

اثرات تراتوژنیک فنی توئین بر روی جنین‌های موش سوری نژاد NMRI

بی‌بی محبوبه ترابی^۱، دکتر عبدالحسین شیروی^۲، دکتر غلامحسین واعظی^۳

نویسنده‌ی مسوول: دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی شاخه دامغان، دانشکده‌ی علوم پایه torabi_mahboobeh@yahoo.com

دریافت: ۹۰/۱۰/۱۲ پذیرش: ۹۱/۴/۱۹

چکیده

زمینه و هدف: یکی از مهم‌ترین عوارض مصرف داروهای ضدصرع در دوران بارداری افزایش ناهنجاری‌های جنینی می‌باشد. اطلاعات کاملی در مورد نقش فنی‌توئین در ایجاد اثرات تراتوژنیک در زمان و میزان مصرف این دارو در دوران بارداری و نیز بر روی اندام‌سازی جنین در دسترس نیست. از این رو این مطالعه به منظور تعیین ناهنجاری‌های ماکروسکوپی ایجاد شده توسط داروی فنی‌توئین در صورت استفاده‌ی مستمر از آن در زمان اندام‌سازی جنین طراحی گردید.

روش بررسی: در این مطالعه‌ی تجربی ۴۰ سر موش باردار نژاد NMRI به سه گروه تجربی (I، II، III) و یک گروه شاهد تقسیم شدند. سه گروه تجربی (I، II، III) به ترتیب مقادیر ۶۰، ۷۵ و ۹۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم در روز حجم ۰/۲ میلی‌لیتر از روز شش و نیم (GD6/5) تا روز چهارده و نیم (GD14/5) بارداری به صورت درون صفاقی و گروه شاهد نیز در همین مدت سرم فیزیولوژی را به همان حجم دریافت نمودند. موش‌ها در روز ۱۸/۵ حاملگی تشریح شده و جنین‌ها از نظر طول سری دمی، وزن و ناهنجاری‌های ماکروسکوپی مورد بررسی قرار گرفتند. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های ANOVA، T-Test و توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: در گروه‌های تجربی میانگین وزن و طول سری دمی در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P < 0.05$). همچنین از نقطه نظر آماری در هر سه گروه تجربی (I، II، III) میزان بروز ناهنجاری‌ها از جمله جذب جنینی، هموراژی در اندام‌های مختلف و تیروئید فولیکولار در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که استفاده از داروی فنی‌توئین در طی مراحل اندام‌سازی (ارگانوژنز) موش نه تنها می‌تواند سبب جذب جنین، کاهش وزن و کاهش طول سری دمی در جنین موش گردد، بلکه می‌تواند ناهنجاری‌هایی از جمله هموراژی و تیروئید فولیکولار را نیز القا نماید.

واژگان کلیدی: فنی‌توئین، تراتوژن، موش، جنین

مقدمه

متابولیسم موجود در زمان تولد به کار برده می‌شود. علمی که این اختلالات را مطالعه می‌کند، تراتولوژی نامیده می‌شود. نقایص مادرزادی می‌تواند ناشی از عوامل ارثی و محیطی باشد

نقایص زمان تولد، ناهنجاری‌های مادرزادی و بد شکلی‌های مادرزادی اصطلاحات مشابهی هستند که جهت توصیف اختلالات ساختمانی، رفتاری، عملکردی و

۱- کارشناس ارشد زیست‌شناسی تکوینی، گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان

۲- دکترای تخصصی جنین‌شناسی، استادیار گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان

۳- دکترای تخصصی زیست‌شناسی، دانشیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد سمنان

که یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی، استفاده از بعضی ترکیبات دارویی است که مصرف آن‌ها در دوران بارداری می‌تواند اثرات بدی بر روی جنین داشته باشد (۲ و ۱). از جمله ترکیبات شیمیایی تراوتوژن که تحقیقات زیادی پیرامون آن به انجام رسیده است داروهای ضد صرع می‌باشد (۶-۳). صرع یک بیماری مزمن عصبی است که میلیون‌ها نفر در سراسر جهان به آن مبتلا و این افراد مجبور به استفاده از حداقل یکی از داروهای ضد صرع هستند. در ایران بیشترین داروی مورد استفاده توسط این بیماران داروی فنی‌توئین است (۷). داروی فنی‌توئین با فرمول $C_{12}H_{12}N_2O_3$ یکی از قدیمی‌ترین داروهای ضد تشنجات پارسیل و تونیک، کلونیک ژنرالیزه می‌باشد. همچنین فنی‌توئین در درمان آریتمی قلبی نورالژی تری ژرمینال، ترشح نابجای هورمون آنتی‌دیورتیک، انسولین و نیز به‌طور موضعی برای تسریع بهبود زخم کاربرد دارد به‌همین دلیل از جمله داروهایی است که تعداد افراد مصرف کننده این دارو را بسیار زیاد می‌کند (۸). موضوع دیگر این که در مطالعات حیوانی ثابت شده است که متابولیت‌های حاصل از تجزیه‌ی فنی‌توئین می‌تواند در دوران حاملگی به‌راحتی از سد خونی جفتی عبور نماید و اندام‌زایی جنین را تحت تأثیر قرار دهد (۹). علی‌رغم مطالعات متعدد، مساله تراوتوژنیسته داروهای ضد صرع در دوزهای مختلف و روزهای خاص در دوران جنینی هنوز به‌عنوان یک معضل در جامعه‌ی پزشکی زنان و مامایی مطرح می‌باشد. لذا برای کاهش میزان این ناهنجاری‌ها و استفاده از مقدار دقیق و صحیح مکمل‌ها ما باید اطلاعات کامل و دقیقی را در خصوص اثرات تراوتوژنیک فنی‌توئین در دوزها و روزهای مختلف رشد جنینی داشته باشیم. به خصوص در دوران اندام‌زایی (ارگانوژنز) که از حساس‌ترین و آسیب‌پذیرترین دوران جنینی است. سه ماهه‌ی اول بارداری در انسان همزمان با روزهای ۶ تا ۱۵ بارداری در موش می‌باشد. داروی فنی‌توئین در روزها و دوزهای متفاوت می‌تواند اثرات

تراوتوژنیکی مختلفی را بر روی تکامل جنین بگذارد. در مطالعات گذشته تنها به کاهش قد و وزن در دوران جنینی در اثر استفاده از داروی فنی‌توئین اشاره شده است و نحوه‌ی استفاده از آن در روزها و دوزهای متفاوتی نسبت به این مطالعه بوده است؛ اما به این نکته که اثر این دارو تا چه میزان می‌تواند اثر گذار باشد، اشاره نشده است. مطالعات نشان می‌دهد که اثرات یک ماده می‌تواند نسبت به دوز مصرفی، روزهای تجویز و شکل تجویز (درون صفاقی، خوراکی) متفاوت باشد، لذا این طرح به لحاظ زمان، مقدار مصرف و شکل تجویز در یک تحقیق بنیادی جدید و غیر تکراری است. بنابراین برای استفاده از مکمل‌ها و جلوگیری از متولد شدن نوزادانی ناهنجار باید اطلاعات دقیقی از میزان این ناهنجاری‌ها در دوزها و روزهای مختلف داشته باشیم تا در آینده بتوانیم مکمل‌های مناسبی را در دوزهای دقیق تجویز کنیم. تحقیق مذکور بر اساس مطالعات قبلی و با توجه به تئوری اول یعنی تراوتوژن بودن داروهای ضد صرع در زمان اندام‌زایی بر روی جنین موش *NMRI* طراحی گردید.

روش بررسی

در این مطالعه‌ی تجربی از موش‌های بالغ نژاد *NMRI* با وزن ۳۰ تا ۳۵ گرم و سن ۹ تا ۱۰ هفته استفاده شد. این حیوانات در شرایط آزمایشگاهی کنترل شده و در اتاق حیوانات با تناوب روشنایی و تاریکی ۱۲-۱۲ ساعته و دمای ۲۰ تا ۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۰ تا ۵۵ درصد نگهداری شدند. در این مدت برای نگهداری از 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 یک سر موش نر برای یک شب در قفس قرار داده شدند. دیدن پلاک واژینال در صبح روز بعد نشان دهنده‌ی جفت‌گیری و تعیین روز صفر بارداری (GD0) بود. تعداد ۴۰ سر موش باردار به‌صورت تصادفی به سه گروه

میانگین وزن و قد جنین‌ها گروه‌های مورد آزمایش از آزمون Ttest, ANOVA و توکی استفاده شد. پودر خالص فنی توئین از شرکت داروسازی لقمان تهیه گردید.

