 نشان‌دهنده‌ی کنترل اتانول۷۰º، Br نشان‌دهنده‌ی کنترل بروموکریپتین، Es نشان‌دهنده‌ی داروی اس‌سیتالوپرام است که در سه دوز ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تزریق شده است.



نمودار۲: تغییرات شاخص گنادوسوماتیک (GSI) در گروه های تیمار و کنترل (حروف مشابه به معنی عدم اختلاف در سطح معناداری ۰/۰۵ است)

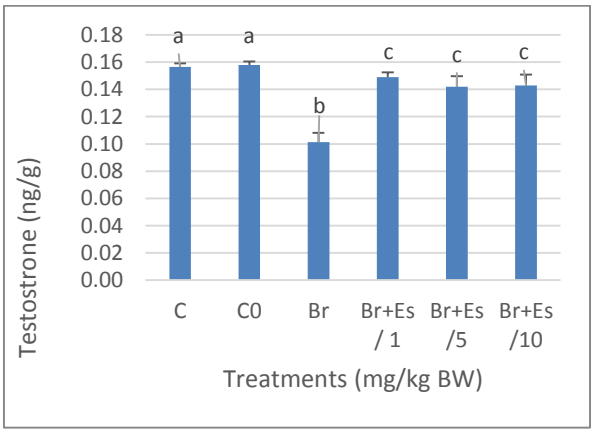
C نشان‌دهنده‌گروه کنترل دست نخورده، C0 نشان‌دهنده‌ی کنترل اتانول۷۰º، Br نشان‌دهنده‌ی کنترل بروموکریپتین، Es نشان‌دهنده‌ی داروی اس‌سیتالوپرام است که در سه دوز ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تزریق شده است.

نتایج هورمون های ۱۷-بتا استرادیول، تستوسترون و پروژسترون به شرح زیر است.



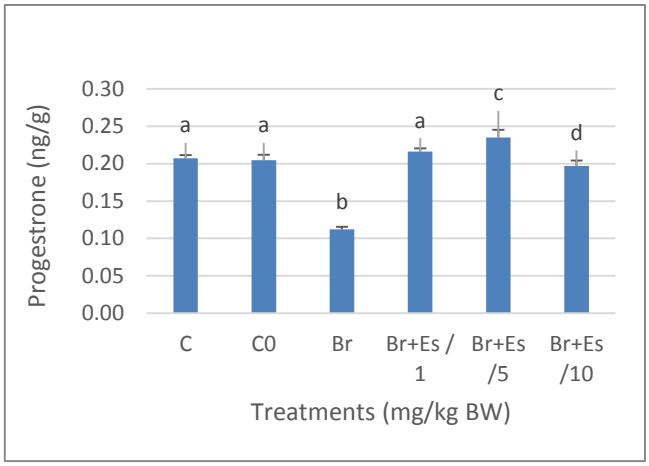
نمودار۳: تغییرات هورمون ۱۷-بتا استرادیول در تیمار های مختلف داروی اس‌سیتالوپرام در ماهی گورامی سه خال پس از مهار محور HPG (حروف مشابه به معنی عدم اختلاف در سطح معناداری ۰/۰۵است)

C نشان‌دهنده گروه کنترل دست نخورده، C0 نشان‌دهنده‌ی کنترل اتانول۷۰٪، Br نشان‌دهنده‌ی کنترل بروموکریپتین، Es نشان‌دهنده‌ی داروی اس‌سیتالوپرام است که در سه دوز ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تزریق شده است.



نمودار ۴: تغییرات هورمون تستوسترون در تیمارهای مختلف داروی اس‌سیتالوپرام در ماهی گورامی سه خال پس از مهار محور HPG (حروف مشابه به معنی عدم اختلاف در سطح معناداری ۰/۰۵است)

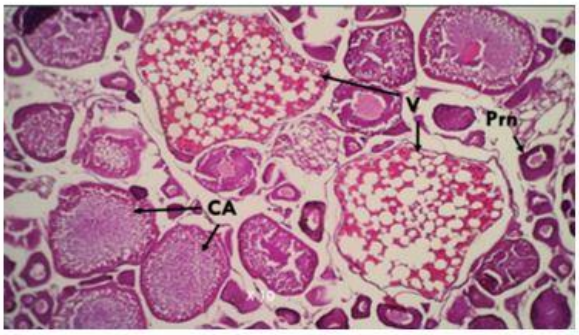
C نشان‌دهنده‌گروه کنترل دست نخورده، C0 نشان‌دهنده‌ی کنترل اتانول۷۰٪، Br نشان‌دهنده‌ی کنترل بروموکریپتین، Es نشان‌دهنده‌ی داروی اس‌سیتالوپرام است که در سه دوز ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تزریق شده است.



