

بررسی اثر تجویز طولانی مدت فنوباریتال بر حجم نواحی هیپوکامپوس رات

محمد حسینی شریف آباد*، عباس جعفریان دهکردی**، علی حسینی شریف آباد***

* استادیار گروه آناتومی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.
 ** دانشیار گروه فارماکولوژی و سم شناسی، دانشکده‌ی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
 *** دستیار گروه سم‌شناسی و فارماکولوژی، دانشکده‌ی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۸۷/۴/۲۴

تاریخ پذیرش: ۸۷/۷/۱۸

چکیده

در بین داروهای ضدصرع، فنوباریتال بیشترین عوارض سوء را بر قوای شناختی و حافظه دارد. از آن جا که روند سالم تشکیل حافظه به سلامت مدارهای نورونی در نواحی مختلف هیپوکامپوس بستگی دارد. این مطالعه، با هدف تعیین تغییرات حجم نواحی شکنج دندان‌های (DG یا Dentate Gyrus) و شاخ آمون (CA یا Cornu Ammonis) هیپوکامپوس متعاقب مصرف بلند مدت فنوباریتال انجام شد.

در این مطالعه تجربی، ۲۰ رات یک ماهه‌ی نر ویستار به طور تصادفی در چهار گروه قرار گرفتند و به گروه شاهد نرمال سالیین و به سه گروه آزمایش، به مدت ۴۵ روز، روزانه ۵۰ و ۷۵ و ۱۰۰ mg/kg فنوباریتال به صورت داخل صفاقی تزریق شد. از بخش عقبی مغز که حاوی هیپوکامپوس است برش‌های سریال به ضخامت ۲۵ میکرون تهیه شد و از هر ۲۰ برش، یکی را (به صورت تصادفی سیستماتیک) برداشته و حجم لایه‌های نواحی هیپوکامپوس با روش استریولوژیک کاوالیه اندازه‌گیری گردید.

نتایج نشان داد که درمان با فنوباریتال، تاثیر معنی‌داری بر حجم لایه‌های نواحی CA1 و DG و CA3 هیپوکامپوس رات دارد ($P < 0/05$). مقایسه‌ها نشان داد که فقط اندازه‌ی حجم لایه‌های مختلف نواحی مذکور در هیپوکامپوس حیواناتی که ۷۵ و ۱۰۰ mg/kg فنوباریتال را دریافت کرده بودند کاهش یافته است.

اثرات دراز مدت درمان با فنوباریتال بر روی حجم نواحی هیپوکامپوس به دوز وابسته است و ضروری است که برای کاهش اثرات منفی، دوز مصرفی فنوباریتال در حداقل نگه داشته شود. همچنین کاهش اندازه‌ی نواحی هیپوکامپی می‌تواند به عنوان علتی برای آسیب‌های یادگیری و حافظه متعاقب مصرف فنوباریتال پیشنهاد شود.

فنوباریتال، هیپوکامپوس، مطالعه تجربی.

مقدمه:

روش‌ها:

یافته‌ها:

نتیجه‌گیری:

واژگان کلیدی:

تعداد صفحات: ۸

تعداد جدول‌ها: ۱

تعداد نمودارها: -

تعداد منابع: ۲۴

محمد حسینی شریف آباد، گروه آناتومی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، بلوار دانشجو، یزد، ایران.
 E-mail: mhosseini81@yahoo.com

آدرس نویسنده مسئول:

مقدمه

فنوباریتال اولین داروی ضدصرع مؤثر بود که در سال ۱۹۱۲ معرفی شد. امروزه فنوباریتال به طور رایج برای بیماری‌های تشنجی به کار می‌رود ولی داروی انتخابی در تشنج کودکان بالای دوماه است. اگر چه این دارو اثربخشی کمتری از فنی‌توئین یا کاربامازپین (CBZ) در بزرگسالان دارد ولی جهت درمان صرع‌های پارشیال و تونیک-کلونیک ژنرالیزه در تمام گروه‌های سنی به کار می‌رود (۱). اثربخشی خوب، سمیت کم و قیمت ارزان، این دارو را به عنوان یک داروی مهم برای چنین کاربردهایی مطرح نموده است (۲).