یافته‌ها

یافته‌های تحقیق بر اساس برش سزارینی در روز هیجده و نیم بارداری (GD18/5) در جدول یک نشان داده شده است. در گروه‌های تجربی تزریق درون صفاقی فنی توئین سبب بروز باز جذب جنینی شده و این موضوع به لحاظ آماری در گروه‌های تجربی I، II و III نسبت به گروه شاهد معنی‌دار بود (جدول ۱). میانگین وزن بدن جنین‌ها در هر سه گروه تجربی I ($1/23 \pm 0/15$ گرم)، گروه تجربی II ($1/20 \pm 0/28$ گرم) و گروه تجربی III ($1/13 \pm 0/20$ گرم) به صورت معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل ($1/0 \pm 0/44/18$ گرم) کاهش یافته بود ($P < 0/05$). طول سری - دم جنین‌ها نیز در گروه‌های تجربی II و III نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت ($P < 0/05$) (جدول ۱).

تجربی و یک گروه کنترل (۱۰ سر موش در هر گروه) تقسیم شدند. گروه‌های تجربی I، II و III به ترتیب دوز ۷۵، ۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم داروی فنی توئین و گروه کنترل نرمال‌سالین را از روز ششم و نیم (GD6/5) لغایت روز چهارده و نیم دوره بارداری (GD14/5) با حجم تزریق ۰/۲ سی‌سی به‌صورت درون صفاقی دریافت کردند. داروی فنی توئین از شرکت داروسازی لقمان تهیه شد. در روز هیجدهم بارداری (GD18/5) موش‌ها با کلرفرم بیهوش شدند و رحم آن‌ها باز و جنین‌ها خارج شدند. جفت‌ها با برش بندناف از محل نزدیک به جنین جدا شدند و با سرم فیزیولوژی شست‌وشو داده شده، مورد بررسی ماکروسکوپی توسط میکروسکوپ تحقیقاتی استریو مدل Nikon C-LEDS قرار گرفتند. تعداد جنین‌های جذبی مورد بررسی و شمارش قرار گرفت و هرجنین جداگانه توسط ترازوی دیجیتالی مدل AND GF-400 با دقت ۰/۰۰۱ توزین گردید. سپس طول سری - دم جنین با استفاده از کولیس دیجیتال با دقت ۰/۰۱ اندازه‌گیری و ثبت گردید. برای مقایسه‌ی تعداد جنین‌ها،

جدول ۱، بررسی متغیرهای مادر و جنین که از روز ششم تا چهاردهم بارداری داروی فنی توئین دریافت کردند

گروه‌های مورد آزمایش				متغیرها	
فنی توئین ۹۰ mg/kg	فنی توئین ۷۵ mg/kg	فنی توئین ۶۰ mg/kg	نرمال سالین		
۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	تعداد	موش باردار
۱۰۰	۱۰۷	۱۱۶	۱۲۲	تعداد	جنین‌ها
$(4/0)^6$ *	$(3/44)^5$ *	$(5/69)^7$ *	۰(۰)	تعداد (درصد)	بازجذب جنین‌ها
$1/13 \pm 0/20$ ***	$1/20 \pm 0/28$ ***	$1/23 \pm 0/15$ ***	$1/44 \pm 0/18$	انحراف معیار $\pm$ میانگین	وزن جنین‌ها (g)
$21/08 \pm 2/44$ ***	$22/24 \pm 2/40$ ***	$22/65 \pm 1/3$ ***	$24/02 \pm 1/6$	انحراف معیار $\pm$ میانگین	اندازه‌ی سری دمی (mm)
$(25/24)^{26}$ ***	$(13/08)^{14}$ ***	$(11/20)^{13}$ ***	۰(۰)	تعداد (درصد)	جنین‌های دارای هموراژی
$(3/88)^4$ *	$(6/4)^5$ *	$(4/31)^5$ *	۰(۰)	تعداد (درصد)	جنین‌های با تیروئید فولیکولار

(*نمایانگر $P < 0/05$ ، **نمایانگر $P < 0/01$ ، ***نمایانگر $P < 0/001$)

III در ۶ جنین (۳/۸۸ درصد) تیروئید فولیکولار مشاهده گردید (تصاویر ۱-۳). در ۱۲۲ جنین مربوط به گروه شاهد هیچ یک از ناهنجاری‌های فوق دیده نشد. از نقطه نظر آماری اختلاف موجود در رابطه با خونریزی‌های موضعی در بین سه گروه تجربی I، II و III با گروه شاهد معنی‌دار بود ($P < 0.05$). همچنین تیروئید فولیکولار مشاهده شده در بین گروه‌های تجربی I، II و III با گروه شاهد نیز معنی‌دار بود ($P < 0.05$).

