

اثرات داروی ضد صرع توپیرامات بر تکوین لوله عصبی و اسکلتی جنین‌های موش سوری

نژاد NMRI

محبوبه ابراهیمی و رکیانی^۱، عبدالحسین شیروی^{۲*}، ویدا حجتی^۳

۱- کارشناسی ارشد زیست‌شناسی سلولی و تکوینی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران

۲- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران

۳- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران

چکیده

مقدمه

توپیرامات از نسل جدید داروهای ضدصرع می‌باشد که اطلاعات ناقصی در مورد نقش این دارو در ایجاد اثرات تراتوژنیک بر جنین در دسترس است. این مطالعه به منظور بررسی اثرات تراتوژنیک داروی توپیرامات بر تکامل لوله عصبی و اسکلتی در دوره اندام‌زایی جنین موش طراحی گردید.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی ۴۰ سر موش ماده باردار نژاد NMRI به سه گروه تجربی (I، II، III) و یک گروه شاهد تقسیم شدند. سه گروه تجربی I، II و III به ترتیب دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در روز توپیرامات را با حجم تزریق ۰/۲ میلی‌لیتر به صورت داخل صفاقی در روزهای ۶-۱۴ بارداری و گروه شاهد نیز در همین مدت سرم فیزیولوژی را به همان حجم دریافت کردند. موش‌ها در روز ۱۸ بارداری سزارین شده و جنین‌ها از نظر سیستم اسکلتی مورد مطالعه قرار گرفتند. سپس جنین موش‌ها به روش آلیزارین قرمز اس/آلسیان آبی رنگ‌آمیزی شدند و جنین‌ها از نظر میزان بروز نقایص لوله عصبی مورد بررسی قرار گرفتند. سپس داده‌ها با استفاده از آزمون‌های ANOVA و LSD مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها

در هر سه گروه تجربی I، II و III اختلالاتی به صورت نقایص لوله عصبی و ناهنجاری‌های اسکلتی دیده شد که در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان دادند.

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد استفاده از داروی توپیرامات طی مراحل اندام‌زایی جنین موش می‌تواند نقایص لوله عصبی و ناهنجاری‌های اسکلتی را القاء نماید.

کلیدواژه‌ها

توپیرامات، جنین موش، نقایص لوله عصبی، ناهنجاری‌های اسکلتی

مقاله مورد شاهدهی

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۲۹

تاریخ پذیرش: ۹۷/۴/۲۵

*نویسنده مسئول: عبدالحسین شیروی،
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه،
دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان،
ایران

تلفن: ۰۲۳-۳۵۲۲۵۰۴۱

پست الکترونیک:

Shiravi738@yahoo.com



مقدمه

حدود ۱٪ مردم دنیا مبتلا به صرع هستند. صرع پس از سکته مغزی شایع‌ترین بیماری عصبی است که یک بیماری مزمن با مجموعه‌ای از علایم ناهمگون است و مشخصه آن حملات تشنجی عودکننده می‌باشد. تشنج ناشی از تخلیه غیرطبیعی نورون‌های مغزی است (۱ و ۲). زنانی که دچار بیماری صرع هستند حتی در دوره‌های بارداری با داروهای ضدصرع (AED) درمان می‌شوند که ممکن است تأثیر مخربی بر جنین‌های در حال رشدشان بگذارد (۳). توپیرامات (Topiramate) از نسل جدید داروهای ضدصرع می‌باشد که در سال ۱۹۹۶ توسط سازمان غذا و دارو (FDA) برای درمان صرع به تصویب رسید (۴ و ۵). توپیرامات در اصل به عنوان یک بخشی از پروژه تحقیقاتی که به منظور کشف ساختار آنالوگ فروکتوز ۱۶ بیس فسفات بود، سنتز شده بود که قادر به مهار آنزیم فروکتوز ۱۶ بیس فسفاتاز و در نتیجه مهار کننده گلوکونوئوز^۱ بود (۶). توپیرامات با نام تجاری توپاماکس^۲ (۷) مشتق از منوساکارید D-فروکتوز می‌باشد که از نظر ساختمان با همه داروهای ضد تشنج دیگر متفاوت است (۵). این دارو، بر حملات تشنجی ناقص، تونیک کلونیک عمومی، اسپاسم شیرخوارگی، حتی تشنجات اِبنس و همچنین به طور کمکی در کنترل حملات تشنجی مرتبط با سندروم Lennox-Gestaut مؤثر می‌باشد (۴ و ۵ و ۹). این دارو از سال ۲۰۰۴ به بعد در درمان سردردهای میگرنی استفاده می‌شود (۱۰ و ۱۱). اخیراً از توپیرامات برای کاهش وزن در افراد چاق استفاده شده است (۳ و ۱۲). توپیرامات چندین مکانیسم عمل شناخته شده در سطح مولکولی دارد. این دارو انتقال یون-

