فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۴۲، جلد ۱۱، شماره ۳، تابستان۹۷، صفحه۶۷ تا ۷۶

بررسی اثرات داروی ضدصرع توپیرامات بر روی ناهنجاری‌های جنین‌های موش سوری نژاد*NMRI*

محبوبه ابراهیمی ورکیانی[۱]، **عبدالحسین شیروی**[۲]، ویدا حجتی[۳]

۱- کارشناسی ارشد زیست‌شناسی سلولی و تکوین جانوری، گروه زیست‌شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران.

۲- دکترای تخصصی زیست‌شناسی سلولی و تکوین جانوری، دانشیار، گروه زیست‌شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران.
Shiravi738@yahoo.com

۳- دکترای تخصصی زیست‌شناسی سلولی و تکوین جانوری، استادیار، گروه زیست‌شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران.

تاریخ دریافت:۹۶/۹/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۷/۵/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: یکی از مهم‌ترین عوارض مصرف داروهای ضدصرع در دوران بارداری افزایش ناهنجاری‌های جنینی می‌باشد. در رابطه با اثرات تراتوژنیک توپیرامات در دوران بارداری بر روی ارگانوژنز جنین اطلاعات کاملی در دسترس نیست. از این رو این مطالعه به منظور تعیین ناهنجاری‌های ماکروسکوپی ایجاد شده توسط توپیرامات در زمان ارگانوژنز جنین موش طراحی گردید.

روش کار: در این مطالعه ۴۰ سر موش سفید کوچک آزمایشگاهی نژاد*NMRI* به سه گروه تجربی(*I*، *II*، *III*) و یک گروه شاهد تقسیم شدند. سه گروه تجربی، توپیرامات را به ترتیب با مقادیر۵۰ ، ۱۰۰ و۲۰۰میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز و گروه شاهد سرم فیزیولوژی با حجم ۰/۲ میلی‌لیتر از روز ششم(GD_6) تا روز چهاردهم(GD_{14}) بارداری به صورت درون‌صفاقی دریافت نمودند. موش ها در روز ۱۸ بارداری سزارین شده و جنین‌ها پس از توزین و اندازه‌گیری طول سری-دمی، مورد بررسی ماکروسکوپی قرار گرفتند. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری *SPSS* و آزمون‌های *ANOVA* و *LSD* مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته شدند.

یافته ها: کاهش معنی‌داری در میانگین وزن بین گروه تجربی *III* و شاهد دیده شد($P<0/05$). در گروه‌های تجربی *II* و *III* میانگین طول سری-دمی جنین در مقایسه با گروه شاهد به صورت معنی‌داری کاهش یافته بود($P<0/05$). افزایش معنی‌داری در میزان بروز هموراژی و جذب جنین در گروه‌های تجربی *I*، *II*و *III* در مقایسه با گروه شاهد دیده شد($P<0/05$). در هر سه گروه‌تجربی میانگین تعداد جنین در مقایسه با گروه شاهد به صورت معنی‌داری کاهش یافته بود($P<0/05$).

نتیجه‌گیری: استفاده از داروی توپیرامات در طی مراحل ارگانوژنز موش سبب کاهش وزن، طول سری-دمی و تعداد جنین‌ها؛ هم چنین سبب جذب جنینو هموراژی می‌گردد.

واژه های کلیدی: توپیرامات، ناهنجاری‌زایی، جنین، موش.

مقدمه

تراتولوژی شاخه‌ای از علم پزشکی و زیست‌شناسی تکوینی می‌باشد که به مطالعهٔ ناهنجاری‌های مادرزادی یا نقایص هنگام تولد می‌پردازد(۴۵، ۲۰، ۹). ناهنجاری‌های مادرزادی هم به واسطهٔ دلایل وراثتی و هم به واسطهٔ دلایل محیطی رخ می‌دهند(۴۲)، که یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی استفاده از بعضی از ترکیبات دارویی است که مصرف آن ها در دوران بارداری می تواند اثر بدی بر روی جنین داشته باشد(۳۴). ایجاد ناهنجاری داروهای ضدصرع مسئله‌ای مهم است از این نظر که اگر داروهای ضدصرع که میلیون‌ها نفر در سراسر دنیا از آن استفاده می‌کنند، اثرات تراتوژنیسته داشته باشند، حتی اگر درصد کمی از نوزاد بیماران دچار آن شوند، در مجموع اثرات عمیقی را خواهد گذاشت و در عین حال اثرات آن ها موردشک و تردید است زیرا هم صرع و هم داروهای ضدصرع ناهمگون بوده و اثرات آن ها از هم تفکیک‌ناپذیر است، هم چنین در مقایسه، تعداد بیماران