فنوباریتال نظیر برخی دیگر از داروهای ضدصرع، می‌تواند باعث تغییر در هوشیاری و آسیب به حافظه و قوه‌ی درک (Cognition) فرد شود (۳). شواهدی موجود است که فنوباریتال بیشترین قدرت را در آسیب به فعالیت‌های رفتاری و شناختی دارد (۴). مطالعات انسانی و حیوانی قبلی ثابت کرده‌اند که تجویز فنوباریتال در حین رشد ممکن است منجر به آسیب‌های شناختی از جمله آسیب به قوای حافظه و یادگیری شود (۵-۶).

هیپوکامپوس Hippocampus بخش کاملاً شناخته شده‌ای از مغز است که در روند یادگیری و حافظه نقش اساسی به عهده دارد (۷). هیپوکامپوس دارای دو ناحیه‌ی مشخص بنام‌های شکنج دندان‌ه‌ای Dentate Gyrus (DG) و شاخ آمون (CA) Cornu Ammonis است که شاخ آمون خود شامل سه بخش CA_1 ، CA_2 و CA_3 می‌باشد (۸). هر یک از دو ناحیه‌ی مذکور به نوبه‌ی خود از لایه‌هایی تشکیل شده که محل قرارگیری اجسام سلولی و زواید نورونی است (۹). تشکیل حافظه به سلامت مدارهای نورونی

هیپوکامپی بستگی دارد و جامعیت و سلامت این مدارهای نورونی حداقل به اندازه‌ی طبیعی این لایه‌ها وابسته است (۱۱-۱۰).

مطالعات محدود و پراکنده‌ای در این زمینه وجود دارد که اغلب آنها تغییرات کیفی ساختمان هیپوکامپوس را گزارش نموده‌اند (۱۴-۱۲). در یکی از این مطالعات که به تازگی نتایج آن منتشر شده است، تأثیر تجویز یک بار تزریق 25 mg/kg تا ۴ ساعت بعد از تولد نوزاد بر روی حجم کل هیپوکامپوس در بلوغ اشاره شده است (۱۲).

این تحقیق با هدف تعیین تغییرات مورفومتریک (حجمی) نواحی هیپوکامپوس متعاقب مصرف طولانی مدت دوزهای مختلف فنوباریتال صورت گرفت و برای اندازه‌گیری حجم لایه‌ها از اصل کواولیه استفاده شد (۱۵).

روش‌ها

در این مطالعه‌ی تجربی که در سال ۱۳۸۴ در دانشگاه‌های علوم پزشکی اصفهان و شهید صدوقی یزد انجام گرفت، تعداد ۲۰ سر رت نر یک ماهه‌ی نژاد Wistar و با محدوده‌ی وزنی ۱۵۰-۱۲۰ گرم، از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تأمین شد و به مدت ۴۵ روز تحت تغذیه با غذای ویژه‌ی رت و با آب لوله‌کشی شهر قرار گرفتند. مکان نگهداری، خانه‌ی حیوانات گروه فارماکولوژی دانشکده‌ی داروسازی اصفهان، در قفسه‌های استیل زنگ نزن به گنجایش ۵ رات برای هر قفسه، با پریرود نوری ۱۲ ساعت (۱۹-۷) و دمای ۲۲-۲۵ درجه سانتیگراد بود. حیوانات به طور تصادفی در چهار گروه ۵ تایی

(A(P)، سطح مقاطع محاسبه شد و با ضرب نمودن آن در فاصله‌ی بین سکشن‌های انتخابی که ثابت است (d)، حجم لایه‌ها با استفاده از فرمول کاوالیه که روشی استاندارد، دقیق، بدون سوگیری (Unbiased) و معتبر می‌باشد، محاسبه گردید (۱۵).

$$V = \Sigma P.A(P).d$$

مقدار ضریب خطای محاسبه، بر اساس روش Gundersen محاسبه شد (۱۷). داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-11.5 () و آزمون آنالیز واریانس یک طرفه One way ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج با مقدار $P < 0/05$ معنی‌دار تلقی گردید. کلیه‌ی مقادیر به صورت انحراف معیار \pm میانگین گزارش شده است.