نمودار۵: تغییرات هورمون پروژسترون در تیمارهای مختلف داروی اس‌سیتالوپرام در ماهی گورامی سه خال ماده پس از مهار محور HPG (حروف مشابه به معنی عدم اختلاف در سطح معناداری ۰/۰۵است)

C نشان‌دهنده‌گروه کنترل دست نخورده، C0 نشان‌دهنده‌ی کنترل اتانول۹۷۰، Br نشان‌دهنده‌ی کنترل بروموکریپتین، Es نشان‌دهنده‌ی داروی اس‌سیتالوپرام است که در سه دوز ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تزریق شده است.

نتایج حاصل از میکروسکوپ نوری در هر تیمار به شرح زیر است.



شکل۱: مقطعی از بافت تخمدان ماهی کنترل صفر

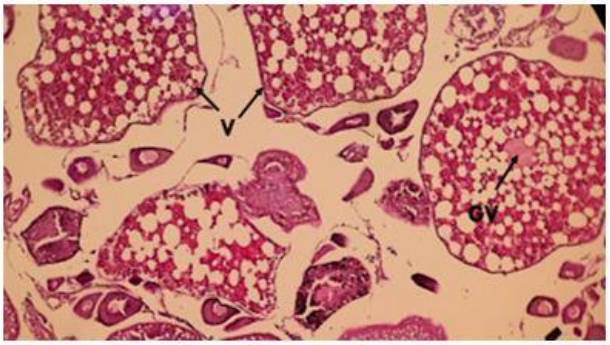
فاز غالب اووسیت ها در مرحله ی کورتیکال(CA)، تعدادی اوسیت در مرحله ی ویتلوژنز (V)، (H & E)، ۴۰×

شکل۲: مقطعی از بافت تخمدان ماهی گروه کنترل حلال (اتانول ۹۷۰)

فاز غالب اووسیت ها در مرحله کورتیکال، تعدادی اووسیت در مرحله پیش هستکی اولیه(Prn)، تعدادی اووسیت در مرحله ی ویتلوژنز(V)، (H&E)، ۴۰×

شکل۳: مقطعی از بافت تخمدان ماهی گروه بروموکریپتین

فاز غالب اووسیت ها در مرحله پیش هستکی ثانویه (Pon)، تعدادی اووسیت در مرحله پیش هستکی اولیه، (H & E)، ۴۰×

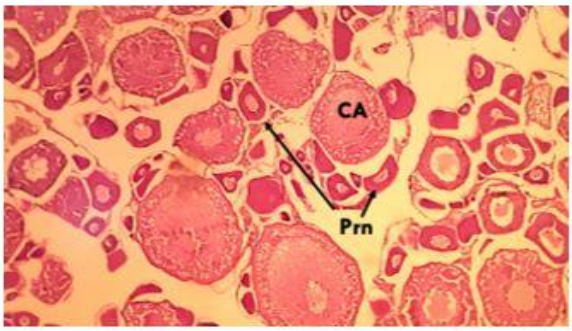


شکل۴: مقطعی از بافت تخمدان ماهی تیمار بروموکریپتین و اس‌سیتالوپرام دوز ۱ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن

اغلب اووسیت ها در مرحله ی ویتلوژنز (V) ، حرکت وزیکول زایا(GV) به سمت قطب جانوری، (H&E) ، ۴۰×

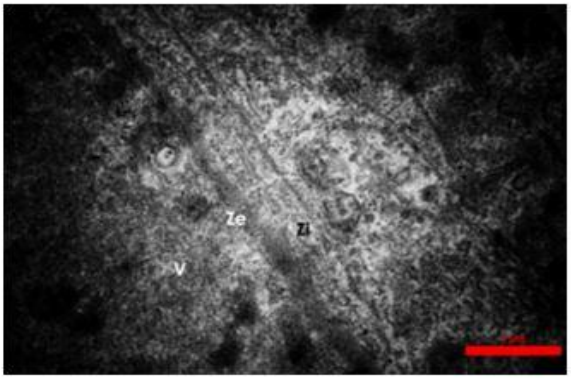
شکل۵: مقطعی از بافت تخمدان ماهی تیمار بروموکریپتین و اس‌سیتالوپرام دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن

اووسیت‌ها در مرحله ویتلوژنز، حرکت وزیکول زایا (GV) به سمت قطب جانوری، اتصال ذرات چربی (L)،(H&E)، ۴۰×



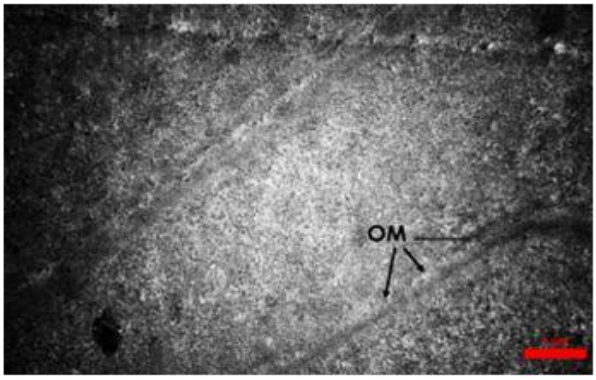
شکل۶: مقطعی از بافت تخمدان ماهی تیمار بروموکریپتین و اس‌سیتالوپرام دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن

حضور اووسیت‌ها در مرحله ی کورتیکال(CA)، حضور اووسیت ها در مرحله ی پیش هستکی اولیه(Prn)، (H&E)، ۴۰×



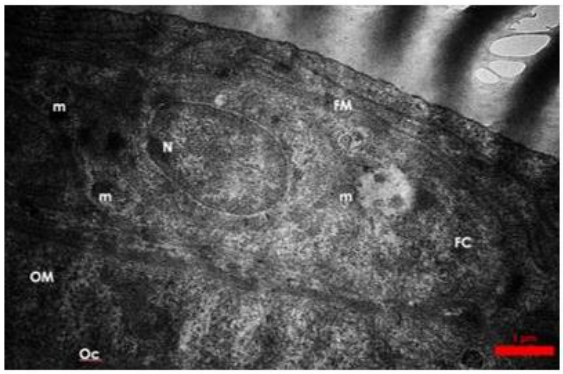
شکل۷: تصویر میکروسکوپ الکترونی از مقطعی از سلول تخمک در گروه کنترل دست‌نخورده

در این تصویر وزیکول(V) ، زونارادیاتای داخلی (Zi) ، زونارادیاتای خارجی (Ze) مشخص شده اند. (SCALE BAR:1µm)



شکل۸: تصویر میکروسکوپ الکترونی از مقطعی از سلول تخمک در گروه کنترل بروموکریپتین

در این تصویر غشای اووسیت (OM) مشخص شده است. (SCALE BAR:1µ)



شکل۹: تصویر میکروسکوپ الکترونی از مقطعی از سلول تخمک در تیمار بروموکریپتین و اس سیتالوپرام دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن

در این تصویر از داخل به خارج سلول اووسیت (OC) ، غشای اووسیت (OM) ، تعدادی میتوکندری(m)، هسته (N)، سلول فولیکولی(FC)، غشای فولیکول(FM) مشخص شده اند.(SCALE BAR:1µ)