های سدیم، کلسیم، پتانسیل غشا و غلظت ناقل‌های عصبی گابا، کینات و AMPA را تغییر می‌دهد (۱۱ و ۱۳). توپیرامات، به سرعت (تقریباً ۲ ساعت) جذب می‌شود (۱۴). این دارو به راحتی از جفت عبور می‌کند و در شیر مادر هم ترشح می‌شود و با توجه به اینکه یکی از داروهای مهم در درمان صرع می‌باشد، مادران باردار مبتلا به صرع مجبور به استفاده از این دارو می‌باشند (۱۵ و ۱۶). توپیرامات از نظر خطر ناهنجاری‌زایی توسط FDA (سازمان غذا و دارو) در دسته D قرار گرفته است (۳) شواهدی مبنی بر وجود خطر برای جنین انسان وجود دارد؛ ولی در بعضی از موارد منافع دارو ممکن است استفاده از آن را اجتناب‌ناپذیر نماید و در مقابل منافع دارو، خطرات احتمالی این دارو را باید پذیرفت (۱۷ و ۱۸). آرنوی^۳ و همکارانش و همچنین هرناندز^۴ و همکارانش طی مطالعاتی اثرات تراتوژنیک توپیرامات را بر مادران باردار بررسی نمودند و کاهش معنی‌داری در وزن و قد نوزادان تازه متولد شده مشاهده نمودند (۸ و ۱۹). فادل^۵ و همکارانش در تحقیق انجام شده نشان دادند مصرف توپیرامات در دوران بارداری در رت‌های باردار باعث به تعویق افتادن قابل توجه استخوان‌سازی دنده‌ها و مهره‌ها در جنین‌ها می‌شود (۳).

داروی توپیرامات در روزها و دوزهای متفاوت می‌تواند اثرات تراتوژنیک مختلفی را بر روی تکامل جنین بگذارد. در مطالعات گذشته تنها به کاهش قد و وزن در دوران جنینی و مشاهده جذب جنینی در اثر استفاده از داروی توپیرامات اشاره شده است و نحوه استفاده بصورت روزانه و شکل تجویز نسبت به این مطالعه متفاوت بوده است. اما

^۱Ornony^۴Hernández-Díaz^۵Fadel^۱ Gluconeogenesis^۲ Topamax



به این نکته که این دارو تا چه میزان می‌تواند بر سیستم اسکلتی و لوله عصبی اثرگذار باشد اشاره نشده است. از آنجا که مطالعات در مورد عوارض ناهنجاری‌زایی داروی توپیرامات بسیار کم و با طیف محدود انجام شده‌اند، پژوهش حاضر با هدف تعیین عوارض تراتوژنیک دارو به صورت آزمایشگاهی و با روش تزریق داخل صفاقی در روزهای اندام‌زایی روی جنین موش صورت گرفت تا گامی مؤثر در جهت تعیین ناهنجاری‌های اسکلتی و نقایص لوله عصبی این دارو و همچنین پیشگیری از عوارض آن در مادران باردار و جنین ایشان باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی با توجه به مطالعات قبلی روی ۴۰ سر موش ماده بالغ نژاد NMRI با وزن ۲۵-۳۰ گرم و سن تقریبی ۲/۵ ماهه صورت گرفت. موش‌ها به طور تصادفی از انستیتو پاستور آمل تهیه و به اتاق حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان منتقل شدند. موش‌ها به مدت دو هفته جهت تطابق با محیط جدید در شرایط کنترل‌شده با دمای ۲۳-۲۵ درجه، رطوبت ۴۰-۵۰٪ و تناوب روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته، تغذیه با غذای خشک استاندارد و آب شرب شهری نگهداری شدند. شرایط نگهداری و انجام کلیه مراحل آزمایش از قوانین و اصول اخلاقی ثبت شده در منشور اخلاق در نگهداری حیوانات آزمایشگاهی رعایت شده است. سپس برای انجام جفت‌گیری تعداد دو سر موش ماده به همراه یک سر موش نر در داخل قفس‌های مخصوص قرار داده شد. صبح روز بعد موش‌ها از نظر وجود اسپرم در ترشحات واژن از طریق تهیه اسمیر واژینال بررسی شدند و در صورت مشاهده به عنوان موفقیت در بارداری تلقی گردید و زمان صفر بارداری (GD0) برای آنها در نظر گرفته شد. معیارهای ورود به مطالعه شامل موش‌های با سن تقریبی ۲/۵ ماهه، وزن ۲۵-۳۰ گرم و با تعیین دقیق زمان صفر