یافته‌ها

آنالیز واریانس یک‌طرفه، نشان داد که تجویز فنوباریتال اثر معنی‌داری بر وزن مغز رت داشته است ($P = 0/003$). به طوری که میانگین وزن مغز رت‌هایی که به آنها دوزهای ۷۵ mg/kg و ۱۰۰ mg/kg فنوباریتال تجویز شده بود (به ترتیب 24 ± 1440 و 71 ± 1406 میلی‌گرم) در مقایسه با گروه شاهد (81 ± 1557 میلی‌گرم) کاهش معنی‌داری داشت.

نتایج نشان داد که میانگین حجم کلی هیپوکامپوس رت‌هایی که به آنها دوزهای ۷۵ mg/kg و ۱۰۰ mg/kg فنوباریتال تزریق شده بود (به ترتیب $0/99 \pm 25/8$ و $0/67 \pm 22/6$ میلی‌متر مکعب) به میزان ۱۲٪ و ۲۳٪ در مقایسه با گروه شاهد ($1/68 \pm 29/3$ میلی‌متر مکعب) کاهش یافته بود ($P < 0/001$). اما میزان کاهش حجم هیپوکامپوس رت‌هایی که به آنها دوز ۵۰ mg/kg فنوباریتال تجویز شد، حدود ۴٪ بود ($P = 0/125$).

تقسیم شدند که ۳ گروه از آنها گروه آزمایش و گروه چهارم، شاهد بود. هر روز به حیوانات گروه‌های آزمایش به ترتیب مقادیر ۵۰ mg/kg، ۷۵ mg/kg و ۱۰۰ mg/kg فنوباریتال سدیم (شرکت صنعتی کیمیدارو) و به حیوانات گروه شاهد، نرمال سالین (ساخت شرکت پخش فرآورده‌های تزریقی ایران) به مدت ۴۵ روز از راه داخل صفاقی (IP) تزریق شد (۱۶، ۱۴-۱۳). این کار در ساعت ۸-۱۰ صبح هر روز و در فضای باز صورت گرفت.

سپس حیوانات توسط ۱ سی‌سی اورتان (مرک، آلمان) بیهوش شدند و با پرفیوژن ۲۰ سی‌سی فرمالین ۱۰٪ (مرک، آلمان) از راه قلب، مغز در داخل جمجمه فیکس شد. با برداشتن سقف جمجمه، مغز بیرون آورده و با یک برش طولی میانی دو نیمه‌ی مغز از هم جدا و نیمه‌ی راست برای مطالعه استفاده شد. قطب پیشانی بریده شد و بر روی قطعه‌ی باقی‌مانده که حاوی هیپوکامپوس بود، مراحل پروسسینگ برای تهیه‌ی مقاطع پارافینی صورت گرفت. از هر هیپوکامپوس مقاطع سریال به ضخامت ۲۵ میکرون تهیه و سپس به صورت تصادفی سیستماتیک یکنواخت Systematic Uniformly Random Sampling از هر ۲۰ مقطع، یکی انتخاب و با هماتوکسیلین اتوزین رنگ‌آمیزی شد.

با استفاده از دستگاه میکروپروجکشن (Microprojection) تصویر مقطع بافتی را به یک سطح پروژکت نموده، صفحه‌ای شفاف (Transparent) شطرنجی (گرید) حاوی نقاط با فواصل معین از هم دیگر بر روی تصویر منطبق شد و تعداد نقاطی که با نواحی هیپوکامپوس برخورد کرده‌اند (ΣP) شمرده، با در نظر گرفتن سطح هر نقطه

جدول ۱ مقادیر میانگین حجم و انحراف معیار برای لایه‌های مختلف نواحی هیپوکامپوس رت‌های مورد مطالعه را نشان می‌دهد. نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز فنوباریتال با دوزهای ۷۵ mg/kg و ۱۰۰ mg/kg باعث کاهش معنی‌دار حجم لایه‌های مولکولار، گرانولر و ناف شکنج دندان‌های و لایه‌های Oriens، پیرامییدال و

