

اثر کاربامازپین بر سطح سرمی هموسیستئین موش‌های باردار و ناهنجاری جنینی

دکتر محمد افشار^۱، دکتر سید عادل معلم*^۲، دکتر جینا خیاط زاده^۳، نجس طاهریان^۴، سید محمود حسینی^۵

۱- استاد گروه علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، مرکز تحقیقات سم شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد. ۲- استاد گروه فارماکودینامی و سم‌شناسی دانشکده داروسازی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، مرکز تحقیقات سم‌شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد. ۳- استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد. ۴- کارشناس ارشد بیولوژی سلولی تکوینی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد. ۵- مربی گروه آمار زیستی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند.

چکیده

زمینه و هدف: مصرف کاربامازپین در طی بارداری می‌تواند باعث القاء تعدادی از ناهنجاری‌های جنینی گردد. از طرفی مطالعات اخیر حاکی از افزایش سطح هموسیستئین خون در اثر مصرف کاربامازپین است. این مطالعه به منظور ارزیابی سطح سرمی هموسیستئین موش‌های کوچک باردار در معرض داروی کاربامازپین و ارتباط احتمالی آن در ایجاد ناهنجاری‌های جنینی انجام شد.

روش بررسی: این مطالعه تجربی روی ۴۰ سر موش ماده نژاد BALB/c با وزن ۳۰-۲۵ گرم و سن تقریبی دو ماه انجام شد. موش‌های باردار به دو گروه کنترل و دو گروه تجربی (۱۰ سر موش در هر گروه) تقسیم شدند. گروه‌های کنترل معمول و حامل (منفی)، نرمال سالین و محلول یک درصد توین ۲۰ در نرمال سالین و گروه‌های تجربی I و II داروی کاربامازپین را به میزان ۳۰ و ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن را به صورت تزریق داخل صفاقی از روز ششم تا روز پانزدهم بارداری روزانه دریافت کردند. موش‌ها در روز ۱۸ بارداری ابتدا با کلروفورم بیهوش و پس از خونگیری از قلب مادرها، جنین‌ها برای تعیین ناهنجاری خارج و بررسی شدند. هموسیستئین نمونه‌های سرم خون مادران توسط کیت به روش الیزا بررسی شدند. داده‌های با استفاده از نرم‌افزار SPSS-18 و آزمون‌های ANOVA، Chi-Square و Tukey تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: سطح سرمی هموسیستئین موش‌های باردار گروه‌های تجربی I ($10/56 \pm 1/31$ میکرومول بر لیتر) و تجربی II ($11/11 \pm 1/64$ میکرومول بر لیتر) در مقایسه با گروه کنترل معمولی ($5/99 \pm 1/33$ میکرومول بر لیتر) و کنترل منفی ($5/89 \pm 1/25$ میکرومول بر لیتر) افزایش معنی‌داری داشت ($P < 0/006$). میانگین وزن بدن و طول سری دم جنین‌ها در گروه‌های تجربی نسبت به کنترل دارای کاهش معنی‌دار بودند ($P < 0/05$) و ناهنجاری‌های خاصی از قبیل اختلال در اندام‌ها، ناهنجاری‌های صورت، اختلال در ستون مهره‌ها و ناهنجاری‌های شدید دیگری مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که افزایش هموسیستئین را می‌توان به عنوان یک عامل خطر احتمالی در ایجاد ناهنجاری‌های جنینی مرتبط با کاربامازپین مطرح کرد.

کلید واژه‌ها: کاربامازپین، ناهنجاری‌های جنینی، هموسیستئین، موش

* نویسنده مسؤل: دکتر سید عادل معلم، پست الکترونیکی moallem@mums.ac.ir

نشانی: مشهد، دانشکده داروسازی، صندوق پستی ۹۱۷۷۵-۱۳۶۵، تلفن ۸۸۲۳۲۵۵، نمابر ۸۸۲۳۲۵۱-۰۵۱۱

وصول مقاله: ۹۱/۲/۱۸، اصلاح نهایی: ۹۱/۶/۱۱، پذیرش مقاله: ۹۱/۶/۱۸

مقدمه

و ترکیبی خنثی و محلول در چربی است که به آسانی از سدهای خونی - مغزی و غشاهای دیگر بدن عبور می‌نماید (۲). تحمل‌پذیری خوب این دارو باعث شده تا مصرف این دارو توسط مادران باردار به راحتی صورت گیرد. این که این دارو تا چه حد روی تکامل جنین اثرگذار است؛ سؤال مهمی است که توجه اکثر محققان را به خود جلب کرده است. بسیاری از مطالعات تجربی انجام شده روی حیوانات آزمایشگاهی نشان‌دهنده تراژدی‌های بودن این دارو است. علی‌رغم این که نتایج مطالعات انجام شده روی زنان