بارداری بود و معیارهای خروج از مطالعه عدم بارداری بودن و سقط جنین قبل از ۱۸ بارداری بود. تعداد ۴۰ سر موش باردار به‌طور تصادفی به چهار گروه ده‌تایی (۳ گروه تجربی و ۱ گروه کنترل) به شرح زیر تقسیم شدند:

با توجه به اینکه توپیرامات برای استفاده خوراکی به صورت قرص‌هایی حاوی ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم از ماده فعال به بازار عرضه شده است (۱۱ و ۷) گروه‌های تجربی I، II و III به ترتیب داروی توپیرامات را با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و گروه شاهد سرم فیزیولوژی را دریافت نمودند. پودر خالص توپیرامات از شرکت داروسازی آریا تهیه گردید و رقیق‌سازی با استفاده از سرم فیزیولوژی صورت گرفت. تزریق دارو به‌صورت درون‌صفاقی و از روز ششم (GD6) لغایت روز چهاردهم (GD14) دوره بارداری با حجم ۰/۲ میلی-لیتر در ساعت ۸ صبح صورت گرفت. از آنجا که در دوران رشد جنینی، دوران اندام‌زایی (ارگانوژنز^۱) از حساس‌ترین و آسیب‌پذیرترین دوران جنینی است که در انسان سه ماهه اول بارداری و در موش همزمان با روزهای ۶-۱۴ بارداری می‌باشد تزریق دارو در این روزها صورت گرفت (۲۰-۲۲).

موش‌ها در روز ۱۸ بارداری با کلروفرم بیهوش و عمل سزارین انجام و جنین‌ها از داخل شاخ‌های رحمی خارج شدند. سپس جنین‌ها با سرم فیزیولوژی شست‌وشو داده شدند و میزان ناهنجاری‌های سیستم اسکلتی توسط استریومیکروسکوپ مجهز به دوربین مدل SMZ800 NIKON مورد بررسی قرار گرفتند. نقایص لوله عصبی جنین‌ها با استفاده از رنگ‌آمیزی دوبل آلیزارین رداس^۲ و

^۱ Organogenesis

^۲ Alizarin Red S



آلسیان بلو^۱ و بر اساس روش کیمل^۲ اینوی^۳ (۲۴ و ۲۳) با تغییرات جزئی مورد بررسی قرار گرفت. در این رنگ آمیزی ابتدا جنین‌ها با الکل ۷۰٪ فیکس و جهت زدوده شدن چربی بافت‌ها، داخل استن مطلق قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها در محلول آلیزارین قرمز (تهیه شده از شرکت Sigma) و آلسیان بلو (تهیه شده از شرکت Sigma) به مدت سه روز و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد داخل انکوباتور و به منظور شفاف نمودن، نمونه‌ها در محلول KOH و گلیسرین قرار داده شدند (تصویر ۱).

پس از شفاف‌سازی میزان بروز نقایص لوله عصبی توسط استریومیکروسکوپ مورد مطالعه قرار گرفت. داده‌های جمع‌آوری شده مربوط به ناهنجاری‌های اسکلتی و نقایص لوله عصبی در جنین‌های گروه‌های آزمایش توسط نرم‌افزار آماری SPSS v.18 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و برای مقایسه میانگین بین گروه‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه و در مواردی که پاسخ معنی‌دار دیده شد از آزمون LSD برای یافتن جایگاه اختلاف استفاده شد. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج نشان داد که تجویز داروی توپیرامات در روزهای ۶-۱۴ بارداری به موش‌های سوری باعث یکسری ناهنجاری‌های اسکلتی و نقایص لوله عصبی می‌گردد (جدول ۱).