صرعی که دارو نمی‌گیرند، خیلی کم می باشد(۱۶). صرع به صورت یک بیماری مزمن با مجموعه‌ای از علایم ناهمگون است که مشخصهٔ آن حملات تشنجی عودکننده می‌باشد(۳۳، ۱۶، ۱۲). توپیرامات(۲،۳: ۴،۵– بیس–*O*–(۱–متیل‌اتیلیدن)–*β*–*D*–فروکتو پیرانوز سولفامات؛ $C_{12}H_{21}NO_8S$)(۳۱) از نسل دوم داروهای ضدصرع می‌باشد(۱۱). توپیرامات مشتق از منوساکارید *D*-فروکتوزاست که از نظر ساختمان با همهٔ داروهای-ضدتشنج دیگر متفاوت می باشد(۳۶، ۱۶، ۱۵). از این دارو برای درمان بیمارانی که صرع دارند صرف‌نظر از سن، جنس و وضعیت بارداری استفاده می‌شود؛ چرا که در آزمون حداکثر الکتروشوک(*MES*) بازدهی خوبی دارد، مدت زمان عمل آن نسبتاً طولانی بوده و شاخص بالایی برای محافظت نورونی دارد(۳۸). این دارو در انسان به راحتی از جفت عبور می‌کند و در شیر مادر هم ترشح می‌شود(۲۸، ۳). به آسانی از غشای سلولی عبور می‌کند(۳۶، ۳۱، ۱۰). با توجه به این که توپیرامات یکی از داروهای مهم در درمان صرع می‌باشد، مادران باردار مبتلا به صرع مجبور به استفاده از این دارو می‌باشند(۱۶، ۳). ایمنی توپیرامات در دوران بارداری تا حد زیادی ناشناخته باقی مانده است(۲۵، ۲۴). در بیشتر مطالعات انجام گرفته در انسان، ناهنجاری شکاف لب(همراه با یا بدون شکاف کام)(۱۴، ۸) و در فرزندان پسر، هیپوسپادیاس گزارش شده است(۱۶، ۸). اثرات تراتوژنیک توپیرامات در حیوانات آزمایشگاهی از جمله خرگوش، موش و رت تاحدی شناسایی شده است(۳۰). با توجه به این مطالعات ناقص و اندک و از آن جایی که اثرات یک ماده می‌تواند نسبت به دوز مصرفی، روزهای تجویز و شکل تجویز(درون صفاقی و خوراکی(گاواژ)) متفاوت باشد، این مسئله ما را بر آن داشت تا با اجرای یک طرح تکمیلی، به صورت دقیق‌تر در مورد نقش توپیرامات در ایجاد اثرات تراتوژنیک در زمان و میزان مصرف در دوران بارداری و بر روی ارگانوژنز موش بررسی گردد. از این رو این مطالعه به لحاظ زمان تجویزو شکل تجویز(درون صفاقی) در یک تحقیق بنیادی جدید و غیرتکراری است و به منظور تعیین اثرات تراتوژنیک توپیرامات در موش‌های باردار در زمان ارگانوژنز بر روی جنین‌های موش سوری نژاد *NMRI*طراحی گردید.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی، از۴۰ سر موش سفید کوچک آزمایشگاهی نژاد *NMRI* با ۲/۵ ماه سن و وزن تقریبی ۳۰-۲۵ گرم از انستیتو پاستور آمل تهیه شدند و در شرایط آزمایشگاهی کنترل شده در اتاق حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان با دمای ۲۵-۲۳ درجه ساتی گراد، رطوبت ۵۰-۴۰ درصد، تناوب روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. در مدت نگهداری حیوانات از غذای خشک استاندارد و آب شرب شهری استفاده گردید. دو هفته پس از نگهداری حیوانات در این شرایط ۲ سر موش ماده به همراه ۱ سر موش نر در داخل قفس جهت جفت‌گیری قرار داده شدند. سپس صبح روز بعد موش‌های ماده از نظر وجود اسپرم در واژن بررسی و در صورت مشاهده به عنوان موفقیت در بارداری تلقی - گردید و زمان صفر بارداری(GD_0) برای آن ها در نظر گرفته شد. تعداد ۴۰ سر موش باردار به صورت تصادفی به سه گروه تجربی و ۱ گروه شاهد(۱۰ سر موش در هر گروه) تقسیم شدند: باتوجه به این که توپیرامات برای استفادهٔ خوراکی به صورت قرص‌هایی حاوی ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم از مادهٔ فعال به بازار عرضه شده است(۳۱، ۱۰). گروه‌های تجربی*I*، *II* و *III* به ترتیب داروی توپیرامات را با دوزهای۲۰۰، ۱۰۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در روز با حجم ۰/۲ میلی‌لیتر از روز ششم(GD_6) تا روز چهاردهم(GD_{14}) بارداری به صورت تزریق درون‌صفاقی و گروه شاهد سرم فیزیولوژی را در همین مدت به همان حجم دارو تزریق شده دریافت

نمودند. از آن جایی که در دوران رشد جنینی، دوران اندام‌زایی(ارگانوژنز) از حساس‌ترین و آسیب‌پذیرترین دوران جنینی است که در انسان سه ماهه‌ی اول بارداری و در موش هم زمان با روزهای ۶ تا ۱۴ بارداری می‌باشد تزریق دارو در این روزها صورت گرفت(۴۳، ۲۷، ۱۷). موش ها در روز ۱۸ بارداری با کلروفرم بیهوش و جراحی شدند چنین‌ها پس از باز کردن کیسه آمنیون، آزاد و با سرم فیزیولوژی شست‌وشو داده شدند و مورد بررسی ماکروسکوپی توسط استریومیکروسکوپ مجهز به دوربین مدل *SMZ800 NIKON* قرار گرفتند. سپس تعداد جنین‌های زنده و جذبی به‌طور جداگانه مورد بررسی و شمارش قرار گرفته و هر جنین جداگانه توسط ترازوی دیجیتال مدل *GR-AND* ۲۰۰ با دقت ۰/۰۰۱ توزین گردید. سپس طول سری-دمی *(Crown-Rump)* هر جنین با استفاده از کولیس دیجیتال مدل ۱۹۶-۵۰۰ *Mitutoyo* با دقت ۰/۰۱ اندازه‌گیری و ثبت شد. داده‌های به دست آمده از گروه‌های مختلف آزمایشی توسط نرم افزار آماری *SPSS* تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون *LSD* در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام گردید. پودر خالص توپیرامات از شرکت داروسازی آریا تهیه گردید.

