ORIGINAL ARTICLE

Investigating the Effects of Sedative and Antidepressant Drugs (Diazepam, Sertraline, and Their Combination) on Behavioral and Biochemical Changes in Zebrafish (Danio rerio) as an Animal Model

Shahab Tirgar Fakheri [1],
Reza Changizi [2*],
Hamed Manoochehri [2],
Ali Siahposht-Khachaki [3],
Meysam Rameshgar [4]

[1] Student of Veterinary Medicine, Department of Veterinary, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran
[2]Assiatant Professor, Department of Veterinary, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran
[3]Associate Professor, Department of Physiology, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[4]Assiatant Professor, Department of Biology, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran

(Received Janury 16, 2025; Accepted March 26, 2025)

Abstract

Background and purpose: Depression is one of the mental illnesses that affects a significant number of people. The zebrafish model has been proposed as a new tool for research on depression and other neurological disorders. The aim of this study was to investigate various aspects of the effects of antidepressant drugs, expand the scope of information derived from the Unpredictable Chronic Stress (UCS) protocol, and enhance understanding of the characteristics of zebrafish.

Materials and methods: In this experimental study, a total of 384 adult short-finned zebrafish housed in 24 aquariums were used. The zebrafish were divided into two main groups: a control group (without stressors) and the UCS group. Within each group, the fish were further divided into four subgroups: control, diazepam (120 µg/L), sertraline (10 µg/L), and a combination of diazepam+ sertraline. Behavioral tests were conducted using the Novel Tank Test. Fish movements were recorded for six minutes and analyzed using EthoVision software. Biochemical tests were performed by measuring cortisol levels.

Results: When the two drugs were used in combination, a significant decrease in the total distance traveled (from 37 to 18 meters), a significant increase in the time spent at the surface of the tank (from 55 to 154 seconds), and a significant increase in the number of trips to the surface (from 18 to 85 trips) were observed. Diazepam and sertraline also significantly reduced cortisol levels, from 1 ng/g tissue to 0.64 ng/g tissue and from 1 ng/g tissue to 0.15 ng/g tissue, respectively.

Conclusion: This study reinforces the use of zebrafish as a model organism for investigating the behavioral and physiological effects of stress. Furthermore, the findings demonstrate that the combination of sertraline and diazepam may be effective in mitigating the progression of depression.

Keywords: depression, zebrafish, diazepam, sertraline, UCS protocol

J Mazandaran Univ Med Sci 2025; 35 (244): 52-64 (Persian).

***Corresponding Author: Reza Changizi** - Department of Veterinary, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran. (E-mail: changizi@baboliau.ac.ir)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و پنجم شماره ۲۴۴ اردیبهشت سال ۱۴۰۴ (۶۴-۵۲)

بررسی اثرات داروهای آرامبخش و ضد افسردگی[دیازپام، سرترالین و ترکیب آن‌ها] بر تغییرات رفتاری و بیوشیمیایی در ماهی زبرا [*Daniorerio*] به عنوان مدل انسانی

شهاب تیرگر فاخری[۱]
رضا چنگیزی*[۲]
حامد منوچهری[۲]
علی سیاه پشت خاچکی[۳]
میثم رامشگر[۴]

چکیده

سابقه و هدف: یکی از بیماری‌های ذهنی که امروزه بسیاری از مردم را تحت تاثیر قرار داده است، افسردگی می‌باشد. ماهی زبرا به عنوان یک مدل جدید جهت تحقیق بر روی افسردگی و سایر اختلالات عصبی مطرح شده است. این مطالعه با هدف بررسی وجوه مختلف تاثیرات داروهای ضد افسردگی، گسترش دامنه ی اطلاعات از پروتکل UCS (استرس مزمن غیر قابل پیش‌بینی) و افزایش آگاهی از ویژگی‌های ماهی زبرا، انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، از ۳۸۴ ماهی زبرا بالغ از سویه‌ی بالـه کوتاه در ۲۴ آکواریوم استفاده شد. ماهی‌های زبرا به دو گروه کنترل (بدون استرس) و UCS تقسیم شدند. درون هر گروه جانوران به گروه های کنترل، دیازپام (۱۲۰ میکروگرم بر لیتر)، سرترالین (۱۰ میکروگرم بر لیتر) و ترکیب دیازپام + سرترالین تقسیم شدند. آزمایشات رفتاری با استفاده از آزمایش تانک جدید انجام شد. ضبط حرکات ماهی‌ها به مدت ۶ دقیقه و تحلیل آن به وسیله نرم‌افزار Ethovision و آزمایشات بیوشیمیایی با اندازه‌گیری کورتیزول انجام شد.

یافته‌ها: مصرف ترکیبی دو دارو کاهش معنی‌داری در میزان مسافت کل پیموده شده (از ۳۷ به ۱۸ متر)، افزایش معنی‌داری در زمان سپری شده در سطح تانک در هنگام مصرف ترکیبی دو دارو (از ۵۵ به ۱۵۴ ثانیه) و افزایش معنی‌داری در جابه‌جایی به سطح تانک در هنگام مصرف ترکیبی دو دارو (از ۱۸ به ۸۵ جابه‌جایی) رویت شد. دیازپام و سرترالین به ترتیب موجب کاهش معنی‌دار سطح کورتیزول از ۱ نانوگرم بر گرم بافت به حدود ۰/۶۴) و از ۱ نانوگرم بر گرم بافت به ۰/۱۵ نانوگرم می گردد.

استنتاج: استفاده از ماهی زبرا به عنوان ارگانیسم مدل در مطالعات تاثیرات رفتاری و فیزیولوژیک استرس را تقویت نمود و علاوه بر این، نشان داده شد که استفاده از داروهای سرترالین همراه با دیازپام می‌تواند در کاهش پیشرفت افسردگی مفید باشد.

واژه های کلیدی: افسردگی، ماهی زبرا، دیازپام، سرترالین، پروتکل UCS

***مولف مسئول: رضا چنگیزی** – گروه دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه ازاد اسلامی، بابل، ایران (**E-mail:** changizi@baboliau.ac.ir)
۱. دانشجوی دکترای حرفه ای دامپزشکی، گروه دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه ازاد اسلامی، بابل، ایران
۲. استادیار، گروه دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه ازاد اسلامی، بابل، ایران
۳ دانشیار، دپارتمان فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۴. استادیار، گروه زیست شناسی، واحد بابل، دانشگاه ازاد اسلامی، بابل، ایران
تاریخ دریافت : ۱۴۰۳/۱۱/۲۸ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۴۰۳/۱۲/۱۵ تاریخ تصویب : ۱۴۰۴/۱۰/۶

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]