صرع یکی از شایع‌ترین اختلالات نورولوژیکی است و تقریباً ۸۰ درصد از ۵۰ میلیون نفر جمعیت مبتلا به صرع در دنیا در کشورهای در حال توسعه قرار دارند (۱). کاربامازپین یکی از رایج‌ترین داروهای ضدصرع است که در ابتدا برای درمان تشنج‌های صرع و نورولژی عصب سه قلو به بازار عرضه گردید؛ ولی اکنون برای بسیاری از اختلالات عصبی روانی از جمله اختلال دوقطبی به کار می‌رود. کاربامازپین مشتقی از گروه iminostilbene

۳۰-۲۵ گرم و سن تقریبی دو ماه انجام شد. موش‌ها از مؤسسه سرم‌سازی رازی مشهد خریداری و به اتاق حیوانات پژوهشکده بوعلی مشهد منتقل شدند. قبل از شروع کار موش‌ها به مدت دو هفته در شرایط آزمایشگاهی تحت کنترل، دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد، چرخه روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعته، رطوبت نسبی ۵۵-۵۰ درصد، تهویه مناسب و تغذیه با غذای خشک استاندارد و آب شرب شهری نگهداری شدند. برای انجام جفت‌گیری تعداد دو سر موش ماده به همراه یک سر موش نر به مدت یک شب در داخل قفس‌های مخصوص از جنس PVC قرار داده شدند. صبح روز بعد موش‌ها برای مشاهده پلاک واژنی رویت شدند. هر یک از موش‌های دارای پلاک واژنی به عنوان موفقیت در جفت‌گیری جدا شده و زمان صفر بارداری (GD0) برای آنها در نظر گرفته شد.

تعداد ۴۰ سر موش باردار به صورت تصادفی به دو گروه تجربی I و II و دو گروه کنترل I و II (۱۰ موش در هر گروه) به شرح زیر تقسیم شدند:

گروه تجربی I (CBZ 30): دریافت‌کننده داروی کاربامازپین با دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن روزانه.

گروه تجربی II (CBZ 60): دریافت‌کننده داروی کاربامازپین با دوز ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن روزانه.

گروه کنترل معمول: دریافت‌کننده نرمال سالین
گروه کنترل حامل (منفی): دریافت‌کننده محلول یک درصد توین ۲۰ در نرمال سالین

دوزهای انتخاب شده برای داروی کاربامازپین مشابه با دوزهایی تجویزی به صورت بالینی بود. تزریق دارو به صورت درون صفاقی در صبح و از روز ششم (GD6) لغایت روز پانزدهم (GD15) دوره بارداری صورت گرفت. در همه مراحل پژوهش از جمله نگهداری حیوان، انجام تیمار و کشتن حیوان، اصول اخلاقی براساس پروتکل دانشگاه علوم پزشکی مشهد رعایت شد.

پودر خالص داروی کاربامازپین از شرکت داروسازی مهر دارو (تهران/ایران) تهیه شد و توین ۲۰ (Merck آلمان) به عنوان حلال مورد استفاده قرار گرفت. موش‌های باردار در روز هجدهم بارداری (GD18) با کلروفورم بیهوش شدند و عمل سزارین صورت گرفت. جنین‌ها از داخل شاخ‌های رحمی خارج شدند. جنین‌ها پس از قطع بندناف به صورت جداگانه توسط ترازوی دیجیتالی (Sartorius PT210, Switzerland) وزن شدند. جنین‌ها از نظر جذب جنینی مورد بررسی قرار گرفتند. طول سری - دم هر جنین با استفاده از کولیس دیجیتالی مدل (Mitutoyo 500-196) اندازه‌گیری شد و سپس جنین‌ها مورد مشاهده میکروسکوپی قرار گرفتند و ناهنجاری‌های خارجی ظاهری و محدودیت رشد آنها توسط استریو میکروسکوپ تحقیقاتی (Olympus SZX, Japan)

باردار تا حدودی بحث انگیز است؛ ولی اکثریت آنها نیز نشان از اثرات ناهنجاری‌زایی این دارو در انسان دارد. افزایش نقائص لوله عصبی (Neural Tube Defect: NTDs)، ناهنجاری‌های قلبی - عروقی، شکاف لب و شکاف کام و ناهنجاری‌های مغزی و اسکلتی از جمله اختلالات گزارش شده در هنگام مصرف این دارو در زمان بارداری است (۳-۵). با این وجود در اکثر مطالعات انجام شده حجم نمونه نسبتاً کم بوده است (۵ و ۴). در مطالعه Diav-citrin و همکاران روی ۲۱۰ نفر از مادران باردار مصرف‌کننده کاربامازپین، مشخص گردید که خطر نسبی تعدادی از این ناهنجاری‌های مازور (۲/۲۴) با حدود اطمینان ۹۵ درصد، $4/56-1/1$ در نوزادان این مادران بیشتر می‌شود (۶). بیشترین افزایش در ناهنجاری‌های قلبی و نقائص جمجمه‌ای - صورتی مشاهده گردید. در این مطالعه همچنین کاهش سن حاملگی در هنگام تولد و کاهش وزن نوزاد در زمان تولد مشاهده گردید. در ضمن هیچ ارتباط معنی‌داری بین دوز مصرفی دارو و میزان ناهنجاری‌های مادرزادی مشاهده نگردید (۶).

