تأثیر فلوکستین بر میزان مصرف غذا و رفتار غذایی در ماهی طلایی *Carassius auratus*

محمد نوید فرصت‌کار [۱]، کاظم کوکرم [۱]، محمد علی نعمت‌اللهی [۱]*

* malahi@ut.ac.ir

۱-دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۲ **تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۳**

چکیده

سروتونین از جمله مونوآمین‌هایی است که نقش بالقوه‌ای در تنظیم مصرف غذا در پستانداران دارد و هر عاملی که بتواند فعالیت سروتونرژیک را افزایش دهد باعث کاهش اشتها می‌گردد. فلوکستین به عنوان ماده مؤثر داروی پروزاک با بلوکه کردن بازجذب سروتونین، موجب افزایش آن شده و با توجه به ورود این ماده به اکوسیستم‌های آبی به عنوان یک ماده آلاینده مطرح است. در این مطالعه نقش فلوکستین در میزان مصرف غذا و رفتار تغذیه‌ای ماهی طلایی، *Carassius auratus* بررسی گردید. در آزمایش ۱، ماهیان با وزن ۴۹-۲۱ گرم در چهار گروه تقسیم شدند. گروه کنترل: بدون هیچ‌گونه تزریق؛ گروه تزریق شده با سرم فیزیولوژیک؛ و گروه‌های تزریق شده با $\mu g\ g^{-1}$ ۱ و $\mu g\ g^{-1}$ ۱۰ وزن بدن فلوکستین که در ۵ نوبت به صورت یک روز در میان تزریق شدند. میزان مصرف غذا بعد از هر تزریق محاسبه شد و در نهایت تغییرات وزنی تیمارها نیز بررسی گردید. در آزمایش ۲، تعداد ۲۰ عدد ماهی طلایی در دو گروه برای آزمون رفتاری انتخاب شدند که شامل گروه کنترل و گروه تزریق شده با $\mu g\ g^{-1}$ ۱۰ وزن بدن فلوکستین بودند که در ۵ نوبت به صورت یک روز در میان تزریق شدند. بعد از هر تزریق رفتارهای تغذیه‌ای نمونه‌ها بررسی شد. نتایج نشان داد که فلوکستین باعث کاهش معنادار مصرف غذا در ماهیان می‌شود. کاهش مصرف غذا، کاهش معنادار وزن‌گیری را در گروه Flu-10 به دنبال داشت. همچنین فلوکستین بر رفتار غذایی ماهی طلایی مؤثر بوده و میل به جستجو و مصرف طعمه را بطور معنی‌دار کاهش داد. این مطالعه نقش بالقوه یکی از داروهای انسانی را بر فاکتورهای تغذیه‌ای یک ماهی استخوانی مشخص کرده و نشان می‌دهد که فلوکستین می‌تواند فاکتورهای غذایی و رشدی را در ماهی طلایی تحت تأثیر قرار دهد.

لغات کلیدی: فلوکستین، ماهی طلایی، تزریق درون صفاقی، مصرف غذا، رفتار غذایی.

