

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 مقادیر ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز و گروه شاهد سرم فیزیولوژی با حجم ۰/۲ میلی‌لیتر از روز ششم (GD₆) تا روز چهاردهم (GD₁₄) بارداری به صورت درون صفاقی دریافت نمودند. موش‌ها 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. یافته‌ها: 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 گروه تجربی 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.

واژه‌های کلیدی: توپیرامات، ناهنجاری‌زایی، جنین، موش.

مقدمه

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 آن‌ها موردشک و تردید است زیرا هم صرع و هم داروهای ضدصرع ناهمگون بوده و اثرات آن‌ها از هم تفکیک‌ناپذیر است، هم چنین در مقایسه، تعداد بیماران

تراتولوژی شاخه‌ای از علم پزشکی و زیست‌شناسی تکوینی می‌باشد که به مطالعه ناهنجاری‌های مادرزادی یا نقایص هنگام تولد می‌پردازد (۴۵، ۲۰، ۹). ناهنجاری‌های مادرزادی هم به واسطه دلایل وراثتی و هم به واسطه دلایل محیطی رخ می‌دهند (۴۲)، که یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی استفاده از بعضی از ترکیبات دارویی است که مصرف آن‌ها در دوران بارداری می‌تواند اثر بدی بر روی جنین داشته باشد (۳۴). ایجاد ناهنجاری داروهای

صرعی که دارو نمی‌گیرند، خیلی کم می‌باشد (۱۶).
 صرع به صورت یک بیماری مزمن با مجموعه‌ای از علائم ناهمگون است که مشخصه آن حملات تشنجی عودکننده می‌باشد (۳۳، ۱۶، ۱۲). توپیرامات (۳، ۲، ۴، ۵) بیس-O- (۱-متیل اتیلیدن)-D-β- فروکتو پیرانوز سولفامات؛ ($C_{12}H_{21}NO_8S$) (۳۱) از نسل دوم داروهای ضدصرع می‌باشد (۱۱). توپیرامات مشتق از منوساکارید-D- فروکتوز است که از نظر ساختمان با همه داروهای ضد تشنج دیگر متفاوت می‌باشد (۳۶، ۱۶، ۱۵). از این دارو برای درمان بیمارانی که صرع دارند صرف نظر 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 تراوتونیک 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) (گاوژ)) 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 تراوتونیک در زمان و میزان

مصرف در دوران بارداری و بر روی ارگانوژنز موش بررسی گردد. از این رو این مطالعه به لحاظ زمان تجویز و شکل تجویز (درون صفاقی) در یک تحقیق بنیادی جدید و غیر تکراری است و به منظور تعیین اثرات تراوتونیک توپیرامات در موش‌های باردار در زمان ارگانوژنز بر روی جنین‌های موش سوری نژاد *NMRI* طراحی گردید.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، از ۴۰ 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 سانتی 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 آن‌ها 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: با توجه به این که توپیرامات برای استفاده خوراکی به صورت قرص‌هایی حاوی ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم از ماده فعال به بازار عرضه شده است (۳۱)، ۱۰ گروه‌های تجربی I، II و III به ترتیب داروی توپیرامات را با دوزهای ۲۰۰، 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

های آزمایشی نشان داد که گروه‌های تجربی I، II و III نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری نشان می‌دهند ($P < 0/05$) (جدول ۱ و شکل ۱).

وزن جنین: آزمون‌های آماری به کار رفته در مورد بررسی تفاوت بین میانگین‌های وزن جنین‌ها در گروه‌های 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 (جدول ۱).

هموراژی جنین: آزمون‌های آماری به کار رفته در مورد بررسی تفاوت بین میانگین‌های هموراژی جنین‌ها در 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 ستون فقرات، دم، گردن، سر، دست‌ها و پاها مشاهده شد (جدول ۱ و شکل ۲).

طول سر-دمی جنین: آزمون‌های آماری به کار رفته در مورد بررسی تفاوت بین میانگین‌های طول سر-دمی جنین‌ها در گروه‌های آزمایشی نشان داد که گروه‌های تجربی II و III نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری 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 رشد و نمو 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

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 تریق دارو در این روزها صورت گرفت (۲۷، ۴۳، ۱۷). موش‌ها در روز ۱۸ بارداری با کلروفورم بیهوش و جراحی شدند جنین‌ها پس از باز کردن کیسه آمیون، 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 سر-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 (GDI8) در جدول ۱ نشان داده شده است:

تعداد جنین: آزمون‌های آماری به کار رفته در مورد بررسی تفاوت بین میانگین‌های تعداد جنین‌ها در گروه‌های آزمایشی نشان داد که گروه‌های تجربی I، II و III نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری نشان می‌دهند ($P < 0/05$) (جدول ۱).