از ۹۲ جنین مربوط به گروه تجربی I، ۵ جنین دارای ناهنجاری‌های اسکلتی بودند که به صورت کاهش تشکیل انگشتان پا (تصویر ۲) و انحنای بیش از حد ستون مهره‌ها دیده شد و ۶ جنین دارای نقایص لوله عصبی بودند که به

صورت اسپاینابیفیدا سیستیکا^۴ در ناحیه ستون مهره‌ای مشاهده شد.

از ۹۰ جنین مربوط به گروه تجربی II، ۳ جنین دارای ناهنجاری‌های اسکلتی بودند که به صورت عدم تشکیل انگشتان پا (تصویر ۳) و انحنای بیش از حد ستون مهره‌ها دیده شد و ۸ جنین دارای نقایص لوله عصبی بودند که به صورت اسپاینابیفیدا سیستیکا در ناحیه ستون مهره‌ای و اگزانسفالی^۵ مشاهده شد (تصویر ۴).

از ۸۱ جنین مربوط به گروه تجربی III، ۷ جنین دارای ناهنجاری‌های اسکلتی بودند که به صورت انحنای بیش از حد ستون مهره‌ها دیده شد (تصویر ۵) و ۹ جنین دارای نقایص لوله عصبی بودند که به صورت اسپاینابیفیدا سیستیکا در ناحیه ستون مهره‌ای مشاهده شد.

اختلاف بین میزان بروز این ناهنجاری‌های اسکلتی و نواقص لوله عصبی در هر سه گروه تجربی در مقایسه با گروه شاهد که فاقد این ناهنجاری‌ها بودند از نقطه نظر آماری افزایش معنی‌داری را نشان داد ($P < 0/05$).

آزمون آماری LSD به کار رفته در مورد بررسی تفاوت بین میانگین‌های ناهنجاری‌های اسکلتی جنین‌ها در گروه‌های تجربی نشان داد که اختلاف معنی‌داری در میانگین ناهنجاری‌های اسکلتی بین گروه‌های تجربی II با III ($sig = 0/002$) وجود دارد ($P \leq 0/05$)؛ بطوریکه با افزایش دوز توپیرامات میزان ناهنجاری‌های اسکلتی افزایش یافته است.

اما این افزایش در بین گروه‌های تجربی I با II ($sig = 0/081$) و I با III ($sig = 0/081$) معنی‌دار نمی‌باشد.

^۱ Alcian blue

^۲ Kimmel

^۳ Inouy

^۴ Spina bifida cystica

^۵ Exencephaly



آزمون آماری LSD به کار رفته در مورد بررسی تفاوت بین میانگین‌های نقایص لوله عصبی جنین‌ها در گروه‌های تجربی نشان داد که بین گروه‌های تجربی I با II (sig=۰/۲۳۹) و I با III (sig=۰/۰۷۶) و II با III (sig=۰/۵۰۷) اختلاف معنی‌داری وجود ندارد.

جدول ۱- میزان بروز ناهنجاری‌های اسکلتی و نقایص لوله عصبی در گروه‌های آزمایشی

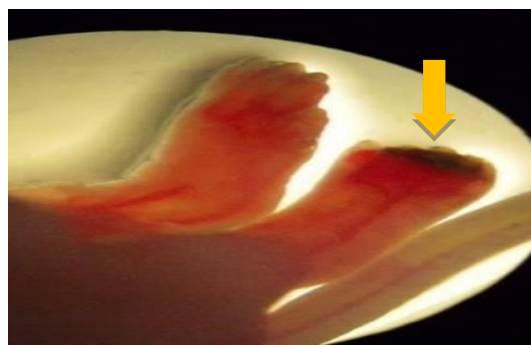
متغیرها	گروه شاهد	گروه تجربی I	گروه تجربی II	گروه تجربی III
موش باردار	تعداد	۱۰	۱۰	۱۰
جنین‌ها	تعداد	۱۱۳	۹۲	۸۱
ناهنجاری‌های اسکلتی	تعداد (درصد)	(۰)۰	(۵/۴۳)۵***	(۸/۶۴)۷***
نقایص لوله عصبی	تعداد (درصد)	(۰)۰	(۸/۸۸)۸***	(۱۱/۱۱)۹***