*نویسنده مسئول

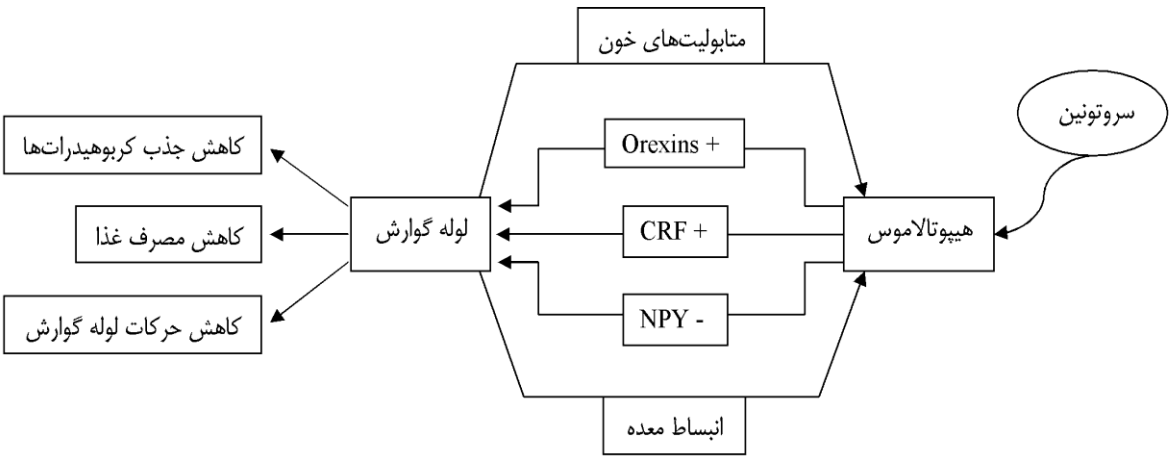
مقدمه

مهار کننده‌های انتخابی بازجذب سروتونین (SSRIها) از جمله موادی هستند که با افزایش میزان سروتونین در مغز، موجب حفظ تعادل روحی شده و با ایجاد احساس آرامش همراه هستند. فلوکستین یکی از معروف‌ترین SSRIها بوده و به صورت تجاری در قالب داروی ضد افسردگی پروزاک ($Prozac^{TM}$) به فروش می‌رسد. تجویز این دارو در کشور آمریکا از ۷/۳ میلیون نسخه در سال ۲۰۰۰ به ۲۳ میلیون در سال ۲۰۰۵ و ۲۴/۴ میلیون در ۲۰۱۰ افزایش داشته است (Mennigen *et al.*, 2010). از فلوکستین برای درمان افسردگی، اختلال وسواسی اجباری، اختلال هواس و بی‌اشتهایی عصبی استفاده می‌شود (Wong *et al.*, 2005). فلوکستین توسط ایزوآنزیم‌های سیتوکروم P450 مانند P450 2 D6 (CYP2D6) در کبد با از دست دادن دو گروه متیل به نور- فلوکستین تبدیل می‌شود، که از لحاظ ساختاری با فلوکستین مشابه بوده و بنابراین تاثیرات یکسانی با ترکیب اولیه خود دارد (Hiemke and Hartter, 2000). de Vane (۲۰۰۰) گزارش کرده است که ۱۱٪ از فلوکستین هضم شده بصورت ترکیب اولیه و ۷٪ نیز به حالت نور- فلوکستین از بدن دفع می‌شود. این ترکیبات توسط فاضلاب به محیط‌های آبی وارد شده و گزارش شده است که غلظت فلوکستین در طبیعت بین $12\ ng\ L^{-1}$ تا $540\ ng\ L^{-1}$ می‌باشد (Brooks *et al.*, 2003). فلوکستین نسبت به تجزیه شیمیایی در اثر آب یا نور خورشید مقاوم است (Kwon & Armbrust, 2006)؛ در بدن موجودات آبزی بخصوص در بافت‌های مغز و کبد تجمع یافته (Brooks *et al.*, 2005) و بر فیزیولوژی این جانداران تاثیرگذار خواهد بود. تاکنون مطالعات زیادی از نقش فلوکستین بر موجودات آبزی انجام گردیده است. نشان داده شده است که فلوکستین می‌تواند بر سیستم تولید مثلی چه در پستانداران و چه در ماهیان مؤثر باشد. در ماهی طلایی (*Carassius auratus*)، تزریق درون صفاقی فلوکستین و سروتونین باعث افزایش هورمون لوتئینی‌کننده (LH) شده است (Somoza *et al.*, 1991). ماهی مداکا (*Oryzias latipes*) قرار داده شده در معرض فلوکستین نیز افزایش معناداری از سطوح استرادیول نشان داده است (Foran *et al.*, 2004). فلوکستین همچنین بر رفتارهای گروهی و اجتماعی (Lepage *et al.*, 2005; Peeke *et al.*, 2006) و رفتارهای خشونتی (Tierney *et al.*, 2004; Clotfelter *et al.*, 2007; Forsatkar et al., 2014) در آبزیان تأثیرگذار است.

مقدار مصرف غذا در مهره‌داران توسط یک ارتباط پیچیده محیطی و فاکتورهای درونی تنظیم می‌شود. فرآیندهای فیزیولوژیک از قبیل واکنش به انبساط معده و لوله گوارش و همچنین واکنش‌های مرتبط با مقدار عناصر غذایی و هورمون‌های موجود در خون، در تنظیم اشتها مهم می‌باشند. تمام این واکنش‌ها در نواحی مختلف هیپوتالاموس تنظیم شده که به دنبال آن رفتارهای تغذیه‌ای و هومئوستازی انرژی کنترل می‌شوند. همچنین ذکر شده است که مصرف غذا و رشد در موجودات مهره‌دار، تحت کنترل سیستم سروتونرژیک نیز می‌باشد (Mennigen *et al.*, 2009). در پستانداران نشان داده شده است که هر عامل رفتاری یا دارویی که موجب افزایش فعالیت سروتونرژیک در سیستم عصبی مرکزی (CNS) شود، باعث القای سیری و کاهش اشتها می‌شود (Simansky *et al.*, 1992). مهار کننده‌های انتخابی بازجذب سروتونین به دو طریق باعث کاهش وزن در پستانداران می‌شوند: االف، با ایجاد حالت سیری کاذب (Halford and Blundell, 1996)، و ب، با تحریک تولید حرارت باعث هدر رفت انرژی می‌شوند (Connoley *et al.*, 1995). آگونیست‌های $5HT_{2A}$ و $5HT_{2C}$ از قبیل RU24969، CP93129، TFMPP، DOI و m-CPP با افزایش مقادیر خارج سلولی سروتونین باعث کاهش مصرف غذا در موش شده‌اند (Curzon, 1991). نواحی paraventricular nucleus و arcuate nucleus هیپوتالاموس موش حاوی نورون‌هایی است که مسئول

رهاسازی نوروپپتیدهای مرتبط با کنترل مصرف غذا می‌باشند (Valassi *et al.*, 2008). سروتونین با تحریک فاکتورهای مؤثر بر اشتها از قبیل CRF (corticotrophin releasing factor)، اورکسین‌ها و NPY (نوروپپتید Y)، باعث کاهش مصرف غذا می‌شود (Mennigen *et al.*, 2009). de Pedro و همکاران (۱۹۹۸) در ماهیان گزارش کرده است که تزریق درون مغزی سروتونین به ماهی طلایی باعث کاهش معنادار مصرف غذا در ۲ ساعت بعد از تزریق می‌شود که البته تزریق درون صفاقی این ماده اثر چندانی بر مصرف غذا نداشته است. مطالعه این محققان اولین آزمایش مربوط به نقش مونوآمین‌ها در تغذیه ماهیان بوده است و نتیجه گرفتند که در ماهیان استخوانی، سروتونین به عنوان یک عامل بالقوه از کنترل اشتها مطرح می‌باشد. در واقع مسیر فیزیولوژیک کاهش مصرف غذا توسط عوامل افزایش‌دهنده سروتونین در ماهیان به این صورت می‌باشد که به عنوان مثال فلوکستین با رهاسازی بیشتر پپتیدهای مسبب کاهش اشتها مانند CRF و کاهش پپتیدهای مسبب افزایش اشتها مانند NPY موجب تغییرات مصرف غذا می‌گردد (Mennigen *et al.*, 2009).