نتایج

نتایج حاصل از مطالعه حاضر بر اساس برش سزارینی در روز ۱۸ بارداری(*GD18*) در جدول ۱ نشان داده شده است:

تعداد جنین: آزمون‌های آماری به کار رفته در مورد بررسی تفاوت بین میانگین‌های تعداد جنین‌ها در گروه-های آزمایشی نشان داد که گروه‌های تجربی *I*، *II* و *III* نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری نشان می-دهند($P<0/05$)(جدول۱).

جذب جنین: آزمون‌های آماری به کار رفته در مورد بررسی تفاوت بین میانگین‌های جذب جنین‌ها در گروه-های آزمایشی نشان داد که گروه‌های تجربی *I*، *II* و *III* نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری نشان می-دهند($P<0/05$)(جدول ۱وشکل ۱).

وزن جنین: آزمون‌های آماری به کار رفته در مورد بررسی تفاوت بین میانگین‌های وزن جنین‌ها در گروه-های آزمایشی نشان داد که گروه تجربی *III* نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌دار نشان می‌دهد($P<0/05$)، اما این کاهش بین گروه‌های تجربی *I* و *II* با گروه شاهد معنی‌دار نمی‌باشد(جدول۱).

هموراژی جنین: آزمون‌های آماری به کار رفته در مورد بررسی تفاوت بین میانگین‌های هموراژی جنین‌ها در گروه‌های تجربی نشان داد که گروه‌های تجربی *I*، *II* و *III* نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان در می‌دهند($P<0/05$). که به صورت خونریزی‌های موضعی نواحی مختلف بدن از جمله ستون‌فقرات، دم، گردن، سر، دست‌ها و پاها مشاهده شد(جدول ۱ و شکل۲).

طول سری_دمی جنین: آزمون‌های آماری به کار رفته در مورد بررسی تفاوت بین میانگین‌های طول سری-دمی

جنین‌ها در گروه های آزمایشی نشان داد که گروه های تجربی *II* و *III* نسبت به گروه شاهد کاهش معنی-داری را نشان می‌دهند($P<0/05$). اما این کاهش بین گروه تجربی *I* و گروه شاهد معنی‌دار نمی‌باشد(جدول ۱ و شکل ۳).

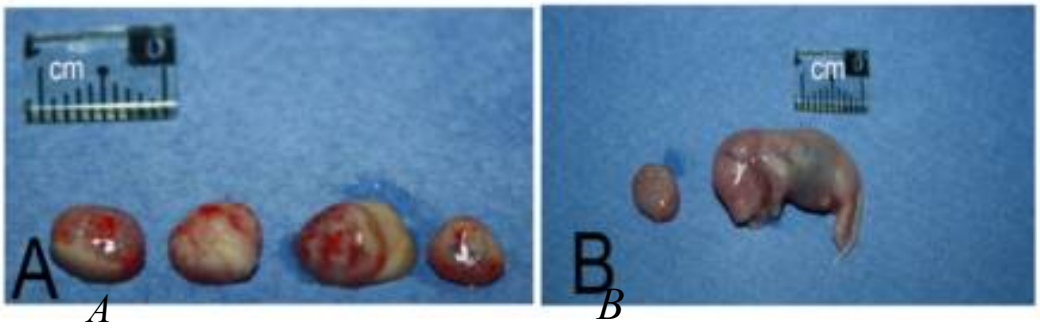
بحث و نتیجه گیری

به‌طور کلی صرع باعث افزایش میزان اختلالات در رشدونمو دوران جنینی می‌شود(۴۱، ۲۶). مطالعه حاضر روی موش‌های باردار انجام شد تا تأثیر توپیرامات را بر نتیجه بارداری مشخص نماید. توپیرامات از نظر خطر ناهنجاری‌زایی در دسته‌ی *D*توسط *FAD*(سازمان غذا و دارو) قرار گرفته است(۱۱)، مبنی بر وجود شواهدی از خطر برای جنین در انسان وجود دارد؛ ولی در بعضی از

گروه‌های آزمایش / متغیر	شاهد	تجربی *I*	تجربی *II*	تجربی *III*
تعداد موش باردار	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
تعداد کل جنین‌ها	۱۱۳	۹۶	۱۰۱	۹۱
تعداد جنین‌های زنده	۱۱۳	۹۲*	۹۰**	۸۱**
تعداد بازجذب جنین‌ها(درصد)	۰(۰)	۴*** (۴/۱۶)	۱۱***(۱۰/۸۹)	۱۰***(۱۰/۹۸)
وزن جنین‌ها(گرم)	۱/۳۰±۰/۱۲	۱/۱۹±۰/۲۵	۱/۱۲±۰/۲۳	۰/۹۰±۰/۲۵***
طول سری-دمی(میلی‌متر)	۲۳/۴۱±۰/۹۴	۲۱/۸۱±۱/۹۹	۲۰/۷۳±۱/۹۹**	۱۹/۳۵±۲/۲۳***
تعداد جنین‌های دارای هموراژی(درصد)	۰(۰)	۱۷***(۱۸/۴۷)	۲۰***(۲۲/۲۲)	۲۷***(۳۳/۳۳)