شکنج دندان‌های لایه‌ی مولکولار لایه‌ی گرانولر ناف ناحیه‌ی CA₁ لایه‌ی اورینس لایه‌ی هرمی لایه‌ی رادیاتوم، لاکونوزوم، مولکولار ناحیه‌ی CA₃ لایه‌ی اورینس لایه‌ی هرمی لایه‌ی رادیاتوم، لاکونوزوم، مولکولار

جدول ۱. مقایسه‌ی حجم لایه‌های نواحی هیپوکامپوس (بر حسب میلی‌متر مکعب) متعاقب تجویز داخل صفاقی دوزهای مختلف فنوباریتال و نرمال سالین (گروه شاهد) یک‌بار در روز به مدت ۴۵ روز. (تعداد رت در هر گروه = ۵).

| P | شاهد | ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم | ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم | ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم | |
|--------|--------------|-------------------------|------------------------|------------------------|--------------------------------------|
| < ۰/۰۵ | ۵/۰۰ ± ۰/۲۷۴ | ۳/۹۸ ± ۰/۰۸۴ | ۴/۲۴ ± ۰/۱۵۲ | ۴/۷۶ ± ۰/۲۶۱ | شکنج دندان‌های |
| < ۰/۰۵ | ۱/۷۸ ± ۰/۱۴۲ | ۱/۲۰ ± ۰/۰۷۱ | ۱/۵۸ ± ۰/۰۸۴ | ۱/۷۰ ± ۰/۱۵۸ | لایه‌ی مولکولار |
| < ۰/۰۵ | ۱/۹۴ ± ۰/۲۰۷ | ۱/۲۲ ± ۰/۱۳۰ | ۱/۶۶ ± ۰/۰۸۹ | ۱/۸۲ ± ۰/۱۷۹ | لایه‌ی گرانولر |
| | | | | | ناف |
| | | | | | ناحیه‌ی CA ₁ |
| < ۰/۰۵ | ۲/۸۰ ± ۰/۱۲۲ | ۲/۱۶ ± ۰/۱۱۴ | ۲/۵۴ ± ۰/۱۱۴ | ۲/۶۶ ± ۰/۰۸۹ | لایه‌ی اورینس |
| < ۰/۰۵ | ۱/۷۸ ± ۰/۰۸۴ | ۱/۱۶ ± ۰/۱۱۴ | ۱/۳۸ ± ۰/۱۶۴ | ۱/۶۸ ± ۰/۰۸۴ | لایه‌ی هرمی |
| < ۰/۰۵ | ۵/۴۶ ± ۰/۳۵۱ | ۴/۳۰ ± ۰/۰۷۱ | ۴/۸۴ ± ۰/۱۱۴ | ۵/۲۴ ± ۰/۱۶۷ | لایه‌ی رادیاتوم، لاکونوزوم، مولکولار |
| | | | | | ناحیه‌ی CA ₃ |
| < ۰/۰۵ | ۲/۷۸ ± ۰/۱۴۸ | ۲/۰۴ ± ۰/۱۱۴ | ۲/۳۶ ± ۰/۱۵۲ | ۲/۶۸ ± ۰/۰۸۴ | لایه‌ی اورینس |
| < ۰/۰۵ | ۱/۷۴ ± ۰/۱۸۲ | ۱/۲۴ ± ۰/۰۵۵ | ۱/۴۴ ± ۰/۱۱۴ | ۱/۷۰ ± ۰/۱۸۷ | لایه‌ی هرمی |
| < ۰/۰۵ | ۶/۰۴ ± ۰/۲۰۷ | ۵/۳۰ ± ۰/۰۷۱ | ۵/۷۸ ± ۰/۰۸۴ | ۵/۸۶ ± ۰/۱۱۴ | لایه‌ی رادیاتوم، لاکونوزوم، مولکولار |

دژنراسیون و مرگ نورون‌ها ایجاد شده باشد. روشن شدن این موضوع که کدام عامل موجب کاهش حجم شده است، به تحقیقات بعدی با استفاده از روش‌های کمی استریولوژیک (۱۸) و نیز مطالعه‌ی مورفومتریکی دقیق زواید نورونی نیاز دارد (۱۹).

