

مطالعه اثرات تراوتوژنی داروی ضد صرع زونیسامید بر سیستم اسکلتی نوزادان موش‌های صحرائی

حسین اریک‌آغاجی^۱، سیدسجاد حجازی^{۲*}، حسن گیلانپور^۳

۱- دانش‌آموخته دکترای تخصصی علوم تشریح، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲- استادیار گروه علوم تشریح، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

۳- استاد گروه علوم تشریح، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: sajjad.hejazi@iaut.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۵/۵/۱۳ پذیرش نهایی: ۹۵/۱۰/۱۸)

چکیده

زونیسامید یکی از مؤثرترین داروهای ضد صرع با خواص تراوتوژنی می‌باشد که به‌وفور مورد استفاده قرار می‌گیرد. هدف از این مطالعه بررسی اثرات تراوتوژنی داروی ضد صرع زونیسامید بر سیستم اسکلتی نوزادان موش‌های صحرائی در طی دوره جنینی می‌باشد. در این مطالعه ۱۲ سر موش صحرائی نر بالغ و ۳۶ سر موش صحرائی ماده بالغ جهت جفت‌گیری و باردار شدن در نظر گرفته شد. موش‌های آبستن به‌طور تصادفی به دو گروه تیمار و شاهد تقسیم شدند. موش‌های گروه تیمار، داروی زونیسامید را با دوز 200 mg/kg در روزهای نهم، دهم و یازدهم آبستنی به صورت گاواژ دریافت کردند. موش‌های گروه شاهد نیز در روزهای مشابه محلول نرمال سالین را به همان مقدار دریافت کردند. در پایان دوره آبستنی وزن و قد نوزادان متولدشده، محاسبه شدند. سپس نوزادان از نظر ناهنجاری‌های ظاهری توسط استریومیکروسکپ مورد بررسی قرار گرفتند و در نهایت برای مطالعه اختصاصی استخوان‌ها از رنگ‌آمیزی رد آلزارین استفاده شد. برای تحلیل آماری داده‌ها از روش **T-test** استفاده شد. از لحاظ میانگین طول استخوان‌های بازو، زند زیرین، زند زبرین، ران، درشت‌نی و نازک‌نی بین دو گروه تیمار و شاهد اختلاف معنی‌داری وجود داشت. در ارزیابی اختصاصی استخوان‌ها، در گروه تیمار با زونیسامید ناهنجاری‌ها از نوع ایجاد انحراف در ستون فقرات یا اسکولیوزیس (**scoliosis**)، فرم موجی دنده‌ها (**wavy rib**) و تشکیل ناقص استخوان‌های جمجمه شناسایی شد. نتایج مطالعه نشان داد که استفاده از داروی زونیسامید در دوره آبستنی موجب اختلال رشد در جنین‌های موش صحرائی می‌شود، به‌طوری‌که اثرات کاهنده‌ای در پارامترهای رشد ایجاد کرده و به‌عنوان یک فاکتور خطر برای تکامل و رشد جنینی در این حیوانات محسوب می‌شود.

کلیدواژه‌ها: تراوتوژن، زونیسامید، نوزاد موش صحرائی.

مقدمه

مصرف هر دارویی می‌تواند خطراتی برای بارداری داشته باشد و از آنجایی که همه خطرات شناخته شده نیستند، بهترین اقدام آن است که تا حد امکان از مصرف دارو در بارداری اجتناب شود. اما زنانی که سابقه‌ای از بیماری‌های روانی، مرتبط با تشنج، یا بیماری‌های همولیتیک دارند، به مصرف دارو در زمان بارداری نیاز خواهند داشت. درمان دارویی صرع در دوران حاملگی همیشه با عوارض فراوانی همراه بوده و جنین و نوزادان به‌دنیا آمده از این دوره بارداری در معرض بروز ناهنجاری‌های ثابت شده می‌باشند. در چنین مواردی انتخاب داروهایی که اثرات محافظتی در عوارض ناشی از درمان ضدصرع داشته باشند، از اهمیت و ضرورت زیادی برخوردار است (Wyllen and Yankowitz, 2001). تراژولوژی شاخه‌ای از علم جنین‌شناسی است که به مطالعه علل، مکانیسم‌ها و الگوی تکوین غیرطبیعی جنین می‌پردازد. از جمله داروهایی که از نظر تراژولوژی مورد توجه قرار گرفته‌اند، داروهای ضدصرع می‌باشند. زیرا، اغلب ترکیبات موثر این داروها احتمال بروز ناهنجاری‌های جنینی را افزایش می‌دهند (Moore et al., 1998). بر اساس تحقیقات موجود، ۷-۱۰ درصد از جنین‌هایی که مادرانشان در معرض داروهای ضدصرع قرار گرفته‌اند، دچار ناهنجاری جنینی می‌شوند (Bastaki et al., 2001). در حالی که این رقم در کل

