IranJPP
Iranian Journal of
Physiology and Pharmacology

مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی ایران

سال ۱۴۰۳، دوره ۸، پیاپی ۱۸، صفحه ۲۳۸-۲۲۹

مقاله پژوهشی

اثرات داروهای دیازپام و اس‌سیتالوپرام بر تغییرات رفتاری و افسردگی ناشی از استرس مزمن در ماهی زبرا (*Danio rerio*)

علی تهمتن‌نژاد عمران[۱]، حامد منوچهری[۱*]، رضا چنگیزی[۱]،
محدثه نجارزاده آهنگرکلایی[۱]، شهاب تیرگر فاخری[۱]، علی سیاه پشت خاچکی[۲]

۱. گروه دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، بابل، ایران،
۲. مرکز تحقیقات ایمونوژنتیک، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی ساری، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

دریافت: ۲۴ بهمن ۱۴۰۳ پذیرش: ۱۳ اسفند ۱۴۰۳

چکیده

زمینه و هدف: افسردگی یک بیماری ذهنی است و طبق آمارها هر روز جدی‌تر می‌شود که نشان از نیاز روزافزون به تحقیق بر روی مدل‌های افسردگی و تولید داروهای ضدافسردگی جدید دارد. هدف این تحقیق، ارزیابی تاثیرات منفرد و ترکیبی داروهای دیازپام و اس‌سیتالوپرام بر پارامترهای رفتاری و بیوشیمیایی در ماهی زبرا (Zebrafish) بوده است.

روش کار: در این تحقیق جهت القای افسردگی در ماهی‌های زبرا، از پروتکل UCS (Unpredictable Chronic Stress) استفاده شد. به طور کلی از ۳۸۴ ماهی زبرا استفاده شد که ابتدا به دو دسته کلی شاهد (بدون عوامل استرس‌زا) و UCS (با عوامل استرس‌زا) تقسیم شدند. درون هر دسته نیز ماهی‌ها به گروه‌های شاهد، دیازپام، اس‌سیتالوپرام و دیازپام + اس‌سیتالوپرام تقسیم شدند. هر گروه دارای سه تکرار بود. آزمایشات رفتاری با آزمایش تانک جدید و آزمایشات بیوشیمیایی با اندازه‌گیری کورتیزول تام بدن صورت گرفت.

یافته‌ها: دیازپام، اس‌سیتالوپرام و ترکیب آن‌ها موجب بهبود قابل توجه و معنی‌داری در پارامترهای رفتاری (افزایش معنی‌دار در مدت زمان حضور در سطح بالایی و تعداد انتقال به سطح بالایی و کاهش معنی‌دار مسافت کل طی شده) و پیشگیری از اثرات رفتاری افسردگی با کاهش معنی‌دار سطوح کورتیزول (از ۰/۰۷ ± ۱/۰۱ به ۰/۱۲ ± ۰/۶۱ نانوگرم) گردید.

نتیجه‌گیری: در این پژوهش داده‌های قبلی تایید شد که نشان می‌دهد پروتکل UCS موجب القای تغییرات رفتاری و نوروآندوکرین در ماهی زبرا می‌گردد که با مصرف دیازپام و اس‌سیتالوپرام، می‌توان از آن‌ها پیشگیری نمود. همچنین این مطالعه استفاده از ماهی زبرا به عنوان ارگانیسم مدل در مطالعات تاثیرات رفتاری و فیزیولوژیک استرس را تقویت نمود.

واژه‌های کلیدی: افسردگی، اس‌سیتالوپرام، پروتکل UCS، دیازپام، ماهی زبرا

مقدمه

افسردگی یک بیماری ذهنی جدی است که با توجه به آمارها، بیش از ۳۲۰ میلیون نفر از مردم سراسر جهان را تحت تاثیر قرار داده است. پاندمی کووید ۱۹ نیز باعث کاهش قابل توجه سلامت روانی مردم در سراسر دنیا شده است [۲، ۱]. از همین رو، نیاز به تحقیق و تولید داروهای جدید موثر بر افسردگی، بیش از پیش حس می‌شود [۳]. ماهی زبرا (Zebra fish) با نام علمی *Danio rerio* به عنوان یک ارگانیسم مدل جدید و ارزشمند مطرح شده است که می‌تواند در آزمایشات پیش‌درمانگاهی مورد استفاده قرار بگیرد. ماهی زبرا نسبت به مدل‌های جوندگان، چندین مزیت دارد که از جمله آن‌ها می‌توان به چرخه تولیدمثلی سریع، بدن شفاف طی دوران تکامل اولیه، شباهت ژنتیکی و فیزیولوژیک زیاد به انسان و هزینه‌های نگهداری اندک اشاره نمود [۴].

در این تحقیق جهت ایجاد افسردگی در ماهی زبرا، از پروتکل استرس مزمن پیش‌بینی‌ناپذیر

* نویسنده مسئول مکاتبات: manouchehri@baboliau.ac.ir (ORCID: 0000-0002-6561-8958)

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-12]

(Unpredictable Chronic Stress, UCS) 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 [۵].

از داروهای ضدافسردگی و آرامبخش جهت کنترل و درمان طیف وسیعی از اختلالات روانی استفاده می‌شود. دیازپام از دسته آرامبخش‌های بنزودیازپینی و از پرمصرف‌ترین داروهای آرامبخش و خواب‌آور می‌باشد. این دارو انتقال GABAergic (انتقال به واسطه GABA) را افزایش می‌دهد و خاصیت آرامبخشی دیازپام نیز نتیجه همین فرآیند است [۶]. در همین زمینه چن و همکاران در سال ۲۰۲۱ بر روی اثرات دُزهای مزمن دیازپام بر روی ماهی زبرا تحقیق کردند و اثرات آن را بر تغییر میانجی‌های عصبی و همچنین تغییرات رفتاری تایید نمودند [۷]. سیتالوپرام از داروهای ضدافسردگی دسته داروهای مهارکننده انتخابی بازجذب سروتونین (Selective Serotonin Reuptake Inhibitor, SSRI) است. این دارو با مهار بازجذب سروتونین، موجب افزایش غلظت آن شده و این گونه اثرات ضدافسردگی خود را اعمال می‌کنند. این دارو دارای دو استریوایزومر (Stereoisomer) به نام‌های اس–سیتالوپرام (S-Citalopram) و آر–سیتالوپرام (R-Citalopram) است. سیتالوپرام مخلوطی برابر از هر دو ایزومر است. تحقیقات ثابت کرده است که اثر اصلی این دارو مربوط به ایزومر S آن است. از همین رو در صنعت داروسازی ایزومر S سیتالوپرام جداسازی شده و در تحقیقات نیز از این ایزومر استفاده می‌شود [۸]. در همین راستا نیلسن و همکاران در سال ۲۰۱۸ بر روی اثرات سیتالوپرام بر رفتار ماهی زبرا کار کردند و اثرات دُزهای مختلف این دارو را بر ایجاد رفتارهای متفاوت در ماهی زبرا، نشان دادند [۹].