مقدمه

افسردگی یک بیماری ذهنی جدی است و با توجه به آخرین آمارها، بیش از ۳۰۰ میلیون نفر از مردم سراسر جهان تحت تاثیر افسردگی قرار دارند. هم‌چنین پاندمی کووید - ۱۹، باعث کاهش قابل توجه سلامت روانی مردم در سراسر دنیا شده است(۱، ۲). در نتیجه نیاز به تولید داروهای ضد افسردگی جدید، به یک مشکل جدی در پزشکی تبدیل شده است(۳). از ارگانیسم‌های مدل متفاوتی جهت مطالعه آثار استرس بر سیستم‌های زیستی استفاده شده است. جوندگان مدل‌های جانوری پایه برای مطالعه افسردگی بوده‌اند(۴، ۵). برای بررسی افسردگی در جوندگان، از پروتکل‌های متفاوتی استفاده شده است؛ اما گران قیمت و طولانی مدت بودن و همچنین نیازمندی به ساختارهای فیزیکی بزرگ، از معایب این پروتکل‌ها می‌باشد(۶). استفاده از مهره‌داران آبزی مانند ماهی زبرا برای آزمایش داروهای موثر بر سیستم اعصاب مرکزی، مفید بوده و حساسیت بالایی نسبت به گستره وسیعی از داروهای ضد افسردگی دارند(۷). ماهی زبرا (Zebra fish) با نام علمی *Danio rerio* به عنوان یک ارگانیسم مدل جدید مطرح شده است که در آزمایشات پیش درمانگاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد(۸). در این تحقیق جهت ایجاد افسردگی در ماهی زبرا، از پروتکل UCS (Unpredictable Chronic Stress) استفاده شد. این پروتکل موجب القای تغییرات رفتاری و بیوشیمیایی همانند بیماران افسردگی می‌شود که از ارتباط معنادار این پروتکل با افسردگی حمایت می‌کند. پیاتو و همکاران در سال ۲۰۱۱ مدل UCS را برای مطالعه بر روی تغییرات رفتاری ماهی زبرا، ابداع نمودند(۹). پروتکل UCS در ماهی زبرا نسبت به مدل‌های جوندگان، چندین مزیت دارد. چرخه تولید مثلی سریع، بدن شفاف طی دوران تکامل اولیه، شباهت ژنتیکی و فیزیولوژیک زیاد به انسان و هزینه‌های نگهداری اندک، از جمله این مزیت‌ها می‌باشد(۱۰، ۱۱). جهت کنترل و درمان طیف وسیعی از اختلالات روانی، از داروهای ضد افسردگی استفاده می‌شود. این نوع داروها به طور متناوب در آب‌های سطحی مناطق پرجمعیت یافت می‌شود. اثرات این داروها بر آبزیان موجب تغییرات اکولوژیکی می‌گردد. از سوی دیگر وجود مقادیری از این داروها در محصولات دریایی، ممکن است اثرات مختلفی بر مصرف‌کنندگان آن‌ها بگذارد که باید بدان توجه نمود(۱۴ - ۱۲). مصرف بسیار زیاد این داروها در جوامع انسانی امروز نیز، نشان‌دهنده نیاز به تحقیق بیش تر بر روی آن‌ها، برای بررسی سوء احتمالی می‌باشد. در این تحقیق، تاثیرات داروهای آرامبخش (دیازپام) و ضد افسردگی (سرترالین) پرمصرف بر پارامترهای رفتاری و بیوشیمیایی در ماهی زبرا با استفاده از پروتکل UCS بررسی شده است.

دیازپام از دسته آرامبخش‌های بنزودیازپینی (Benzodiazepine) و از پرمصرف‌ترین داروهای آرامبخش و خواب‌آور می‌باشد(۱۵).

این دارو به گیرنده $GABA_A$ (Gamma Amino Butyric acid, GABA) در غشای عصبی CNS متصل می‌شود. این دارو انتقال GABAergic (انتقال به واسطه GABA) را افزایش داده و خاصیت آرامبخشی دیازپام نیز نتیجه همین فرآیند است(۱۶). در همین زمینه چن و همکاران در سال ۲۰۲۱ بر روی اثرات دُزهای مزمن دیازپام بر روی ماهی زبرا کار کردند و اثرات آن را بر تغییر در میانجی‌های عصبی آن‌ها و همچنین تغییرات رفتاری را تایید نمودند(۱۷).

سرترالین از داروهای ضد افسردگی دسته داروهای مهارکننده انتخابی بازجذب سروتونین (Selective Serotonin Reuptake Inhibitor, SSRI) است. این دسته از شایع‌ترین داروهای ضد افسردگی می‌باشد. این داروها با مهار بازجذب سروتونین، موجب افزایش غلظت آن شده و این گونه اثرات ضد افسردگی خود را اعمال می‌کنند(۱۸). در همین راستا ژانگ و همکاران در سال ۲۰۱۸ بر روی اثرات سرترالین بر رفتار ماهی زبرا کار کردند و اثرات دُزهای مختلف این دارو را بر ایجاد

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]

رفتارهای متفاوت در ماهی زبرا، نشان دادند(۱۹). هم‌چنین لاچوویتز و همکاران در سال ۲۰۲۱ بر روی اثرات داروهای مهارکننده انتخابی سروتونین روی رفتار عصبی و افسردگی تحقیق کردند و اثرات این دارو را در کاهش استرس، مثبت ارزیابی نمودند(۲۰). آبرئو و همکاران در سال ۲۰۱۴ گروه دیگری بودند که بر روی تاثیرات فلوکستین و دیازپام بر کاهش استرس در ماهی زبرا کار کردند. آنان اثر این داروها را در کاهش استرس و مقابله با رفتارهای عصبی، مفید ارزیابی نمودند(۲۱). مارکون و همکاران نیز در سال ۲۰۱۶ بر روی اثرات بروموازپام و فلوکستین بر تغییرات رفتاری ماهی زبرا کار کردند و تغییرات رفتاری و نوروآندوکرین در این موجودات را تایید نمودند(۲۲).

در تحقیق حاضر جهت بررسی اثرات رفتاری داروهای موثر بر اعصاب در ماهی زبرا، از آزمایش تانک جدید (Novel Tank Test, NTT) استفاده شد. لوین و همکاران در سال ۲۰۰۷ آزمایش تانک جدید را برای بررسی اثرات رفتاری ناشی از استرس و افسردگی، طراحی نمودند و کارکرد آن را در مطالعه این اثرات، بسیار مفید ارزیابی کردند(۲۳).

به‌منظور درک بهتر افسردگی و روند ایجاد آن، محققان سطوح نشانگرهای زیستی (Biomarkers) مرتبط با افسردگی را اندازه می‌گیرند. این نشانگرها بر اساس فرضیه‌های افسردگی مورد استفاده قرار می‌گیرند.

هورمون کورتیزول شاخص اولیه استرس در ماهی زبرا می‌باشد. با قرار گرفتن حیوان در معرض عوامل استرس‌زای حاد و مزمن، مقدار کورتیزول عمدتاً افزایش می‌یابد(۲۴). میزان کورتیزول در بیش از ۷۰ درصد از مبتلایان به افسردگی، بیش از حد طبیعی می‌باشد(۲۵). در مهره‌داران، کورتیزول از مهم‌ترین فاکتورهای سنجش میزان استرس می‌باشد و در هنگام استرس‌های محیطی، میزان این هورمون افزایش می‌یابد. ایگان و همکاران در سال ۲۰۰۹ بر روی تغییرات رفتاری و فیزیولوژیک ناشی از استرس در ماهی زبرا کار کردند و نشان دادند همانند انسان، استرس موجب تغییرات سطح کورتیزول در بدن ماهی زبرا می‌گردد(۲۶).