جامعه ۴-۲ درصد است (Beghi and Annegers, 2001). به‌طور کلی، داروهای ضد صرع از نظر خطر استفاده در دوران بارداری به دو گروه تقسیم می‌شوند. گروه اول داروهای قدیمی‌تر می‌باشند که تحقیقات گسترده‌ای در این زمینه روی آنها انجام گرفته است. گروه دوم داروهای جدیدتری می‌باشند که معمولاً از نظر ناهنجاری‌زایی اطلاعات کم و ناقصی از آنها در دست می‌باشد (Mark et al., 2004). زونیسامید یکی از مؤثرترین داروهای گروه جدید ضدصرع می‌باشد که مورد استفاده فراوان قرار می‌گیرد. در رابطه با اثرات تراژونیک زونیسامید روی جنین در زمان بارداری اطلاعات زیادی در دسترس نیست. وزن مولکولی کم این دارو و عدم توانایی اتصال آن با پروتئین‌های پلاسما، احتمال عبور این دارو را از سد جفتی قوت می‌بخشد. FDA این دارو را جزء گروه C دسته‌بندی نموده است. به این معنی که شواهد زیادی دال بر اثرات تراژونیک این دارو روی انسان وجود ندارد (Tatum et al., 2000). داروی زونیسامید در رده C بارداری قرار دارد و فقط در صورتی می‌توان آن را در این دوران تجویز نمود که منافع آن بر خطرات احتمالی دارو برای جنین غلبه نماید. مصرف هر دارویی می‌تواند خطراتی برای بارداری داشته باشد و از آنجایی که همه خطرات شناخته شده نیستند، بهترین اقدام آن است که تا حد امکان از مصرف دارو در زمان بارداری اجتناب شود (Product Information, 2000). چون

دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز بود. زمان مشاهده تشکیل پلاک واژنی، روز صفر آبستنی در نظر گرفته شد (Hafez, 1970). موش‌های آبستن به‌طور تصادفی در دو گروه شاهد و تیمار با زونیسامید قرار گرفتند. موش‌های گروه تیمار داروی زونیسامید (شرکت Wochhard، کشور هند) را با دوز 200 mg/kg (Product Information, 2000) در روزهای نهم، دهم، یازدهم و دوازدهم از آبستنی (دوره ارگانوژنز) به‌صورت گاوآژ دریافت کردند (Hejazi et al., 2014). موش‌های گروه شاهد نیز در روزهای مشابه محلول نرمال سالین را به همان میزان دریافت کردند. در پایان دوره آبستنی ابتدا وزن نوزادان به‌دنيا آمده توسط ترازوی دیجیتالی مدل wtB (ساخت شرکت radwag، کشور لهستان)، با دقت 0.01 گرم محاسبه شد و قد نوزادان با استفاده از کولیس با دقت 0.1 میلی‌متر اندازه‌گیری و ثبت شد. سپس نوزادان از نظر ناهنجاری‌هایی مانند تعداد نوزادان با چرخش غیرطبیعی دست و پا، تعداد نوزادان با چرخش غیرطبیعی بدن، تعداد نوزادان با چروکیدگی پوست و خون‌ریزی موضعی و تعداد نوزادان با نارسائی دم، زیر استریومیکروسکپ مدل نیکون (ساخت کشور ژاپن) مورد بررسی قرار گرفتند و در نهایت برای مطالعه اختصاصی مورفولوژی استخوان‌ها، نوزادان پس از کشته شدن به‌روش انسانی به ظروف حاوی اتانول جهت رنگ‌آمیزی رد آلیزارین انتقال داده شدند (Afshar et al., 2009). بعد از رنگ‌آمیزی رد-آلیزارین که تمامی استخوان‌ها به رنگ قرمز قابل مشاهده شدند، طول استخوان‌ها به‌وسیله استریومیکروسکوپ و با کمک عدسی چشمی مدرج اندازه‌گیری شد. در هر نوزاد طول

تعدادی از خانم‌های باردار به علت تشنج‌های شدید ناگزیر از مصرف دارو حتی در زمان بارداری هستند، بررسی اثرات استفاده از دارو بر جنین حائز اهمیت می‌باشد. با توجه به فقدان مطالعات جامع در مورد اثرات داروها بر سیستم اسکلتی و به‌خصوص اندام‌های جنین، در این مطالعه سعی شد اثرات ناهنجاری‌زایی داروی ضدصرع زونیسامید بر سیستم اسکلتی نوزادان موش‌های صحرایی مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی آزمایشگاهی بوده و در سال ۱۳۹۳ در مرکز تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی تبریز انجام شد. در این مطالعه ۱۲ سر موش صحرایی نر بالغ با ۳۶ سر موش صحرایی ماده بالغ با میانگین وزنی 250 ± 30 گرم جهت جفت‌گیری و بارداری به‌طور تصادفی انتخاب شدند. پس از انتقال موش‌ها به محل نگهداری حیوانات در مرکز تحقیقات دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، به‌منظور پرهیز از استرس و سازگار شدن حیوانات با محیط جدید، هیچ‌گونه آزمایشی به مدت یک هفته روی موش‌ها انجام نشد. حیوانات در محیطی با دمای 22 ± 2 درجه سلسیوس، رطوبت ۳۸ درصد، شدت نور ۳۰۰ لوکس در مرکز اتاق و دوره‌های متوالی ۱۲ ساعته روشنایی و تاریکی نگهداری شدند. آب و غذای مناسب (کنسانتره) به‌اندازه کافی در دسترس حیوانات قرار گرفت. در این مطالعه کلیه ملاحظات اخلاقی و پروتکل‌های کار روی حیوانات آزمایشگاهی، مورد تایید کمیته نظارت بر حقوق حیوانات آزمایشگاهی مرکز تحقیقات دانشکده