بنابراین، هدف انجام این مطالعه استفاده از فلوکستین به عنوان یک عامل بالقوه از تغییر مقادیر سروتونین (به وسیله بلوکه کردن بازجذب سروتونین در سیناپس‌ها) برای فهم بهتر تاثیر سیستم سروتونرژیک بر میزان مصرف غذا در ماهی گلدفیش به عنوان یک گونه مناسب از مطالعات تغذیه‌ای (Himick, 1994) می‌باشد.



شکل ۱. نمای شماتیک از عملکرد فیزیولوژیک فلوکستین بر مصرف غذا

مواد و روش‌ها

ماهی طلایی از یک مرکز پرورش ماهیان گرم آبی در رشت خریداری شده و پس از انتقال به آزمایشگاه، درون مخازن فایبرگلاس ۱۰۰ لیتری نگهداری شدند. درجه حرارت $^{\circ}C$ ۲۳-۲۰ بود و رژیم نوری نیز در ۱۲ ساعت روشنایی به ۱۲ ساعت تاریکی تنظیم شد. مخازن به صورت دائم هوادهی شده و هر دو روز یکبار نیز نیمی از آب با آب تازه کلر زدایی شده تعویض شد. در دوران دو هفته‌ای تطابق، ماهیان روزانه به میزان ٪۲ وزن بدن در

بین ساعات ۱۰ تا ۱۲ صبح تغذیه شدند. نشان داده شده است که این مقدار غذادهی، رشد بهینه ماهی گلدفیش را به دنبال دارد (Volkoff *et al.*, 1999). محلول ذخیره فلوکستین برای هر تزریق با حل کردن ۴۰ mg فلوکستین در ۱۵ ml سرم فیزیولوژیک ٪ ۰/۹ فراهم شد. برای رسیدن به دوزهای مورد نیاز برای تیمارهای مختلف، محلول دوباره رقیق گردید.

آزمایش ۱

آزمایش در طی ۹ روز به دنبال دوران تطبیق‌پذیری انجام شد. در ابتدا ماهیان به صورت تصادفی وزن شده و در تانک‌های ۵۰ لیتری توزیع شدند. سپس به صورت یک روز در میان با استفاده از سرنگ انسولین ۱ ml در حجم نهایی ۴۰ µl تزریق شدند (در مجموع پنج تزریق). ابتدا در مخزن آب ۵ لیتری حاوی عصاره پودر گل میخک ($mg\ L^{-1}$ ۲۰) بیهوش شده و تزریق‌ها به صورت درون صفاقی زیر باله سینه‌ای انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل:

۱- ماهیان کنترل؛ بدون تزریق (۲۱ عدد ماهی در سه تکرار ۷ تایی)،

۲- ماهیان تزریق شده با سرم فیزیولوژیک ٪ ۰/۹ (۲۱ عدد ماهی در سه تکرار ۷ تایی)،

۳- ماهیان تزریق شده با فلوکستین به مقادیر $\mu g\ g^{-1}$ ۱ و $\mu g\ g^{-1}$ ۱۰ وزن بدن (هریک با سه تکرار ۷تایی؛ به ترتیب گروه‌های Flu-1 و Flu-10). به دنبال تزریق، هر گروه از ماهیان به میزان بیشینه ٪۵ وزن بدن با غذای پلت تجاری غذادهی شدند (مطابق پروتکل ارائه شده توسط de Pedro *et al.* (1998)). پس از یک ساعت، پلت‌های غذایی خورده نشده به آرامی سیفون شده و به مدت ۲:۳۰ ساعت در دمای ۶۰°C در آون قرار گرفته و خشک شدند. سپس پلت‌ها وزن شده و مقادیر مصرف غذا از طریق فرمول Food Intake = Wi - (Wf×F) محاسبه شد که در اینجا:

Wi= وزن خشک غذای اولیه، Wf= وزن خشک غذای باقیمانده، F= فاکتور تصحیح.

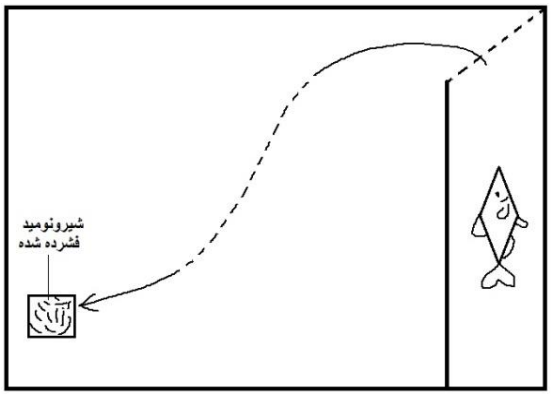
فاکتور تصحیح برای ارزیابی تاثیر حلالیت آب بر پلت‌های غذایی در مدت زمان غذادهی (با ۳ تکرار) محاسبه شد که پس از گذشت ۱ ساعت، با میانگین (±SD)۰/۴۴۵± ۰/۶۱۳ به دست آمد. به منظور اطمینان از گرسنه بودن ماهیان به هنگام هر تزریق، در روز قبل از آن هیچ غذادهی انجام نشد. در انتهای آزمایش، ماهیان دوباره وزن شده و مقادیر تغییر وزن آنها محاسبه شد.