ارزیابی تاثیرات منفرد و ترکیبی داروهای آرامبخش و ضد افسردگی پرمصرف مانند دیازپام و سرترالین بر پارامترهای رفتاری (آزمایش تانک جدید، NTT) و بیوشیمیایی (کورتیزول تام بدن) در ماهی زبرا تحت پروتکل UCS و پیشگیری از افسردگی از اهداف این پژوهش بوده است. بر اساس فرضیه التهابی افسردگی، استرس موجب تغییرات رفتاری و نهایتاً افسردگی می‌گردد، از همین‌رو تصمیم گرفته شد که تاثیرات یک داروی آرامبخش و یک داروی ضد افسردگی پرمصرف موثر بر کاهش سطوح استرس، ارزیابی گردد.

مواد و روش‌ها

تیمارهای مورد آزمایش

در این مطالعه تجربی، با کد اخلاق IR.IAU.BABOL.REC.1403.034 که در کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی- واحد بابل به تصویب رسید، از ۳۸۴ ماهی زبرا بالغ ۶ ماهه از سویه باله کوتاه (Short-fin) و مخلوط نر و ماده استفاده شد. این ماهی‌ها در ۲۴ آکواریوم ۱۰ لیتری (۱/۶ ماهی در لیتر، ۱۶ ماهی در هر آکواریوم) نگهداری شدند که با آب تصفیه شده کلرزدایی شده (Dechlorination) پر شده بود. ماهی‌ها چرخه روشنایی تاریکی ۱۴ به ۱۰ ساعت داشتند (روشن شدن چراغ‌ها ساعت ۷ صبح) و حداقل ۱ هفته قبل از آزمایش در این شرایط نگهداری شدند.

قسمتی از آب تانک دو بار در هفته تعویض شد و ماهی‌ها تحت شرایط مناسب نگهداری می‌شدند. ماهی‌ها ۲ بار در روز با تکه‌های کوچک غذای ماهی تجاری، غذادهی شدند. شرایط مناسب نگهداری ماهی‌ها بر اساس تحقیقات پیشین فراهم شد که در جدول شماره ۱، شرح داده شده است(۹، ۲۲، ۲۳).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]

جدول شماره ۱: شرایط مناسب نگهداری ماهی‌ها جهت انجام پروتکل UCS و آزمایشات رفتاری و اندازه‌گیری کورتیزول

دما	pH	اکسیژن محلول	آمونیاک کل	سختی کل	قلیایی
۲۶±۱°C	۷±۰/۳	۷±۰/۴ mg/L	کم تر از ۰/۰۱ mg/L	۵/۸ mg/L	۲۲ mg/L کلسیم کربنات

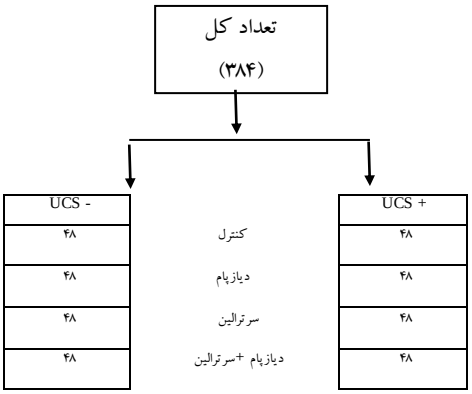
داروها

دیازپام و سرترالین از شرکت‌های داروسازی ایرانی کاسپین و لقمان تهیه شد. غلظت داروها بر اساس آزمایشات انجام شده در تحقیقات مشابه دیگر تعیین شد و در نهایت غلظت‌ها، دیازپام، ۱۲۰ µg/L و سرترالین، ۱۰ µg/L به دست آمد(۱۷، ۲۷).

داروها طی ۲۱ روز به درون آب همزمان با عوامل استرس‌زا، آزاد شدند. هدف از این کار، ارزیابی نمودن تاثیرات این داروها در پیشگیری از اثرات القایی ناشی از پروتکل UCS بود.

القای افسردگی در ماهی زبرای مدل بر اساس پروتکل UCS (Unpredictable Chronic Stress)

در این پژوهش از پروتکل UCS جهت القای افسردگی در ماهی‌های زبرا، استفاده شد. طراحی کلی این آزمایش و استفاده از این پروتکل، بر اساس روش مورد استفاده در تحقیقات مشابه پیشین بود(۹، ۲۲). در پروتکل UCS با استفاده از القای مداوم عوامل استرس‌زای متفاوت، در نهایت افسردگی به ماهی‌های زبرا، القا گردید. مطابق جدول شماره ۲، در این پروتکل، ماهی‌های زبرا ابتدا به دو گروه کلی کنترل (بدون عوامل استرس‌زا) و UCS (با عوامل استرس‌زا) تقسیم شدند. درون هر گروه نیز ماهی‌ها به گروه‌های کنترل، دیازپام (۱۲۰ میکروگرم بر لیتر)، سرترالین (۱۰ میکروگرم بر لیتر) و دیازپام (۱۲۰ میکروگرم بر لیتر) +سرترالین (۱۰ میکروگرم بر لیتر) تقسیم شدند. در فلوچارت شماره ۱ تیمارها، گروه‌ها، زیرگروه‌ها و تعداد ماهی مشخص شده است.



فلوچارت شماره ۱: تیمارها، گروه ها، زیرگروه ها و تعداد ماهی

عوامل استرس‌زای القا شده شامل، گرم کردن آب تانک تا ۳۳ °C به مدت ۳۰ دقیقه، سرد کردن آب تانک تا ۲۳ °C به مدت ۳۰ دقیقه، انتقال ۱۰ ماهی در یک ظرف با حجم ۲۵۰ ml به مدت ۵۰ دقیقه، کاهش سطح آب آکواریوم به مدت ۲ دقیقه به طوری که سطح پشتی بدن ماهی نمایان شود، تعویض تانک ۳ بار متوالی با فاصله ۳۰ دقیقه و تعقیب نمودن ماهی با توری به مدت ۸ دقیقه، بوده است.

بر اساس پروتکل UCS، عوامل استرس‌زا به صورت تصادفی ۲ بار در روز و طی ۲۱ روز (روز ۱ تا روز ۲۱) به منظور جلوگیری از خوگیری و عادت نمودن ماهی‌ها اعمال شد. کل دوره تحقیق ۲۱ روز بوده است. همه این عوامل استرس‌زا به صورت تصادفی از ساعت ۸ صبح تا ۱۸ عصر اعمال شدند. در طی دوره تحقیق، هیچ استرسی به گروه کنترل وارد نشد.