استخوان‌های بازو، زند زیرین، زند زیرین، ران، درشت‌نی و نازکنی اندازه‌گیری شد.

تحلیل آماری داده‌ها: داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد میانگین (mean \pm SEM) ارائه و توسط نرم‌افزار SPSS13 تحلیل شدند. روش آماری T-test برای بررسی مقایسه وجود اختلاف بین گروه‌ها استفاده شد. مقدار $p < 0/05$ برای تعیین سطح معنی‌دار بودن اختلافات بین گروه‌ها در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

میانگین قد نوزادان در گروه شاهد $4/73 \pm 0/13$ گرم و در گروه تیمار با زونیسامید $3/66 \pm 0/06$ گرم محاسبه شد که از این لحاظ بین دو گروه اختلاف معنی‌دار ($p < 0/0001$) وجود داشت (جدول ۱).

میانگین وزن نوزادان در گروه شاهد $6/82 \pm 0/13$ سانتی‌متر و در گروه تیمار با زونیسامید $5/75 \pm 0/16$ سانتی‌متر محاسبه شد که از این لحاظ نیز بین دو گروه اختلاف معنی‌دار ($p < 0/0001$) وجود داشت (جدول ۱). از شمارش پارامترهای وقوع ناهنجاری ظاهری همچون تعداد نوزادان با چرخش غیرطبیعی دست و پا، تعداد نوزادان با چرخش غیرطبیعی بدن، تعداد نوزادان با چروکیدگی پوست و خون‌ریزی موضعی و تعداد نوزادان با نارسائی دم، ۱۳ مورد نوزاد ناهنجار ($30/23$ درصد) در گروه تیمار ثبت شد. بین دو گروه از این لحاظ اختلاف معنی‌داری ($p < 0/0001$) وجود داشت (جدول ۱).

جدول ۱- میانگین رشد (انحراف \pm خطای استاندارد میانگین) و تعداد ناهنجاری ماکروسکوپی نوزادان در گروه‌های شاهد و تیمار با زونیسامید

پارامترها	گروه‌ها	شاهد (نرمالین سالین)	تیمار (زونیسامید ۳۰۰ mg/kg)
تعداد موش‌های مادر		۱۸	۱۸
تعداد نوزادان بدنیا آمده		۶۲	۵۳
تعداد نوزادان زنده (درصد)		۶۲ (۱۰۰٪)	۴۳ (۸۱/۱۳٪)
تعداد نوزادان مرده (درصد)		۰ (۰٪)	۱۰ (۱۸/۸۶٪)
میانگین وزن نوزادان \pm انحراف استاندارد (سانتی‌متر)		$6/82 \pm 0/13$	$5/75 \pm 0/16$
میانگین قد نوزادان \pm انحراف استاندارد (گرم)		$4/73 \pm 0/13$	$3/66 \pm 0/06$
تعداد نوزادان با چرخش غیرطبیعی دست و پا (درصد)		۰ (۰٪)	۵ (۱۱/۶۲٪)
تعداد نوزادان با چرخشی غیرطبیعی بدن (درصد)		۰ (۰٪)	۳ (۶/۹۷٪)
تعداد نوزادان با چروکیدگی پوست و خون‌ریزی موضعی (درصد)		۰ (۰٪)	۲ (۴/۶۵٪)
تعداد نوزادان با نارسائی دم (درصد)		۰ (۰٪)	۳ (۶/۹۷٪)

میانگین طول استخوان ران (Femur): میانگین طول این استخوان در گروه تیمار با زونیسامید $5/846 \pm 0/04$ و در گروه شاهد $6/470 \pm 0/15$ سانتی متر بود که از این لحاظ بین دو گروه تیمار و شاهد اختلاف معنی‌داری ($p < 0/0001$) وجود داشت (جدول ۲).

میانگین طول استخوان درشت‌نی (Tibia): میانگین طول این استخوان در گروه تیمار با زونیسامید $5/846 \pm 0/04$ و در گروه شاهد $6/470 \pm 0/15$ سانتی متر بود که از این لحاظ بین دو گروه تیمار و شاهد اختلاف معنی‌داری ($p < 0/0001$) وجود داشت (جدول ۲).