مطالعه شاخص گونادوسوماتیک (GSI) که نسبت وزنی گناد به وزن کل ماهی است می‌تواند به عنوان شاخص تخم‌ریزی ماهی مطرح گردد و این تغییرات در ماهیان ماده معمولا بیشتر است. نتایج حاصل از شاخص گنادوسوماتیک حاکی از وجود اختلاف معنی دار میان گروه های تیمار دوز دوم اس‌سیتالوپرام و بروموکریپتین و گروه شاهد بروموکریپتین است ($P<0.05$). در گروه کنترل، میان گروه کنترل دست نخورده و کنترل حلال(تزریق با اتانول) اختلاف معنا داری از لحاظ شاخص گنادوسوماتیک و هپاتوسوماتیک وجود نداشت(نمودار ۱ و ۲) و این موضوع بیانگر این است که حلال مورد استفاده تأثیری بر این شاخص‌ها ندارد. بررسی نتایج شاخص گنادوسوماتیک میان گروه کنترل بروموکریپتین و تیمارهای بروموکریپتین و اس‌سیتالوپرام نشان داد که بین این دو گروه اختلاف معناداری دیده شد ($P<0.05$) که این مسئله بیانگر بلاک محور HPG توسط داروی بروموکریپتین است. با توجه به نتایج شاخص گنادوسوماتیک در تیمار دوز دوم داروی اس‌سیتالوپرام و بروموکریپتین شاخص گنادی در بیشترین مقدار خود می باشد (نمودار۲). علت بالا بودن شاخص گنادی در این تیمار را می توان چنین استدلال نمود که جذب زرده که یک گلیکولیپوفسفوپروتئین است و با تکامل تخمک به تدریج از طریق جریان خون وارد تخمک می‌شود و افزایش قطر تخمک را به همراه دارد. رشد اووسیت ها وابسته به جذب ویتلوژنین است ، که پیش‌ساز زرده می باشد. ویتلوژنین در پاسخ به هورمون ۱۷-بتا استرادیول در کبد سنتز می‌گردد. ویتلوژنین پس از اینکه از هپاتوسیت ها به جریان خون ترشح شد از طریق لایه های فولیکولی که اووسیت را احاطه نموده‌اند عبور می نماید. آن ها با تمایل بالا به رسپتور های ویتلوژنینی در سطح اووسیت ها متصل گردیده و از طریق پدیده ی اندوسیتوز به داخل سلول راه می یابد. مشاهده شده است که همزمان با افزایش قطر فولیکول ها، جذب ویتلوژنین نیز افزایش می‌یابد (Redding *et al.*, 2000). مطالعات بر روی ماهی کپور دریای خزر *Cyprinus carpio* نشان داده که افزایش وزن گناد با افزایش مقدار هورمون‌های استروئیدی مرتبط است. این امر به علت افزایش ویتلوژنین در گناد است (Imanpour & Safari, 2009). ترشح گنادوتروپین توسط هیپوفیز شرط لازم برای بلوغ اووسیت ها و اوولاسیون می باشد (Scott *et al.*,1983).

برای بررسی اثرات هر عامل داخلی و یا خارجی مؤثر بر روند بلوغ از شاخص هایی نظیر HSI وGSI استفاده می شود. نتایج حاصل از شاخص هپاتوسوماتیک حاکی از عدم وجود اختلاف معنادار بین گروه کنترل دست نخورده و تزریق با اتانول بود ($P>0.05$)، که این مسئله نشان‌دهنده‌ی عدم تأثیر حلال مورد استفاده بر این شاخص است. در گروه تیمار اس سیتالوپرام و بروموکریپتین در دوز دوم (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) اختلاف معناداری با گروه کنترل بروموکریپتین دارد ($P<0.05$) (نمودار ۱). تحقیقات بر روی نوعی تاس ماهی چینی Acipenser sinensis ،حاکی از افزایش HSI در تیمارهای مواجه شده با فلوکستین دارد که داروی دیگری از دسته‌ی SSRI هاست (Chen, 2017). با شروع رسیدگی جنسی که مصادف با زرده سازی با

منشأ کبدی است، سطوح پلاسمایی استرادیول و ویتلوژنین به همراه درصد HSI به تدریج رشد می‌کند و به اوج خود می رسد، لذا از این متغیرها می توان برای اثبات بلوغ گنادی استفاده نمود(Pham *et al.*, 2010).

مطالعه‌ی تغییرات هورمونی و بیوشیمیایی نظیر تغییر در سطوح هورمون های جنسی از جمله موارد مرتبط با فیزیولوژی تولید مثل است که نقش مهمی در مطالعات پایه و کاربردی در این زمینه دارد (وهاب‌زاده و همکاران.،۱۳۹۶).