جدول شماره ۲: نمای کلی از تیمارهای مورد آزمایش

	کنترل بدون استرس	کنترل با استرس	T1 بدون استرس	T1 با استرس	T2 بدون استرس	T2 با استرس	T3 بدون استرس	T3 با استرس
دیازپام (µg/L)	۰	۰	۱۲۰	۱۲۰	۰	۰	۱۲۰	۱۲۰
سرترالین (µg/L)	۰	۰	۰	۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰

ماهی‌ها به دو گروه کنترل (بدون عوامل استرس‌زا) و UCS (دارای عوامل استرس‌زا) تقسیم شدند، T1 (تیمار ۱)، T2 (تیمار ۲)، T3 (تیمار ۳)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]

آزمایش تانک جدید (Novel Tank Test, NTT)

در روز ۲۲، مابین ساعت ۸ تا ۱۱ صبح، جانوران به صورت انفرادی در آزمایش تانک جدید (NTT) مورد بررسی قرار گرفتند. روش انجام این آزمایش، بر اساس تحقیقات پیشین صورت گرفت(۹، ۲۳، ۲۶). برخی از رایج‌ترین پارامترهای رفتاری که در آزمایش تانک جدید اندازه‌گیری می شود، اندازه‌گیری مسافت کل طی شده، اندازه‌گیری مدت زمان حضور در قسمت بالایی تانک و تعداد دفعات ورود به قسمت بالایی تانک می‌باشد(۲۸). به طور خلاصه، جانوران به مدت ۶ دقیقه در تانک‌هایی با ابعاد ۲۰ × ۸ × ۲۴ cm (طول، عرض، ارتفاع) با سطح آب ۱۵ cm قرار گرفتند. آب درون دستگاه برای هر جانور عوض شد. تانک‌ها به صورت ذهنی و مجازی به ۳ قسمت افقی برابر (عمق، میانه و سطح) تقسیم شدند. آزمایشات رفتاری با استفاده از نرم‌افزار Ethovision ضبط و آنالیز شدند. سپس این پارامترهاکل مسافت طی شده، زمان سپری شده در قسمت سطحی و تعداد انتقال به قسمت سطحی، اندازه‌گیری شدند. کل مسافت طی شده، نمایانگر فعالیت حرکتی کل (total locomotor activity) می‌باشد. زمان سپری شده در قسمت سطحی و تعداد انتقال به قسمت سطحی، دارای اندازه‌هایی مشخص بوده و در آزمایشات جوندگان، معادل زمان سپری شد و تعداد دفعات ورود حیوان به مرکز محوطه باز است. به طور معمول کاهش هر یک از این پارامترها، نمایانگر رفتار عصبی به شمار می‌رود. محققانی که هیچ اطلاعی از گروه‌های آزمایشی نداشتند، همه آزمایشات رفتاری را انجام دادند و آن‌ها را آنالیز نمودند.

اندازه‌گیری کورتیزول

عصاره‌گیری و اندازه‌گیری کورتیزول تام بدن، بر اساس تحقیقات قبلی و با استفاده از یک کیت الایزا (EIA gen CORTISOL test, Biochem Immuno Systems) صورت گرفت(۹، ۲۹). به‌طور خلاصه، ۲۴ ساعت پس از اعمال آخرین عامل استرس‌زا، ماهی‌ها با ملایمت گرفته شده و فوراً در نیتروژن مایع فریز شدند. به دنبال آن در دمای ^{o}C ۲۰ –نگهداری شدند تا از آن‌ها عصاره کورتیزول گرفته شود. برای جلوگیری از پاسخ استرس احتمالی ناشی از دستکاری و گرفتن ماهی‌ها، مدت زمان مابین گرفتن ماهی تا کشتن آن، کم تر از ۱۰ ثانیه بود(۲۲). هر ماهی زبرا وزن شد و هر مخزن حاوی ۲ ماهی خرد شده بود و درون کیسه استامَکر با ml ۲ بافر سالین فسفات (PBS, pH = ۷/۴) برای ۶ دقیقه قرار گرفت. سپس با استفاده از دستگاه هوموژنایزر، به خوبی هوموژن و یکنواخت شد(۲۹). سپس دی‌اتیل اتر اضافه نموده و نمونه‌ها برای ۱۰ دقیقه با دور rpm ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. پس از آن فوراً در نیتروژن مایع فریز شدند و قسمتی که پس از فرو بردن در نیتروژن مایع یخ نزده (دی‌اتیل اتر حاوی کورتیزول)، به آهستگی درون دکانتور خالی شد. دی‌اتیل اتر حاوی کورتیزول به درون یک لوله جدید منتقل شد و به طور کامل تحت یک جریان بخار نیتروژن ملایم برای ۲ ساعت، تبخیر گردید. آنچه باقی ماند، یک عصاره لیپیدی حاوی کورتیزول بود. این عصاره در دمای ^{o}C ۲۰ –ذخیره شد تا هنگامی که تست الایزا روی سوسپانسیون نمونه‌ها با ml ۱ بافر PBS عمل‌آوری شد(۹).

برای انجام آزمایشات رفتاری و اندازه‌گیری کورتیزول، از گروه‌های جداگانه ماهی‌ها استفاده شد تا از تداخل احتمالی حاصل از اثرات حاد آزمایش تانک جدید (NTT) بر روی آن‌ها، جلوگیری شود. برای تجزیه و تحلیل داده‌های آماری از نرم‌افزار آماری SPSS و آزمون گولموگروف-اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov test) و آنالیز واریانس تکراری دو طرفه (two-way ANOVA) استفاده شد.

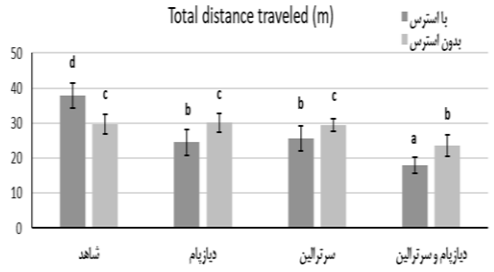
یافته‌ها

نتایج آزمایشات رفتاری ماهی زبرا در تیمارهای مختلف تحت اثر پروتکل UCS در نمودار های ارائه شده در این مطالعه نشان داده شده است.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]

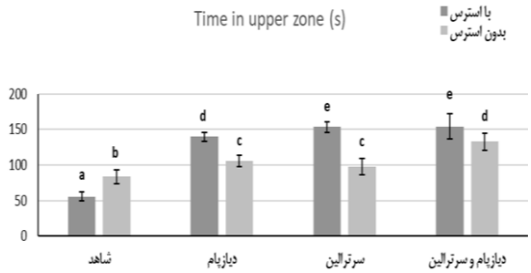
آزمایشات رفتاری (آزمایش تانک جدید، NTT)

مطابق با نمودار شماره ۱، بر اساس نتایج آنالیز آزمایشات رفتاری، پروتکل UCS مسافت کل پیموده شده را در مقابل تیمار شاهد بدون استرس افزایش داد. در تیمارهای با استرس دیازپام و سرترالین نسبت به تیمارهای بدون استرس آن‌ها نیز، کاهش میزان مسافت طی شده مشاهده می‌شود. در حالی که تفاوت معنی‌داری در تیمارهای بدون استرس آن‌ها مشاهده نمی‌گردد. در تیمار ترکیبی با استرس دیازپام و سرترالین، بیش‌ترین کاهش در میزان مسافت طی شده، مشاهده می‌گردد.