کورتیزول یک هورمون گلوکوکورتیکوئیدی و شاخص اولیه استرس در ماهی زبرا می‌باشد. در مهره‌داران خصوصاً ماهی‌ها، کورتیزول از مهمترین فاکتورهای سنجش میزان استرس می‌باشد و در هنگام استرس‌های محیطی، میزان این هورمون افزایش می‌یابد [۱۰]. بر اساس فرضیه التهابی افسردگی، استرس مزمن موجب بیش‌فعالیت محور هیپوتالاموس–هیپوفیز–اندام درون کلیوی (Hipothalamus – Pituitary – Interrenal organ, HPI Axis) شده و در نهایت با تولید گلوکوکورتیکوئیدهایی مانند کورتیزول، باعث بروز علائم افسردگی می‌گردد. میزان کورتیزول در حداقل ۷۳٪ مبتلایان به افسردگی، بیش از حد طبیعی می‌باشد [۱۱].

هدف تحقیق حاضر، ارزیابی تاثیرات منفرد و ترکیبی داروهای آرامبخش و ضدافسردگی پرمصرف دیازپام و اس‌سیتالوپرام بر پارامترهای رفتاری (آزمایش تانک جدید) و بیوشیمیایی (کورتیزول تام بدن) در ماهی زبرا تحت پروتکل UCS بوده است.

مواد و روش‌ها

تیمارهای مورد آزمایش

از ۳۸۴ ماهی زبرا بالغ از سویه باله کوتاه (Short-fin)، شش ماهه و مخلوط نر و ماده استفاده شد که از یک فروشنده معتبر ماهیان زینتی تهیه شدند. این ماهی‌ها در ۲۴ آکواریوم ۱۰ لیتری (۱/۶ ماهی در لیتر، ۱۶ ماهی در هر آکواریوم) قرار گرفتند که با آب تصفیه شده کلرزدایی شده پر شده بود. محل نگهداری ماهی‌ها و انجام آزمایشات، یک آزمایشگاه تحقیقاتی واقع در دانشگاه آزاد واحد بابل بود. ماهی‌ها چرخه روشنایی – تاریکی ۱۴ به ۱۰ ساعت داشتند (روشن شدن چراغ‌ها ساعت ۷ صبح) و یک هفته قبل از آزمایش در این شرایط نگهداری شدند. قسمتی از آب تانک دو بار در هفته تعویض شده و ماهی‌ها تحت شرایط مناسب نگهداری شدند. ماهی‌ها دو بار در روز با تکه‌های کوچک غذای ماهی تجاری، غذادهی شدند. شرایط مناسب نگهداری ماهی‌ها بر اساس تحقیقات پیشین فراهم شد [۱۳، ۱۲، ۵] و در جدول ۱ نشان داده شده است.

داروها

دیازپام (به صورت محلول ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) و اس‌سیتالوپرام (به صورت محلول ۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) از شرکت‌های داروسازی ایرانی کاسپین و لقمان تهیه شد. غلظت مورد استفاده این داروها در ماهی زبرا بر اساس آزمایشات انجام شده در تحقیقات مشابه پیشین [۹، ۷] تعیین شد و بدین شرح به دست آمد: دیازپام: ۱۲۰ میکروگرم بر لیتر، اس‌سیتالوپرام: ۱/۵ میکروگرم بر لیتر. داروها طی ۲۱ روز و همزمان با عوامل استرس‌زا، به درون آب آزاد شدند.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-12]

جدول ۱- شرایط مناسب نگهداری ماهی‌ها جهت انجام پروتکل UCS، آزمایشات رفتاری و اندازه‌گیری کورتیزول

دما (سانتی‌گراد)	pH	اکسیژن محلول (میلی‌گرم بر لیتر)	آمونیاک کل (میلی‌گرم بر لیتر)	سختی کل (میلی‌گرم بر لیتر)	قلیایی (میلی‌گرم بر لیتر کلسیم کربنات)
۲۶ ±۱	۷ ± ۰/۳	۷ ± ۰/۴	کمتر از ۰/۰۱	۵/۸	۲۲