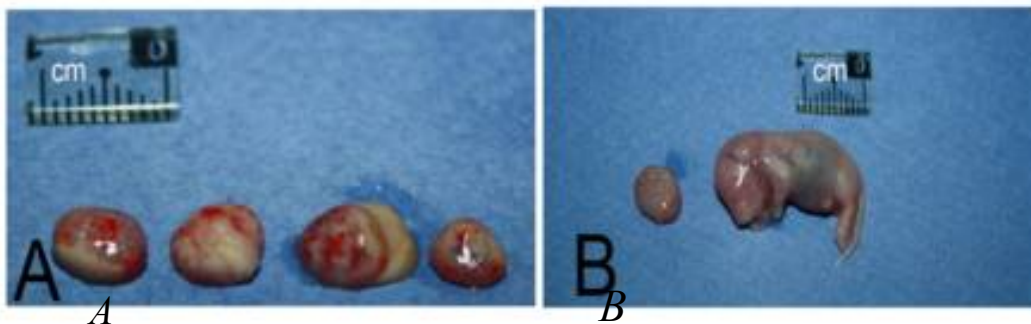
جذب جنین: آزمون‌های آماری به کار رفته در مورد بررسی تفاوت بین میانگین‌های جذب جنین‌ها در گروه-

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)	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)	۱۷*** (۱۸/۴۷)	۲۰*** (۲۲/۲۲)	۲۷*** (۳۳/۳۳)

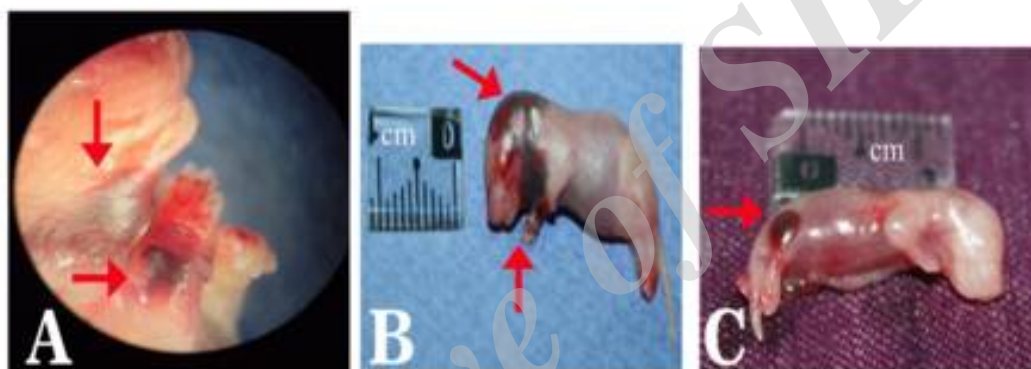
$P < 0.05$ در مقایسه با گروه شاهد؛ $P < 0.01$ در مقایسه با گروه شاهد؛ $P < 0.001$ در مقایسه با گروه شاهد.

گذاشته و با مهار گلوکونئوزن 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). هم‌چنین 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 می‌گردد (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 می‌دانند (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).

موارد منافع دارو ممکن است استفاده از آن را اجتناب‌ناپذیر نماید و در مقابل منافع دارو، خطرات احتمالی این دارو را باید پذیرفت (۴۴، ۴۵). اخیراً از این دارو به عنوان یک عامل بی‌اشتهایی برای کاهش وزن در افراد چاق استفاده می‌شود (۳۸، ۱۸، ۱۳، ۱۱). توپیرامات قادر به مهار آنزیم او۶ بیس فسفاتاز و در نتیجه مهار کننده‌ی گلوکونئوزن است (۳۶). گلوکونئوزن یا نوگلوکزایی مسیری متابولیکی است که کربوهیدرات‌ها را از پیش‌سازهای ساده مانند (پیرووات، 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، گلبول‌های 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 گلوکونئوزن بر سطح گلوکز خون که تنها منبع اصلی سوخت برای بافت‌های جنین هست اثر



تصویر ۱. 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).



تصویر ۲. 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 ۳. مقایسه طول سری-دمی بین جنین گروه شاهد

(A) و جنین گروه تجربی III(B).