میانگین طول استخوان نازک‌نی (Fibula): میانگین طول این استخوان در گروه تیمار با زونیسامید $5/570 \pm 0/04$ و در گروه شاهد $7/11 \pm 0/07$ سانتی متر بود که از این لحاظ بین دو گروه تیمار و شاهد اختلاف معنی‌داری ($p < 0/0001$) وجود داشت (جدول ۲).

میانگین طول استخوان بازو (Humerus): میانگین طول این استخوان در گروه تیمار با زونیسامید $6/156 \pm 0/03$ و در گروه شاهد $5/752 \pm 0/02$ سانتی متر بود که از این لحاظ بین گروه تیمار و شاهد اختلاف معنی‌دار ($p < 0/0001$) وجود داشت (جدول ۲).

میانگین طول استخوان زند زیرین (Radius): میانگین طول این استخوان در گروه تیمار با زونیسامید $4/980 \pm 0/07$ و در گروه شاهد $6/156 \pm 0/03$ سانتی متر بود که از این لحاظ بین دو گروه تیمار و شاهد اختلاف معنی‌دار ($p < 0/0001$) وجود داشت (جدول ۲).

میانگین طول استخوان زند زیرین (Ulna): میانگین طول این استخوان در گروه تیمار با زونیسامید $5/566 \pm 0/04$ و در گروه شاهد $7/140 \pm 0/09$ سانتی متر بود که از این لحاظ بین دو گروه تیمار و شاهد اختلاف معنی‌داری ($p < 0/0001$) وجود داشت (جدول ۲).

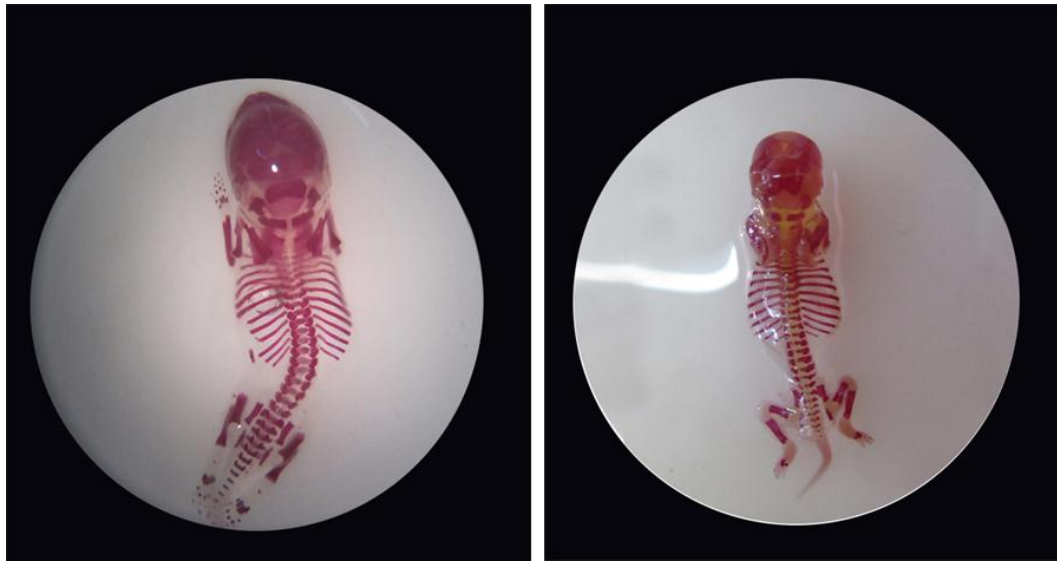
جدول ۲- مقایسه مقادیر میانگین \pm خطای استاندارد پارامترهای طول استخوان‌های اندام‌های بدن نوزادان (سانتی‌متر) بین گروه‌های مورد مطالعه

پارامترها	گروه	شاهد (نرمال سالیین)	تیمار (زونیسامید) ۲۰۰ mg/kg
استخوان بازو		$7/116 \pm 0/0743^a$	$1/14 \pm 5/3^b$
استخوان نازک‌نی		$7/116 \pm 0/0743^a$	$5/846 \pm 0/415^b$
استخوان درشت‌نی		$6/47 \pm 0/1565^a$	$5/846 \pm 0/415^b$
استخوان ران		$5/546 \pm 0/456^a$	$4/974 \pm 0/127^b$
استخوان زندزیرین		$7/140 \pm 0/0919^a$	$5/566 \pm 0/439^b$
استخوان زندزیرین		$6/156 \pm 0/378^a$	$4/980 \pm 0/0758^b$