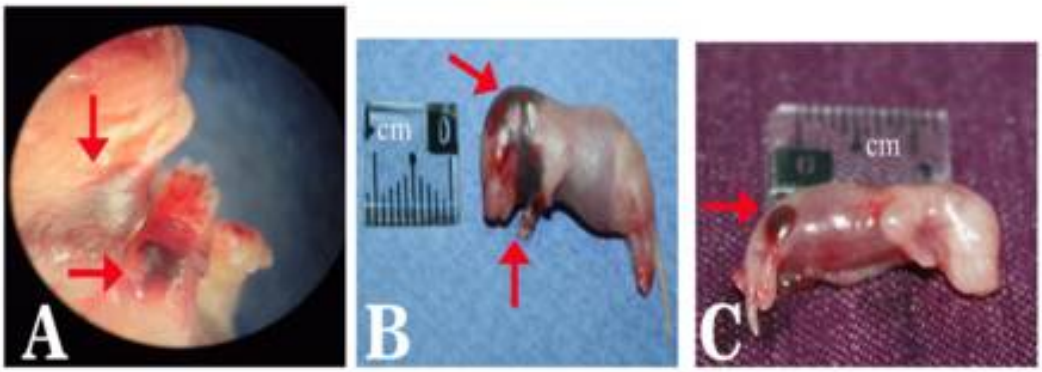
*$P<۰/۰۵$ در مقایسه با گروه شاهد؛**$P<۰/۰۱$ در مقایسه با گروه شاهد؛***$P<۰/۰۰۱$ در مقایسه با گروه شاهد.

موارد منافع دارو ممکن است استفاده از آن را اجتناب‌ناپذیر نماید و در مقابل منافع دارو، خطرات احتمالی این دارو را باید پذیرفت(۴۵، ۴۴). اخیراً از این دارو به عنوان یک عامل بی اشتهایی برای کاهش وزن در افراد چاق استفاده می‌شود(۳۸، ۱۸، ۱۳، ۱۱). توپیرامات قادر به مهار آنزیم ۱و۶ بیس‌فسفاتاز و در نتیجه مهار کننده‌ی گلوکونئوژنز است(۳۶). گلوکونئوژنز یا نوگلوکززایی مسیری متابولیکی است که کربوهیدرات‌ها را از پیش‌سازهای ساده مانند(پیروات، لاکتات، گلیسرول و اگزالواستات) در موجودات زنده می‌سازد. این مسیر یکی از راهکارهایی است که بدن انسان و برخی جانوران جهت جلوگیری از افت سطح گلوکز خون در کنار گلیکوژنولیز انجام می‌دهند. بیوسنتز گلوکز یک ضرورت مطلق برای تمامی پستانداران است. مغز و سیستم عصبی، گلبول-های قرمز، بیضه‌ها، قسمت مرکزی کلیه‌ها و بافت جنینی نیاز به گلوکز برداشت شده از خون به عنوان تنها منبع اصلی سوخت دارند(۲۱). بنابراین توپیرامات با مهار فرآیند گلوکونئوژنز بر سطح گلوکز خون که تنها منبع اصلی سوخت برای بافت‌های جنین هست اثر گذاشته و با مهار گلوکونئوژنز و کاهش گلوکز خون تغییراتی را بر روی وزن و طول سری-دمی جنین اعمال کرده است. هم‌چنین *Ornoy* و همکاران در بررسی انجام گرفته بر روی ۵۲ زن باردار مشاهده نمودند که مصرف توپیرامات در دوران بارداری باعث کاهش وزن نوزادان هنگام تولد شده است(۲۹). در مطالعاتی نشان داده‌اند که مصرف توپیرامات با کاهش قابل توجه وزن جنین همراه می‌باشد که یکی از اثرات مورد انتظار مهار هیستون داستیلازها می‌باشد(۲۵). هم چنین کاهش قد و وزن می‌تواند به علل مختلف دیگری نیز باشد؛ به نظر برخی از محققین استفاده از داروهای ضدصرع در دوران بارداری باعث کاهش محتوای پروتئینی کل جنین و به دنبال آن کاهش قد و وزن جنین می-گردد(۴۵، ۶). برخی دیگر از محققین تغییرات دژنراتیو در جفت و نیز پاره شدن عروق لاکوناهای مادری و در واقع تأثیر آن بر تغذیه‌ی جنین را در این امر مؤثر می-دانند(۳۵).علاوه بر این *Suchesto* و همکاران ارتباط مثبتی را بین اندازه‌گیری طول استخوان دراز تشکیل شده و وزن جنین در موش‌های در معرض داروهای ضدصرع یافتند(۴۰).



A B

تصویر1. جنین های جذبی مربوط به گروه های آزمایشی. جنین های جذبی مربوط به یک موش گروه تجربی III (A) مقایسه بین جنین سالم و جذبی گروه تجربی I (B).