*نماینگر $P < ۰/۰۵$ در مقایسه با گروه شاهد و **نماینگر $P < ۰/۰۰۱$ در مقایسه با گروه شاهد.
(نتیجه آنالیز واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه شاهد)

تصویر ۱- جنین رنگ آمیزی شده با رنگ آمیزی آلیزارین رداس و آلسیان بلو. این جنین مربوط به گروه شاهد می باشد. بخش هایی که قرمز رنگ گرفته اند نشانگر بخش استخوانی شده و بخش هایی که آبی رنگ گرفته اند نشانگر بخش غضروفی است



تصویر ۳- جنین گروه تجربی II با عدم تشکیل انگشتان پا (فلش)



تصویر ۲- تصویر استریومیکروسکوپی جنین گروه تجربی I با کاهش تشکیل انگشتان پا (فلش).



تصویر ۵- جنین گروه تجربی III دارای انحنای بیش از حد ستون مهره ها (فلش)



تصویر ۴- جنین گروه تجربی II دارای اگزانسفالی (فلش)



بحث

با توجه به مطالعه انجام شده، مصرف توپیرامات در دوران بارداری را می‌توان به عنوان یک فاکتور خطر برای تکامل و رشد جنین دانست. مصرف این دارو در دوران اندام‌زایی می‌تواند باعث بروز ناهنجاری‌های اسکلتی و نقایص لوله عصبی در جنین موش سوری شود. بطوریکه ناهنجاری‌های اسکلتی و نقایص لوله عصبی در هر سه گروه دریافت کننده توپیرامات مشاهده شد.

طی این مطالعه همانطور که نتایج در جدول ۱ ذکر شده است نقائص لوله عصبی در گروه‌های تجربی مشاهده شده است که در گروه شاهد درصد این ناهنجاری‌ها صفر می‌باشد.

همان‌طور که می‌دانیم اسیدفولیک یا فولات یک کوآنزیم مهم است که برای تکامل گلبول‌های قرمز و سفید و همچنین بهبود عملکرد سیستم عصبی مرکزی لازم می‌باشد (۲۵). در نوزادانی که در زمان جنینی در معرض داروهای ضدصرع بوده و هیچ‌گونه فولاتی دریافت نکرده‌اند میزان ناهنجاری ۱۵ درصد گزارش شده در حالیکه در نوزادانی با شرایط مشابه که فولات دریافت کرده بودند هیچ‌گونه ناهنجاری مشاهده نشده است (۲۶). در واقع کاهش مصرف اسیدفولیک یا فولات می‌تواند خود عاملی در بروز ناهنجاری باشد (۲۷).

به طور کلی می‌توان احتمال داد عواملی از جمله تغییر در متابولیسم اسیدفولیک و کاهش سطح اسیدفولیک، تغییر در غلظت رتینول و مشتقات آن به خصوص ۱۳-سیس رتینوئیک‌اسید که ترکیب بسیار مهمی در جهت تکامل ساختار بخش‌های مختلف بدن هست (۲۷)، ایجاد

آپوپتوزیس^۱ در بین سلول‌های لوله عصبی (۲۸)، تولید رادیکال‌های آزاد از قبیل اپوکساید در طی مراحل متابولیزه شدن آن (۲۹)، تغییر در غلظت نوروترانسمیتر گاما آمینوبوتیریک‌اسید (GABA) می‌توانند بر روی نقائص ناشی از مصرف داروی ضدصرع مؤثر باشد (۳۰).

اسپاینایفیدا سیستمیکای یکی از نقایص لوله عصبی می‌باشد که در هر سه گروه تجربی مشاهده شد و طبق مطالعه آرتاما^۲ و همکاران در بررسی که روی جمعیت‌های متعدد انسانی در فنلاند انجام دادند به طور قطع بروز اسپاینایفیدا را از عوارض تراتوژنیک داروهای ضدصرع دانسته‌اند (۳۱). گلیر^۳ و همکاران در بررسی که بر روی مغز در حال تکوین رت انجام دادند به این نتیجه رسیدند که دوزهای درمانی توپیرامات اثر سمی بر روی مغز در حال تکوین رت دارد. به طوریکه در بررسی با میکروسکوپ الکترونی مشاهده نمودند توپیرامات باعث تخریب نورون‌ها شده و از نظر مشخصات موفولوژیک شبیه مرگ برنامه‌ریزی شده سلول (آپوپتوز) است که با نتایج مطالعه حاضر که اگزنسفالای در گروه تجربی II را تایید می‌کند، مطابقت دارد (۹).