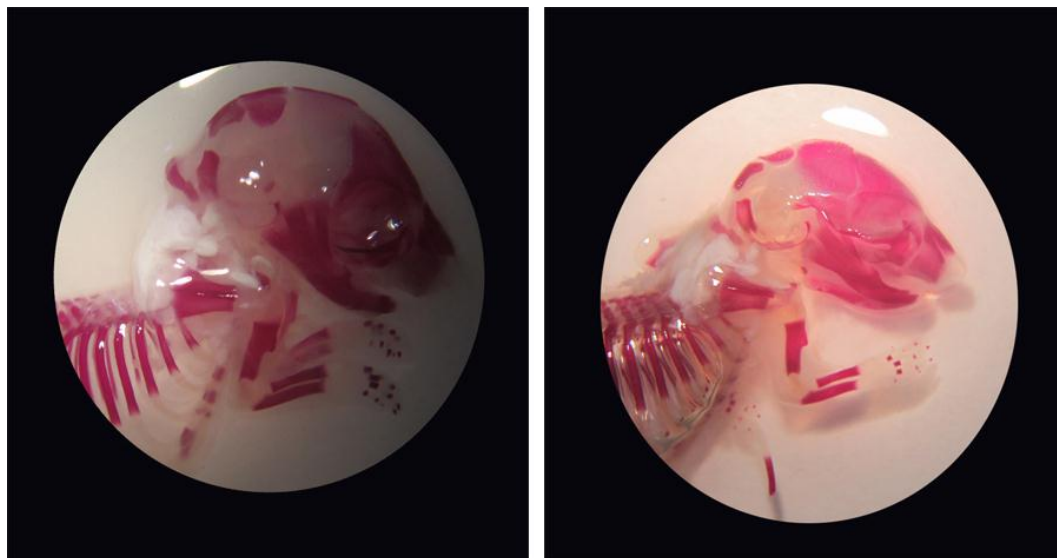
ab: حروف متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها می‌باشد ($p < 0/0001$)

دنده‌ها (wavy rib) و تشکیل ناقص استخوان‌های جمجمه شناسایی شد (شکل‌های ۱ تا ۳).

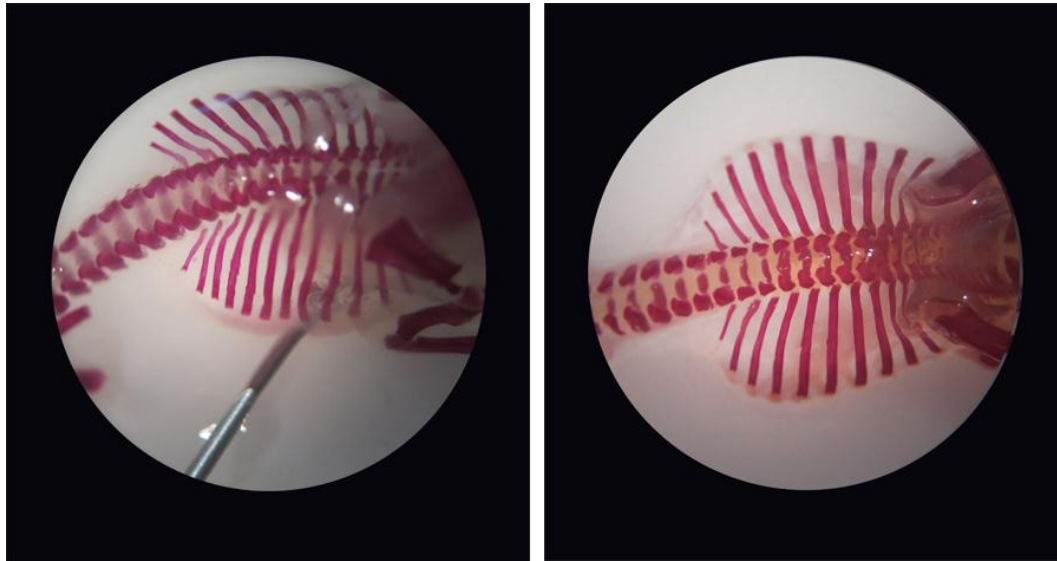
مورفولوژی استخوان‌های نوزادان: در گروه تیمار با زونیسامید، ناهنجاری‌ها از نوع وجود انحراف در ستون فقرات یا اسکولیوزیس (scoliosis)، فرم موجی شدن



شکل ۱- سمت راست: نمای پشتی از محور ستون فقرات نوزاد موش صحرائی گروه شاهد. سمت چپ: نمای پشت از محور ستون فقرات نوزاد موش صحرائی گروه تیمار با زونیسامید با تظاهر ناهنجاری انحراف ستون مهره‌ها (scoliosis) (رنگ‌آمیزی رد-آلیزارین با درشت‌نمایی $\times 15$).



شکل ۲- سمت راست: نمای جانبی از استخوان‌های جمجمه نوزاد موش صحرائی گروه شاهد. سمت چپ: نمای از استخوان‌های جمجمه نوزاد موش صحرائی گروه تیمار با زونیسامید با تظاهر عدم تشکیل استخوان آهیانه (parietal bone defect) (رنگ‌آمیزی رد-آلیزارین با درشت‌نمایی $\times 25$).