آزمایش ۲

مدت زمان آزمایش و نحوه تزریق‌ها مشابه آزمایش قبل بود. با این تفاوت که ماهیان روزانه به میزان ٪۲ وزن بدن با کرم فشرده شده شیرونومیده (این غذا به صورت حبه-های مکعب شکل موجود است) تغذیه شدند و تیمارها نیز به صورت زیر در نظر گرفته شدند:

۱- ماهیان کنترل؛ بدون تزریق (۱۰ عدد)،

۲- ماهیان تزریق شده با فلوکستین $\mu g\ g^{-1}$ ۱۰ وزن بدن (۱۰ عدد). رفتار تغذیه‌ای ماهیان در یک ساعت بعد از هر تزریق با قرار دادن آنها به صورت انفرادی در تانک آزمون بررسی شد (شکل ۲). ابتدا ماهی به مدت ۱۰ دقیقه در محفظه انتظار به منظور تطابق با محیط جدید قرار گرفت و سپس دیواره توری خارج شده و به ماهی اجازه داده شد تا از محفظه بیرون آمده و به سمت حبه غذایی برود. پروسه زمانی از هنگام خارج شدن ماهی از محفظه تا رسیدن و بلعیدن غذا برای هر ماهی ثبت گردید.

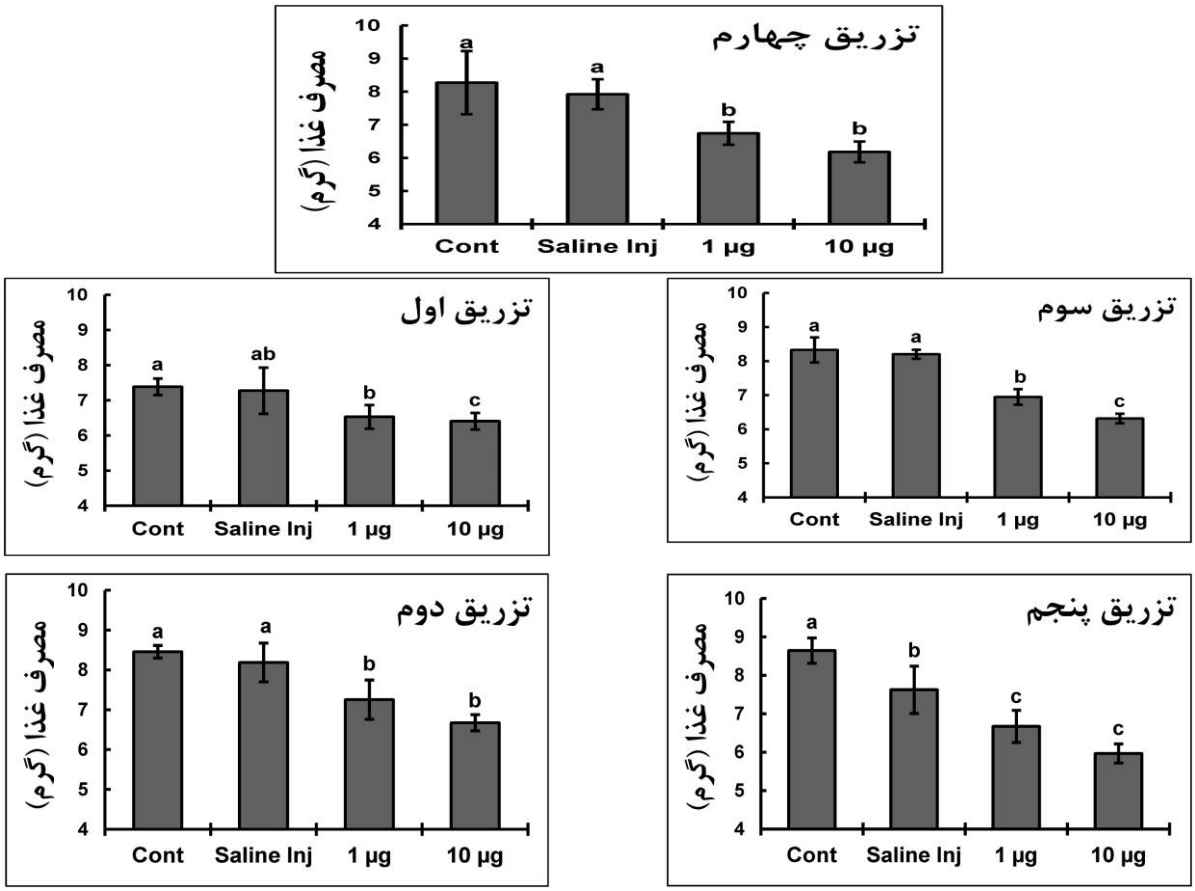


شکل ۲: نمای شماتیک از تانک آزمون رفتار تغذیه‌ای

داده‌ها در نرم‌افزار SPSS ورژن ۱۹ بررسی شدند. ابتدا نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون One-sample K-S سنجیده شد و سپس با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) آنالیز شدند. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌دار ۰/۰۵ استفاده شد.