طیف دیگری از ناهنجاری‌ها که در گروه‌های تجربی دیده شد اختلالات اسکلتی به صورت کاهش یا عدم تشکیل انگشتان پا بود در واقع توپیرامات بر میزان استخوانی شدن تأثیر گذاشته است. توپیرامات مهار کننده کربنیک‌انهیداز می‌باشد (۱۱ و ۳۲) و مهار کربنیک‌انهیداز موجب اسیدوز متابولیک می‌شود که به دنبال آن اسیدوز هم باعث کاهش استخوان از طریق فعال‌سازی استئوکلاست^۴ می‌باشد (۳۲).

^۱ Apoptosis^۲ Artama^۳ Glier^۴ Osteoclast



کند (۳). همچنین تحقیقات نشان می‌دهد اختلالات اسکلتی را در جنین‌هایی که مادرانشان در دوران بارداری از داروهای ضدصرع استفاده کرده‌اند که می‌توان این اختلالات را به نقش این داروها در متابولیسم کلسیم، ویتامین D و فسفاتاز قلیایی نسبت داد. ویتامین D در جذب کلسیم و دفع فسفات نقش دارد و کمبود آن منجر به کاهش رسوب املاح کلسیم در حین استخوان‌سازی خواهد شد (۳۶ و ۲۷).

نتیجه‌گیری

در نهایت آنچه از مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت این است که دوزهای درمانی توپیرامات بایستی با دقت زیادی در دوران بارداری مصرف شوند چرا که ممکن است منجر به محدودیت رشد جنین شده و دارای پتانسیل ناهنجاری‌زایی بر روی اسکلت و لوله عصبی جنین می‌باشد.

از نقاط ضعف مطالعه حاضر می‌توان به عدم مقایسه اثرات اسید فولیک با این دارو اشاره کرد.

از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به این موارد اشاره داشت؛ آن دسته از موش‌هایی که با وجود تهیه اسمیر واژینال و ثبت زمان صفر بارداری و با وجود تزریق دارو در زمان‌های مشخص باردار نبودند از آزمایش حذف می‌شدند و به منظور جبران، موش‌هایی دیگر بصورت تصادفی انتخاب و باردار می‌شدند که حجم نمونه داده‌های آماری تغییر نداشته باشد. همچنین، در این مطالعه تزریق فقط در دوران اندام-زایی صورت گرفت لذا قابلیت تعمیم‌دهی اثرات دارو به کل دوران بارداری را ندارد.

بر اساس بررسی‌های انجام شده برای اولین بار گزارشی از اثر این دارو در ایجاد نقایص لوله عصبی و ناهنجاری‌های اسکلتی در این مقاله به صورت مستند گزارش شده است. پیشنهاد می‌شود تحقیقات بعدی مکانیسم‌های مولکولی

در کنار اسیدوز متابولیک، هیپرهموسیستینمی^۱ و کمبود ویتامین B12 به خوبی به عنوان عوارض جانبی توپیرامات شناخته شده‌اند (۳۴ و ۳۳). هموسیستین بر سلامت استخوان از طریق مکانیسم‌های متعددی از جمله افزایش فعالیت استئوکلاست و کاهش در فعالیت استئوبلاست^۲ اثرگذار است. همچنین مطالعات قبلی نیز نشان داده که تغییر در خواص بیومکانیک استخوان با کمبود ویتامین B12 و فولات و درجه هیپرهموسیستینمی همراه است. علاوه بر این داده‌هایی بیان می‌کنند که فولات و ویتامین درمانی نه تنها از طریق مسیرهای وابسته به هموسیستین بلکه از طریق مسیرهای مستقلی هم عمل می‌کند (۳۲ و ۳۵). کمبود ویتامین B12 در کل عملکرد بدن تأثیر می‌گذارد به ویژه در سیستم عصبی مؤثر است. ویتامین B12 در چرخه رشد سلولی نقش متفاوتی دارد و می‌تواند ایجاد انرژی و پروتئین کند. همچنین در تقسیم سلولی و روند رشد اثرگذار است؛ بدیهی است که کمبود این ویتامین اسکلت جنین را می‌تواند تحت تأثیر قرار دهد و موجب کندی تقسیم سلولی در روند استخوان‌سازی در بدن جنین در حال رشد شود (۳۲).