تصویر2. جنین های دارای هموراژی در گروه های آزمایشی. تصویر استریومیکروسکوپی جنین گروه تجربی I دارای هموراژی در ناحیه دست و گردن (فلش) (A). جنین گروه تجربی II دارای هموراژی در ناحیه سر و گردن (فلش) (B). جنین گروه تجربی III دارای هموراژی در ران پا (فلش) (C).

تصویر 3. مقایسه طول سری-دمی بین جنین گروه شاهد (A) و جنین گروه تجربی III(B).

.

هم چنین طبق مطالعات *Fadel* و همکارانش و *Ariyuki* و همکارانش نشان دادند که وزن کم بدن با کاهش میزان تشکیل استخوان‌ها همراه می‌باشد(۲). در نتیجه این کاهش وزن جنین‌ها به اثر داروهای ضدصرع از جمله توپیرامات بر استخوان‌سازی اسکلت جنینی هم مربوط می‌باشد که نیاز به انجام تحقیقات مولکولی و گسترده‌ای می‌باشد. طی این مطالعه تجربی کاهش معنی‌داری در تعداد جنین‌ها در گروه‌های تجربی نسبت به گروه شاهد دیده شد($P<۰/۰۵$) و هم چنین جذب جنینی در گروه‌های تجربی مشاهده گردید. علت جذب جنینی عمدتاً مربوط به اختلالات خون‌رسانی جفت و ناهنجاری‌های اولیه جنینی می‌باشد، خصوصاً در دوره‌ی اندام‌زایی جنین که منجر به توقف از ادامه رشد و نمو جنینی خواهد شد و جنین‌ها به یک توده بی‌شکل به نام جنین جذبی خواهد شد. در واقع جنین جذبی شکل پیشرفته‌ای از ناهنجاری‌های جنین خصوصاً در مراحل اولیه رشدونمو می‌باشد. بنابراین از آن جایی که توپیرامات از جفت عبور می‌کند، منجر به ضخیم شدن سدجفتی و اختلال در رگ‌های خونی می‌شود(۳۸)؛ درنتیجه منجر به جذب و عدم رشد جنین می‌گردد. به بیان دیگر مقاطع بحرانی در بارداری وجود دارد که در مرحله‌ی پیش‌تمایزی(اولین مرحله حساسیت جنین به عوامل ناهنجاری‌زا) حساسیت جنین به آن عامل همه یا هیچ می‌باشد در واقع در این مرحله در معرض قرار گیری یا باعث آسیب دیدن اکثریت یا تمام سلول‌ها و در نتیجه توقف رشد جنین می‌گردد؛ و یا این که جنین نسبتاً مقاوم است هیچ تأثیر مشخصی بر روی جنین ندارد. حتی زمانی‌که برخی اثرات مضر خفیفی ایجاد شده باشد، چند سلول باقی مانده بسیج شده و سبب بهبود این جنین می‌شوند و یک جنین طبیعی شکل می‌دهند(۲۲). اصطلاح جنین جذبی یعنی جنین‌هایی که رشد و نموشان به شکست انجامیده وگرنه چیز خاصی به نام جذب وجود ندارد. بنابراین اثر توپیرامات در بارداری باعث توقف رشد درصدی از جنین‌ها(جذب جنینی) و در نتیجه کاهش تعداد جنین‌های زنده گردید. یافته‌های مطالعه ما در این زمینه طبق مطالعه‌ی *Rafighdoost* و همکاران افزایش معنی‌داری در جذب جنینی در گروه‌های تجربی نسبت به گروه شاهد نشان داده است ولی اختلاف چشم‌گیری در تعداد جنین‌های جذب شده نسبت به مطالعه*Rafighdoost* و همکاران وجود دارد(۳۲). در مطالعه‌ی حاضر شکل تجویز به صورت تزریق درون صفاقی صورت گرفته است در صورتی که در مطالعه‌ی *Rafighdoost* و همکاران تجویز به صورت گاواژ صورت گرفته و با توجه به مطالعات متعدد در زمینه داروهای دیگر ضدصرع نتیجه گرفته اند که مسیر تزریقی یک دارو از تجویز خوراکی آن می تواند آثار تراتوژنیکی شدیدتری به دنبال داشته باشد در صورتی که نتایج مطالعه‌ی *Rafighdoost* و همکاران این ادعا را تایید نمی‌کند. هم‌چنین مشخص گردیده است که مسیر متفاوت مصرف دارو به علل مختلفی از جمله متابولیزه شدن دارو می‌تواند منجر به بروز آثار تراتوژنیکی متفاوتی گردد(۲۷)، مطالعات قبلی در زمینه داروهای دیگر ضدصرع که میزان اثرات داروهای دیگر را در دو شکل تجویز خوراکی(گاواژ) و تزریق درون صفاقی بررسی نموده‌اند، نتیجه گرفته‌اند که میزان ناهنجاری‌ها در شکل تجویز خوراکی نسبت به تزریق درون‌صفاقی کاهش معنی‌داری داشته(۲۷، ۱) تعداد جنین های جذبی در مطالعه‌ی *Rafighdoost* و همکاران که به صورت گاواژ انجام شده نسبت به نتایج تزریق درون صفاقی در مطالعه ما، تعداد بالایی گزارش شده که جای تردید دارد و با توجه به بررسی مطالعات دیگر در مورد اثر داروهای ضدصرع که میزان جذب جنینی در تعداد خیلی کمتری گزارش شده و از نظر