با آن که هنوز مکانیسم دقیق برای این تغییرات روشن نیست اما اثرات نوروتوکسیک داروهای ضدصرع به خصوص فنوباریتال از سال ۱۹۷۰ شناخته شده است (۲۰). به هر حال برای توجیه آتروفی یا دژنراسیون

بحث
این مطالعه نشان داد که تجویز روزانه‌ی دوزهای ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فنوباریتال به مدت ۴۵ روز باعث کاهش وزن مغز و نیز کاهش حجم کل و نیز حجم لایه‌های نواحی مختلف هیپوکامپوس می‌شود در حالی که دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فنوباریتال بر موارد پیش‌گفته اثری ندارد. در توضیح علت کاهش حجم لایه‌ها می‌توان گفت که این کاهش ممکن است به علت آتروفی نورون‌های ناحیه‌ی مذکور یا به خاطر

نورون در هیپوکامپوس رات‌های نر ۲۲٪ و در رات‌های ماده ۱۵٪ بوده است (۱۲).

Bolanos و همکاران در سال ۱۹۹۸ نشان دادند رات‌هایی که از ۳۵ روزگی به مدت چهل روز تحت درمان با فنوباریتال بودند، اختلالات در یادگیری همراه با ضایعات کیفی بافتی در نواحی CA₁ و CA₃ و ناحیه‌ی Hilus شکنج دندان‌های متحمل شده بودند (۱۳).

در گزارشی که Christensen و همکاران در سال ۲۰۰۴ منتشر نمودند، اذعان داشتند، مصرف مزمن فنوباریتال به مدت یک هفته پیش از بارداری و در کل دوره‌ی بارداری موش، باعث اختلالات رفتاری وابسته به هیپوکامپوس در موالید نشده است (۱۶).

نتایج مطالعه‌ی ما با گزارش Bolanos و همکاران مبنی بر آسیب‌های بافتی در نواحی CA₁ و CA₃ همخوانی دارد، اما با یافته‌ی آنان که تنها ناحیه‌ی Hilus شکنج دندان‌های متحمل آسیب شده است، موافقت ندارد. ذکر این نکته حائز اهمیت است که نتایج این مطالعه که به طور کمی بررسی و با استفاده از روش‌های بدون سوگیری به دست آمده، نسبت به نتایج مطالعه‌ی Bolanos که مبتنی بر یافته‌های کیفی و سوکار (Biased) می‌باشند، دقیق‌تر است.

در مقایسه با گزارش Rothstein، ما در مطالعه‌ی خود حجم هر یک از نواحی هیپوکامپوس و لایه‌های آن را به طور جداگانه بررسی نموده، تأثیر تجویز دوزهای مختلف فنوباریتال به صورت طولانی مدت و در رات‌های را جوان بررسی نمودیم. به هر حال نتیجه‌ی مطالعه‌ی ما با مطالعات پیشین در زمینه‌ی کاهش حجم هیپوکامپوس همخوانی دارد.

از نکته‌های مثبت دیگر نتایج بررسی ما بیان میزان خطا در محاسبه می‌باشد که بیانگر دقت بالای

نورون‌ها متعاقب مصرف فنوباریتال، با استفاده از نتایج پژوهش‌های قبلی، می‌توان به علل زیر اشاره نمود.

پژوهش‌ها نشان می‌دهد، مصرف فنوباریتال مقدار mRNA مربوط به فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز و Brain-Derived Neurotrophic Factor نوروتروفین-۳ (NT-3) را کاهش می‌دهد (۲۰). نوروتروفین‌ها در رشد و تکثیر و بقای سلول‌های عصبی نقش حمایتی دارند و کاهش یا توقف تولید آنها منجر به آتروفی یا دژنراسیون نورون‌ها می‌شود (۲۱).

دلیل احتمالی دیگر در توضیح علت آتروفی نورون‌های هیپوکامپوس کاهش مصرف گلوکز در این ناحیه و سایر نواحی مغز می‌باشد؛ کاهش طولانی مدت متابولیسم و انرژی مغزی ناشی از مصرف فنوباریتال موجب کاهش رشد و حجم مراکز عصبی در رات‌های بالغ و نیز نقایص رفتاری مربوط به این مراکز از جمله هیپوکامپوس شده است (۲۲).