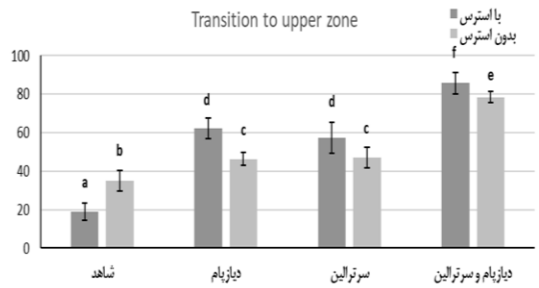
نمودار شماره ۱: نتایج آزمایشات رفتاری در پارامتر مسافت کل طی شده، در افسردگی تغییراتی در پارامتر مسافت کل طی شده در آزمایش تانک جدید ایجاد می‌گردد که در این نمودار مشاهده می‌گردد. شباهت حروف(a، b، c، d) در هر زیر گروه یا تمامی زیرگروه ها به مفهوم معنی دار نبودن مقایسه است.

مطابق با نمودار شماره ۲، پروتکل UCS موجب کاهش در زمان سپری شده در ناحیه بالایی تانک می‌شود به‌طوری که زمان سپری شده در ناحیه بالایی تانک در تیمار شاهد با استرس نسبت به تیمار شاهد بدون استرس کم‌تر است. تیمار با استرس دیازپام نسبت به تیمار بدون استرس آن، مدت زمان بیش‌تری را در ناحیه بالایی تانک سپری می‌کند. مشابه این در تیمار با و بدون استرس سرترالین نیز دیده می‌شود. تیمار ترکیبی با استرس دیازپام و سرترالین نیز نسبت به تیمار بدون استرس خود، مدت زمان بیش‌تری را در ناحیه بالایی تانک سپری می‌کند.



نمودار شماره ۲: نتایج آزمایشات رفتاری در پارامتر زمان سپری شده در ناحیه بالایی تانک در آزمایش تانک جدید (NTT)، در افسردگی تغییراتی در پارامتر زمان سپری شده در ناحیه بالایی تانک در آزمایش تانک جدید ایجاد می‌گردد که در این نمودار مشاهده می‌گردد. شباهت حروف (a، b، c، d) در هر زیر گروه یا تمامی زیرگروه ها به مفهوم معنی دار نبودن مقایسه است.

مطابق با نمودار شماره ۳، پروتکل UCS موجب کاهش دفعات انتقال ماهی زبرا به ناحیه بالایی تانک می‌گردد. به طوری که تعداد آن در شاهد با استرس کم تر از شاهد بدون استرس می‌باشد. تعداد انتقال به ناحیه بالایی در تیمار با استرس دیازپام نسبت به تیمار بدون استرس خود بیش تر است. مشابه همین نتیجه در تیمار با و بدون استرس سرترالین نیز مشاهده می‌شود. تعداد انتقال به ناحیه بالایی در تیمار با استرس ترکیبی دیازپام و سرترالین از تیمار بدون استرس خود و تمامی تیمارهای دیگر، بیش‌تر است.

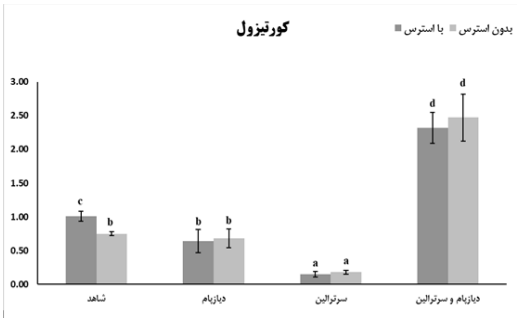


نمودار شماره ۳: نتایج آزمایشات رفتاری در پارامتر تعداد انتقال به ناحیه بالایی تانک، در افسردگی تغییراتی در پارامتر تعداد انتقال به ناحیه بالایی تانک در آزمایش تانک جدید ایجاد می‌گردد که در این نمودار مشاهده می‌شود. شباهت حروف (a، b، c، d) در هر زیر گروه یا تمامی زیرگروه ها به مفهوم معنی دار نبودن مقایسه است.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]

سطوح کورتیزول

نمودار شماره ۴، سطوح کورتیزول بر حسب نانوگرم کورتیزول بر گرم بافت را در تیمارهای با استرس و بدون استرس و تحت تاثیر داروهای دیازپام، سرترالین و ترکیب دیازپام و سرترالین را نشان می‌دهد. بر اساس داده‌های نمودار ۴، پروتکل UCS در تیمار شاهد با استرس، موجب افزایش سطوح کورتیزول شده است. اختلاف معنی‌داری بین سطوح کورتیزول تیمارهای با استرس و بدون استرس هنگام مصرف دیازپام و سرترالین مشاهده نمی‌گردد. تیمار ترکیبی دیازپام و سرترالین، سطوح کورتیزول بیش تری نسبت به سایر تیمارها دارند.



نمودار شماره ٤: نتایج اندازه‌گیری سطوح کورتیزول، در افسردگی تغییراتی در سطوح کورتیزول ایجاد می‌گردد که در این نمودار مشاهده می‌شود. شباهت حروف (a، b، c، d) در هر زیر گروه یا تمامی زیر گروه ها به مفهوم معنی دار نبودن مقایسه است.

بحث

در این آزمایش جهت القای افسردگی در ماهی‌های زبرا، از پروتکل UCS استفاده شد. در تحقیقات پیشین مشاهده شد که پروتکل UCS موجب القای تغییرات رفتاری و نوروآندوکرین در ماهی زبرا می‌شود(۹، ۲۲). آزمایش تانک جدید نشان می‌دهد که وقتی ماهی زبرا برای اولین بار در یک محیط جدید قرار می‌گیرد، به طور اولیه و در ابتدا، ترجیح می‌دهد در اعماق محیط حضور داشته باشد. این یک پاسخ رفتاری عصبی است که به آرامی و پس از این که ماهی زبرا با محیط آشنا شد، کاهش می‌یابد. این رفتار نوعی تلاش ماهی زبرا است تا بتواند به یک مکان امن برای فرار از دست شکارچیان دست یابد(۲۳). هر چه ماهی زبرا سطوح پایین‌تری از استرس داشته باشد، مدت بیش تری را در ناحیه بالایی تانک به سر می‌برد و دفعات بیش تری نیز به ناحیه بالایی تانک منتقل می‌شود(۳۰). بر اساس نتایج آزمایشات رفتاری مطابق نمودار شماره ۲ و نمودار شماره ۳، شاهد بدون استرس نسبت به شاهد با استرس مدت زمان بیش‌تری را در ناحیه بالایی تانک گذراند و دفعات بیش تری نیز به ناحیه بالایی تانک منتقل شد. یعنی شاهدهای بدون استرس سطوح پایه اضطراب کم تری از شاهدهای با استرس داشتند. این امر نشان‌دهنده تاثیر پروتکل UCS است که همانند نتایج تحقیقات پیشین است و درستی انجام این پروتکل را تایید می‌کند(۹، ۲۲، ۲۹). هم‌چنین تیمارهای بدون استرس دیازپام و سرترالین هم نسبت به تیمار بدون استرس شاهد، مدت زمان حضور در ناحیه بالایی تانک و تعداد دفعات انتقال به ناحیه بالایی بیش تری ثبت کردند. این امر ناشی از اثر بخش بودن این داروها در کاهش میزان سطح پایه اضطراب است. بیش تر بودن مدت زمان حضور و دفعات انتقال به ناحیه بالایی تانک در تیمار بدون استرس ترکیبی دیازپام و سرترالین نیز نسبت به تیمارهای بدون استرس دیازپام، سرترالین و شاهد، می‌تواند نشان دهنده اثرات سینرژیستی این دو دارو در کاهش میزان استرس باشد. هم‌چنین تیمارهای با استرس دیازپام، سرترالین و ترکیب دیازپام و سرترالین، مدت زمان حضور در ناحیه بالایی و دفعات انتقال به ناحیه بالایی بیش‌تری نسبت به تیمارهای بدون استرس خود ثبت کرده‌اند. بدین معنا که سطوح پایه اضطراب در این تیمارهای با استرس، کم‌تر از تیمارهای بدون استرس است و این بر خلاف آن چیزی است که انتظار می‌رود. زیرا به طور کلی انتظار می‌رود سطوح استرس در تیمارهایی که به آن‌ها با استفاده از پروتکل UCS استرس وارد شده، بیش‌تر از تیمارهایی باشد که استرسی به آن‌ها وارد نشده است، اما نتایج خلاف این را نشان می‌دهند.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]