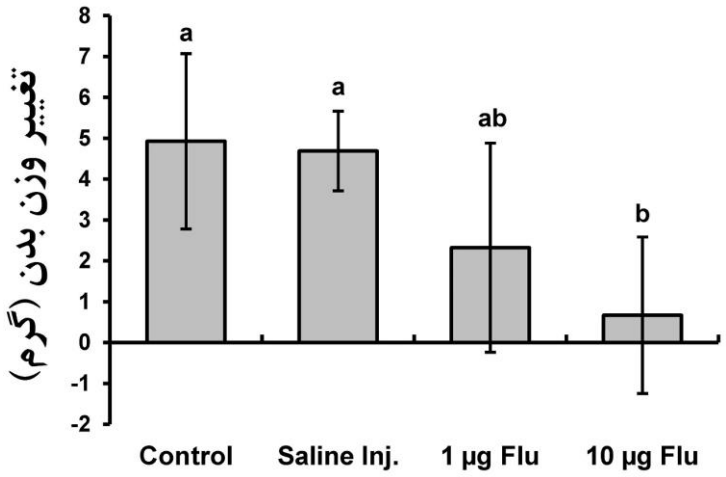
نتایج

تزریق فلوکستین در هر دو غلظت استفاده شده ($\mu g\ g^{-1}$ ۱ و $\mu g\ g^{-1}$ ۱۰ وزن بدن) باعث کاهش مصرف غذا در ماهی طلایی شد (شکل ۳). در یک ساعت پس از اولین تزریق فلوکستین، گروه‌های Flu-10 و Flu-1 کاهش معناداری در مصرف غذا در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند ($F_{3,8}$= ۴/۶۷، $p<$ ۰/۰۵) که این تفاوت معنادار در تمام تزریق‌ها مشاهده شد. به استثنای آزمون مصرف غذا پس از تزریق پنجم، در هیچ‌کدام از آزمون‌های غذایی دیگر تفاوت معناداری در میزان مصرف غذا بین گروه کنترل و گروه تزریق شده با سرم نمکی مشاهده نشد (تزریق اول: p= ۰/۷۱، تزریق دوم: p=۰/۰۹۵، تزریق سوم: p= ۰/۵۲۱، تزریق چهارم: p= ۰/۲۶۸، تزریق پنجم: P= ۰/۰۰۷؛ شکل ۳).



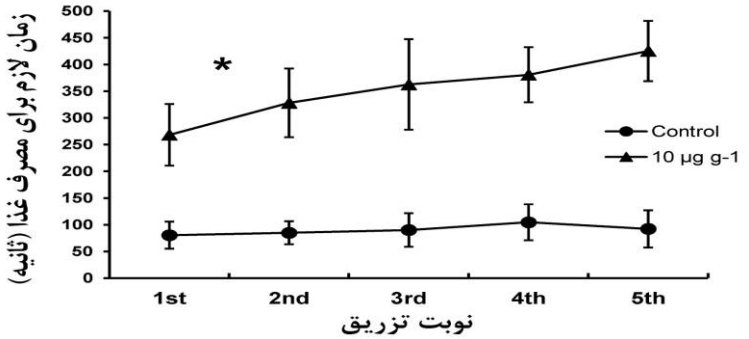
شکل ۳: روند تغییرات میزان مصرف غذا در روزهای آزمون بین تیمارهای مختلف در ماهی طلایی (*Carassius auratus*). مقادیر مصرف شده غذا به صورت میانگین± انحراف معیار برای هر تیمار با تعداد ۲۱ ماهی آورده شده است. حروف لاتین غیر مشترک نشان‌دهنده تفاوت معنادار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

همانطور که در شکل ۴ مشخص است، به دنبال پنج تزریق درون صفاقی فلوکستین، تفاوت معنادار تغییرات وزنی بین تیمارها مشاهده شد. بین گروه Flu-10 و گروه‌های کنترل و تزریق شده با سرم نمکی در مقدار وزن‌گیری تفاوت معنادار وجود داشت ($F_{3,10}$= ۳/۴۴۶، ۰/۰۵ >p).



شکل ۴: تغییرات وزنی مشاهده شده پس از ۹ روز آزمایش بین تیمارهای مختلف در ماهی طلایی (*Carassius auratus*). داده‌ها براساس میانگین ± انحراف معیار برای هر تیمار با تعداد ۲۱ ماهی آورده شده است. حروف لاتین غیرمشترک نشان‌دهنده تفاوت معنادار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

همچنین در آزمون رفتار تغذیه‌ای، بین دو گروه آزمایشی تفاوت معنادار آماری از لحاظ مدت زمان لازم برای رسیدن و بلعیدن ماده غذایی مشاهده شد (۸/۴۶۶ =$F_{4,45}$، ۰/۰۱ >P). ماهیان گروه تزریق‌شده با فلوکستین به زمان بیشتری برای انجام این کار نیاز داشتند (شکل ۵).



شکل ۵: مدت زمان لازم برای رسیدن و بلعیدن ماده غذایی پس از انجام پنج تزریق با فلوکستین یا بدون تزریق در ماهی طلایی (*Carassius auratus*). داده‌ها براساس میانگین ± انحراف معیار برای هر تیمار با تعداد ۱۰ ماهی آورده شده است. * نشان‌دهنده تفاوت معنادار در سطح ۰/۰۱ می‌باشد.

بحث

فاکتورهای متعددی در مصرف غذا در ماهیان نقش دارند. در واقع ترکیبی از مکانیزم‌های متابولیک، فیزیولوژیکی- عصبی و هورمونی در این امر دخیل می‌باشند. همچنین بسیاری از عوامل محیطی نیز در اشتها مؤثرند. Lam و Heisler (۲۰۰۷) نشان دادند که در پستانداران سروتونین یک عامل کلیدی در تنظیم اشتها و هومئوستازی انرژی است. در مطالعات انجام شده بر انسان مشاهده شده است که فلوکستین باعث کاهش اشتها شده و در کاهش وزن نیز مؤثر است (Halford *et al.*, 2007). در این مطالعه مشاهده شد که مقادیر مصرف غذا پس از اعمال پنج تزریق درون صفاقی فلوکستین به ماهی طلایی کاهش معنادار داشت. این کاهش مصرف غذا در تمام آزمون‌ها محسوس بود به صورتی که از تزریق اول به سمت تزریق پنجم، میزان مصرف غذا در هر دو تیمار فلوکستین نسبت به دو گروه کنترل و تزریق شده با سرم نمکی کاهش یافت. در تزریق دوم، مقادیر مصرف غذا نسبت به تزریق اول در تمام گروه‌ها افزایش داشت. این افزایش را می‌توان به کاهش استرس ناشی از جابه‌جایی در ماهیان نسبت داد. اولین آزمون مصرف غذا بلافاصله به دنبال دوران تطبیق‌پذیری انجام گرفت که در آن ماهیان از تانک‌های فایبرگلاس ۱۰۰ لیتری در تانک‌های ۵۰ لیتری توزیع شدند. در حالی که در تزریق دوم، ماهیان دوران استرس- زای انتقال را پشت سر گذاشته و با شرایط جدید خو گرفته بودند. کمترین مقادیر مصرف غذا در تیمارهای Flu-1 و Flu-10 به دنبال تزریق پنجم مشاهده شد. این امر بیانگر این می‌باشد که فلوکستین توانسته است به تدریج در بدن ماهیان این گروه‌ها تجمع پیدا کند. در سه ماهی از منطقه Hamilton Harbour در کشور کانادا، تجمع فلوکستین دامنه‌ای بین ۰/۱۴ تا ۱/۰۲ $\mu g\ kg^{-1}$ داشته است (Chu and Metcalfe, 2007). بیشترین مقادیر تجمع فلوکستین در ماهیان صید شده از منطقه Pecan Creek در تگزاس در بافت مغز با میزان ۱/۵۸ $ng\ g^{-1}$ بوده است. همچنین مقدار میانگین آن در کبد همان ماهیان، ۱/۳۴ $ng\ g^{-1}$ ذکر شده است (Brooks *et al.*, 2009). بیشترین مقدار تجمع فلوکستین در بافت- های مغز و کبد می‌باشد و غلظت آن در بافت ماهیچه‌ای کمتر است (Ramirez *et al.*, 2009).