از مکانیسم‌های احتمالی دیگر می‌توان به اختلال در ایجاد سیناپس متعاقب مصرف فنوباریتال (۲۰) و افزایش سطح سروتونین متعاقب مصرف دوزهای بالای فنوباریتال اشاره نمود (۱۴).

در پژوهشی که در سال ۲۰۰۸ نتایج آن توسط Rothstein و همکاران منتشر شد، تأثیر فنوباریتال به عنوان داروی بیهوشی بر روی عملکرد و ساختمان هیپوکامپوس بررسی شد. نتایج این مطالعه نشان داد که تزریق ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم فنوباریتال به صورت زیر جلدی به نوزادان رات ۲ تا ۴ ساعت پس از تولد، باعث کاهش حجم هیپوکامپوس و تعداد نورون‌های آن در زمان بلوغ (۸۰ روزه) شده است. همچنین آنها گزارش نمودند که این کاهش حجم در رات‌های نر ۲۵٪ و در رات‌های ماده ۱۳٪ بوده و کاهش تعداد

اندازه‌گیری و نمونه‌گیری صحیح و کافی می‌باشد.

ایجاد کند، ترغیب می‌نماید.

از آن جا که بر اساس تحقیق حاضر، اثرات دراز مدت درمان با فنوباریتال بر روی وزن مغز و حجم نواحی هیپوکامپوس به دوز وابسته است، پیشنهاد می‌شود برای کاهش اثرات منفی، دوز مصرفی فنوباریتال در حداقل مقدار مؤثر نگه داشته شود. یافته‌های این مطالعه همچنین ما را به تحقیقات نورآناتومیکی بیشتر برای تبیین مکانیسم‌هایی که ممکن است در افراد مصرف‌کننده فنوباریتال اختلالات حافظه و یادگیری

تشکر و قدردانی

صمیمانه از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان که هزینه‌ی انجام این پژوهش (طرح تحقیقاتی شماره ۸۴۱۵۷) را به عهده داشته است و همچنین از همکاری گروه مورفواناتومی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد و گروه فارماکولوژی دانشکده‌ی داروسازی اصفهان تشکر می‌شود.

References

- Browne TR, Holmes GL. Antiepileptic drugs, Thomas R, Gregory L. Handbook of epilepsy. 2nd ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins; 1999. p. 163-96.
- Sean CS, pharm B. Martindale; The complete drug reference, 34th edition, Philadelphia, Awolters Kluwer Company, 2005; 351, 367.
- Devinsky O. Cognitive and behavioral effects of antiepileptic drugs. *Epilepsia* 1995; 36 (suppl 2):S46-S65.
- Kwan P, Brodie MJ. Neuropsychological effects of epilepsy and antiepileptic drugs. *Lancet* 2001; 357: 216-222.
- Kalviainen R, et al. Cognitive adverse effects of antiepileptic drugs: incidence, mechanism and therapeutic implications. *CNS Drugs* 1996; 5: 358-368.
- Rostock A, Siegmund C. Antiepileptic drugs and cognitive functions: investigations in rats. *Epilepsia* 1993; 34(suppl.2): 51.
- Eichenbaum H, Oto T. The hippocampus – what does it do? *Behav. Neuroal Biol* 1992; 57: 2-36.
- Jacob SW, Francon CA, Lossow WJ. Structure and function of brain in man, 5th edition, Jakashion/Saunders: Philadelphia, 1982; p.316-7.
- Amaral DG, Witter MP. The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. *Neuroscience* 1989; 31: 571-591.
- Horwitz B. Neuronal plasticity: how changes in dendritic architecture can affect the spread of postsynaptic potentials. *Brain Res* 1981; 224: 412-418.
- Rusakov DA, Davies HA, Harrison E, Diana G, Richter LG, Bliss TVP, et al. Ultrastructural synaptic correlates of spatial learning in rat hippocampus. *Neuroscience* 1997; 80: 69-77.
- Rothstein S, Simkins T, Nuñez JL. Response to neonatal anesthesia: Effect of sex on anatomical and behavioral outcome. *Neuroscience* 2008; 152(4):959-969.
- Bolanos AR, Sarkisian M, Yang Y, Hori A, Helmers SL, Mikati M, Tandon P, Stafstrom CE, Holmes GL, et al. Comparison of valproate and phenobarbital treatment after status epilepticus: Investigations in rats. *Neurol* 1998; 51(1): 41-8.
- Sudha S, Lakshmana MK, Pradhan N. Phenobarbital in the anticonvulsant dose range does not impair learning and memory or alter brain ACHE activity or monoamine levels. *Pharmacol Biochem Behav* 1996; 54(3):633-638.
- Gundersen HJG, Bendtsen TF, Korbo L, Marcussen N, Moller A., Nielsen K, et al. Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS* 1998; 96:379-394.
- Christensen HD, Gonzalez CL, Rayburn WF. Chronic prenatal exposure to phenobarbital and long-term behavior effects on mice offspring. *J Matern Fetal*
- Neonatal Med.* 2004 Jun;15(6):351-355
- Gundersen HJG, Jensen EB. The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *J Microsc* 1987; 147: 229-263.
- JR, Design-based estimation of neuronal number and individual neuronal volume in the rat hippocampus. *J Neurosc Meth* 2007; 162: 206-14.
- Hosseini-Sharifabad M, Nyengaard
- Uyilings HBM, Ruiz-Marcos A, Van Pelt j. The metric analysis of three- dimensional dendritic patterns: a methodological review. *J Neurosci Methods* 1986; 18: 127- 151.