علت این امر را باید در فرضیه‌های افسردگی خصوصاً فرضیه نوروتروفیک جستجو کرد. بر اساس فرضیه نوروتروفیک افسردگی، استرس مزمن موجب کاهش انعطاف‌پذیری نورونی و پیوستگی سیناپسی در نواحی کورتیکال مانند هیپوکامپ می‌گردد(۳۱). انعطاف‌پذیری نورونی (Neuronal Plasticity) به ظرفیت دستگاه عصبی برای تغییر عملکردی (Functional) و ساختاری (Structural) خود در پاسخ به تجربه و آسیب اشاره دارد. انعطاف‌پذیری نورونی بخشی کلیدی در توسعه نورونی (Neuronal Development) و عملکرد طبیعی دستگاه عصبی در پاسخ به تغییرات محیطی (Changing Invorment)، پیری (Aging) و آسیب‌های پاتولوژیک می‌باشد(۳۲).

به نظر می‌رسد مصرف دیازپام و سرترالین که از داروهای موثر بر اعصاب (Psychotropic) می‌باشند، همزمان با وارد نمودن عوامل استرس‌زا طی پروتکل UCS، موجب تغییرات مثبتی در انعطاف‌پذیری نورونی می‌گردد به‌طوری که هم دارای اثرات پیشگیری کننده از عواقب پروتکل UCS و هم اثرات مثبت بر روی علائم رفتاری طبیعی حیوان می‌باشد. احتمالاً طی این آزمایش، افزایش انعطاف‌پذیری نورونی که ناشی از مصرف همزمان دارو و وارد نمودن عوامل استرس‌زا می‌باشد، موجب بهبود علائم رفتاری گردیده است. یعنی اثربخشی این داروها بر پارامترهای رفتاری هنگامی که تحت شرایط استرس‌زا مصرف شوند، بیش‌تر خواهد بود و به شکل موثرتری موجب کاهش سطوح پایه استرس می‌گردند.

علاوه بر این در برخی پژوهش‌ها مشاهده شده است که تاثیرات رفتاری تیمار با داروهای دیازپام و سرترالین بسته به نوع شرایط استرسی متفاوت است. بدین معنا که اگر شرایط استرسی از نوع دیگری بر ماهی‌ها حاکم بود، مثل استرس گرسنگی یا استرس صوتی، ممکن بود تغییرات الگوی متفاوتی را نشان دهد(۲۲).

فاکتور دیگری که در آزمایشات رفتاری بررسی گردید، میزان مسافت کل طی شده (Total Distance Traveled) توسط ماهی‌ها بود. همان طور که پیش از این اشاره شد، میزان مسافت کل طی شده، نشان‌دهنده فعالیت حرکتی کل (Total locomotor Activity) ماهی زبرا می‌باشد(۳۰). تفسیر تغییرات فعالیت حرکتی، پیچیده، دشوار و بسته به شرایط، متفاوت است. در تعدادی از آزمایشات، کاهش فعالیت حرکتی را نشانه رفتار استرسی دانسته‌اند(۳۳). در برخی از آزمایشات نیز افزایش فعالیت حرکتی را نشانه رفتار استرسی در نظر گرفته‌اند(۲۸). از آن‌جایی که در این تحقیق فعالیت حرکتی در تیمارهای شاهد بدون استرس کم تر از شاهدهای با استرس بود، به نظر می‌رسد با احتمال بالایی، افزایش فعالیت حرکتی در این آزمایش، نشان‌دهنده رفتار استرسی باشد. از طرفی در نظر گرفتن افزایش فعالیت حرکتی به عنوان رفتار استرسی، با دو فاکتور دیگر حرکتی در این آزمایش یعنی مدت زمان حضور در قسمت سطحی و تعداد انتقال به قسمت سطحی، همخوانی دارد. بر همین مبنا، بیش تر بودن فعالیت حرکتی کل تیمارهای شاهد با استرس نسبت به تیمارهای شاهد بدون استرس، بدین معناست که پروتکل UCS موجب افزایش سطوح استرس شده است که با تحقیقات قبلی مطابقت دارد(۹، ۲۲، ۲۶).

مطابق با نمودار شماره ۱، تیمارهای با استرس ترکیبی دیازپام و سرترالین دارای کم ترین فعالیت حرکتی و در نتیجه کم‌ترین میزان استرس می‌باشد که می‌تواند نشان‌دهنده اثر سینرژیستی این داروها در مهار استرس باشد. هر چند که در تیمارهای دارای اثر داروها میزان مسافت کل طی شده کم شده است، اما در عین حال تعداد دفعات انتقال به قسمت بالایی تانک افزایش داشته است. علت این امر ابعاد خاص تانک جدید است، به طوری که کاهش مسافت کل طی شده بیش تر در نتیجه کاهش حرکات ماهی در قسمت‌های عمقی و میانی تانک جدید است(۳۰). در ماهی زبرا، استرس باعث افزایش فعالیت محور HPI (هیپوتالاموس -

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]

هیپوفیز-اندام درون کلیوی) شده و در طولانی مدت (حداقل ۱ هفته) منجر به القای افسردگی می گردد(۲۹). تغییرات سطوح کورتیزول وابستگی شدیدی با رفتار استرسی در مدل‌های ماهی زبرا دارد و میزان کورتیزول در اثر پروتکل UCS افزایش می‌یابد(۹، ۲۶). مطابق با نمودار شماره ۴، در نتایج تحقیق حاضر، سطح کورتیزول تیمارهای شاهد با استرس به شکل معنی‌داری بیش تر از شاهد بدون استرس بود (P< ۰/۰۵). این امر نشان‌دهنده درستی انجام پروتکل UCS بوده و با آزمایشات پیشین، همخوانی دارد(۲۲، ۲۹). همچنین در تحقیق حاضر، میزان کورتیزول تیمارهای با و بدون استرس دیازپام، سرترالین و ترکیب دیازپام و سرترالین از شاهد با استرس به شکل معنی‌داری کم تر است (P< ۰/۰۵). این امر نشان‌دهنده تاثیر مثبت این داروها در کاهش سطوح استرس پایه در ماهی زبرا می‌باشد. در عین حال میزان کورتیزول تیمارهای با استرس به همراه داروها، اختلاف معنی‌داری با هم ندارند (P< ۰/۰۵).