القای افسردگی در ماهی زبرای مدل با پروتکل UCS

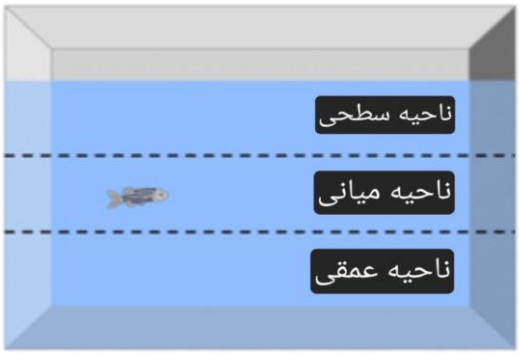
در این پژوهش جهت القای افسردگی در ماهی‌های زبرا، از پروتکل UCS استفاده شد. طراحی کلی این آزمایش و استفاده از این پروتکل، بر اساس روش مورد استفاده در تحقیقات مشابه پیشین [۱۲، ۵] بود. در این پروتکل با استفاده از القای مداوم عوامل استرس‌زای متفاوت، در نهایت افسردگی به ماهی‌های زبرا، القا گردید. مطابق جدول ۲ در این پروتکل، تعداد ۳۸۴ ماهی زبرا ابتدا به دو دسته کلی شاهد (بدون عوامل استرس‌زا) و UCS (با عوامل استرس‌زا) تقسیم شدند. درون هر دسته، ماهی‌ها به گروه‌های شاهد، دیازپام (۱۲۰ میکروگرم بر لیتر)، اس‌سیتالوپرام (۱/۵ میکروگرم بر لیتر) و دیازپام (۱۲۰ میکروگرم بر لیتر) + اس‌سیتالوپرام (۱/۵ میکروگرم بر لیتر) تقسیم شدند. تعداد ماهی‌های هر گروه، ۱۶ بود. هر گروه نیز دارای سه تکرار بود. عوامل استرس‌زای القا شده شامل موارد زیر بود: (۱) افزایش دمای آب تانک تا ۳۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه انجام شد. (۲) کاهش دمای آب تانک تا ۲۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه انجام شد. (۳) ۱۰ ماهی در یک ظرف با حجم ۲۵۰ میلی‌لیتر به مدت ۵۰ دقیقه قرار داده شد. (۴) سطح آب آکواریوم به مدت ۲ دقیقه کاهش یافت، به طوری که سطح پشتی بدن ماهی‌ها نمایان شد. (۵) تانک ۳ بار متوالی با فاصله ۳۰ دقیقه تعویض گردید. (۶) ماهی با توری به مدت ۸ دقیقه تعقیب شدند. 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 (شکل ۲). عوامل استرس‌زا از ساعت ۸ صبح تا ۱۸ عصر اعمال شدند.

آزمایش تانک جدید (Novel Tank Test, NTT)

در روز ۲۲، مابین ساعت ۸ تا ۱۱ صبح، از هر تیمار آزمایشی ۳ ماهی به طور تصادفی انتخاب شده و هر ماهی به صورت انفرادی و جداگانه در آزمایش تانک جدید (شکل ۱) مورد بررسی قرار گرفت. روش انجام این آزمایش بر اساس تحقیقات پیشین صورت گرفت [۱۴، ۱۳، ۵]. برخی از رایج‌ترین پارامترهای رفتاری که در آزمایش تانک جدید بررسی شد، اندازه‌گیری مسافت کل طی شده، اندازه‌گیری مدت زمان حضور در قسمت بالایی تانک و تعداد دفعات ورود به قسمت بالایی تانک بود [۱۵]. به طور خلاصه، هر ماهی به مدت ۶ دقیقه در تانکی با ابعاد ۲۰ × ۸ × ۲۴ cm (طول، عرض، ارتفاع) با سطح آب ۱۵ cm قرار گرفت و از حرکات آن طی این مدت تصویربرداری شد. آب درون تانک برای هر ماهی عوض می‌شد. تانک جدید به صورت ذهنی و مجازی به ۳ قسمت افقی برابر (عمق، میانه و سطح) تقسیم شد. تصاویر ضبط شده آزمایشات رفتاری با استفاده از نرم افزار EthoVision آنالیز شدند. این ماهی‌ها پس از ضبط تصاویر، با رعایت اصول اخلاقی یوتانایز شدند تا از تداخل احتمالی حاصل از اثرات استرسی حاد آزمایش تانک جدید بر روی میزان کورتیزول در آن‌ها، جلوگیری شود.

اندازه‌گیری کورتیزول

اندازه‌گیری کورتیزول تام بدن، بر اساس تحقیقات قبلی و با استفاده از کیت الایزا (EIA gen CORTISOL test, Biochem Immuno Systems) مخصوص ماهی زبرا صورت گرفت [۱۶، ۵]. به طور خلاصه، ۲۴ ساعت پس از اعمال آخرین عامل استرس‌زا، ماهی‌ها با ملایمت گرفته شده و



شکل ۱- نمای شماتیک از تانک جدید و قسمت‌های مختلف آن که به طور مجازی تقسیم شدند.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-12]

جدول ۲- نمای کلی از تیمارهای مورد آزمایش

	شاهد بدون استرس	شاهد با استرس	گروه ۱ بدون استرس	گروه ۱ با استرس	گروه ۲ بدون استرس	گروه ۲ با استرس	گروه ۳ بدون استرس	گروه ۳ با استرس
دیازپام (میکروگرم بر لیتر)	۰	۰	۱۲۰	۱۲۰	۰	۰	۱۲۰	۱۲۰
اس‌سیتالوپرام (میکروگرم بر لیتر)	۰	۰	۰	۰	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵

فوراً در نیتروژن مایع فریز شدند. به دنبال آن در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد 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، کمتر از ۱۰ ثانیه بود [۱۲]. 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 7.4) برای ۶ دقیقه قرار گرفت. سپس با استفاده از دستگاه هوموژنایزر (T10 Basic Ultra turrax, IKA, Germany)، به خوبی هوموژن و یکنواخت شد [۱۶]. 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. 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 ۲۰- درجه سانتیگراد ذخیره شد تا هنگامی که تست الایزا روی سوسپانسیون نمونه‌ها با ۱ میلی‌لیتر بافر PBS عمل‌آوری شد [۵].

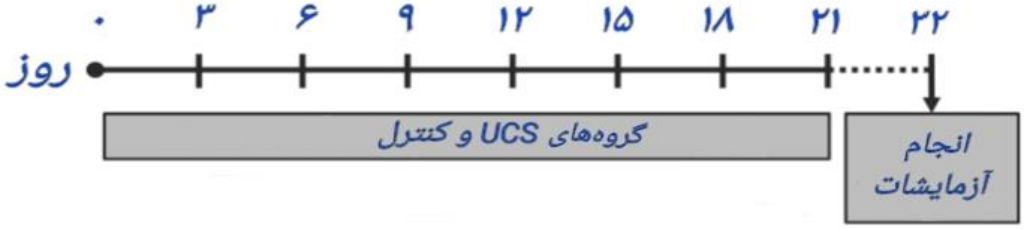
تجزیه و تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری SPSS و آزمون آماری آنالیز واریانس تکراری دوطرفه (ANOVA) و پس‌آزمون تاکی (Tukey's post hoc) استفاده شد. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل رسم شدند. تمامی نتایج با میانگین ± انحراف استاندارد از میانگین توصیف شدند. همچنین در همه محاسبات سطح معنی‌داری اختلاف $p < ۰/۰۵$ محسوب شد.