آماری معنی‌دار بودند. از طرفی با توجه به این که مصرف اسیدفولیک به عنوان یک ویتامین مکمل تا حدود زیادی از اختلالاتی مثل تأخیر تکوینی و تأخیر رشدی در مادران باردار سالم جلوگیری می کند؛ مورد قبول بسیاری از محققین می‌باشد(۳۹، ۵) از طرفی مطالعاتی وجوددارد که نشان می‌دهد؛ سطح سرمی اسیدفولیک در مادران باردار دچار صرع نسبت به افراد سالم پایین تر از حد معمول است(۷، ۴). این تعداد جنین جذبی در مطالعه‌ی *Rafighdoost* و همکاران در دوزهای همراه با اسید فولیک به خصوص دوز *۲۰۰ml/kg/day* توپیرامات که یعنی تقریباً نیمی از جنین ها جذبی هستند جای تأمل دارد. با توجه به بررسی مقالات دیگر که اثر داروهای ضدصرع را بدون و همراه با اسیدفولیک بررسی کرده‌اند و نتیجه گرفته‌اند که میزان ناهنجاری‌ها کاهش پیدا می‌کند(۱). طبق مطالعه‌ی *Kriendler* و همکاران، مصرف دوز بالای بنزوات سدیم به عنوان یک فاکتور تراتوژن می‌تواند سبب آزاد شدن هیستامین از گرانول‌های ماست‌سل‌ها شده و هیستامین با اثر بر گیرنده‌های H_1 موجود در سلول‌های اندوتلیال باعث افزایش نفوذپذیری و تراوایی عروق به عناصر مختلف می‌گردد. از طرفی در داخل سیتوپلاسم سلول‌های آندوتلیال پروتئین‌های قابل انقباضی وجود دارد که تحت تأثیر هیستامین منقبض شده و منجر به انقباض و تغییر شکل این سلول‌ها شده و در نهایت سلول‌های آندوتلیال از هم فاصله گرفته و بین آن‌ها منافذی ایجاد می‌شود که می‌تواند منجر به نشت پلاسمای خون و التهاب و حتی خون‌ریزی در بافت‌ها(هموراژی) شود(۱۹). به نظر می‌رسد توپیرامات نیز به عنوان یک فاکتور تراتوژن می‌تواند به همین طریق بر روی خون‌ریزی زیرپوستی در بافت‌ها (هموراژی) اثر بگذارد. لذا مشاهده می‌شود که طی این بررسی میانگین هموراژی در گروه‌های تجربی نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشته است. براساس مکانیسم های مولکولی، توپیرامات، هیستون د استیلاز(*HDACs*) را در سلول‌های انسانی مهارمی‌کند. مهارکننده‌های هیستون د استیلاز، نقص مربوط به قرار گرفتن جنینی در معرض والپروئیک‌اسید را تقلید می‌کنند که پیشنهاد شده است احتمالاً نقطه شروع خطرات تراتوژنیک‌اش باشد(۲۵). این مطالعه نشان داد مصرف توپیرامات در دوران بارداری و هم زمان با دوران ارگانوژنز در موش‌های نژاد *NMRI* باعث کاهش وزن، طول سری-دمی و اختلال در رشد و تکامل جنین می‌شود. بر اساس بررسی‌های انجام شده برای اولین بار گزارشی از اثر این دارو در ایجاد خون‌ریزی زیرپوستی در بافت‌ها(هموراژی) در این مقاله به صورت مستند گزارش شده است. از این‌رو پیشنهاد می‌گردد که مصرف این دارو در دوران بارداری در انسان و به خصوص سه ماههٔ اول بارداری بایستی با دقت و احتیاط بیشتری صورت گیرد. نهایتاً علیرغم مطالعاتی که در این زمینه،مساله تراتوژن بودن داروهای ضد صرع نسل جدید در دوزها، روزهای خاص و مسیرهای متفاوت تجویز هنوز به عنوان یک معضل در جامعه پزشکی زنان و مامایی مطرح می باشد و نیازمند بررسی‌های بیشتر اثر این دارو و یافتن مکانیزم‌های اثر آن است.

تشکروقدردانی

از گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان به دلیل تأمین فضا و دستگاه و لوازم آزمایشگاهی موردنیاز در انجام این طرح صمیمانه تشکر می گردد.

منابع

1.*Afshar, M., Hasanzadeh, MM., Mo'allem, A., Tamizi, A., Golalipour, J. (2010). Comparative study of teratogenic effects of gabapentin administration via peritoneum and gavages on*

skeletal system of mice fetuses using alizarin-red S and Alcian-blue Staining Techniques. Razi Journal of Medical Sciences, 16(68); 7-18.