شکل ۳- سمت راست: نمای پشتی از دنده‌ها و ستون فقرات نوزاد موش صحرایی گروه شاهد. سمت چپ: نمای پشت از دنده‌ها و ستون فقرات نوزاد موش صحرایی گروه تیمار با زونیسامید با تظاهر ناهنجاری فرم موجی دنده (wavy rib) و انحراف ستون مهره‌ها (رنگ آمیزی رد- آلیزارین با درشت‌نمایی $\times 25$).

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه مصرف زونیسامید در دوران آبستنی باعث کاهش کل تعداد نوزادان متولدشده، کاهش تعداد نوزادان زنده، کاهش میانگین وزن نوزادان و کاهش میانگین قد نوزادان شد که بیانگر این مطلب است که داروی زونیسامید می‌تواند با عبور از سد خونی جفت بر کمیت و کیفیت باروری و زایش تاثیرگذار باشد. کاهش قد و وزن نوزادان می‌تواند به علل مختلفی باشد که برخی از محققین دلیل آن را کاهش محتوای پروتئینی کل جنین تحت اثر دارو می‌دانند. همچنین تغییرات دژنراتیو در جفت و نیز پاره شدن عروق در آنومالی‌های مادری و در واقع تأثیر دارو بر تغذیه جنین را در این مورد موثر دانسته‌اند (Nau, 1981). در مطالعه

پراکاش و همکارانش در سال ۲۰۰۸ استفاده از داروی گاباپنتین، اختلالات معنی‌داری را در جهت کاهش وزن و قد جنین‌های موش سوری به‌همراه داشت (Prakash *et al.*, 2008). در مطالعه مونتوریس در سال ۲۰۰۳، روی ۳۹ زن باردار مبتلا به صرع، مصرف گاباپنتین با کاهش وزن جنین همراه بود (Montouris, 2003). در مطالعه حاضر از نتایج مورفومتری قد و وزن نوزادان تحت تأثیر با داروی ضد تشنج زونیسامید چنین برمی‌آید که اثر این دارو در دوره ارگانوژنز (به‌وجود آمدن جوانه اندام‌ها) می‌تواند بر مدل غضروفی و یا مزانشیم اولیه استخوان‌ها اثر گذارد و باعث کاهش قد و وزن جنین‌ها و نوزادان شود. از دیگر نتایج به‌دست آمده در این مطالعه وقوع ناهنجاری ظاهری در نوزادان موش

ضدصرع ویگابترین با دوز ۴۵۰ mg/kg در روزهای ۱۵، ۱۶ و ۱۷ بررسی شد و مشخص گردید که این دارو باعث مرگ جنین، سقط، کاهش رشد، هیپوپلازی ستون فقرات، متاکارپ، متاتارس و بند انگشتان می‌شود. در مطالعه ایشان، سقط جنین‌ها با دفع جنین خون‌آلود وغشاء آن همراه بود (Padmanabhan et al., 2010).

در بررسی حاضر، مصرف داروی زونیسامید باعث کاهش معنی‌داری در میانگین طول استخوان‌های اندام‌های حرکتی گروه تیمار نسبت به گروه شاهد شد. چنین می‌توان اظهار داشت که زونیسامید بر مدل غضروفی و یا مزانشیم اولیه جوانه اندام‌های حرکتی اثر گذاشته است. به‌طورکلی با توجه به کاهش در میانگین قد و وزن نوزادان گروه تیمار می‌توان نتیجه‌گیری کرد که کاهش طول استخوان‌های اندام‌ها نیز در رابطه با کاهش قد و وزن بوده و در واقع حجم غضروف و استخوان در استخوان‌های اندام‌های گروه تیمار کمتر از گروه شاهد است. در واقع وضعیت اسکلتی اندام‌ها طوری است که نشان می‌دهد رشد اندام‌ها به دلیل استفاده از داروی زونیسامید به تعویق افتاده است. این یافته نشان می‌دهد که به‌طور کلی استفاده از داروی زونیسامید در مرحله ارگانوژنز موجب اختلال در رشد جنین موش می‌گردد. در مورفولوژی سیستم اسکلتی نوزادان موش‌های صحرایی با روش رنگ‌آمیزی رد-آلیزاین، ناهنجاری‌های اسکلتی همچون دنده‌های موجی شکل، انحراف ستون فقرات و عدم تشکیل کامل