فنی‌توئین سبب کاهش رشد و نیز جلوگیری از افزایش اندازه‌ی جنین‌ها گردید. در گروه تجربی I، ۷ جنین (۵/۶۹ درصد)، در گروه تجربی II، ۵ جنین (۴۴/۳ درصد) و در گروه تجربی III، ۶ جنین (۴ درصد) دارای خونریزی‌های موضعی در نواحی مختلف بدن از جمله دست‌ها، پاها، گردن، ستون فقرات و دم بودند. همچنین از تعداد کل ۱۱۶ جنین مربوط به گروه تجربی I در ۵ جنین (۴/۳۱ درصد)، از تعداد کل ۱۰۷ جنین مربوط به گروه تجربی II در ۵ جنین (۶/۴ درصد) و از تعداد کل ۱۰۰ جنین مربوط به گروه تجربی



تصویر ۲: جنین تجربی II (دوز ۷۵ mg/kg/day) دارای تیروئید فولیکولار (فلش)



تصویر ۱: جنین تجربی I (دوز ۶۰ mg/kg/day) دارای همورازی در ستون مهره‌ها (فلش) در مقایسه با گروه کنترل (سمت راست)



تصویر ۳: مقایسه‌ی بین گروه کنترل (سمت راست) و گروه تجربی III (دوز ۹۰ mg/kg/day) از نظر طول سری دمی (سمت چپ)

بحث

درمان دارویی صرع در دوران بارداری همیشه با عوارض فراوانی برای جنین همراه بوده است (۱۰ و ۱۱). یکی از قدیمی‌ترین داروهایی که امروزه در درمان صرع مورد استفاده قرار می‌گیرد، فنی توئین می‌باشد (۸). فنی توئین در گروه D قرار دارد و اداره‌ی دارو و غذای آمریکا FAD استفاده از آن را محدود به درمان بعضی از انواع صرع کرده است (۱۲). تحقیقات نشان می‌دهد که قسمت اعظم این دارو در کل مایعات بدن پخش می‌شود و از آنجایی که ماتریکس خارج سلولی و اجزای آن نقش بسیار مهمی در تکامل جنین دارند، فنی توئین می‌تواند با وارد شدن به ماتریکس بین سلولی بر روند تکامل جنین تاثیر بگذارد و القای سلولی، مهاجرت، تکثیر، تمایز و مرگ برنامه‌ریزی شده را تغییر دهد (۱۳ و ۱۴). مطالعه‌ی جدول یک نشان می‌دهد که در بین سه گروه تجربی I، II و III در مقایسه با گروه کنترل در پارامترهای قد و وزن کاهش معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.05$). آنچه مسلم است، می‌توان مصرف داروی فنی توئین را در دوران بارداری به‌عنوان یک فاکتور خطر برای رشد و تکامل جنین دانست. کاهش قد و وزن می‌تواند به علل مختلفی باشد. به نظر برخی از محققین استفاده از داروهای ضد صرع در دوران بارداری می‌تواند باعث کاهش وزن و قد جنین‌ها شود که این امر می‌تواند ناشی از کاهش محتوای پروتئین کل جنین باشد (۱۵ و ۱۶). مطالعات نشان می‌دهد که فنی توئین با عبور از فضای بین پرزی به سادگی از جفت عبور نموده، وارد گردش خون جنین می‌شود (۱۷ و ۱۶). مارک با توجه به تحقیقات انجام شده فرضیه‌های دیگری را در مورد بروز ناهنجاری به دنبال مصرف داروهای ضد صرع مطرح می‌کند. وی معتقد است که رادیکال‌های آزاد تولید شده به‌وسیله‌ی داروهای ضد صرع دارای اثرات سمی بر روی سلول‌های فرد مصرف کننده و جنین می‌باشد، به‌علاوه وجود اختلال ژنتیکی در هیدرولیز این متابولیت‌ها ناهنجاری‌زایی این مواد را افزایش می‌دهد (۱۸).