***2.**Ariyuki, F., Ishihara, H., Higaki, K., Yasuda, M. (1982). A study of fetal growth retardation in teratological tests: relationship between body weight and ossification of the skeleton in rat fetuses. Teratology, 26(3); 263-7.*

***3.**Arnone, D. (2005). Review of the use of topiramate for treatment of psychiatric disorders. Annals of general psychiatry, 4(1); 5-10.*

***4.**Attilakos, A., Papakonstantinou, E., Schulpis, K., Voudris, K., Katsarou, E., Mastroyianni, S. (2006). Early effect of sodium valproate and carbamazepine monotherapy on homocysteine metabolism in children with epilepsy. Epilepsy Res, 71(2-3); 229-32.*

***5.**Biale, Y., Lewenthal, H. (1984). Effect of folic acid supplementation on congenital malformations due to anticonvulsive drugs. Eur J ObstetGynecolReprodBiol, 18(4); 211-6.*

***6.**Chung, S., Ahn, C. (1994). Effects of anti-epileptic drug therapy on bone mineral density in ambulatory epileptic children. Brain and Development, 16(5); 382-5.*

***7.**Dansky, LV., Rosenblatt, DS. (1992). Andermann E. Mechanism of teratogenesis: folic acid and antiepipleptic therapy, 42(5); 32-42.*

***8.**De Jong, J., Garne, E., Wang, H. (2016). The Risk of specific congenital anomalies in relation to newer antiepileptic drugs: a literature review. Drugs-real world outcomes, 3(2); 131-43.*

***9.**Dutta, S. (2015). Human teratogens and their effects: a critical evaluation. Information Research and Review, 2(3); 525-536.*

***10.**Eadie, MJ., Vajda, FJ. (2016). Antiepileptic Drugs and Pregnancy. Springer International Publishing.*

***11.**Fadel, RA., Sequeira, RP., Abu-Hijleh, MF., Obeidat, M., Salem, AH. (2012). Effect of prenatal administration of therapeutic doses of topiramate on ossification of ribs and vertebrae in rat fetuses. Rom J Morphol Embryol, 53(2); 321-7.*

***12.**Greco, A., Rizzo, MI., De Virgilio, A., Conte, M., Gallo, A., Attanasio, G. (2016). Autoimmune epilepsy. Autoimmunity Reviews, 15(3); 221-5.*

***13.**Harden, CL. (2014). Topiramate, zonisamide and small for gestational age: maternal factors, timing of exposure and baby fat. Epilepsy Currents, 14(4); 199-200.*

***14.**Hernández-Díaz, S., Mittendorf, R., Smith, CR., Hauser, WA., Yerby, M., Holmes, LB. (2012). Comparative safety of antiepileptic drugs during pregnancy. Neurology, 78(21); 1692-9.*

***15.**Hoy, SM. (2016). Topiramate extended release: a review in epilepsy. CNS Drugs, 30(6); 559-66.*

***16.**Katzung, BG., Masters, SB., Trevor, AJ. (2011). Basic & clinical pharmacology. New York: McGraw-Hill Medical.*

***17.**Kaufman, M., Brad, JL. (1999). The anatomical basis of mouse development. USA: Academic Press.*

***18.**Kramer, CK., Leitao, CB., Pinto, LC., Canani, LH., Azevedo, MJ., Gross, JL. (2011). Efficacy and safety of topiramate on weight loss: a meta-analysis of randomized controlled trials. Obesity Reviews,12(5);e338-47.*

***19.**Kreindler, JJ., Slutsky, J., Haddad, ZH. (1980). The effect of food colors and sodium benzoate on rat peritoneal mast cells. Annals of Allergy, 44(2); 76-81.*

***20.**Lancaster, PA. (2011). Causes of birth defects: lessons from history. Congenital Anomalies, 51(1); 2-5.*

***21.**Lehninger, AL., Nelson, DL., Cox, MM. (2005). Lehninger's Principles of Biochemistry. W. H Freeman.*

***22.**Lu, FC., Kacew, S. (2002). Lu's Basic toxicology: fundamentals, target organs and risk assessment. CRC Press.*

***23.**Mackenzie, KM., Hour, RM. (2002). Developmental toxicology. In: Derelanko, M. J, (Ed), Handbook of Toxicology, P; 497-521.*

***24.**Morrow, J., Russell, A., Guthrie, E., Parsons, L., Robertson, I., Waddell, R. (2006). Malformation risks of antiepileptic drugs in pregnancy: a prospective study from the UK epilepsy and pregnancy register. Neurology, Neurosurgery & Psychiatry, 77(2); 193-8.20.*

***25.**Naegel, S., Obermann, M. (2010). Topiramate in the prevention and treatment of migraine: efficacy, safety and patient preference. Neuropsychiatr Dis Treat, 6; 17-28.*

***26.**Narotsky, MG., Rogers, JM. (2000). Examination of the axial skeleton of fetal rodents. Developmental Biology Protocols, Volume I; 139-50.*

***27.**Nau, H. (1986). Valproic acid teratogenicity in mice after various administration and Phenobarbital-*

pretreatment regimens: The parent drug and not one of the metabolites assayed is implicated as teratogen. Fundamappl Toxicol, 6(4); 662-68.