نتایج حاصل از سطح هورمون ۱۷-بتا استرادیول در میان گروه کنترل بروموکریپتین و گروه های تیمار اس سیتالوپرام و بروموکریپتین بیانگر وجود اختلاف معنادار بود($P<0.05$)(نمودار۳). پایین بودن این هورمون در تیمار بروموکریپتین نشان-دهنده‌ی بلاک محور HPG توسط داروی بروموکریپتین است. مشاهده شده است که با تزریق بروموکریپتین و آپومورفین که هر دو داروهای آگونیست دوپامین هستند، به ماهی Carassius auratus کاهش غلظت سرمی GTH و در نتیجه کاهش ۱۷-بتااسترادیول رخ داده است (Chang *et al.*,1984). در گروه کنترل میان گروه کنترل دست نخورده و گروه دریافت کننده ی حلال اتانول، اختلاف معناداری وجود نداشت ($P>0.05$)، که این مسئله نشان‌دهنده‌ی این است که حلال مورد استفاده اثری بر سطح این هورمون ندارد. در گروه های دریافت کننده ی داروی اس‌سیتالوپرام و بروموکریپتین در دوز دوم (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی) اختلاف معناداری با گروه کنترل دست نخورده و حلال دیده شد ($P<0.05$) که نشان‌دهنده‌ی امکان حضور گیرنده‌ی سروتونین تحریکی 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(نمودار۳). تحقیقات بر روی انسان نشان داده است که داروی سرترالین و فلوکستین باعث افزایش هورمون استرادیول شده و در دوز های بالاتر اثرات آنتی استروئیدال دارد (Pop *et al.*, 2015). تحقیقات گذشته بر روی میمون، نیز نشان داده است که داروی اس سیتالوپرام منجر به افزایش سطح هورمون استرادیول می شود (Bethea *et al.*, 2011). تغییر در سطح هورمون ۱۷-بتا استرادیول با رشد اووسیت ها در تخمدان و افزایش شاخص گنادی ارتباط دارد (Lee & Yang, 2002). در مطالعات گذشته تجویز این دو دارو به صورت همزمان بررسی نشده بود ، اما در مطالعه حاضرتاثیر همزمان این دو دارو بررسی گردید.

نتایج مربوط به تغییرات هورمون تستوسترون در تیمارهای مختلف داروی اس‌سیتالوپرام بین کنترل دست نخورده و تزریق با اتانول اختلاف معناداری وجود نداشت ($P>0.05$) که این مسئله نشان دهنده‌ی این است که حلال مورد استفاده اثری بر سطح این هورمون ندارد. در گروه های تیمار اس سیتالوپرام و بروموکریپتین اختلاف معناداری با گروه کنترل وجود داشت ($P<0.05$) که این مسئله نشان دهنده‌ی تبدیل زیاد تستوسترون به ۱۷-بتا استرادیول توسط آنزیم آروماتاز است که باعث کاهش سطح تستوسترون نسبت به گروه کنترل شده است(نمودار۴). تحقیقات بر روی ماهی ماده *Carassius auratus*، نشان داد که

داروی فلوکستین که یک داروی SSRI است، باعث کاهش سطح تستوسترون نسبت به گروه کنترل در این جنس شد و فعالیت آنزیم آروماتاز را تشدید کرد که با نتایج حاضر همخوانی دارد(Mennigen *et al.*, 2017).

هورمون پروژسترون القاکننده ی بلوغ نهایی اووسیت است به طوری که بیشترین مقدار آن هم زمان با تجزیه‌ی هسته‌ی زاینده، به هم پیوستن قطرات چربی و حل شدن دانه ای زرده مشاهده گردید (Ortiz *et al*., 2008). نتایج حاصل از تغییرات هورمون پروژسترون در تیمارهای مختلف داروی اس‌سیتالوپرام نشان‌گر وجود اختلاف معنادار بین گروه کنترل بروموکریپتین و تیمار بوده است ($P<0.05$)، که نشان‌دهنده ی بلاک مسیر HPG توسط داروی بروموکریپتین است در صورتی‌که میان گروه های کنترل دست-نخورده و تزریق با اتانول اختلاف معناداری وجود نداشت ($P>0.05$)، این مسئله بیانگر عدم تأثیر حلال مورد استفاده بر سطح این هورمون بود. در مقایسه، میان گروه های تیمار و کنترل، دوز دوم اس سیتالوپرام و بروموکریپتین اختلاف معناداری با گروه کنترل نشان داد ($P<0.05$)، که این مسئله بیانگر این بود که امکان حضور گیرنده ی سروتونین از نوع تحریکی در سطوح پایینی محور HPG وجود دارد(نمودار ۵). تحقیقات بر روی Rat ماده نشان داده است که درمان کوتاه مدت با داروی فلوکستین که یک SSRI است، غلظت پروژسترون را در جنس ماده افزایش می دهد (Fry *et al.*, 2014). این دارو در ماهی یال اسبی ژاپنی *Trichiurus lepturus* نیز منجر به افزایش شدید هورمون های جنسی می‌شود (Foran *et al.*, 2004). به طور کلی داروهای دیگر در دسته‌ی SSRIها نیز منجر به افزایش سطح هورمون های جنسی می شود، اما مکانیسم دقیق آن مشخص نیست.