همانطور که بیان شد مکانیسم اثر این دارو در بروز ناهنجاری‌ها دقیقاً مشخص نیست. برخی معتقدند که این دارو باعث کاهش فولات جنینی شده و کاهش اسیدفولیک را به‌عنوان یک عامل اصلی در بروز ناهنجاری مطرح می‌کنند (۱۹ و ۲۰). اسید فولیک یا فولات یک کوآنزیم مهم است که برای تکامل گلبول‌های قرمز و سفید و بهبود عملکرد سیستم عصبی لازم می‌باشد مطالعات نشان می‌دهد که کاهش غلظت فولات به هر دلیلی می‌تواند باعث بروز ناهنجاری‌هایی گردد (۲۱). در مطالعه‌ی حاضر یکی از ناهنجاری‌هایی که تقریباً در هر سه گروه تجربی به میزان قابل توجهی بروز کرده بود، خونریزی‌های زیرپوستی در دست‌ها، پاها، گردن و دم جنین‌ها بود. در مورد علت بروز خونریزی‌های زیر پوستی در جنین‌هایی که در معرض داروهای ضد صرع از جمله فنی توئین قرار گرفته‌اند، مطالعات گسترده‌ای انجام نشده است و این امر که چه عاملی در این مساله دخالت دارد، نیاز به بررسی دقیق‌تری دارد. در مطالعه‌ی انجام شده در رابطه با بروز هموراژی در جنین‌هایی که در معرض مصرف طولانی مدت داروهایی از جمله داروهای ضد درد بودند، نشان می‌دهد که مصرف این داروها می‌تواند سبب کاهش ترشح پروستاگلندین شود که این امر منجر به کاهش قطر رگ‌ها و تجمع پلاکتی در داخل رگ‌ها می‌شود (۲۲ و ۲۳). همچنین طبق مطالعه ریندلر و همکارانش مصرف دوز بالای بعضی از نگهدارنده‌ها از جمله بنزوات سدیم می‌تواند باعث آزاد شدن هیستامین از گرانول‌های ماست سل‌ها شده، هیستامین با اثر بر گیرنده‌های H_1 موجود در سلول‌های اندوتلیال باعث افزایش نفوذپذیری و تراوایی عروق به عناصر مختلف شود. از طرفی در داخل سیتوپلاسم سلول‌های اندوتلیال پروتئین‌های قابل انقباضی وجود دارد که تحت تاثیر هیستامین منقبض شده، منجر به انقباض و تغییر شکل این سلول‌ها می‌شود و در نهایت سلول‌های اندوتلیال از هم فاصله گرفته و بین آنها منافذی ایجاد می‌شود که می‌تواند منجر به نشت

به سرعت از طریق خون در بافت‌ها و کبد پخش شده، در کبد توسط ایزو آنزیم‌های سیتوکروم P45 (CYP2C8, CYP3A4) متابولیزه می‌شود و پیشرفت متابولیسم این دارو به این آنزیم‌ها بستگی دارد (۲۷-۳۱، ۲۷).

نتیجه‌گیری

نهایتاً آنچه از پژوهش حاضر می‌توان نتیجه گرفت این است که مصرف فنی‌توئین در دوران بارداری و همزمان با دوران اندام زائی (ارگانوژنز) در موش سوری نه تنها می‌تواند سبب جذب جنین، کاهش وزن و کاهش طول سری دمی در جنین موش گردد، بلکه می‌تواند ناهنجاری‌هایی از جمله هموراژی و تیروئید فولیکولار را نیز القا نماید و باعث اختلال در رشد و تکامل جنین گردد. این دارو به‌ویژه در دوران اندام‌زایی باید با احتیاط و دقت بیشتری مصرف شود، لذا جهت بررسی بیشتر اثرات این دارو و یافتن مکانیسم اثر آن لازم است تا تحقیقات بیشتری پیرامون این دارو انجام داد.

تقدیر و تشکر

از مسوولین محترم شرکت داروسازی لقمان به ویژه آقای دکتر عبدالله نژاد و سرکار خانم مهندس فلورا دوستی که با در اختیار گذاشتن ماده فنی‌توئین در انجام این طرح ما را یاری کردند، قدردانی می‌شود.

References

- 1- Bahadori M, Shakoar A. Defects of birth time. Langman Medical Embryology. Tehran: Chehr; 2010.
- 2- Sadler TW. Langman's medical embryology Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004.
- 3- Delgado-Escueta AV, Jans D. Pregnancy and