تعیین عوامل خطر و مکانیسم‌های احتمالی دخیل در ایجاد ناهنجاری‌های مرتبط با کاربامازپین یکی از زمینه‌های مورد علاقه محققین در دو دهه گذشته بوده است. مطالعات زیادی در ارتباط با کاهش اسیدفولیک در سرم خون مادران باردار مصرف‌کننده داروهای ضدصرع به‌عنوان یکی از عوامل خطر احتمالی در ارتباط با مصرف کاربامازپین و ایجاد ناهنجاری‌ها، صورت گرفته است. این مسأله مورد اتفاق نظر اکثر محققین است (۷ و ۸).

مطالعات اخیر نشان داده است که مصرف تعدادی از داروهای ضدصرع از جمله کاربامازپین در بیماران مبتلا به صرع می‌تواند باعث افزایش غلظت هموسیستین (HCY) در پلاسما این بیماران گردد (۹). از طرفی هموسیستین اسید آمینه‌ای است که از متابولیسم متیونین ایجاد می‌شود و افزایش آن در خون افراد می‌تواند باعث اختلالات قلبی عروقی، سکنه مغزی و تعدادی دیگر از بیماری‌ها گردد (۱۰). همچنین مطالعات جدیدی وجود دارد که نشان می‌دهد افزایش هموسیستین در خون مادران باردار می‌تواند مرتبط با تعدادی از ناهنجاری‌های جنینی عمده شامل نقائص لوله عصبی، ناهنجاری‌های چشمی، قلبی و عروقی باشد (۱۱). به علاوه هاپرهموسیستینمیا در زمان بارداری باعث بروز عوارضی مثل سقط‌های مکرر، تاخیر رشد داخل رحمی و حتی مرگ جنین می‌شود (۱۱).

این مطالعه به منظور ارزیابی سطح سرمی هموسیستین موش‌های کوچک باردار در معرض داروی کاربامازپین و ارتباط احتمالی آن در ایجاد ناهنجاری‌های جنینی انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۴۰ سر موش ماده نژاد BALB/c با وزن

بررسی شد.

گرفته شد.

یافته‌ها

سطح سرمی هموسیستین موش‌های باردار

بررسی سطح هموسیستین در موش‌های باردار در پایان روز هجدهم در بین گروه‌های تجربی I و II با گروه‌های کنترل نشان داد که میزان سطح هموسیستین سرمی گروه تجربی I ($10/56 \pm 1/31 \mu\text{mol/lit}$) و گروه تجربی II ($11/11 \pm 1/64 \mu\text{mol/lit}$) نسبت به گروه‌های کنترل معمول ($5/89 \pm 1/25 \mu\text{mol/lit}$) و کنترل منفی ($5/89 \pm 1/25 \mu\text{mol/lit}$) افزایش معنی‌داری ($P < 0/006$) داشت.

وزن بدن و تغذیه موش‌های باردار

تفاوت معنی‌داری در ارتباط با وزن خالص بدن موش‌های مادر و میزان غذای مصرفی آنها در هیچ‌یک از گروه‌های تجربی و کنترل در طول تحقیق مشاهده نشد.

شاخص‌های رشدی

میانگین وزن بدن جنین‌ها در روز هجدهم بارداری در گروه تجربی I $0/78 \pm 0/26$ گرم و در گروه تجربی II $0/71 \pm 0/21$ گرم به صورت معنی‌داری ($P < 0/001$) نسبت به گروه‌های کنترل دچار کاهش شد (جدول یک). میانگین طول سری دم جنین‌های زنده در گروه تجربی I $17/96 \pm 1/81$ میلی‌متر و گروه تجربی II $17/45 \pm 1/58$ میلی‌متر نسبت به گروه‌های کنترل نیز از نظر آماری کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < 0/001$) (جدول یک).

برای جدا کردن سرم و اندازه‌گیری هموسیستین نیز از موش‌های باردار پس از بیهوشی و قبل از خارج کردن جنین‌ها با ایجاد شکاف در زیر استرونوم و با استفاده از سرنگ ۲ سی‌سی از بطن چپ قلب در حال طپش به آرامی خونگیری شدند. نمونه‌های خون به داخل ویال‌های مخصوص ریخته شد و به مدت یک ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه نگهداری شدند. سپس با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه و در زمان ۵ دقیقه سانتریفوژ و در پایان سرم با سمپلر جدا شد و به داخل ویال‌های استریل انتقال یافت. پس از کدگذاری در فریزر در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک روز و بعد از آن به فریزر در دمای منفی ۷۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند و نمونه‌های سرم پس از یخ‌زدایی و رسیدن به دمای محیط با استفاده از کیت اندازه‌گیری هموسیستین (The technology Axis -Shield diagnostics limited Park; Dundee DD2 1XA; United kingdom) (ساخت کشور آلمان) مورد آزمایش قرار گرفتند و نتایج نهایی کیت توسط دستگاه الیزا مدل BP800-BIOHIT PLC-FINLAND مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