ریخت سنجی بافتی به اندازه گیری بافت ها و اجزای مختلف موجود در آن می پردازد و در حقیقت محاسبه کمی تغییرات بافت ها و اجزای تشکیل دهنده ی آن ها را با استفاده از تصاویر دوبعدی ممکن می سازد (Clemens *et al.*, 2015). تصاویر میکروسکوپ نوری نشان داد که در گروه کنترل دست نخورده، اغلب اووسیت ها در مرحله ی کورتیکال و پیش هستکی به سر می‌برند. تعدادی اووسیت در مرحله ی ویتلوژنز به سر می برند و زرده جذب کرده اند (شکل۱). در گروه کنترل حلال(اتانول ۷۰º) نیز اووسیت ها عمدتا در مرحله ی کورتیکال و پیش هستکی هستند. به طور کلی تفاوتی با گروه کنترل دست‌نخورده مشاهده نشد، که یعنی اتانول اثری بر بافت تخمدان ندارد (شکل۲). داروی بروموکریپتین باعث مهار مسیر HPG از طریق مغز شده و اغلب اووسیت ها در مرحله ی پیش هستکی اولیه مانده اند. تعدادی اووسیت در مرحله ی پیش هستکی ثانویه هستند (شکل۳). در دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ماهی از داروی اس‌سیتالوپرام به همراه داروی بروموکریپتین، اغلب اووسیت‌ها در مرحله ی ویتلوژنز هستند و آغاز مرحله ی بلوغ و شروع حرکت زایا به سمت قطب جانوری بوده است و تعدادی اووسیت در مرحله ی پیش هستکی اولیه هستند (شکل۴). داروی اس سیتالوپرام در دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن پس از مهار مسیر HPG به وسیله داروی بروموکریپتین، قادر به تحریک دوباره ی تخمدان است و اغلب اووسیت ها در مرحله‌ی ویتلوژنز به سر می‌برند. در ضمن حرکت زایا به سمت قطب جانوری نیست و تعدادی اووسیت در مرحله ی کورتیکال نیز به چشم می‌خورد

(شکل۵). داروی اس سیتالوپرام در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن پس از مهار HPG توسط داروی بروموکریپتین قادر به تحریک تخمدان نیست و اغلب اووسیت ها در مرحله‌ی پیش هستکی اولیه و ثانویه مانده اند، و تعدادی از اووسیت ها در مرحله ی کورتیکال هستند (شکل۶). نتایج حاصل از میکروسکوپ الکترونی نشان داد دولایه اووسیت به صورت زاویه دار قرار گرفته است و این به معنی عدم رشد اووسیت است (شکل ۸). نتایج حاصل از میکروسکوپ الکترونی در تیمار دوز دوم اس-سیتالوپرام و بروموکریپتین نفوذ زرده از طریق غشا دیده می شود و غشای اووسیت بسیار فعال است (شکل۹).

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به داده های به دست آمده در این پژوهش و با توجه به آنالیز داده ها در تجویز داروی بروموکریپتین برای بلاک کردن مسیر HPG و سپس بررسی عملکرد داروی سروتونرژیک اس سیتالوپرام، می توان نتیجه گرفت امکان حضور گیرنده ی سروتونین از نوع تحریکی در بخش های پایینی محور HPG (گناد) وجود دارد که این نوع از گیرنده می تواند برای مقاصد دارویی در بارور کردن جنس ماده و یا سایر اهداف دارویی مورد توجه قرار گیرد. اثبات حضور این نوع از گیرنده و طریقه ی عملکرد دقیق آن احتیاج به مطالعات بیشتری دارد. همچنین می توان با استفاده از داروهای تحریک کننده ی سیستم سروتونینی (داروهای SSRI) با دوز مناسب در بیماران مبتلا به فیبرومیالژیا و سایر بیماران دریافت کننده ی داروهای دوپامینرژیک، اختلالات جنسی در این افراد را بهبود بخشید.

منابع

Bagheri Ziari, S., Naji, T., Hosseinzade Sahafi, H. (2015). Comparison and evaluation the ultra-structural changes in the oocyte and pituitary in immature *Trichogaster trichopterus* treated with RH-A2, 17beta-estradiol and hydroalcoholic extract of air branch of *Origanum vulgare*. Nova Biological Reperta, 2(2): 131-139.