براساس نتایج حاصل از این آزمایش مشخص است که در ماهی طلایی وزن توده بدن از فلوکستین تاثیر می‌گیرد (شکل ۴). اطلاعات از تاثیر این ماده بر تغذیه انسان با ضد و نقیض همراه است. در برخی مطالعات نشان داده شده است که می‌تواند منجر به کاهش وزن شود (Pijl *et al.*, 1991) اما برای این منظور به دوز بالای این دارو نیاز است یعنی چندین برابر دوزی که برای درمان افسردگی استفاده می‌شود؛ این مطلب بیانگر این می‌باشد که برای ایجاد کاهش وزن در انسان توسط عوامل مؤثر بر سیستم سروتونرژیک، به مقادیر بالایی از سروتونین خارج سلولی نیاز است. در بعضی مطالعات نیز ذکر شده است فلوکستین بر تغییرات وزن بی‌اثر بوده یا حتی می‌تواند باعث افزایش وزن شود (Fogelson, 1991). در مطالعه حاضر، تفاوت اندکی در بین تغییر وزن ماهیان دو گروه کنترل و تزریق شده با سرم نمکی مشاهده شد. اما بهرحال گروه تزریق شده با سرم نمکی هم در میزان مصرف غذا و هم در میزان وزن‌گیری کمتر بود که آن هم ناشی از استرس تزریق‌ها می‌باشد. در گروه Flu-10، کمترین مقدار افزایش وزن مشاهده شد و حتی در بعضی موارد رشد منفی بود. این امر را می‌توان اینگونه توضیح داد که مقادیر مصرف غذا در این گروه کمتر از سایر گروه- ها بود. مسلماً تغذیه کمتر، گرسنه ماندن ماهی را در پی دارد. در این رابطه، ماهی بیشتر انرژی موجود در غذا را صرف فعالیت‌های پایه و نگهداری خود می‌کند و بنابراین انرژی اضافه برای اختصاص دادن به رشد نخواهد داشت یا مقدار آن بسیار کم خواهد بود. نتایج مشابهی در مطالعه بر موش به دست آمده است که در آن تزریق روزانه فلوکستین با مقدار ۵ $mg\ kg^{-1}$ به مدت ۴۴ روز باعث جلوگیری از افزایش رشد شده است (Cantor *et al.*, 1999). همچنین در مطالعه انجام شده توسط

Mennigen و همکاران (۲۰۱۰) ذکر شده است که فلوکستین ($۵۴\ \mu g\ l^{-1}$) به صورت محلول در آب توانسته است باعث کاهش ۷ درصدی وزن بدن ماهیان بعد از ۲۸ روز شود. در مطالعه‌ای که بر موش‌های چاق انجام گرفته، نشان داده شده است که فلوکستین مخصوصاً بر بافت چربی مؤثر بوده و کاهش اندکی نیز در مقدار پروتئین ایجاد می‌کند (Gutierrez *et al.*, 2002). در این مطالعه، ماهیان به وسیله عمل تزریق با فلوکستین مواجه شدند و تاثیر یکسانی بروز دادند.

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان می‌دهد که فلوکستین علاوه بر موثر بودن در میزان مصرف غذا و افزایش یا کاهش وزن بدن، در رفتار تغذیه‌ای ماهی طلایی نیز تاثیرگذار است (شکل ۵). با استفاده از تغییرات رفتاری در موجودات ساکن در یک منطقه می‌توان آثار تخریبی مواد سمی و آلاینده‌ها را در محیط تخمین زد و این تغییرات از جمله ابزارهای اکولوژیک محسوب می‌شوند که برای ارزیابی خطرات زیست محیطی و فشارهای ناشی از مواد سمی به کار می‌روند (Andrew *et al.*, 2004). کاهش اشتها از جمله اثرات جانبی وجود فلوکستین در موجودات محسوب می‌شود که می‌توان آن را یکی از دلائل اصلی تفاوت معنادار گروه کنترل با گروه تزریق شده با فلوکستین در رسیدن به طعمه و مصرف آن دانست. همچنین با توجه به شکل ۵ مشخص است که هرچه به انتهای آزمایش نزدیک می‌شویم، مدت زمان لازم برای یافتن و بلعدین طعمه افزایش می‌یابد که این امر نیز به علت تجمع هرچه بیشتر فلوکستین در بافت‌های مختلف ماهی می‌باشد. تاکنون اثرات دیگر مواد دارویی انسانی بر رفتار آبزیان بررسی شده است. برای مثال، قرار گرفتن ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در معرض $۰/۰۷۱\ mg\ L^{-1}$ تریکلوسان به مدت ۶۱ روز با تغییرات رفتاری و شنای نامنظم همراه بوده است (Orvos *et al.*, 2002). همین تاثیرات در ماهی زبرا (*Danio rerio*) با قرارگیری در معرض ۰/۴ و $۰/۵\ mg\ l^{-1}$ تریکلوسان مشاهده شده است (Oliveira *et al.*, 2009).