22. Bittigau P, Sifringer M, Ikonidou C. Antiepileptic drugs and apoptosis in the developing brain. *Ann N Y Acad Sci* 2003; 993:103-14.
23. Thoenen H. Neurotrophins and Neuronal Plasticity. *Science* 1995; 270: 593-598.
24. Pereira de Vasconcelos A, Colin C, Desor D, Divry M, Nehlig A. Influence of early neonatal phenobarbital exposure on cerebral energy metabolism and behavior. *Exp Neurol* 1990.

Archive of SID

Received: 14.7.2008
Accepted: 9.10.2008

Effect of Long-lasting Phenobarbital Administration on the Volume of Hippocampal Regions in Rat

Mohammad Hosseini-sharifabad PhD*, Abbas Jafarian-Dehkordi PhD**, Ali Hosseini-sharifabad MD***

* Assistant Professor, Department of Anatomy, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

** Associate Professor, Department of pharmacology and toxicology, School of Pharmacy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

*** Department of pharmacology and toxicology, School of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Background: Among the antiepileptic drugs, Phenobarbital (PB) has the highest potential for adverse effects on cognition and behavior. The memory formation process depends on the integrity of hippocampus neuronal circuits. This study aimed to determine the volumetric alterations of Dentate Gyrus (DG) and Cornu Ammonis of hippocampus following long-term administration of PB.

Methods: 20 male Wistar rats were divided into four groups (control and 3 experimental groups). Control animals were received saline and experimental groups were received phenobarbital intraperitoneally at doses of 50, 75 and 100 mg/kg daily for 45 days. The posterior region of the brain (which contains hippocampus) was cut into serial 25 μ m thick sections. Every 20th section was selected with systematic random sampling. The unbiased stereological Cavalieri method was used to determine the volume of the layers of hippocampal subfields.

Findings: Our results showed the significant effect of PB on the volume of layers of DG, CA₁ and CA₃ of rat's hippocampus. Comparisons showed that the volumes of different layers in above-mentioned regions were significantly decreased following PB administration at 75 and 100 mg/kg doses.

Conclusion: Long-term effect of PB on the volume of hippocampal regions is dose dependent. It is essential that the dose of PB be kept at a minimum effective dose to reduce its negative effects. It is also can be suggested that the CA₁ volume reduction may be relevant to the reported impairment of learning and memory in PB treated patients.

Key words: Phenobarbital, Hippocampus, experimental study

Page count: 8

Tables: 1

Figures: -

References: 24

Address of Correspondence: Mohammad Hosseini-sharifabad PhD, Department of Anatomy, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.
E-mail: mhosseini81@yahoo.com