یافته‌ها

مطابق با نمودار ۱الف و ۱ب، پروتکل UCS موجب کاهش معناداری در زمان سپری شده در ناحیه بالایی و تعداد ورود به ناحیه بالایی تانک می‌شود ($p < ۰/۰۵$). تیمار ماهی های دارای استرس، با دیازپام و اس‌سیتالوپرام و ترکیب آن‌ها نسبت به تیمارهای بدون استرس، موجب شد ماهی ها به شکل معنی‌داری مدت زمان بیشتری را در ناحیه بالایی تانک سپری کنند ($p < ۰/۰۵$). مطابق با نمودار ۱ج، پروتکل UCS موجب ایجاد تفاوت معنی‌داری در مسافت کل پیموده شده در تیمار شاهد بدون استرس نسبت به تیمار شاهد با استرس می‌گردد ($p < ۰/۰۵$). در تیمارهای با استرس دیازپام و اس‌سیتالوپرام 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 ($p > ۰/۰۵$). در تیمار ترکیبی دیازپام و اس‌سیتالوپرام، بین تیمار بدون استرس و با استرس اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p < ۰/۰۵$). در تیمار ترکیبی با استرس دیازپام و اس‌سیتالوپرام، بیشترین کاهش در میزان مسافت طی شده مشاهده می‌گردد. با توجه به نمودار ۱ ملاحظه می گردد که استرس موجب کاهش معنی‌دار زمان سپری شده در ناحیه سطحی (نمودار ۱ الف) و نیز تعداد انتقال به ناحیه سطحی (نمودار ۱الف) شده است ($p < ۰/۰۵$). در عین حال استرس بطور معنی داری مسافت کل طی شده در آکواریوم را افزایش داده است ($p < ۰/۰۵$ نمودار ۱ج). هر کدام از دو داروی اس‌سیتالوپرام و دیازپام در مقایسه با گروه شاهد بطور معنی داری میزان پارامترهای فوق را در جهت کاهش استرس تغییر داده اند ($p < ۰/۰۵$). همچنین تجویز توام اس‌سیتالوپرام و دیازپام در مقایسه با هر کدام از داروها به تنهایی، تاثیر بیشتری بر تغییر متغیرهای استرس در جهت کاهش استرس داشته است ($p < ۰/۰۵$).

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-12]



شکل ۲- نمای شماتیک از روند تحقیق و آزمایشات.

در نمودار ۲ میزان کورتیزول در گروههای آزمایشی نشان داده شده است. همانطور که در نمودار ملاحظه می گردد میزان کورتیزول فقط در گروه "شاهد دچار استرس" افزایش معنی داری را نسبت به گروه "شاهد بدون استرس" نشان می دهد ($p < ۰/۰۵$). در سایر گروهها تفاوت معنی داری بین حالت استرس و بدون استرس مشاهده نشد. این مشاهده موید آن است که داروها به تنهایی و در تجویز توام مانع از افزایش کورتیزول متعاقب استرس شده اند. علاوه بر این میزان کورتیزول در گروه "شاهد تحت استرس" تفاوت معنی داری با سایر گروههای تحت استرس نشان می‌دهد ($p < ۰/۰۵$). اما تفاوت معنی داری بین تجویز توام اس‌سیتالوپرام و دیازپام در مقایسه با هر کدام از داروها به تنهایی، وجود ندارد.

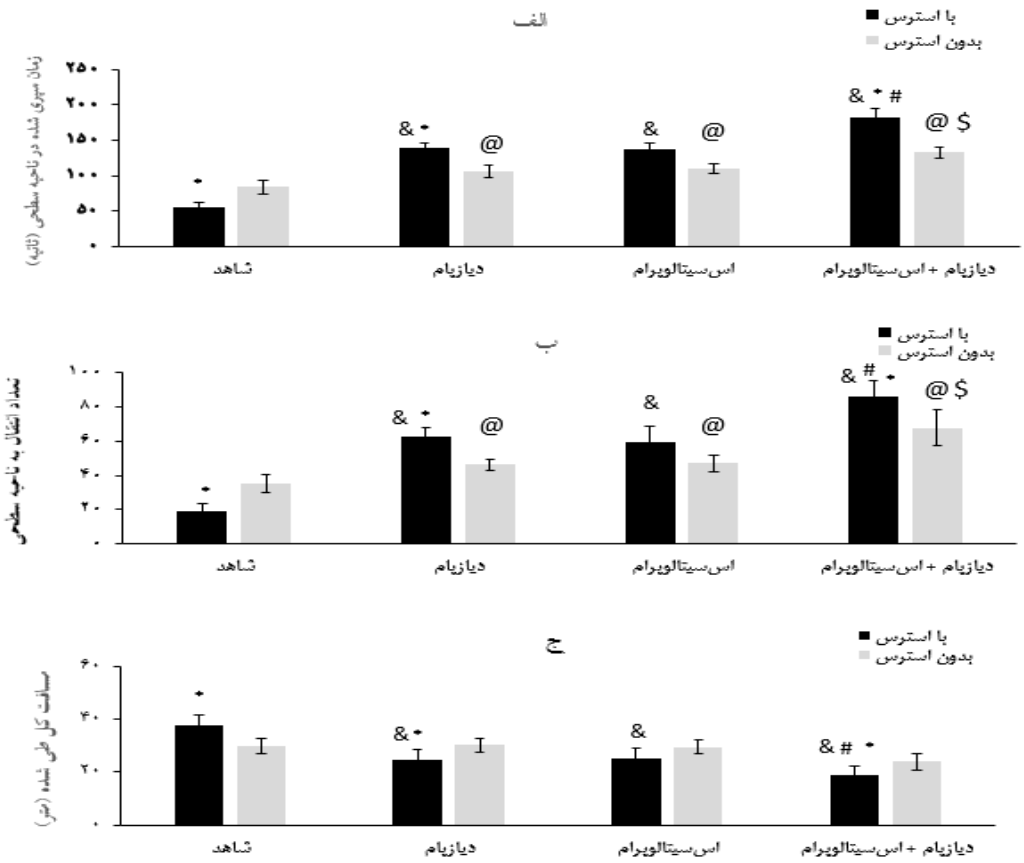
بحث

رفتار ماهی زبرا تحت تاثیر دیازپام و اس‌سیتالوپرام (آزمایش تانک جدید)