بیش ترین کاهش کورتیزول مربوط به تیمار های با و بدون استرس سرترالین می‌باشد که نشان دهنده اثرگذاری مطلوب این دارو در کاهش سطوح کورتیزول و متعاقب آن استرس می باشد.

با وجود اثرات مثبت دیازپام و سرترالین در کاهش سطوح کورتیزول، تیمارهای با و بدون استرس ترکیبی دیازپام و سرترالین دارای بیش ترین میزان کورتیزول می باشد که نسبت به سایر تیمارها به شکل معنی‌داری بیش تر است. بر این اساس می‌توان این گونه استنباط نمود که ترکیب این دو دارو حداقل در دوره سه هفته ای انجام پروتکل UCS موجب افزایش فعالیت محور HPI شده و بدین طریق سطوح کورتیزول را افزایش می‌دهد.

عامل دیگری که بر تاثیرات ضد اضطرابی این نوع داروها موثر است، مدت زمان تیمار می‌باشد(۳۴). این موضوع در راستای این نکته است که مسیرهای مونوآمینرژیک (Monoaminergic Pathways) خصوصاً مسیرهای سروتونرژیک با مسیرهای اضطراب، همبستگی و در هم تنیدگی دارند. بدین معنی که اعصاب سروتونرژیک دستگاه عصبی در قسمت‌های موثر بر اضطراب مانند محور HPI نقش داشته و این قسمت‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهند(۳۵). با این توصیف، به منظور بررسی بیش تر این مورد، لازم است تحقیقات دیگری در همین زمینه با طول دوره بیش تر از ۳ هفته صورت گیرد. پیش از این پیاتو و همکاران و پاولیدیس و همکاران بر روی تاثیرات استرس مزمن بر روی محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-اندام خاص درون کلیوی (HPI Axis) در ماهی زبرا تحقیق کردند(۹، ۳۶).

مطابق با نتایج به دست آمده از این تحقیق، نشان داده شد که دیازپام و سرترالین موجب پیشگیری از افزایش سطوح کورتیزول بر اثر پروتکل UCS می‌شود. این امر با تحقیقات پیشین که در آن‌ها اثرات آرامبخش‌های بنزودیازپینی و داروهای ضد افسردگی بر پارامترهای نوروآندوکرین در جوندگان و انسان‌ها بررسی شد، مطابقت دارد(۳۷، ۳۸).

از آن جایی که نتایج حاصل از اجرای پروتکل UCS طی ۷ و ۱۴ روز مشابه بود، تصمیم گرفته شد تا در این تحقیق اثرات این پروتکل در مدت طولانی‌تر و طی ۲۱ روز بررسی گردد(۹، ۲۲). زیرا داروهای ضد افسردگی برای شروع اثرات مثبت خود، نیازمند یک دوره حداقل ۲ هفته‌ای هستند(۳۹). یکی از اهداف تحقیقات دیگری که در آن‌ها پروتکل UCS طی ۷ و ۱۴ روز انجام شد، تعیین حداقل طول دوره تیمار هر دارو جهت بازگرداندن تاثیرات استرس بود. اما در این پژوهش چنین هدفی وجود نداشت. هم‌چنین یکی دیگر از محدودیت‌های پروتکل UCS در ۷ و ۱۴ روز، نزدیکی و پیوستگی زیاد اثرات اضطراب و افسردگی است. در این تحقیق با افزایش این مدت، اثرات افسردگی به طور کامل در ماهی‌های زبرا نمایان شد.

در تحقیقات مشابه Piato و Marcon (۹، ۲۲) ، توصیه شد که به منظور بررسی بهتر و نمایان شدن تمام ابعاد عملکرد پروتکل UCS، مدت زمان این پروتکل افزایش

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]

یابد. این محققین از دوره‌های ۷ و ۱۴ روزه برای انجام این پروتکل استفاده کردند. در تحقیق حاضر از دوره ۲۱ روزه استفاده شد و تغییراتی نسبت به تحقیقات قبلی شناسایی گردید. از همین رو پیشنهاد می‌شود جهت گسترش اطلاعات درباره تغییرات رفتاری و بیوشیمیایی ناشی از پروتکل UCS، در دوره‌های طولانی‌تر مثلاً ۴ هفته و ۸ هفته انجام گیرد. در این آزمایش فاکتور اشتها بررسی نگردید. با توجه به این که تغییرات اشتها مانند کم اشتهایی از علائم متداول افسردگی به شمار می‌رود، پیشنهاد می‌شود در تحقیقات آینده اثرات داروها بر فاکتور اشتها نیز بررسی گردد.

ماهی زبرا یک ارگانیسم مدل بسیار مناسب برای مطالعه تاثیرات استرس بر روی پارامترهای رفتاری و فیزیولوژیک است. می‌توان از پروتکل UCS به عنوان یک ابزار آزمایش جهت ارزیابی داروهای جدید موثر بر استرس و افسردگی استفاده نمود. اگر چه داروی آرامبخش دیازپام و داروی ضد افسردگی سرترالین در بهبود پارامترهای رفتاری در ماهی زبرا موثر بودند ترکیب دیازپام و سرترالین دارای بیش ترین اثر در بهبود پارامترهای رفتاری و پیشگیری از افسردگی در ماهی زبرا بودند.

References

1. Zhu C, Zhang T, Li Q, Chen X, Wang K. Depression and Anxiety During the COVID-19 Pandemic: Epidemiology, Mechanism, and Treatment. Neurosci Bull 2023 Apr; 39(4): 675-684. PMID: 36411394.
2. World Health Organization. Depression and other common mental disorders: global health estimates. Geneva: World Health Organization; 2017.
3. Rush AJ, Trivedi MH, Wisniewski SR, Nierenberg AA, Stewart JW, Warden D, et al. Acute and longer-term outcomes in depressed outpatients requiring one or several treatment steps: a STAR*D report. Am J Psychiatry 2006 Nov; 163(11): 1905-1917. PMID: 17074942.
4. Overstreet DH, Wegener G. The flinders sensitive line rat model of depression—25 years and still producing. Pharmacol Rev 2013; 65(1): 143-155. PMID: 23319547.
5. Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. Nature 1977; 266(5604): 730-732. PMID: 559941.
6. Wang Q, Timberlake MA 2nd, Prall K, Dwivedi Y. The recent progress in animal models of depression. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2017 Jul 3; 77: 99-109. PMID: 28396255.
7. Clark D, Pazdernik N, McGehee M. Cells and organisms. In: Clark DP, Pazdernik NJ, McGehee MR, editors. Molecular Biology. 3rd ed. 2019: 2-37.
8. Goessling W, Sadler KC. Zebrafish: an important tool for liver disease research. Gastroenterology 2015; 149(6): 1361-1377. PMID: 26319012.
9. Piato ÂL, Capiotti KM, Tamborski AR, Oses JP, Barcellos LJ, Bogo MR, et al. Unpredictable chronic stress model in zebrafish (Danio rerio): behavioral and physiological responses. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2011 Mar 30; 35(2): 561-567. PMID: 21187119.
10. Horzmann KA, Freeman JL. Making waves: New developments in toxicology with the zebrafish. Toxicol Sci 2018; 163(1): 5-12. PMID: 29471431.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]