اطلاعات مربوط به قد و وزن جنین‌ها و نیز میانگین مقدار سرمی هموسیستین براساس آزمون‌های ANOVA و Tukey و میزان جذب جنینی و ناهنجاری‌های مشاهده شده براساس آزمون‌های Chi-Square و تست فیشر با استفاده از نرم افزار آماری SPSS-18 تجزیه و تحلیل گردید. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر

جدول ۱: یافته‌های تحقیق براساس برش سزارینی در روز هجدهم بارداری در جنین موش‌های BALB/c گروه‌های تجربی I و II و کنترل معمول و کنترل حامل

گروه‌ها	کنترل معمول (نرمال سالین)	کنترل حامل (منفی) توین ۲۰	گروه تجربی I (کاربامازپین ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)	گروه تجربی II (کاربامازپین ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)
تعداد موش باردار	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
تعداد لانه‌گزینی	۱۱۷	۱۲۱	۱۰۷	۱۲۴
تعداد (درصد) جنین زنده	۱۱۷ (۱۰۰)	۱۲۱ (۱۰۰)	۱۰۱ (۹۴/۳۹)	۱۱۳ (۹۱/۱۲)
تعداد (درصد) جذب جنینی	۰ (۰)	۰ (۰)	۶ (۵/۶۱) *	۱۱ (۸/۸۸) *
میانگین و انحراف معیار وزن جنین	۱/۲۱ ± ۰/۱۹	۱/۱۷ ± ۰/۱۷	۰/۷۸ ± ۰/۲۶ *	۰/۷۱ ± ۰/۲۱ *
میانگین و انحراف معیار طول بدن	۲۳/۱۲ ± ۱/۷۱	۲۲/۹ ± ۱/۸۴	۱۷/۹۶ ± ۰/۸۱ *	۱۷/۴۵ ± ۱/۵۸ *

* $P < 0/05$ در مقایسه با گروه کنترل

جدول ۲: فراوانی ناهنجاری‌های جنین موش‌های BALB/c گروه‌های تجربی I و II و کنترل معمول و کنترل حامل

کنترل معمول (نرمال سالین)	کنترل حامل (منفی) توین ۲۰	گروه تجربی I (کاربامازپین ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)	گروه تجربی II (کاربامازپین ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)
تعداد جنین بررسی شده	۱۱۷	۱۲۱	۱۱۳
تعداد (درصد) باز بودن چشم	۰ (۰)	۰ (۰)	۷ (۶/۱۹)
تعداد (درصد) کوچکی ماندبیول	۰ (۰)	۰ (۰)	۸ (۷/۰۷) *
تعداد (درصد) اختلال ستون مهره‌ها	۰ (۰)	۰ (۰)	۱۱ (۹/۷۳) *
تعداد (درصد) اختلال در اندام	۰ (۰)	۰ (۰)	۷ (۶/۱۹) *
تعداد (درصد) ناهنجاری شدید	۰ (۰)	۰ (۰)	۴ (۳/۵۳) *

* $P < 0/05$ در مقایسه با گروه کنترل

جذب جنینی

در این مطالعه میزان جذب جنینی در گروه تجربی I ۵/۶ درصد ($P < 0/012$) و در گروه تجربی II ۸/۲ درصد ($P < 0/001$) بود که در مقایسه با گروه‌های کنترل که فاقد جذب جنینی بودند از نظر آماری اختلاف معنی‌داری داشت.

ناهنجاری‌های جنینی

کاربامازپین در جنین‌های موش BALB/c دو گروه تجربی سبب ناهنجاری شامل اختلال اندام، اختلال در صورت و فک، اختلال در ستون مهره‌ها، باز بودن چشم‌ها و ناهنجاری‌های شدید گردید (جدول ۲).

اختلال در اندام‌ها (limb defects) که به صورت دفرمیتی در اندام‌ها و کوتاهی انگشتان (Brachydactyly) دیده شد؛ از جمله ناهنجاری‌هایی بود که افزایش آماری معنی‌داری در هر دو گروه تجربی I (۵/۹۴ درصد، $P < 0/01$) و تجربی II (۶/۱۹ درصد، $P < 0/004$) در مقایسه با دو گروه کنترل نشان داد.

اختلال در صورت (Facial malformation) عمدتاً به صورت کوچکی فک پایین (Brachygnathia) بود. افزایش معنی‌داری بین میزان بروز این ناهنجاری در هر دو گروه تجربی I (۶/۹۳ درصد، $P < 0/005$) و تجربی II (۷/۰۷ درصد، $P < 0/002$) در مقایسه با دو گروه کنترل نشان داد.

اختلال در ستون مهره‌ها (vertebral deformity) که عمدتاً به صورت انحنای بیش از اندازه ستون مهره‌ها دیده شد؛ از ناهنجاری‌هایی بود که در هر دو گروه تجربی I (۶/۹۳ درصد، $P < 0/047$) و تجربی II (۹/۷۳ درصد، $P < 0/001$) در مقایسه با گروه‌های کنترل که فاقد این ناهنجاری بودند؛ از نظر آماری معنی‌دار بود.