آزمایش تانک جدید نشان می‌دهد که وقتی ماهی زبرا برای اولین بار در یک محیط جدید قرار می‌گیرد، در ابتدا ترجیح می‌دهد در اعماق محیط حضور داشته باشد. این یک پاسخ رفتاری عصبی است که به آرامی و پس از آشنایی ماهی زبرا با محیط، کاهش می‌یابد. این رفتار نوعی مکانیسم تکاملی ماهی زبرا است تا بتواند به یک مکان امن برای فرار از دست شکارچیان دست یابد [۱۳]. هر چه ماهی زبرا سطوح پایین‌تری از استرس داشته باشد، مدت بیشتری را در ناحیه بالایی تانک به سر می‌برد و دفعات بیشتری نیز به ناحیه بالایی تانک منتقل می‌شود [۱۷]. مطابق نتایج، گروه شاهد بدون استرس نسبت به شاهد با استرس مدت زمان بیشتری را در ناحیه بالایی تانک گذراند و دفعات بیشتری نیز به ناحیه بالایی تانک منتقل شد.

این یافته‌ها نشان‌دهنده سطوح پایه اضطراب پایین‌تر در مقایسه با تیمار شاهد با استرس هستند. این نتایج، تأثیر استرس القاشده توسط پروتکل UCS را تأیید می‌کنند و با یافته‌های مطالعات پیشین پیاتو و همکاران، مارکون و همکاران و زیمرمن و همکاران مشابه است [۱۶، ۱۲، ۵]. همچنین تیمارهای بدون استرس دیازپام و اس‌سیتالوپرام هم نسبت به تیمار بدون استرس شاهد، مدت زمان حضور در ناحیه بالایی تانک و تعداد دفعات انتقال به ناحیه بالایی بیشتری ثبت کردند. این امر ناشی از اثر بخش بودن این داروها در کاهش میزان سطح پایه اضطراب است. بیشتر بودن مدت زمان حضور و دفعات انتقال به ناحیه بالایی تانک در تیمار بدون استرس ترکیبی دیازپام و اس‌سیتالوپرام نیز نسبت به تیمارهای بدون استرس دیازپام، اس‌سیتالوپرام و شاهد، می‌تواند نشان‌دهنده اثرات سینرژیستی این دو دارو در کاهش میزان استرس باشد که با یافته‌های تحقیقات مارکون و همکاران مشابه است [۱۲]. همچنین تیمارهای با استرس دیازپام، اس‌سیتالوپرام و ترکیب دیازپام و اس‌سیتالوپرام، مدت زمان حضور در ناحیه بالایی و دفعات انتقال به ناحیه بالایی بیشتری نسبت به تیمارهای بدون استرس خود ثبت کردند. 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. علت این امر را باید در فرضیه‌های افسردگی خصوصاً فرضیه نوروتروفیک جستجو کرد. بر اساس این فرضیه، استرس مزمن موجب کاهش انعطاف‌پذیری نورونی و پیوستگی سیناپسی در نواحی کورتیکال

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-12]

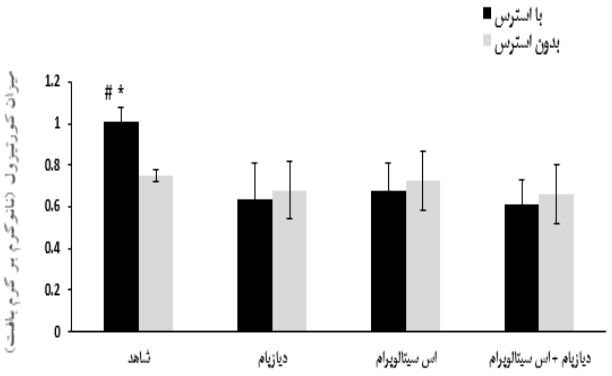


نمودار ۱- تاثیر داروها بر رفتار ماهی ها در آزمایش تانک جدید. الف-تاثیر داروها بر پارامتر زمان سپری شده در ناحیه سطحی. ب-تاثیر داروها بر پارامتر تعداد انتقال به ناحیه سطحی. ج- تاثیر داروها بر پارامتر مسافت کل طی شده. ستون‌ها میانگین ± انحراف استاندارد از میانگین را نشان می‌دهند. تعداد ماهی‌های هر گروه آزمایشی، ۱۶ عدد بود و هر گروه نیز ۳ تکرار داشت. *: تفاوت معنی‌دار با $p < ۰/۰۵$ در مقایسه با گروه بدون استرس همان گروه. &: تفاوت معنی‌دار با $p < ۰/۰۵$ در مقایسه با گروه شاهد "با استرس". #: تفاوت معنی‌دار با $p < ۰/۰۵$ در مقایسه با هر کدام از گروههای اس‌سیتالوپرام و دیازپام "با استرس". @: تفاوت معنی‌دار با $p < ۰/۰۵$ در مقایسه با گروه شاهد "بدون استرس". $: تفاوت معنی‌دار با $p < ۰/۰۵$ در مقایسه با هر کدام از گروههای اس‌سیتالوپرام و دیازپام "بدون استرس".

مانند هیپوکامپ می‌گردد [۱۸]. 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، پیری (Aging) و آسیب‌های پاتولوژیک می‌باشد [۱۹].