همچنین در ماهی طلایی نشان داده شده است که تزریق درون مغزی اورکسین A و B باعث افزایش فعالیت تغذیه‌ای می‌شود (Volkoff *et al.*, 1999). به هر حال، فلوکستین با ایجاد حالت آرامش و سکون در ماهی طلایی، جستجوی غذا را در آن کاهش داد که در کنار تاثیر کاهش اشتها، باعث افزایش مدت زمان لازم برای یافتن منبع غذایی و تغذیه از آن شد.

در یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان بیان کرد که فلوکستین به عنوان ماده مؤثر داروی پروزاک قادر است از جنبه‌های مختلف بر واکنش‌های تغذیه‌ای ماهی طلایی تاثیرگذار باشد. از یک طرف با کاهش اشتها، کاهش مصرف غذا و به دنبال آن، کاهش وزن را به دنبال دارد و از طرف دیگر روند فعالیت جستجوی غذا را تغییر داده و بر رفتار غذایی این ماهی مؤثر است.

سپاسگذاری

بدین وسیله از مساعدت جناب دکتر غلام رضا رفیعی در استفاده از امکانات آزمایشی کمال تشکر و قدردانی می‌شود. همچنین از خانم‌ها مریم هدایتی‌راد، فاطمه دریالعل و مائده عابدی در زمینه کمک به انجام تزریق‌ها تشکر می‌گردد.

منابع

Andrew S. K., James D. S., Geoffrey T. G., Timothy C. A. M. and Colin H., 2004. A video-based movement analysis system to quantify behavioral stress responses of fish. Water Research, 38, 3993–4001.

Brooks, B. W., Foran, C. M., Richards, S. M., Weston, J., Turner, P. K., Stanley, J. K., Solomon D. R., Slattery M. and La Point T. W., 2003. Aquatic ecotoxicology of fluoxetine. Toxicological Letters, 142, 169–183.

Brooks B. W., Chambliss C. K., Stanley J. K., Ramirez A., Banks K. E., Johnson R. D. and Lewis R. J., 2005. Determination of select antidepressants in fish from an effluent-dominated stream. Environmental Toxicology Chemistry, 24, 464–469.

Brooks B.W., Huggett D.B. and Boxall A.B.A., 2009. Pharmaceuticals and personal care products: research needs for the next decade. Environmental Toxicology Chemistry, 28, 2469–2472.

Cantor J. M., Binik Y. M. and Pfaus J. G., 1999. Chronic fluoxetine inhibits sexual behavior in the male rat: reversal with oytocin. Psychopharmacology, 144, 355–362.

Chu S. and Metcalfe C. D., 2007. Analysis of paroxetine, fluoxetine and norfluoxetine in fish tissues using pressurized liquid extraction, mixed mode solid phase extraction cleanup and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 1163, 112–118.

Clotfelter E. D., O'Hare E. P., McNitt M. M., Carpenter R. E. and summers C. H., 2007. Serotonin decreases aggression via 5-HT_{1A} receptors in the fighting fish *Betta splendens*. Pharmacology, Biochemistry and Behavior, 87, 222-231.

Connoley I. P., Heal D. J. and Stock M. J., 1995. A study in rats of the effects of sibutramine on food intake and thermogenesis. British Journal of Pharmacology, 114, 388P.

Curzon G., 1991. Effects of tryptophan and of 5-hydroxytryptamine receptor subtype agonists on feeding. Advance Experimental Medical Biology, 294, 377–388.

de Pedro N., Pinillos M. L., Valenciano A. I., Alonso-Bedate M. and Delgado M. J., 1998. Inhibitory effect of serotonin on feeding behavior in goldfish: Involvement of CRF. Peptides, 19, 505–511.

de Vane C. L., 2000. Metabolism and pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors. Cellular Molecular Neurobiology, 19, 443–466.

Fogelson D. L., 1991. Weight gain during fluoxetine treatment. Journal of Clinical Psychopharmacology, 11, 220 -221.

Foran C. M., Weston J., Slattery M., Brooks B. W. and Huggett D. B., 2004. Reproductive assessment of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) following a four week fluoxetine exposure (SSRI). Archive Environmental Contaminant Toxicology, 46, 511–517.

Forsatkar M. N., Nematollahi M. A., Amiri B. M. and Huang W. B., 2014. Fluoxetine inhibits aggressive behaviour during parental care in male fighting fish (*Betta splendens*, Regan). Ecotoxicology, 23(9), 1794-1802.

Gutierrez A., Saracibar G., Casis L., Echevarria E., Rodriguez V. M., Macarulla M. T., Abecia L. C. and

Halford J. C. and Blundell J. E., 1996. Metergoline antagonises fluoxetine-induced suppression of food intake but not changes in the behavioural satiety sequence. Pharmacology, Biochemistry and Behavior, 54, 745-751.

Halford J. C., Harrold J. A., Boyland E. J., Lawton C. L. and Blundell J. E., 2007. Serotonergic drugs: Effects on appetite expression and use for the treatment of obesity. Drugs, 67, 27–55.

Himick B., 1994. Bombesin and cholecytokinin regulate feeding behavior and anterior pituitary hormone release in goldfish. PhD dissertation, University of Alberta.

Hiemke C. and Hartter S., 2000. Pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors. Pharmacology and Therapy, 85, 11–28.