باز بودن چشمها (open eyes) به صورت باز بودن پلک‌ها در روز هجدهم حاملگی مشاهده گردید که در هر دو گروه تجربی I (۴/۹۵ درصد، $P < 0/02$) و تجربی II (۶/۱۹ درصد، $P < 0/008$) دیده شد و این تفاوت در مقایسه با گروه‌های کنترل که فاقد این ناهنجاری بودند؛ از نظر آماری معنی‌دار بود.

جنین‌های کوچک با ناهنجاری‌های شدید (Severe malformations) در دو گروه تجربی دیده شد که نمای کلی جنین را غیرقابل تشخیص کرده بود. اختلاف بین میزان بروز این ناهنجاری در گروه تجربی I (۲/۹۷ درصد) نسبت به گروه‌های کنترل از نظر آماری معنی‌دار نبود؛ ولی این میزان در گروه تجربی II (۳/۵۳ درصد، $P < 0/041$) در مقایسه با گروه‌های کنترل که فاقد این ناهنجاری بودند؛ از نظر آماری معنی‌دار بود.

بحث

این مطالعه نشان داد که مصرف داروی کاربامازپین با دوزهای

۳۰ و ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در روز طی دوره ارگانوژنز بارداری سبب افزایش معنی‌داری در سطح سرمی هموسیستئین موش‌های باردار نژاد BALB/c نسبت به گروه کنترل می‌گردد.

Tamura و همکاران اثر مصرف داروهای ضدصرع به صورت مونوترایی را روی سطح هموسیستئین، اسید فولیک و ویتامین B12 و B6 مورد مطالعه قرار دادند. در مورد بیماران دریافت‌کننده کاربامازپین مقدار هموسیستئین خون افزایش نیافته بود؛ ولی یک همبستگی منفی بین میزان هموسیستئین خون بیماران با مقدار اسیدفولیک و ویتامین B12 وجود داشت (۱۲). در مطالعه مورد شاهدهی Senser و همکاران روی بیماران مصرف‌کننده داروهای ضدصرع؛ افزایش سطح هموسیستئین بیماران مبتلا به صرع مصرف‌کننده داروی کاربامازپین مشاهده شد. همچنین یک همبستگی منفی بین میزان هموسیستئین خون بیماران با مقدار اسیدفولیک در این بیماران نیز یافت شد (۱۳).

Attilakos و همکاران به مقایسه سطح هموسیستئین، اسید فولیک و ویتامین B6 در ۵۲ بیمار خردسال مبتلا به صرع پرداختند که به صورت مونوترایی تحت درمان وال‌پروویک اسید و کاربامازپین به مدت ۲۰ هفته قرار گرفته بودند. در هر دو گروه با مصرف این دو دارو به طور معنی‌داری سطح هموسیستئین سرمی افزایش یافته بود. به علاوه سطح اسیدفولیک و ویتامین B6 در بیماران مصرف‌کننده کاربامازپین کاهش یافته بود (۹). معدود مطالعاتی ارتباط بین مصرف کاربامازپین و افزایش سطح سرمی هموسیستئین را تأیید می‌نمایند (۱۴ و ۱۵).

مطالعه ما نیز نشان داد که مصرف کاربامازپین در زمان بارداری می‌تواند موجب افزایش سطح هموسیستئین سرم در مادران باردار گردد. این مسأله از این نظر مهم است که در حالت عادی سطح هموسیستئین خون در مادران باردار کاهش می‌یابد (۱۶) و مصرف داروی کاربامازپین در زمان بارداری توانسته است روی تغییرات طبیعی هموسیستئین نیز اثر گذارد.

در کنار این مسأله مطالعاتی نیز وجود دارند که نشان می‌دهد؛ افزایش سطح هموسیستئین در دوران بارداری می‌تواند خطرات بسیار جدی را برای مادران باردار و جنین آنها ایجاد نماید. سقط‌های مکرر، عقب افتادگی رشد داخل رحمی (IUGR)، نقایص لوله عصبی (NTDs) و حتی مرگ داخل رحمی (IUFD) نمونه‌هایی از این خطرات هستند (۱۱ و ۱۷). در تحقیق ما مشخص گردید که شاخص‌های رشدی از قبیل قند و وزن در جنین‌های گروه‌های تجربی در معرض کاربامازپین کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل و نیز جذب جنینی افزایش معنی‌داری در این گروه‌های تجربی نسبت به گروه کنترل پیدا کرده است. اکثر مطالعات انجام شده نیز این مسأله را تأیید می‌نمایند (۱۸ و ۱۹). در مطالعه متاآنالیز