تحقیقات پیشین نشان می‌دهد که داروهای SSRI همچون اس‌سیتالوپرام می‌توانند موجب افزایش تولید عامل نوروتروفیک مشتق از مغز (Brain Derived Neurotrophic Factor, BDNF) شوند. BDNF نقش حیاتی در زنده‌مانی نورون‌ها و انعطاف‌پذیری نورونی دارد [۲۰]. لذا ممکن است اس‌سیتالوپرام با افزایش انعطاف‌پذیری نورونی، موجب کاهش اثرات زیانبار استرس مزمن ناشی از پروتکل UCS گردد. بر اساس فرضیه التهابی افسردگی، التهاب دارای نقش اساسی در ایجاد افسردگی می‌باشد. بنزودیازپین‌ها به عنوان آگونیست‌های GABA عمل نموده و همچنین خواص ضد التهاب نورونی دارند [۲۱]. از همین رو ممکن است دیازپام به صورت غیرمستقیم موجب کاهش ایجاد افسردگی و اثرات آن شود. داده‌های این آزمایش نشان می‌دهد که مصرف دیازپام و اس‌سیتالوپرام به صورت منفرد موجب کاهش سطوح استرس و درنتیجه افسردگی ناشی از آن می‌گردد. همچنین مصرف

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-12]



نمودار ۲- تاثیر داروها بر میزان کورتیزول در ماهی زبرا تحت شرایط استرس. ستون‌ها میانگین ± انحراف استاندارد از میانگین را نشان می‌دهند. تعداد ماهی‌های هر گروه آزمایشی، ۱۶ عدد بود و هر گروه نیز ۳ تکرار داشت. *: تفاوت معنی‌دار با $p < ۰/۰۵$ در مقایسه با گروه بدون استرس همان گروه. #: تفاوت معنی‌دار با $p < ۰/۰۵$ در مقایسه با هر کدام از گروههای اس‌سیتالوپرام، دیازپام، و دیازپام + اس‌سیتالوپرام "با استرس".

توامان آن‌ها اثرات موثرتری در کاهش سطوح استرس و ابتلا به افسردگی دارد. به نظر می‌رسد مصرف دیازپام و اس‌سیتالوپرام همزمان با وارد نمودن عوامل استرس‌زا طی پروتکل UCS، موجب تغییرات مثبتی در انعطاف‌پذیری نورونی می‌گردد. به طوری که هم دارای اثرات پیشگیری‌کننده 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. به عبارت دیگر احتمالاً 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 و در نتیجه کاهش ابتلا به افسردگی می‌گردند. علاوه بر این در برخی پژوهش‌ها مشاهده شده است که تاثیرات رفتاری تیمار با داروهای دیازپام و اس‌سیتالوپرام 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 [۱۲].

مسافت کل طی‌شده (Total Distance Traveled)، نشان‌دهنده فعالیت حرکتی کل (Total locomotor Activity) ماهی زبرا می‌باشد [۱۷]. به‌طور معمول استرس حاد موجب افزایش فعالیت حرکتی [۲۲] و استرس مزمن موجب کاهش فعالیت حرکتی [۱۶] در ماهی‌های زبرا می‌گردد. از سوی دیگر در تعدادی از آزمایشاتی که در آن‌ها از استرس مزمن استفاده شد، کاهش فعالیت حرکتی را نشانه رفتار استرسی دانسته‌اند [۲۳] و در برخی دیگر، افزایش فعالیت حرکتی را نشانه رفتار استرسی در نظر گرفته‌اند [۱۵]. از آن جایی که در این تحقیق فعالیت حرکتی در تیمارهای شاهد بدون استرس کمتر از شاهدهای با استرس بود، به نظر می‌رسد با احتمال زیاد، 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 (مدت زمان حضور در قسمت سطحی و تعداد انتقال به قسمت سطحی)، همخوانی دارد. لذا بیشتر 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 [۱۴، ۱۲، ۵]. در تحقیق حاضر برای انجام پروتکل UCS از عوامل استرس‌زایی همچون افزایش و کاهش دما و ایجاد ازدحام در ماهی‌ها که در اکثر آزمایشات مشابه پیشین مورد استفاده قرار گرفته بود، استفاده شد و تغییرات فعالیت حرکتی مشابه آزمایشات پیشین مارکون و همکاران و پیاتو و همکاران مشاهده گردید [۱۲، ۵]. لوین و همکاران [۱۳] برای انجام پروتکل UCS از عوامل استرس‌زای دیگری همچون استرس صوتی و استرس ناشی از برهم خوردن ساعات تاریکی و روشنایی استفاده کرده و تغییرات حرکتی متفاوتی مشاهده نمودند. بنابراین احتمالاً نوع استرس وارد شده به ماهی‌ها در طول پروتکل UCS در نوع پاسخ حرکتی تاثیرگذار می‌باشد. مدت زمان تیمار عامل دیگری است که نقش مهمی در نوع پاسخ حرکتی ماهی‌های زبرا نسبت به استرس مزمن دارد. به طوری که در آزمایشات با مدت زمان ۱ هفته و ۲ هفته، تغییرات حرکتی الگوی متفاوتی را نشان دادند [۱۲]. لذا جهت روشن‌تر شدن این موضوع، توصیه می‌شود آزمایشات دیگری در همین زمینه با مدت زمان‌های متفاوت و عوامل استرس‌زای مختلف انجام شود. مطابق نتایج این مطالعه، در میان تیمارهای با استرس، تیمار ترکیبی دیازپام و اس‌سیتالوپرام دارای کمترین فعالیت حرکتی و در نتیجه کمترین میزان استرس می‌باشد که ممکن است نشان‌دهنده اثر سینرژیستی این داروها در مهار

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-12]

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 [۲۲].