11. Manuel R, Gorissen M, Zethof J, Ebbesson LO, van de Vis H, Flik G, van den Bos R. Unpredictable chronic stress decreases inhibitory avoidance learning in Tuebingen long-fin zebrafish: stronger effects in the resting phase than in the active phase. J Exp Biol 2014 Nov 1; 217(Pt 21): 3919-3928. PMID: 25267842.
12. Brodin T, Fick J, Jonsson M, Klaminder J. Dilute concentrations of a psychiatric drug alter behavior of fish from natural populations. Science 2013 Feb 15; 339(6121): 814-815. PMID: 23413353.
13. Calisto V, Domingues MRM, Esteves VI. Photodegradation of psychiatric pharmaceuticals in aquatic environments–Kinetics and photodegradation products. Water Res 2011; 45(18): 6097-6106. PMID: 21943883.
14. Gunnarsson L, Jauhiainen A, Kristiansson E, Nerman O, Larsson DG. Evolutionary conservation of human drug targets in organisms used for environmental risk assessments. Environ Sci Technol 2008 Aug 1; 42(15): 5807-5813. PMID: 18754513.
15. Finlay J, Zigmond M, Abercrombie E. Increased dopamine and norepinephrine release in medial prefrontal cortex induced by acute and chronic stress: effects of diazepam. Neuroscience 1995; 64(3): 619-628. PMID: 7715775.
16. Eghbali M, Curmi JP, Birnir B, Gage PW. Hippocampal GABA(A) channel conductance increased by diazepam. Nature 1997 Jul 3; 388(6637): 71-75. PMID: 9214504.
17. Chen K, Wu M, Chen C, Xu H, Wu X, Qiu X. Impacts of chronic exposure to sublethal diazepam on behavioral traits of female and male zebrafish (Danio rerio). Ecotoxicol Environ Saf 2021 Jan 15; 208: 111747. PMID: 33396073.
18. MacQueen G, Born L, Steiner M. The selective serotonin reuptake inhibitor sertraline: its profile and use in psychiatric disorders. CNS Drugs Rev 2001; 7(1): 1-24. PMID: 11420570.
19. Zhang S, Liu X, Sun M, Zhang Q, Li T, Li X, et al. Reversal of reserpine-induced depression and cognitive disorder in zebrafish by sertraline and Traditional Chinese Medicine (TCM). Behav Brain Funct 2018 Jun 14; 14(1): 13. PMID: 29898741.
20. Lachowicz J, Niedziałek K, Rostkowska E, Szopa A, Świąder K, Szponar J, et al. Zebrafish as an Animal Model for Testing Agents with Antidepressant Potential. Life (Basel) 2021 Aug 5; 11(8): 792. PMID: 34440536.
21. Abreu MS, Koakoski G, Ferreira D, Oliveira TA, Rosa JG, Gusso D, et al. Diazepam and fluoxetine decrease the stress response in zebrafish. PLoS One 2014 Jul 23; 9(7): e103232. PMID: 25054216.
22. Marcon M, Herrmann AP, Mocelin R, Rambo CL, Koakoski G, Abreu MS, et al. Prevention of unpredictable chronic stress-related phenomena in zebrafish exposed to bromazepam, fluoxetine and nortriptyline. Psychopharmacology (Berl) 2016 Oct; 233(21-22): 3815-3824. PMID: 27562666.
23. Levin ED, Bencan Z, Cerutti DT. Anxiolytic effects of nicotine in zebrafish. Physiol Behav 2007; 90(1): 54-58. PMID: 17049956.
24. Ramsay JM, Feist GW, Varga ZM, Westerfield M, Kent ML, Schreck CB. Whole-body cortisol response of zebrafish to acute net handling stress. Aquaculture 2009 Dec 1; 297(1-4): 157-162. PMID: 25587201.
25. Stetler C, Miller GE. Depression and hypothalamic-pituitary-adrenal activation: a

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]

quantitative summary of four decades of research. Psychosom Med 2011; 73(2): 114-126. PMID: 21257974.

26. Egan RJ, Bergner CL, Hart PC, Cachat JM, Canavello PR, Elegante MF, et al. Understanding behavioral and physiological phenotypes of stress and anxiety in zebrafish. Behav Brain Res 2009 Dec 14; 205(1): 38-44. PMID: 19540270.
27. Faria M, Bellot M, Soto O, Prats E, Montemurro N, Manjarrés D, et al. Developmental exposure to sertraline impaired zebrafish behavioral and neurochemical profiles. Front Physiol 2022 Nov 18; 13: 1040598. PMID: 36467683.
28. Tran S, Gerlai RT. The novel tank test: handling stress and the context specific psychopharmacology of anxiety. Curr Psychopharmacol 2016; 5(2): 169-179.
29. Zimmermann FF, Altenhofen S, Kist LW, Leite CE, Bogo MR, Cognato GP, Bonan CD. Unpredictable Chronic Stress Alters Adenosine Metabolism in Zebrafish Brain. Mol Neurobiol 2016 May; 53(4): 2518-2528. PMID: 26081145.
30. Gerlai R. Zebrafish antipredatory responses: a future for translational research? Behav Brain Res 2010; 207(2): 223-231. PMID: 19836422.
31. Serafini G, Hayley S, Pompili M, Dwivedi Y, Brahmachari G, Girardi P, et al. Hippocampal neurogenesis, neurotrophic factors and depression: possible therapeutic targets? CNS Neurol Disord Drug Targets 2014; 13(10): 1708-1721. PMID: 25470403.
32. Von Bernhardi R, Bernhardi LE-v, Eugenín J. What is neural plasticity? In: The plastic brain; 2017: 1-15. PMID: 29080018.
33. Giacomini ACVV, Abreu MS, Giacomini LV, Siebel AM, Zimerman FF, Rambo CL, et al. Fluoxetine and diazepam acutely modulate stress induced-behavior. Behav Brain Res 2016 Jan 1; 296: 301-310. PMID: 26403161.
34. Herculano AM, Maximino C. Serotonergic modulation of zebrafish behavior: Towards a paradox. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2014; 55: 50-66. PMID: 24681196.
35. Tovote P, Fadok JP, Lüthi A. Neuronal circuits for fear and anxiety. Nat Rev Neurosci 2015; 16(6): 317-331. PMID: 25991441.
36. Pavlidis M, Theodoridi A, Tsalafouta A. Neuroendocrine regulation of the stress response in adult zebrafish, Danio rerio. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2015; 60: 121-131. PMID: 25748166.
37. Zhao Y, Wang Z, Dai J, Chen L, Huang Y, Zhan Z. Beneficial effects of benzodiazepine diazepam on chronic stress-induced impairment of hippocampal structural plasticity and depression-like behavior in mice. Behav Brain Res 2012 Mar 17; 228(2): 339-350. PMID: 22198054.
38. Pomara N, Willoughby LM, Sidtis JJ, Cooper TB, Greenblatt DJ. Cortisol response to diazepam: its relationship to age, dose, duration of treatment, and presence of generalized anxiety disorder. Psychopharmacology (Berl) 2005 Feb; 178(1): 1-8. PMID: 15338100.
39. Lam RW. Onset, time course and trajectories of improvement with antidepressants. Eur Neuropsychopharmacol 2012; 22: S492-S498. PMID: 22959114.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]