در ارتباط با افزایش سطح سرمی هموسیستین و القای ناهنجاری‌های اسکلتی مشاهده شده در اندام، ستون مهره‌ها و صورت؛ به مطالعاتی جدیدی برمی‌خوریم که نشان می‌دهد هموسیستین نقش اساسی در روند تشکیل استخوان‌سازی دارد. در این رابطه می‌توان به مطالعه‌ای اشاره نمود که افزایش هموسیستین به محیط کشت حاوی سلول‌های مزانشیمی جوانه اندام، موجب اختلال در روند کلسیفیکاسیون غضروف‌های اندام می‌گردد و به تبع منجر به کاهش توانایی ماتریکس در روند مینرالیزاسیون می‌گردد (۲۳). همچنین Levasseur در سال ۲۰۰۹ بیان کرد که در موش‌های دارای هایپرهموسیستینمیا، استخوان‌های طولی‌شان به صورت ناقص رشد کرده بود و در یک مرحله تشکیل استخوان در سطح غضروف آسیب دیده بود و باعث کاهش وزن بدن شده بود (۲۴). از طرفی مطالعاتی وجود دارد که نشان می‌دهد؛ هموسیستین باعث تحریک استئوکلاست‌ها شده و لذا بازجذب استخوان را افزایش می‌دهد (۲۵).

اکثر مطالعات اخیر اشاره بر این نکته دارند که هایپرهموسیستینمیا می‌تواند منجر به تجمع هموسیستین در بافت‌های استخوانی گردد و در نتیجه باعث از بین رفتن استخوان و کاهش قدرت و استحکام استخوان گردد و به احتمال زیاد هموسیستین این عمل را از طریق بهم زدن اتصالات عرضی کلاژن تیپ ۱ انجام می‌دهد (۲۳-۲۸-۲۶). با توجه به مطالعات انجام شده می‌توان این احتمال که بسیاری از ناهنجاری‌های ایجاد شده توسط کاربامازپین می‌تواند از طریق افزایش سطح هموسیستین خون صورت پذیرد را به عنوان یک نظریه مطرح نمود.

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که افزایش هموسیستین را می‌توان به عنوان یک عامل خطر احتمالی در ایجاد ناهنجاری‌های جنینی مرتبط با کاربامازپین مطرح کرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی (شماره ۹۰۱۰۳۹) مصوب دانشگاه علوم پزشکی مشهد و بیرجند و پایان‌نامه نرجس طاهریان دانشجوی کارشناسی ارشد تکوین از دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد بود. بدین وسیله به خاطر همکاری خانم دکتر لیلا اعتماد و کارکنان محترم پژوهشگاه بوعلی مشهد، خانم تکتم حسینی تکنسین آزمایشگاه تراتولوژی و آقای محمد عصایی مسؤول آزمایشگاه حیوانات که در انجام این مطالعه ما را یاری نمودند؛ کمال تشکر و قدردانی خود را اعلام می‌داریم.

Matalon و همکاران، ۱۶ مطالعه که در آن جمعاً ۱۲۵۵ مادر باردار مصرف کننده کاربامازپین را در بر می‌گرفت؛ بررسی شد. یکی از یافته‌های استخراج شده از این متآنالیز آن بود که نوزادان در معرض کاربامازپین دارای کاهش وزن بودند و در تعدادی از این مطالعات به کاهش دور سر اشاره شده بود (۳). سایر مطالعات نیز به این مسأله اذعان داشته‌اند که مصرف کاربامازپین در دوران بارداری می‌تواند اثرات منفی بر شاخص‌های رشدی نوزادان داشته باشد (۱۹و۶). این که افزایش هموسیستین تا چه حد می‌تواند در ایجاد این طیف از اختلالات رشدی در جنین اثرگذار باشد و سهم اثرات سمی مستقیم دارو در این مسأله چقدر می‌تواند باشد؛ نیاز به مطالعات دقیق‌تری است. البته هر دو عامل می‌توانند به عنوان عوامل خطر و موثر در این رابطه مطرح گردند. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که افزایش سطح هموسیستین در مادران باردار می‌تواند به عقب‌افتادگی رشد داخل رحمی مرتبط باشد (۱۸).

همچنین مطالعه ما نشان داد که مصرف کاربامازپین در دوره ارگانوژنز در موش‌های نژاد BALB/c می‌تواند طیف وسیعی از ناهنجاری‌ها را ایجاد نماید. اختلالاتی در اندام به صورت کوتاهی انگشتان و ناهنجاری‌هایی در ستون مهره‌ها به صورت انحنای غیرطبیعی و اختلالاتی در شکل‌گیری صورت به شکل کوچکی فک پایین و ناهنجاری‌های بسیار شدید و گسترده از جمله اختلالات شایع مشاهده شده در جنین‌های در معرض کاربامازپین بود. در مطالعه ما تعدادی از جنین‌ها دارای چشم باز و آگروفتالمی در روز ۱۸ حاملگی بودند. این اختلالات چشمی به طور کامل از نقطه نظر بافت‌شناسی در مطالعه قبلی ما مورد بررسی قرار گرفت (۲۰).