علاوه بر این یافته‌های مطالعات انجام شده حاکی از آن است که به دلیل عبور توپیرامات از جفت و انباشتگی در بافت جنینی، احتمال دارد باعث کاهش فعالیت فیزیکی جنین شده در نتیجه طبق نظریه مکانواستات فراست^۳ ب کاهش تشکیل استخوان را به دنبال داشته باشد. این نظریه بیان دارد که فعالیت سلول استخوانی مطابق با نیازهای مکانیکی استخوان می‌باشد و هنگامی که چالش مکانیکی از حد آستانه فراتر رود، نقطه تنظیمی مکانواستات^۳، بافت استخوان را به محلی که از نظر مکانیکی ضروری می‌باشد اضافه می‌کند.

^۱Hyperhomocystinemia

^۲Osteoblast

^۳Mechanostat



مربوطه و تاثیرات مشاهده شده توپیرامات پیش از تولد را بررسی و تعیین نمایند.

بوده است، بدین وسیله از گروه زیست‌شناسی دانشگاه به دلیل تأمین فضا و دستگاه و لوازم آزمایشگاهی مورد نیاز در انجام این طرح صمیمانه تشکر می‌گردد.

تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد به شماره ۱۴۲۳۰۵۱۴۹۴۲۰۰۶ دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان

References

1. Fisher RS, van Emde Boas W, Blume W, Elger C, Genton P, Lee P, *et al.* Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia*. 2005;46(4):470-2.
2. Greco A, Rizzo MI, De Virgilio A, Conte M, Gallo A, Attanasio G, *et al.* Autoimmune epilepsy. *Autoimmun Rev* 2016;15(3):221-5.
3. Fadel RA, Sequeira RP, Abu-Hijleh MF, Obeidat M, Salem AH. Effect of prenatal administration of therapeutic doses of topiramate on ossification of ribs and vertebrae in rat fetuses. *Rom J Morphol Embryol* 2012;53(2):321-7.
4. Lyseng-Williamson KA, Yang LP. Topiramate: a review of its use in the treatment of epilepsy. *Drugs*. 2007;67(15):2231-56.
5. Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. Basic and clinical pharmacology. 12th ed, USA: Mc Grow Hill Medical; 2011.
6. Shank RP, Gardocki JF, Streeter AJ, Maryanoff BE. An overview of the preclinical aspects of topiramate: pharmacology, pharmacokinetics, and mechanism of action. *Epilepsia* 2000;41(suppl1):S3-9.
7. Pinto EC, Dolzan MD, Cabral LM, Armstrong DW, Sousa VP. Topiramate: A review of analytical approaches for the drug substance, its impurities and pharmaceutical formulations. *J Chromatogr Sci* 2016;54(2):280-90.
8. Ornoy A, Zvi N, Arnon J, Wajnberg R, Shechtman S, Diav-Citrin O. The outcome of pregnancy following topiramate treatment: a study on 52 pregnancies. *Reprod Toxicol* 2008;25(3):388-9.
9. Glier C, Dzielko M, Bittigau P, Jarosz B, Korobowicz E, Ikonomidou C. Therapeutic doses of topiramate are not toxic to the developing rat brain. *Exp Neurol* 2004;187(2):403-9.
10. Ramadan NM, Buchanan TM. New and future migraine therapy. *Pharmacol Ther* 2006;112(1):199-212.
11. Eadie MJ, Vajda FJ. Antiepileptic drugs and pregnancy. A guide for prescribers. Adis Switzerland: Springer; 2015.
12. Harden CL. Topiramate, Zonisamide and Small for Gestational Age: Maternal Factors, Timing of Exposure and Baby Fat. *Epilepsy Curr* 2014;14(4):199-200.
13. Zalewska-Kaszburska J, Bajer B, Gorska D, Andrzejczak D, Dyr W, Bienkowski P. Effect of repeated treatment with topiramate on voluntary alcohol intake and beta-endorphin plasma level in Warsaw alcohol high-preferring rats. *Psychopharmacology*. 2013;225(2):275-81.
14. Walker MC, Sander JW. Topiramate: a new antiepileptic drug for refractory epilepsy. *Seizure* 1996;5(3):199-203.
15. Arnone D. Review of the use of topiramate for treatment of psychiatric disorders. *Ann Gen Psychiatry* 2005;4(1):5.
16. Öhman I, Vitols S, Luef G, Söderfeldt B, Tomson T. Topiramate kinetics during delivery, lactation, and in the neonate: preliminary observations. *Epilepsia* 2002;43(10):1157-60.
17. Wilson RD; SOGC GENETICS COMMITTEE; SOGC INFECTIOUS DISEASE COMMITTEE. Principles of Human Teratology: Drug Chemical and Infectious Exposure. *J Obstet Gynaecol Can* 2007;29(11):911-7.
18. Wilmer E, Chai S, Kroumpouzos G. Drug safety: Pregnancy rating classifications and controversies. *Clinics in Dermatology* 2016;34(3):401-9.
19. Hernández-Díaz S, Mittendorf R, Smith CR, Hauser WA, Yerby M, Holmes LB, *et al.* Association between topiramate and zonisamide use during pregnancy and low birth weight. *Obstet Gynecol* 2014;123(1):21-8