Bethea, C. L., Lima, F. B., Centeno, M. L., Weissheimer, K. V., Senashova, O., Reddy, A. P., Cameron, J. L. (2011). Effects of citalopram on serotonin and CRF systems in the midbrain of primates with differences in stress sensitivity. Journal of chemical neuroanatomy, 41(4): 200-218.

Bhattarai, J. P., Roa, J., Herbison, A. E., Han, S. K. (2014). Serotonin acts through 5-HT1 and 5-HT2 receptors to exert biphasic actions on GnRH neuron excitability in the mouse. Endocrinology, 155(2): 513-524.

Chang, J. P., Peter, R. E., Nahorniak, C. S., Sokolowska, M. (1984). Effects of catecholaminergic agonists and antagonists on serum gonadotropin concentrations and ovulation in goldfish: evidence for specificity of dopamine inhibition of gonadotropin secretion. General and Comparative Endocrinology, 55(3): 351-360.

Chen, H., Zeng, X., Mu, L., Hou, L., Yang, B., Zhao, J., ... Zhang, Q. (2018). Effects of acute and chronic exposures of fluoxetine on the Chinese fish, top mouth gudgeon Pseudorasbora parva. Ecotoxicology and Environmental Safety, 160:104-113.

Clemens, B. J., van de Wetering, S., Sower, S. A., Schreck, C. B. (2013). Maturation characteristics and life-history strategies of the Pacific lamprey, Entosphenus tridentatus. Canadian Journal of Zoology, 91(11): 775-788.

Davis, L. M., Michaelides, M., Cheskin, L. J., Moran, T. H., Aja, S., Watkins, P. A., Wang, G. J. (2009). 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, 89(2): 152-162.

Foran, C. M., Weston, J. J., Slattery, M., Brooks, B. W., Huggett, D. B. (2014). Reproductive assessment of Japanese medaka following a four week fluoxetine exposure. Archives of Environmental Contamination and Toxicology.53(20):43-47.

Fry, J. P., Li, K. Y., Devall, A. J., Cockcroft, S., Honour, J. W., Lovick, T. A. (2014). Fluoxetine elevates allopregnanolone in female rat brain but inhibits a steroid microsomal dehydrogenase rather than activating an aldo- keto reductase. British journal of pharmacology, 171(24): 5870-5880.

Greenberg, N., and Wingfield, J. C. (1987). Stress and reproduction: reciprocal relationships. In Hormones and reproduction in fishes, amphibians, and reptiles. Springer, Boston, MA. 8(65): 461-503.(

Hismayasari, I. B., Marhendra, A. P. W., Rahayu, S., Saidin, S. D., Supriyadi, D. S. (2015). Gonadosomatic index (GSI), hepatosomatic index (HSI) and proportion of oocytes stadia as an indicator of rainbowfish Melanotaenia boesemani spawning season. International Journal of Fisheries and Aquatic Studies, 2(5): 359-362.

Imanpour, M. R., and Safari, R. G (2009). Effect of maturation stages on gonadal indices and chemical composition of gonad in Cyprnius carpio (*Cyprinidae*). Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources, 16(1): 35-41.

Jacobsen, N. W., Hansen, C. H., Nellemann, C., Styrishave, B., Halling-Sørensen, B. (2015). 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 Journal, 29(7): 1729-1735.

Lee, W. K., and Yang, S. W. (2002). Relationship between ovarian development and serum levels of gonadal steroid hormones, and induction of oocyte maturation and ovulation in the cultured female Korean spotted sea bass *Lateolabrax maculatus* (Jeom-nong-eo). Aquaculture, 207(1-2): 169-183.

Liu, X., and Herbison, A. E. (2013). Dopamine regulation of gonadotropin-releasing hormone neuron excitability in male and female mice. Endocrinology, 154(1): 340-350.

Lydon, J. P., DeMayo, F. J., Funk, C. R., Mani, S. K., Hughes, A. R., Montgomery, C. A., O'Malley, B. W. (1995). Mice lacking progesterone receptor exhibit pleiotropic reproductive abnormalities. Genes & development, *9*(18): 2266-2278.

Melis, M. R., and Argiolas, A. (1995). Dopamine and sexual behavior. Neuroscience & Biobehavioral Reviews, 19(1): 19-38.