برخی از منابع علمی موجود ارتباط بین مصرف داروی کاربامازپین و ناهنجاری‌های مختلف اسکلتی از جمله اختلالات جمجمه‌ای صورتی، ستون مهره‌ها و اندام‌ها را در انسان و مدل‌های آزمایشگاهی مثل موش مطرح کرده‌اند (۲۱و۲۲و۲۳). Haddad و همکاران در سال ۱۹۹۹ گزارشی از یک مورد چسبندگی بین فک بالایی و پایینی در نوزادی که در تمام طول بارداری در معرض کاربامازپین بود؛ منتشر کردند (۲۱). همچنین مطالعات مختلفی ناهنجاری‌های جمجمه‌ای صورتی را از جمله عوارض ناشی از مصرف کاربامازپین معرفی کردند (۲۴و۲۵). ارتباط بین مصرف داروی کاربامازپین و ایجاد ناهنجاری اندام در انسان و سایر مدل‌های حیوانی از جمله موش مطرح شده است (۵). همچنین هیوپلازی انگشتان به عنوان یکی از ناهنجاری‌های اندام در نوزادانی که مادرانشان طی بارداری کاربامازپین مصرف کردند بودند؛ مشاهده شده است (۲۲).

References

- Tuan NA, Cuong le Q, Allebeck P, Chuc NT, Persson HE, Tomson T. The incidence of epilepsy in a rural district of Vietnam: a community-based epidemiologic study. *Epilepsia*. 2010 Dec; 51(12):2377-83.
- Ornoy A. Neuroteratogens in man: an overview with special emphasis on the teratogenicity of antiepileptic drugs in pregnancy. *Reprod Toxicol*. 2006 Aug;22(2):214-26.
- Matalon S, Schechtman S, Goldzweig G, Ornoy A. The teratogenic effect of carbamazepine: a meta-analysis of 1255 exposures. *Reprod Toxicol*. 2002 Jan-Feb;16(1):9-17.
- Nulman I, Scolnik D, Chitayat D, Farkas LD, Koren G. Findings in children exposed in utero to phenytoin and carbamazepine monotherapy: independent effects of epilepsy and medications. *Am J Med Genet*. 1997 Jan;68(1):18-24.
- Samrén EB, van Duijn CM, Christiaens GC, Hofman A, Lindhout D. Antiepileptic drug regimens and major congenital abnormalities in the offspring. *Ann Neurol*. 1999 Nov;46(5):739-46.
- Diav-Citrin O, Shechtman S, Arnon J, Ornoy A. Is carbamazepine teratogenic? A prospective controlled study of 210 pregnancies. *Neurology*. 2001 Jul;57(2):321-4.
- Biale Y, Lewenthal H. Effect of folic acid supplementation on congenital malformations due to anticonvulsive drugs. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1984 Nov;18(4):211-6.
- Moore JL. The significance of folic acid for epilepsy patients. *Epilepsy Behav*. 2005 Sep;7(2):172-81.
- Attilakos A, Papakonstantinou E, Schulpis K, Voudris K, Katsarou E, Mastroianni S, et al. Early effect of sodium valproate and carbamazepine monotherapy on homocysteine metabolism in children with epilepsy. *Epilepsy Res*. 2006 Oct;71(2-3):229-32.
- Finkelstein JD, Martin JJ. Homocysteine. *Int J Biochem Cell Biol*. 2000 Apr;32(4):385-9.
- Aubard Y, Darodes N, Cantaloube M. Hyperhomocysteinemia and pregnancy—review of our present understanding and therapeutic implications. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2000 Dec;93(2):157-65.
- Tamura T, Aiso K, Johnston KE, Black L, Faught E. Homocysteine, folate, vitamin B-12 and vitamin B-6 in patients receiving antiepileptic drug monotherapy. *Epilepsy Res*. 2000 Jun;40(1):7-15.
- Sener U, Zorlu Y, Karaguzel O, Ozdamar O, Coker I, Topbas M. Effects of common anti-epileptic drug monotherapy on serum levels of homocysteine, vitamin B12, folic acid and vitamin B6. *Seizure*. 2006 Mar;15(2):79-85.
- Schwanger M, Ringleb P, Winter R, Kohl B, Fiehn W, Rieser PA, Walter-Sack I. Elevated plasma concentrations of homocysteine in antiepileptic drug treatment. *Epilepsia*. 1999 Mar;40(3):345-50.
- Verrotti A, Pascarella R, Trotta D, Giuva T, Morgese G, Chiarelli F. Hyperhomocysteinemia in children treated with sodium valproate and carbamazepine. *Epilepsy Res*. 2000 Oct; 41(3):253-7.
- Walker MC, Smith GN, Perkins SL, Keely EJ, Garner PR. Changes in homocysteine levels during normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 1999 Mar;180(3 Pt 1):660-4.
- Mills JL, McPartlin JM, Kirke PN, Lee YJ, Conley MR, Weir DG, et al. Homocysteine metabolism in pregnancies complicated by neural-tube defects. *Lancet*. 1995 Jan;345(8943):149-51.
- Leeda M, Riyazi N, de Vries JI, Jakobs C, van Geijn HP, Dekker GA. Effects of folic acid and vitamin B6 supplementation on women with hyperhomocysteinemia and a history of preeclampsia or fetal growth restriction. *Am J Obstet Gynecol*. 1998 Jul;179(1):135-9.
- Hiilesmaa VK, Teramo K, Granström ML, Bardy AH. Fetal head growth retardation associated with maternal antiepileptic drugs. *Lancet*. 1981 Jul 25;2(8239):165-7.
- Afshar M, Moallem SA, Houshang Mohammadpour A, Shiravi A, Majid Jalalian S, Jafar Ghalipour M. Teratogenic effects of carbamazepine on embryonic eye development in pregnant mice. *Cutan Ocul Toxicol*. 2010 Mar;29(1):10-5.
- Haddad IK, Shamo'on H, Salah S. Congenital unilateral fusion of the maxilla and mandible. *J Oral Pathol Med*. 1999 May; 28(5):238-40.
- Jones KL, Lacro RV, Johnson KA, Adams J. Pattern of malformations in the children of women treated with carbamazepine during pregnancy. *N Engl J Med*. 1989 Jun; 320(25):1661-6.
- Khan M, Yamauchi M, Srisawasdi S, Stiner D, Doty S, Paschalis EP, Boskey AL. Homocysteine decreases chondrocyte-mediated matrix mineralization in differentiating chick limb-bud mesenchymal cell micro-mass cultures. *Bone*. 2001 Apr;28(4):387-98.
- Levasseur R. Bone tissue and hyperhomocysteinemia. *Joint Bone Spine*. 2009 May;76(3):234-40.
- Koh JM, Lee YS, Kim YS, Kim DJ, Kim HH, Park JY, et al. Homocysteine enhances bone resorption by stimulation of osteoclast formation and activity through increased intracellular ROS generation. *J Bone Miner Res*. 2006 Jul;21(7):1003-11.
- Gjesdal CG, Vollset SE, Ueland PM, Refsum H, Drevon CA, Gjessing HK, et al. Plasma total homocysteine level and bone mineral density: the Hordaland Homocysteine Study. *Arch Intern Med*. 2006 Jan;166(1):88-94.
- Lubec B, Fang-Kircher S, Lubec T, Blom HJ, Boers GH. Evidence for McKusick's hypothesis of deficient collagen cross-linking in patients with homocystinuria. *Biochim Biophys Acta*. 1996 Apr;1315(3):159-62.
- Elliott JO, Jacobson MP, Haneef Z. Homocysteine and bone loss in epilepsy. *Seizure*. 2007 Jan;16(1):22-34.