20. Mackenzie KM, Hour RM. Developmental toxicology. In: Derelanko MJ, editor. Handbook of Toxicology. 2002;497-521.
21. Kaufman MH, Bard J. The anatomical basis of mouse development. Academic Press; 1999.
22. Wallace H. Principles and Method of Toxicology. Philadelphia: taylor & francis. 2001
23. Kimmel CA, Trammell C. A rapid procedure for routine double staining of cartilage and bone in fetal and adult animals. Stain Technol 1981;56(5):271-3.
24. Inouye M. Differential staining of cartilage and bone in fetal mouse skeleton by alcian blue and alizarin red. Congenital Anomalies 1976;16:171-1.
25. Lindhout D. Pharmacogenetics and drug interactions. Neurology 1992;42(5):43-7.
26. Biale Y, Lewenthal H. Effect of folic acid supplementation on congenital malformations due to anticonvulsive drugs. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 1984;18(4):211-6.
27. Dansky LV, Rosenblatt DS, Andermann E. Mechanisms of teratogenesis: Folic acid and antiepileptic therapy. Neurology 1992;42(4):32-42.
28. Nau H, Tzimas G, Mondry M, Plum C, Spohr HL. Antiepileptic drugs alter endogenous retinoid concentrations: a possible mechanism of teratogenesis of anticonvulsant therapy. Life Sci 1995;57(1):53-60.
29. Yerby MS. Teratogenicity and antiepileptic drugs: potential mechanisms. Int Rev Neurobiol 2008;83:181-204.
30. Briner W. The effect of GABA receptor ligands in experimental spina bifida occulta. BMC Pharmacol 2001;1(1):2.
31. Artama M, Ritvanen A, Gissler M, Isojärvi J, Auvinen A. Congenital structural anomalies in offspring of women with epilepsy—a population-based cohort study in Finland. Int J Epidemiol 2006;35(2):280-7.
32. Simko J, Fekete S, Gradosova I, Malakova J, Zivna H, Valis M, *et al.* The effect of topiramate and lamotrigine on rat bone mass, structure and metabolism. J Neurol Sci 2014;340(1-2):80-5.
33. Linnebank M, Moskau S, Semmler A, Widman G, Stoffel-Wagner B, Weller M, *et al.* Antiepileptic drugs interact with folate and vitamin B12 serum levels. Ann Neurol 2011;69(2):352-9.
34. Belcastro V, Striano P, Gorgone G, Costa C, Ciampa C, Caccamo D, *et al.* Hyperhomocysteinemia in epileptic patients on new antiepileptic drugs. Epilepsia 2010;51(2):274-9.
35. Vacek TP, Kalani A, Voor MJ, Tyagi SC, Tyagi N. The role of homocysteine in bone remodeling. Clin Chem Lab Med 2013;51(3):579-90.
36. Voudris K, Moustaki M, Zeis PM, Dimou S, Vagiakou E, Tsagris B, *et al.* Alkaline phosphatase and its isoenzyme activity for the evaluation of bone metabolism in children receiving anticonvulsant monotherapy. Seizure 2002;11(6):377-80.