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 گاوژ 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 می‌تواند آثار تراژونیک 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 متابولیسم شدن دارو می‌تواند منجر به بروز آثار تراژونیک متفاوتی گردد (۲۷)، مطالعات قبلی در زمینه داروهای دیگر ضدصرع که میزان اثرات داروهای دیگر را در دو شکل تجویز خوراکی (گاوژ) و تزریق درون صفاقی بررسی نموده‌اند، نتیجه گرفته‌اند که میزان ناهنجاری‌ها در شکل تجویز خوراکی نسبت به تزریق درون صفاقی کاهش معنی‌داری داشته (۲۷، ۱) تعداد جنین‌های جذبی در مطالعه‌ی Rafighdoost و همکاران که به صورت گاوژ 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

هم‌چنین 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 ($P < 0/05$) و هم‌چنین 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 رشد و نمو می‌باشد. بنابراین از آن جایی که توپیرامات از جفت عبور می‌کند، منجر به ضخیم شدن سدجفتی و اختلال در رگ‌های خونی می‌شود (۳۸)؛ در نتیجه 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 زمانی که 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 نمویشان به شکست انجامیده

ریزی 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 مکانیسم‌های مولکولی، توپیرامات، هیستون د استیلاز (HDACs) را در سلول‌های انسانی مهار می‌کند. 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 این رو پیشنهاد می‌گردد که مصرف این دارو در دوران بارداری در انسان و به خصوص سه ماهه 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 می‌باشد و نیازمند بررسی‌های بیشتر اثر این دارو و یافتن مکانیزم‌های اثر آن است.

تشکر و قدردانی

از گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان به دلیل تأمین فضا و دستگاه و لوازم آزمایشگاهی مورد نیاز در انجام این طرح صمیمانه تشکر می‌گردد.

آمارای 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 می‌کند؛ مورد قبول بسیاری از محققین می‌باشد (۳۹)، (۵) از طرفی مطالعاتی وجود دارد که نشان می‌دهد؛ سطح سرمی اسیدفولیک در مادران باردار دچار صرع نسبت به افراد سالم پایین‌تر از حد معمول است (۷، ۴). این تعداد جنین جذبی در مطالعه‌ی Rafighdoost و همکاران در دوزهای همراه با اسید فولیک به خصوص دوز 200ml/kg/day توپیرامات که یعنی تقریباً نیمی از جنین‌ها جذبی هستند جای تأمل دارد. با توجه به بررسی مقالات دیگر که اثر داروهای ضد صرع 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 ماست سل‌ها 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 اندوتلیال 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 اندوتلیال از هم فاصله گرفته و بین آن‌ها منافذی ایجاد می‌شود که می‌تواند منجر به نشت پلاسما 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 خون-

منابع

I. Afshar, M., Hasanzadeh, MM., Mo'alle, A., Tamizi, A., 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 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., Mastroianni, 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 antiepileptic 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
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 drugs* 16(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 craniofacial deformities 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. Embryology 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). implicated as teratogen. *Fundamappl Toxicol*, 6(4); 662-68.
- 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 newborns 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, Kroumpouzou 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. Ebrahimiverkiyani¹, **A. Shiravi**², V. Hojati³

1. M.Sc. Student of Animal Developmental 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. of Animal Developmental and Cell Biology, Assistant Professor, Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran.

Received: 2017.14. 11

Accepted: 2018.11.8

Abstract

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

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 respectively 50, 100 and 200 ml/kg/day of topiramate and the control group received normal saline with 0.2 cc volume from the day 6 (GD₆) to day 14 (GD₁₄) of pregnancy intraperitoneally (ip). The mice on the eighteen day of pregnancy were sacrificed and fetus were studied after determination of the mean weight and crown-rump length, were examined macroscopically. data were analyzed by using SPSS statistical software and ANOVA and LSD tests.

Results: In average weight in experimental group III compared with the control groups was seen a significantly reduction ($P < 0.05$). In the experimental groups of II and III the average crown-rump length of fetus was significantly reduced compared with the control group ($P < 0.05$). A significant increase was seen in 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 groups the number of fetus was significantly reduced compared with the control group ($P < 0.05$).

Conclusion: The utilization of topiramate in mouse during organogenesis stages is caused weight, crown-rump and number of fetuses reduction; too is caused fetal absorption and hemorrhage.

Keywords: Topiramate, Teratogenic, Fetal, Mouse.