Kwon J. W. and Armbrust K. L., 2006. Laboratory persistence and fate of fluoxetine in aquatic environments. Environmental Toxicology Chemistry, 25, 2561–2568.

Lam D. D. and Heisler L. K., 2007. Serotonin and energy balance: molecular mechanisms and implications for type 2 diabetes. Expert Rev. Molecular Medicine, 9, 1–24.

Lepage L., Larson E. T., Mayer I. and Winberg S., 2005. Serotonin, but not melatonin, plays a role in shaping dominant-subordinate relationships and aggression in rainbow trout. Hormones and Behavior, 48, 233-242.

Mennigen J. A., Harris E. A., Chang J. P., Moon T. W. and Trudeau V. L., 2009. Fluoxetine affects weight gain and expression of feeding peptides in the female goldfish brain. Regulatory Peptides, 155, 99–104.

Mennigen J.A., Sassine J., Trudeau V. L. and Moon T. W., 2010. Waterborne fluoxetine disrupts feeding and energy metabolism in the goldfish *Carassius auratus*. Aquatic Toxicology, 100, 128–137.

Oliveira R., Domingues I., Grisolia C. K. and Soares A. M. V. M., 2009. Effects of triclosan on zebrafish early-life stages and adults. Environmental Scientific Pollutant Research, 16, 679–688.

Orvos D. R., Versteeg D. J., Inauen J., Capdevielle M., Rothenstein A. and Cunningham V., 2002. Aquatic toxicity of triclosan. Environmental Toxicology Chemistry, 21, 1338–1349.

Peeke H. V. S., Blank G. S., Fliger M. H. and Chang E. S., 2000. Effects of exogenous serotonin on a motor behavior and shelter competition in juvenile lobsters (*Homarus americanus*). Journal of Comparative Physiology A., 186, 575-582.

Pijl H., Koppeschaar H. P. F., Willekens F. L. A., Op de Kamp I., Veldhuis H. D. and Meinders A. E., 1991. Effect of serotonin reuptake inhibition by fluoxetine on body

weight and spontaneous food choice in obesity. International Journal of Obesity, 15, 237–242.

Portillo M. P., 2002. Effects of Fluoxetine Administration on Neuropeptide Y and Orexins in Obese Zucker Rat Hypothalamus. Obesity Research, 10, 532-539.

Ramirez A. J., Brain R. A., Usenko S., Mottaleb M. A., O'Donnell J. G., Stahl L. L., Wathen J. B., Snyder B. D., Pitt J. L., Perez-Hurtado P., Dobbins L. L., Brooks B. W. and Chambliss C. K., 2009. Occurrence of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in fish: results of a national pilot study in the U.S. Environmental Toxicology Chemistry, 12, 2587-2597.

Simansky K. J., Jakubow J., Sisk F. C., Vaidya A. H. and Eberle-Wang K., 1992. Peripheral serotonin is an incomplete signal for eliciting satiety in sham-feeding rats. Pharmacological Biochemistry Behavior, 43, 847–854.

Somoza G. M., Yu K. L. and Peter R. E., 1991. Effects of serotonin on gonadotropin and growth hormone release from in vitro perifused goldfish pituitary fragments. Genomic Comparative Endocrinology, 82, 103–110.

Tierney A. J., Greenlaw M. A., Dams-O'Connor K., Aig S. D. and Perna A. M., 2004. Behavioral effects of serotonin and serotonin agonists in two crayfish species, *Procambarus clarkii* and *Orconectes rusticus*. Comparative Biochemistry and Physiology A., 139, 495-502.

Valassi E., Scacchi M. and Cavagnini F., 2008. Neuroendocrine control of food intake. Nutrition Metabolism Cardiovascular Disease, 18, 158–68.

Volkoff H., Bjorklund J. M. and Peter R. E., 1999. Stimulation of feeding behavior and food consumption in the goldfish, *Carassius auratus*, by orexin-A and orexin-B. Brain Research, 846, 204–209.

Wong D. T., Perry K. W. and Bymaster F. P., 2005. The discovery of fluoxetine hydrochloride (Prozac). Nature Reviews Drug Discovery, 4(9), 764–774.

Effect of fluoxetine on food intake and feeding behavior of Goldfish *Carassius auratus*

Forsatkar N. (1), Kukaram K.(1), Nematolahi M.A. * (1)

* malahi@ut.ac.ir

1- Faculty of Natural Resources, University of Tehran

Abstract

Serotonin is one of the monoamines that play an important role in food intake in mammalian species. The increase in serotonergic activity may reduce appetite. Fluoxetine as an active ingredient of Prozac is increased in serotonin content by blocking reuptake of it. Due to the release of these substances into the ecosystem, the role of fluoxetine on food intake and feed behavior of goldfish, *Carassius auratus* was investigated. In experiment 1, fish with 21-49 g weight divided in four groups of control: with no injection; saline injected; and two groups with 1 µg g^{-1} and 10 µg g^{-1} body weight fluoxetine. Animals were injected every other day for a total of 5 injections. Food intake calculated after each injection and fish reweighted at the end of the experiment to achieved weight changes. In experiment 2, 20 goldfish were selected in two groups of control and injected with 10 µg g^{-1} body weight fluoxetine to asses feed behavior test. Fish were injected every other day for a total of 5 injections and feed behavior was investigated after each injection. Food intake was significantly decreased after fluoxetine injections. In the Flu-10 group, low intake of food resulted in minimum weight gain among all treatments. Also, fluoxetine affected the feed behavior of goldfish and significantly was decreased in search and consumption of food. Results showed that this recently toxic environmental material can largely affect the food and weight parameters of goldfish.

Keywords: Fluoxetine, Goldfish, IP injection, Food intake, Feeding behavior

*Corresponding author