Mennigen, J. A., Zamora, J. M., Chang, J. P., Trudeau, V. L. (2017). Endocrine disrupting effects of waterborne fluoxetine exposure on the reproductive axis of female goldfish, *Carassius auratus*. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 202:70-78.

Ortiz-Delgado, J. B., Porcelloni, S., Fossi, C., Sarasquete, C. (2008). Histochemical characterisation of oocytes of the swordfish *Xiphias gladius*. Scientia Marina journal 72(3): 549-564.

Pham, H. Q., Kjørsvik, E., Nguyen, A. T., Nguyen, M. D., Arukwe, A. (2010). Reproductive cycle in female Waigieu seaperch (Psammoperca waigiensis) reared under different salinity levels and the effects of dopamine antagonist on steroid hormone levels. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 383(2): 137-145.

Pop, A., Lupu, D. I., Cherfan, J., Kiss, B., Loghin, F. (2015). Estrogenic/antiestrogenic activity of selected selective serotonin reuptake inhibitors. Clujul Medical Journal, 88(3): 381.

Redding, J. M., and Patino, R. (2000). Reproductive systems. In The laboratory fish. Academic Press.5:43-59.

Soltani,,M., Beigi,R., Rezvani,R., Mohammad Reza Mehrabi,MR., Chitsaz,H. (2001). Study of anesthetic effects of essential oil and clove extract in rainbow trout under some water quality conditions. Journal of veterinary Research, Issue 4 (224):85-89.

Scott, A. P., Sumpter, J. P., Hardiman, P. A. (1983). Hormone changes during ovulation in the rainbow trout (Salmo gairdneri Richardson). General and Comparative Endocrinology, 49(1):128-134.

Swanson, P. (1994). Regulation of gametogenesis in fish by gonadotropins. In High Performance Fish. Proceedings of an International Fish Physiology Symposium. 5(1):130-136.

Vahabnezhad, A., Taghavimotlagh, S. A., Ghodrati Shojaei, M. (2017). Growth pattern and reproductive biology of Acanthopagrus latus from the Persian Gulf. Survey in Fisheries Sciences, 4(1): 18-28.

Wada, K., Hu, L., Mores, N., Navarro, C. E., Fuda, H., Krsmanovic, L. Z., Catt, K. J. (2006). Serotonin (5-HT) receptor subtypes mediate specific modes of 5-HT-induced signaling and regulation of neuro-secretion in gonadotropin-releasing hormone neurons. Molecular Endocrinology, 20(1):125-135.

Effects of Escitalopram on sex steroids and oocyte ultrastructure in three spot Gourami after increasing Dopamine level By Bromocriptine injection

M. S. Hosseini Jebeli[1], T. Naji[1*], H. Hosseinzadeh Sahafi[2]

Received:2019.12.25
Accepted:2020.11.25

Abstract

Studies have shown that understanding the pathways of action of neurotransmitters is of particularly important. Dopamine is a neurotransmitter effects on the D2 receptor in the brain and leads to Hypothalamus-Pituitary-Gonad (HPG) blocking and sexual disorders. In this study, the effect of serotonergic drug escitalopram on the reproductive system of three spot gourami after dopamine induction with bromocriptine injection was studied. For this purpose, 90 pieces of three spot Gourami fish with an average weight of 3±1 gr were bought from the Khanmahi fish breeding center. The fish were divided into 6 groups: Intact Control group, solvent of bromocriptine (Ethanol 70º) for control group, and 3 treatment groups received bromocriptine and escitalopram in three doses of 1,5 and 10 mg/kg.bw. The injection were given intramuscular (IM) every other day. The experiments were repeated 3 times. The fish were dissected and the ovarian tissue removed from the body for light and electron microscopy. After preparing tissue fluids, steroid hormones were measured by Elisa method. According to the results obtained from 5 mg / kg body weight of fish from using escitalopram with bromocriptine treatment, which in the predominant stage of Vitellogenesis and gonadosomatic index and steroid hormones were at their highest. It can be concluded that the presence of serotonin receptors is possible in the lower levels of the HPG axis. This type of receptor could be studied in the future as a medicinal perpose for female fertilization.

Keywords: *Dopamine, Gonadotropin , Ovary, Serotonin.*

1- Department of Basic sciences, Faculty of Pharmacy & Pharmaceutical, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran
*(Corresponding author: naji_t@iaups.ac.ir tnaji2002@gmail.com)
2- Department of Aquatic Animal Health, Iranian Fisheries Research Organization, Tehran, Iran