صحرایی بود. ناهنجاری‌ها شامل چرخش غیرطبیعی دست و پا، چرخش غیرطبیعی بدن، چروکیدگی پوست و نارسائی دم بود. در مطالعه ترابی و همکاران در سال ۱۳۹۱ با بررسی اثر تراژوژنیک داروی ضدصرع فنی‌توئین در جنین‌های موش سوری، فراوانی وقوع ناهنجاری ۵۶ درصد گزارش شده بود که در مقایسه با مطالعه حاضر (اثر تراژوژنیک زونیسامید) از میزان وقوع بالایی برخوردار است (Torabi et al., 2012). در مطالعه افشار و همکاران در سال ۱۳۸۸ با بررسی اثر تراژوژنی داروی ضدصرع گاباپنتین در جنین‌های موش Bulb/C میزان وقوع ناهنجاری ۴۴ درصد گزارش شد که در مقایسه با مطالعه حاضر از میزان وقوع بالایی برخوردار است (Afshar et al., 2009). محققین دلیل اصلی بروز ناهنجاری مادرزادی به‌دنبال مصرف داروهای ضدصرع را در تولید رادیکال‌های آزاد توسط این داروها بیان داشته‌اند. به‌علاوه، وجود اختلال ژنتیکی در هیدرولیز این متابولیت‌ها، ناهنجاری‌زایی این مواد را افزایش می‌دهد (Mark et al., 2004). در مطالعه‌ای که توسط عبدالرزاق و همکاران در سال ۲۰۰۵ صورت گرفته بود مشخص گردید که مصرف داروهای ضد صرع در دوره آبستنی موش‌های سوری اثرات کاهش رشد جنینی داخل رحمی داشته و این تظاهرات با قطع تغذیه رسانی آمینواسیدها به جنین همراه می‌باشد (Abdulrazzaq et al., 2005). در مطالعه پادمانابهام و همکاران در سال ۲۰۱۰ اثرات تراژوژنی داروی

دارد و کمبود آن منجر به کاهش رسوب املاح کلسیم در حین استخوان‌سازی خواهد شد (Farhad *et al.*, 2002; Voudris *et al.*, 2002).

در مجموع، نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که مصرف داروی زونیسامید در دوران بارداری و هم‌زمان با ارگانوژنز دارای پتانسیل ناهنجاری‌زایی بر سیستم اسکلتی جنین موش‌های صحرایی بوده و می‌تواند باعث اختلال در رشد آنها شود. بنابراین، استفاده از داروی زونیسامید در دوره آبستنی به عنوان یک فاکتور خطر برای تکامل و رشد جنین محسوب شده و مصرف آن در این دوران توصیه نمی‌شود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از زحمات کارشناسان محترم بخش علوم تشریحی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، جناب آقایان ابراهیم حسن‌زاده و علی رسولی که در نگه‌داری حیوانات و آماده‌سازی نمونه‌ها ما را یاری رساندند، تشکر می‌نمائیم. در ضمن نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی ندارند.

مجموعه در گروه‌های تیمار با زونیسامید دیده شد. در مطالعه‌ای که توسط باران و همکاران در سال ۲۰۰۶ روی اثرات والپروات سدیم بر سیستم اسکلتی جنین موش صحرایی انجام داده بود، نیز اشاره به نتایج مشابهی همچون وضعیت اسکولیوزیس و فرم موجی شدن دنده‌ها شده است (Baran *et al.*, 2006). مطالعه‌ای که توسط رحمانی و همکاران در سال ۲۰۰۶ انجام شده است، به دنبال مصرف داروی ضد صرع لاموتریژین در دوره آبستنی، ناهنجاری‌هایی در ستون فقرات (اسکلیوز و کیفوز)، ناهنجاری اندام‌ها (آملیا و میکروملیا) و ناهنجاری جمجمه (آنانسفال و آگزنسفال) گزارش شده بود که در مقایسه با اثرات داروی زونیسامید مطالعه حاضر، اثرات تراتوژنی قوی‌تری محسوب می‌شود (Rahmani *et al.*, 2006). تحقیقات نشان می‌دهد اختلالات اسکلتی را در جنین‌هایی که مادرانشان طی دوران بارداری داروهای ضد صرع دریافت کرده‌اند، می‌توان به نقش این داروها در متابولیسم کلسیم، ویتامین D و فسفاتاز قلیائی نسبت داد. ویتامین D در جذب کلسیم و دفع فسفات نقش

منابع

- Abdulrazzaq, Y.M., Padmanabhan, R., Bastaki, S.M., Ibrahim, A., Nurulain, M. and Shafiullah, M. (2005). Effect of maternal administration of vigabatrin during late gestation on fetoplacental amino acid profile in the mouse. *Reproductive Toxicology*, 20(4): 549-60.