رابطه سطوح کورتیزول با مصرف دیازپام و اس‌سیتالوپرام

تغییرات سطوح کورتیزول وابستگی شدیدی با رفتار استرسی و به دنبال آن افسردگی در مدل‌های ماهی زبرا دارد [۱۴]. میزان کورتیزول در اثر پروتکل UCS افزایش می‌یابد [۵]. مطابق با نمودار ۲ تحقیق حاضر، سطح کورتیزول تیمار شاهد با استرس به شکل معنی‌داری بیشتر از شاهد بدون استرس بود ($p < ۰/۰۵$) که نشان‌دهنده درستی انجام پروتکل UCS بوده و با تحقیقات پیشین، همخوانی دارد [۱۲, ۱۶]. میزان کورتیزول تیمارهای با و بدون استرس دیازپام، اس‌سیتالوپرام و ترکیب دیازپام و اس‌سیتالوپرام از شاهد با استرس به شکل معنی‌داری کمتر است ($p < ۰/۰۵$) که نشان‌دهنده تاثیر مثبت این داروها در کاهش سطوح استرس پایه و در نتیجه کاهش افسردگی در ماهی زبرا می‌باشد. در عین حال میزان کورتیزول تیمارهای با استرس داروها، اختلاف معنی‌داری با هم ندارند ($p > ۰/۰۵$) که می‌تواند بیانگر این باشد که احتمالاً میزان کورتیزول در ماهی زبرا دارای یک سطح پایه‌ای فیزیولوژیک (Physiologic Basic Level) است. با مصرف داروهای ضدافسردگی و آرامبخش طی دوره حداقل ۳ هفته‌ای، نمی‌توان میزان آن را از این مقدار پایه‌ای کمتر نمود. در تحقیق مارکون و همکاران در سال ۲۰۱۶ این سطوح پایه‌ای کورتیزول در آزمایشات ۱ هفته‌ای و ۲ هفته‌ای تحت پروتکل UCS ثبت شد [۱۲]. عامل دیگری که بر تاثیرات ضداضطرابی این نوع داروها موثر است، مدت زمان تیمار می‌باشد [۲۴]. 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 هیپوتالاموس–هیپوفیز– اندام درون کلیوی (HPI Axis) نقش داشته و این قسمت‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهند. در این مسیرها طی مدت زمان‌های متفاوت، تغییرات متفاوتی ایجاد می‌شود [۲۵]. با این توصیف، به منظور بررسی بیشتر این مورد، لازم است تحقیقات دیگری در همین زمینه با طول دوره بیشتر از ۳ هفته صورت گیرد. این داروها علاوه بر تیمارهای با استرس، موجب کاهش کورتیزول، پیشگیری و کاهش رفتار استرسی در تیمارهای بدون استرس نیز شدند. اما همچنان میزان کورتیزول از سطوح پایه آن در ماهی زبرا، کمتر نشد.

در تحقیق حاضر از دوره تیمار ۲۱ روزه استفاده شد و تغییرات یاد شده نسبت به تحقیقات پیشین شناسایی گردید. از همین رو پیشنهاد می‌شود جهت گسترش اطلاعات درباره تغییرات بیوشیمیایی ناشی از پروتکل UCS، در دوره‌های طولانی‌تر مثلاً ۴ هفته و ۸ هفته انجام شود. با توجه به این که کاهش اشتها از علائم متداول افسردگی به شمار می‌رود، پیشنهاد می‌شود در تحقیقات آینده اثرات داروها بر فاکتور اشتها نیز بررسی گردد.

نتیجه‌گیری

در این آزمایش نتایج تحقیقات پیشین تایید شد و نشان داده شد که پروتکل UCS موجب القای تغییرات رفتاری و نوروآندوکرین در ماهی زبرا می‌گردد. همچنین در تحقیق حاضر نشان داده شد که دیازپام، اس‌سیتالوپرام و ترکیب دیازپام و اس‌سیتالوپرام می‌تواند موجب بهبود علائم رفتاری (افزایش مدت زمان حضور در ناحیه سطحی و تعداد ورود به ناحیه سطحی) و جلوگیری از افزایش سطوح کورتیزول بر اثر پروتکل UCS شود که اثرات پیشگیری‌کننده از ابتلا به افسردگی دارد.

ملاحظات اخلاقی

نگهداری ماهی‌های زبرا و انجام آزمایشات بر روی آن‌ها، با تایید و نظارت کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل انجام شد. شناسه اخلاق این پژوهش به شماره IR.IAU.BABOL.REC.1403.025 در وبگاه سامانه ملی اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی، قابل مشاهده می‌باشد.

ملاحظات مالی

در انجام این پژوهش پشتیبانی مالی از هیچ سازمانی یا موسسه‌ای دریافت نشد و تمامی هزینه‌های پژوهش تماماً توسط نویسندگان تقبل گردید.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-12]

تعارض در منافع

نویسندگان این مطالعه اعلام می‌کنند کـه هیچ‌گونـه تضـاد منافعی وجود ندارد.

نقش نویسندگان

ع.ت.ع: انجام مطالعه، طراحی، نگارش مقاله ح.م: نگـارش مقاله، نظارت بر اجرای مطالعه ر.چ: نگارش مقاله، آنالیز داده‌ها، ویـرایش ش.ت.ف: نگـارش مقالـه م.ن.آ: نگـارش مقالـه ع.س.خ: آنالیز تصاویر آزمایشات رفتاری با اسـتفاده از نرم‌افـزار Ethovision.

فهرست منابع

[1] Zhu C, Zhang T, Li Q, Chen X, Wang K, Depression and anxiety during the COVID-19 pandemic: epidemiology, mechanism, and treatment. ***Neuroscience Bulletin*** 39 (2023) 675-684.

[2] World Health Organization, Depression and Other common mental disorders: global health estimates [cited 1 March 2025] Available from: https://www.who.int/publications/i/item/depression-global-health-estimates.

[3] Rush AJ, Trivedi MH, Wisniewski SR, Nierenberg AA, Stewart JW, Warden D, Niederehe G, Thase ME, Lavori PW, Lebowitz BD, Acute and longer-term outcomes in depressed outpatients requiring one or several treatment steps: a STAR* D report. ***Am J Psychiatry*** 163 (2006) 1905-1917.

[4] 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*** 217 (2014) 3919-3928.

[5] Piato ÂL, Capiotti KM, Tamborski AR, Oses JP, Barcellos LJ, Bogo MR, Lara DR, Vianna MR, Bonan CD, Unpredictable chronic stress model in zebrafish (Danio rerio): behavioral and physiological responses. ***Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry*** 35 (2011) 561-567.

[6] Eghbali M, Curmi J, Birnir B,Gage P, Hippocampal GABAAchannel conductance increased by diazepam. ***Nature*** 388 (1997) 71-75.

[7] 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 Environment Saf*** 208 (2021) 111747.

[8] Burke WJ, Kratochvil CJ, Stereoisomers in psychiatry: the case of escitalopram. ***Prim Care Companion J Clin Psychiatry*** 4 (2002) 20.

[9] Nielsen SV, Kellner M, Henriksen PG, Olsén H, Hansen SH, Baatrup E, The psychoactive drug Escitalopram affects swimming behaviour and increases boldness in zebrafish (Danio rerio). Ecotoxicology 27 (2018) 485-497.

[10] Vijayan M, Moon T, The stress response and the plasma disappearance of corticosteroid and glucose in a marine teleost, the sea raven. ***Can J Zool*** 72 (1994) 379-386.