Original Paper

Effect of carbamazepine on homocysteine serum level in pregnant mice and fetal malformations outcome

Afshar M (PhD)¹, Moallem SA (PharmD, PhD)*², Khayatzadeh J (PhD)³
Taherian N (MSc)⁴, Hosseini SM (MSc)⁵

¹Professor, Department of Anatomy, Birjand University of Medical Sciences; Medical Toxicology Research Center, School of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Iran. ²Professor, Department of Pharmacodynamics and Toxicology, School of Pharmacy; Pharmaceutical Research Center, Medical Toxicology Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Iran. ³Assistant Professor, Department of Biology, Islamic Azad University, Mashhad Branch, Mashhad, Iran. ⁴MSc in Developmental Biology, Department of Biology, Islamic Azad University, Mashhad Branch, Mashhad, Iran. ⁵Academic Instructor, Department of Biostatistics, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran.

Abstract

Background and Objective: Carbamazepine during pregnancy can induce various malformations. Recent studies have showed an increase in homocysteine level due to Carbamazepine administration. This study was to evaluate the effect of Carbamazepine on homocysteine serum level in pregnant mice and fetal malformations outcome.

Materials and Methods: In this experimental study, 40 BALB/c timed-pregnant mice were allocated into 2 experimental and 2 control groups. The experimental groups were received daily intraperitoneal injections of 30 mg/kg (group I) or 60 mg/kg (group II) of Carbamazepine on gestational days 6 to 15. The control groups were received either - normal saline or Tween 20. Dams underwent Cesarean section on GD 18. External examinations were done and all data concerning malformations, weight and crown-rump of fetuses collected. Blood samples were collected from Dams' hearts prior to performing the Cesarean section. Homocysteine was measured using ELISA method. Data were analyzed using SPSS-18, ANOVA, Chi-Square and Tukey tests.

Results: Significant increase in Homocysteine levels of dams' serum compared to control groups was seen in both experimental groups I and II (10.56 ± 1.31 and 11.11 ± 1.64 $\mu\text{mol/L}$, respectively, $P < 0.05$). The mean weight and crown-rump of the fetuses in both experimental groups were significantly reduced compared with those of the control groups ($P < 0.05$). Various malformations such as limb defects, vertebral defects, facial deformity and severe malformations were observed in fetuses of both experimental groups.

Conclusion: Serum elevation of homocysteine in Carbamazepine exposed pregnant mice may be a risk factor for induction of fetal malformations.

Keywords: Carbamazepine, Fetal malformations, Homocysteine, Mice

* Corresponding Author: Moallem SA (PhD), E-mail: moallem@mums.ac.ir

Received 7 May 2012

Revised 1 September 2012

Accepted 8 September 2012