- Afshar, M., Hasanzadeh, M., Mo'alleem, A., Tamizi, A. and Gotalipour 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 Science*, 16(68): 7-18. [In Persian]
- Baran, O., Nergiz, Y. and Tuncer, M. (2006). The effect of valproic acid, vitamin E and folic acid on ribs of rat fetuses in the prenatal period. *Annals Anatomy*, 188: 117-125.
- Bastaki, S.A.M., Padmanabhan, R., Abdulrazzaq, Y.M., Chandranth, S.I. and Shafiulla, M. (2001). Studies on the teratogenic effect of lamotrigine in mouse fetuses. *Frontier in Fetal Health*, 3(11-12): 295.
- Beghi, E. and Annegers, J.F. (2001). Pregnancy registries in epilepsy. *Epilepsia*, 42(11): 1422-1425.
- Farhat, G., Yamot, B., Mikati, M., Demirjian S., Sawaya, R. and Fuleihan, G. (2002). Effect of antiepileptic drugs on bone density in ambulatory patients. *Neurology*, 58: 1348-53.
- Hafez, E. (1970). Reproduction and breeding techniques for laboratory animals. Philadelphia: Saunders, pp: 235.
- Hejazi, S., Andalib, S. and Noorazar, A. (2014). Protective effect of melatonin in lamotrigine-treatment on newborn mice cerebellum. *Comparative Pathology*, 11(2): 1275-1282 [In Persian].
- Mark, S., Yerby, M.S., Kaplan P. and Tran T. (2004). Risks and management of pregnancy in women with epilepsy. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, 71(2): 25-37.
- Moore, K.L., Persaud, T.V.N. and Torchia, M.G. (1998). *The Developing Human: Clinically Oriented Embryology*. 10th ed., Philadelphia: Saunders, pp: 109-110.
- Montouris, G. (2003). Gabapentin exposure in human pregnancy: results from the Gabapentin Pregnancy Registry. *Epilepsy and Behavior*, 4(3): 310-317.
- Nau, H. (1981). Pharmacokinetics of valporic acid and its metabolites in pregnant patient. In: Janz, D. editor. *Epilepsy, Pregnancy and the Child: USA: New York, Raven Press*, pp: 131-144.
- Prakash, P.L.V., Rai M.M., Yadav, S.K. and Madhgasth, S. (2008). Teratogenic effect to the anticonvulsant gabapentin in mice. *Singapore Medical Journal*, 49(1): 47-53.
- Padmanabhan, R., Abdulrazzaq, Y.M., Bastaki, S.M., Nurulain, M. and Shafiullah, M. (2010). Vigabatrin administered during late gestation lowers maternal folate concentration and causes pregnancy loss, fetal growth restriction and skeletal hypoplasia in the mouse. *Reproductive Toxicology*, 29(3): 366-377.
- Product Information. (2000). Zonegran™, zonisamide. Elan Pharmaceuticals, South San Francisco, California. <http://www.aedpregnancyregistry.org/>.
- Rahmani, F., Delaram, M. and Forouzandeh, N. (2006). The teratogenic effects of Lamotrigine on mouse fetus. *Journal of Reproduction and Infertility*, 7(1): 45-52.
- Tatum, W.O., Galvez, R., Enbadis, S.B. and Carrazana, E. (2000). New Antiepileptic Drug. *Archives of Family Medicine*, 9: 1135-1141.
- Torabi, B.M., Shiravi, A. and Vaezi, G. (2012). Teratogenic effects of phenytoin on the development of skeleton and neural tube of mouse fetuses. *Research in Medicine*, 36(3): 119-123. [In Persian]
- Voudris, K., Monstaki, M., Zeis PM. and Dimon, S. (2002). Alkaline phosphatase and its isoenzyme activity for the evaluation of bone metabolism in children receiving anticonvulsant monotherapy. *Seizure*, 11(6): 377-380.
- Wylen, M. and Yankowitz, J. (2001). Anticonvulsants in pregnancy. In: *Drug Therapy in Pregnancy*. Yankowitz, J. and Niebyl, J.R. editors. Philadelphia: Pa Lippincott, pp: 221-230.

Study of teratologic effects of zonisamide on neonatal rat skeletal system

Erikaghaji, H.¹, Hejazi, S.^{2*}, Gilanpour, H.³

1- Graduate of Veterinary of Anatomy, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2- Department of Anatomy, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

3- Department of Anatomy, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

*Corresponding author's email: sajjad.hejazi@iaut.ac.ir

(Received: 2016/8/3 Accepted: 2017/1/7)

Abstract

Zonisamide is one of the most effective medications for epilepsy, which has teratogenic properties; and is widely administrated in patients. The present study aimed to evaluate the teratogenic effects of zonisamide on newborn rats' skeletal system during fetal period. Therefore, 12 mature male rats were mated with 36 female rats and the female rats became pregnant. The pregnant rats were randomly divided into two equal groups of treatment and control.. The treatment group received 200 mg/kg zonisamide on days 9, 10, and 11 of pregnancy via gavage. The control group also received the same amount of normal saline solution on the same days of pregnancy via gavage. Length and weight of the newborn rats were measured using caliper and digital weigh. Then, the newborns were evaluated in terms of apparent anomalies under the stereomicroscope. Eventually, Alizarin Red staining was conducted in order to study bones. Data were analyzed using T-test. The mean length of arm, ulna, radius, thigh, tibia, and fibula was significantly different between the two groups. Alizarin Red results suggested that the treatment group had anomalies such as scoliosis, wavy rib, imperfectly formed bones of the skull. The results of the study indicated that administration of zonisamide during pregnancy causes fetal growth disorders and retards fetal growth therefore it is considered as a risk factor for fetal development in this species.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Rat neonate, Teratogen, Zonisamide.