***28.**Öhman, I., Vitols, S., Luef, G., Söderfeldt, B., Tomson, T. (2002). Topiramate kinetics during delivery, lactation, and in the neonate: preliminary observations. Epilepsia, 43(10); 1157-60.*

***29.**Ornoy, A., Zvi, N., Arnon, J., Wajnberg, R., Shechtman, S., Diav-Citrin, O. (2008). The outcome of pregnancy following topiramate treatment: a study on 52 pregnancies. Reproductive Toxicology, 25(3); 388-9.*

***30.**Palmieri, C., Conger, R. (2002). Teratogenic potential of the newer antiepileptic drugs. CNS drugs16(11); 755-64.*

***31.**Pinto, EC., Dolzan, MD., Cabral, LM., Armstrong, DW., de Sousa, VP. (2016). Topiramate: A review of analytical approaches for the drug substance, its impurities and pharmaceutical formulations. Chromatographic Science, 54(2); 280-90.*

***32.**Rafighdoost,L., Khaiatzadeh, J., Tabrizian, K., Mahjoor, A.A., Abootorabi, A. (2012). Role of Folic acid on the reduction of topiramate-induced craniofacialdeformities in Balb/c mic fetuses. zabol university of medical Sciences and Health Services, 4(2); 61-72.*

***33.**Reddy, DS. (2014). Clinical pharmacology of current antiepileptic drugs. Int J Pharm Sci Nanotech, 7(1); 2305-19.*

***34.**Sadler, TW. (2011). Langman's medical embryology. Lippincott Williams & Wilkins.*

***35.**Saxen, L. (1976). Mechanisms of teratogenesis. Embroyology and Experimental Morphology, 36; 1-12.*

***36.**Shank, RP., Gardocki, JF., Streeter, AJ., Maryanoff, BE. (2000). An overview of the preclinical aspects of topiramate: pharmacology, pharmacokinetics, and mechanism of action. Epilepsia, 41(s1); 3-9.*

***37.**Siessere, S., Semprini, M., Lopes, RA., Azoubel, R., Sala, MA., Mattos, MG. (2004). Phenytoin action in the lingual mucosa of rat fetuses: morphometric study. Int. J. Morphol, 22(2); 149-54.*

***38.**Singh, AM. (2008). Topiramate induced histopathological changes in placenta of rats. Experimental Biology, 46; 715-9.*

***39.**Sram, RJ., Binkova, B., Lnenickova, Z., Solansky, I., Dejmek, J. (2005). The impact of plasma folate levels of mothers and newboms on intrauterine growth retardation and birth weight. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 591(1-2); 302-10.*

***40.**Sucheston, ME., Hayes, TG., Eluma, FO. (1986). Relationship between ossification and body weight of the CD-1 mouse fetus exposed in utero to anticonvulsant drugs.Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis, 6(6); 537-46.*

***41.**Tyl, RW., Chernoff, N., Rogers, JM. (2007). Altered axial skeletal development. Developmental and Reproductive Toxicology, 80(6); 451-72.*

***42.** Ujházy, E., Mach, M., Navarová, J., Brucknerová ,I., Dubovický, M. (2012). Teratology–past, present and future. Interdisciplinary toxicology, 5(4); 163-8.*

***43.** Wallace H. (2001). Principles and Method of Toxicology. Philadelphia: taylor&francis.*

***44.** Wilmer E, Chai S, Kroumpouzos G. (2016). Drug safety: Pregnancy rating classifications and controversies. Clinics in dermatology, 34(3);401-9.*

***45.**Wilson RD, Johnson, JA, Summers A, Wyatt P, Allen V, Gagnon A. (2007). Principles of Human Teratology: Drug Chemical and Infectious Exposure. Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada, 29(11);911-7.*

The Effects of Topiramate Antiepileptic Drug on Fetus Malformations in NMRI Mouse

M. Ebrahimiverkiyani[1], ***A. Shiravi***[2], *V. Hojati* [3]

1. *M.Sc.Student of AnimalDevelopmental and Cell Biology,Department of Biology, Damghan Branch,Islamic Azad University, Damghan, Iran.*

2.*Ph.D. of Animal Developmental and Cell Biology, Associate Professor,Department of Biology,Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran.* ***Shiravi738@yahoo.com***

3.*Ph.D.ofAnimal Developmental and Cell Biology,AssistantProfessor,Department of Biology, Damghan Branch,Islamic Azad University, Damghan, Iran.*

Received:2017.14. 11 ***Accepted: 2018.11.8***

Abstract

Inroduction & Objective: ***One of the most important complications of utilization of anti epilepcy drugs in pregnancy is increase of fetal abnormality. There are not enough information about teratogenic effects of topiramateon pregnancy on the fetal organogenesis. Hence, this study was designed to determine the macroscopic abnormalities created by topiramate during organogenesis of mousefetus.***

Material and Method: ***In this study forty white small experimental mice (NMRI type) were divided in to three experimental groups (I.II , III) and one control group. Three experimental groups received respectively50, 100 and 200 ml/kg/day of topiramateand the control group received normal saline with 0.2 cc volume from the day 6 (GD_6) to day 14 (GD_{14}) of pregnancy intraperitoneally (ip). The mice on the eighteen day of pregnancy were sacrifieed and fetus were studied after determination of the mean wight and crown–rump legth,were examined macroscopically.data were analyzed by using SPSSstatistical software and ANOVA and LSDtests.***

Results: ***: In average weight in experimental group III compared with the control groups was seen a significantly reduction (P<0.05).In the experimental groupsof II and III the average crown-rump legth of fetus was significantly reduced compared with the control group(P<0.05).A significant increase Was seenin the incidence of hemorrhage and fetal resorption in the experimental group of I, II and III compared with the control(P<0.05).In three experimental groupsthe number of fetus was significantly reduced compared with the control group(P<0.05).***

Conclusion: ***The utilization of topiramatein mouse during organogenesis stages is caused weight,crown-rumpand number of fetusesreducation; too is caused fetal absorption andhemorrhage.***

Keywords: *Topiramate, Teratogenic, Fetal, Mouse.*