[11] Stetler C, Miller GE, Depression and hypothalamic-pituitary-adrenal activation: a quantitative summary of four decades of research. ***Psychosom Med*** 73 (2011) 114-126.

[12] Marcon M, Herrmann AP, Mocelin R, Rambo CL, Koakoski G, Abreu MS, Conterato GM, Kist LW, Bogo MR, Zanatta L, Prevention of unpredictable chronic stress-related phenomena in zebrafish exposed to bromazepam, fluoxetine and nortriptyline. ***Psychopharmacology*** 233 (2016) 3815-3824.

[13] Levin ED, Bencan Z,Cerutti DT, Anxiolytic effects of nicotine in zebrafish. ***Physiol Behav*** 90 (2007) 54-58.

[14] Egan RJ, Bergner CL, Hart PC, Cachat JM, Canavello PR, Elegante MF, Elkhayat SI, Bartels BK, Tien AK, Tien DH, Understanding behavioral and physiological phenotypes of stress and anxiety in zebrafish. ***Behav Brain Res*** 205 (2009) 38-44.

[15] Tran S, T Gerlai R, The novel tank test: handling stress and the context specific psychopharmacology of anxiety. ***Curr Psychopharmacol*** 5 (2016) 169-179.

[16] Zimmermann F, Altenhofen S, Kist L, Leite C, Bogo M, Cognato G, Bonan CD, Unpredictable chronic stress alters adenosine metabolism in zebrafish brain. ***Mol Neurobiol*** 53 (2016) 2518-2528.

[17] Gerlai R, Zebrafish antipredatory responses: a future for translational research? ***Behav Brain Res*** 207 (2010) 223-231.

[18] Serafini G, Hayley S, Pompili M, Dwivedi Y, Brahmachari G, Girardi P, Amore M, Hippocampal neurogenesis, neurotrophic factors and depression: possible therapeutic targets? ***CNS Neurol Disord Drug Targets*** 13 (2014) 1708-1721.

[19] von Bernhardi R, Bernhardi LE, Eugenín J, What Is Neural Plasticity? ***Adv Exp Med Biol*** 1015 (2017) 1-15.

[20] Castrén E, Kojima M, Brain-derived neurotrophic factor in mood disorders and antidepressant treatments. ***Neurobiol Dis*** 97 (2017) 119-126.

[21] Nasereddin L, Alnajjar O, Bashar H, Abuarab SF, Al-Adwan R, Chellappan DK, Barakat M, Corticosteroid-induced psychiatric disorders: Mechanisms, outcomes, and clinical implications. ***Diseases*** 12 (2024) 300.

[22] Abreu MSd, Koakoski G, Ferreira D, Oliveira TA, Rosa JGSd, Gusso D, Giacomini ACV, Piato AL, Barcellos LJG, Diazepam and fluoxetine decrease the stress response in zebrafish. ***PloS one*** 9 (2014) e1032.

[23] Giacomini ACV, Abreu MS, Giacomini LV, Siebel AM, Zimerman FF, Rambo CL, Mocelin R, Bonan CD, Piato AL, Barcellos LJ, Fluoxetine and diazepam acutely modulate stress induced-behavior. ***Behav Brain Res*** 296 (2016) 301-310.

[24] Herculano AM, Maximino C, Serotonergic modulation of zebrafish behavior: Towards a paradox. ***Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry*** 55 (2014) 50-66.

[25] Tovote P, Fadok JP, Lüthi A, Neuronal circuits for fear and anxiety. ***Nat Rev Neurosci*** 16 (2015) 317-331.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-12]

Research paper

Effects of Diazepam and Escitalopram on Behavioral changes and Chronic Stress-Induced Depression in Zebrafish (*Danio rerio*)

Ali Tahamtan nezhad Emran, Hamed Manouchehri[1*], Reza Changizi[1], Mohadeseh Najarzadeh Ahangarkolaei[1], Shahab Tirgar Fakheri[1], Ali Siahposht Khachaki[2]

1. Department of Veterinary, Islamic Azad University, Babol branch, Babol, Iran
2. Department of Physiology, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

Received: 12 February 2025 Accepted: 3 March 2025

Abstract

Background and aim: Depression is a mental disorder that, according to statistics, is becoming more serious each day, indicating an increasing need for research on depression models and the development of antidepressant drugs. The aim of this study was to evaluate the individual and combined effects of diazepam and escitalopram on behavioral and biochemical parameters in zebrafish (*Danio rerio*).

Methods: In this study, Depression was induced in zebrafish using the Unpredictable Chronic Stress (UCS) protocol. A total of 384 zebrafish were divided into two main groups: control (without stressors) and UCS (with stressors). Within each main group, the fish were further divided into four subgroups: control, diazepam, escitalopram, and diazepam + escitalopram, with three replicates per subgroup. Behavioral assessments were conducted using the novel tank test, and biochemical analyses were performed by measuring whole-body cortisol levels.

Results: Diazepam, escitalopram, and their combination significantly improved behavioral parameters (significant increase in the time spent at the top level and the number of transitions to the top level) and also prevented depressive effects by significantly reducing cortisol levels (from 1.0.1 ± 0.07 to 0.61 ± 0.12 ng of cortisol per gram of tissue).

Conclusion: This study confirms previous findings indicating that the UCS protocol induces behavioral and neuroendocrine changes in zebrafish, which can be prevented by diazepam and escitalopram administration. Furthermore, the findings support the use of zebrafish as a model organism for studying the behavioral and physiological effects of stress.

Keywords: Depression, UCS protocol, Zebrafish, Diazepam, Escitalopram

Please cite this article as follows:

Tahamtan Nezhad Emran A, Manouchehri H, Changizi R, Najarzadeh Ahangarkolaei M, Tirgar Fakheri S, Siahposht Khachaki A, Effects of Diazepam and Escitalopram on Behavioral chenges and Chronic Stress-Induced Depression in Zebrafish (*Danio rerio*). ***Iran J Physiol Pharmacol*** 8 (2025) 229-238.

*Corresponding authors: manouchehri@baboliau.ac.ir (ORCID: 0000-0002-6561-8958)

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2026-11-12]