پلاسمای خون، التهاب و حتی خونریزی در بافت‌ها شود (۲۴). لذا احتمال دارد که در بررسی‌های حاضر هموراژی ایجاد شده توسط فنی‌توئین را توسط این مکانیسم‌ها توجیه کرد، به هر حال این احتمال نیاز به مطالعات بیشتر و دقیق‌تری دارد. یکی دیگر از آثار تراتوژنیک در نمونه‌های مورد مطالعه، جذب جنین بود که میزان آن به مقدار کم بین ۴ تا ۵/۱۷ درصد متغیر بود که این مساله می‌تواند مربوط به اثرات توکسیسیته دارو باشد. ناهنجاری مشاهده شده دیگر در هر سه گروه تجربی (II.d و III) تیروئید فولیکولار است. پاپوتی و همکارانش در تحقیقات خود عدم بیان ژن تیروگلوبولین را به عنوان عامل بروز تیروئید فولیکولار مطرح می‌کنند (۲۵). در مورد علت بروز تیروئید فولیکولار در جنین‌هایی که در معرض داروهای ضدصرع از جمله فنی‌توئین قرار گرفته‌اند، مطالعات گسترده‌ای انجام نشده است و احتمال دارد که فنی‌توئین نیز با تأثیر بر روی بیان این ژن سبب بروز تیروئید فولیکولار شود، ولی این مطلب نیاز به تحقیقات بیشتری دارد. احتمال داده می‌شود که فنی‌توئین می‌تواند سبب بسته شدن کانال‌های سدیمی در سیستم عصبی شده، محتمل است که این دارو باعث تغییر فعالیت پیامبرهای ثانویه نظیر CAMP, CGMP شود که این عوامل می‌تواند ناهنجاری‌های متنوعی را القا نماید (۲۶-۲۸). تحقیقات نشان می‌دهد که ۹۰ تا ۹۵ درصد فنی‌توئین با پروتئین پلازما باند می‌شود، سپس این دارو

- teratogenesis in the epilepsy. *Neurol.* 1992; 42(supplement5): 7.
- 4- Gally E, Granstrom ML, Hiilesmaa V, Bardy A. Minor anomalies in offspring of epileptic Mothers. *J pediatric.* 1988; 112: 520-529.
 - 5- Holmes LB, Harvey EA, Brown KS, Hayes AM, Khoshbin S. Anticonvulsant teratogenesis: i.a

- study design for newborn infants. *Teratology*. 1994; 49: 202-7.
- 6- Loughnan PM, Gold H, Vance JC. Phenytoin teratogenicity in man. *Lancet*. 1973; 1: 70-2.
- 7- Meijer WM, de Walle HE, Kerstjens-Frederikse WS, de Jong-van den Berg LT. Folic acid sensitive birth defects in association with intrauterine exposure to folic acid antagonists. *Reprod Toxicol*. 2005; 20: 203-7.
- 8- Hardman JG, Limbird LE, Gilman AG. The pharmacological basis of therapeutics, Mc Graw Hill: New York, USA; 2001.
- 9- Ohman I, Vitols S, Tomson T. Lamotrigine in pregnancy: pharmacokinetics during delivery in the neonate, and during lactation. *Epilepsia*. 2000; 41: 9-13.
- 10- Bastaki SAM, Padmanabhan R, Abdulrazzaq YM, Chandranth SI, Shafiulla M. Studies on the teratogenic effect of lamotrigine in mouse fetuse. *Frontier in fetal health (a Global perspective)*. 2001; 3: 11-12 .
- 11- Beghi E, Annegers JF, Pergnancy registries in epilepsy. *Epilepsia*. 2001; 42: 1422-5.
- 12- Shahraz S, Qazyani T. Iran Farma. (Textbook of drugs official Iran). Tehran: Teimoorzade Pub; 200; 608.
- 13- Farhat G, Yamout B, Mikati MA, Demirjian S, Sawaya R, El-Hajj Fuleihan G. Effect of antiepileptic druge on bone density in ambulatory patients. *Neurol*. 2002; 14; 58: 1348-53.
- 14- Pack AM, Morrell Mj. Epilepsy and bone health in adults. *Epilepsy behave*. 2004; 5 Suppl 2: S24-9.
- 15- Mirkin BL, Mirkin BL. Diphenylhydantoin: placental transport, fetal localization neonatal metabolism and possible teratogenic effects. *J Pediatr*. 1971; 78: 329-37.
- 16- Siessers S, Semprini M, Lopes R, et al, Phenytoin action in the lingual mucosa of rat fetuses: morphometric study. *International J Morphol*. 2004; 22: 149-54.
- 17- Ishizaki T, Yokochi K, Chiba K, Tabuchi T, Wagatsuma T. Placental transfer of anticonvulsants (Phenobarbital, phenytoin, valproic acid) and the elimination from neonates. *pediatr pharmacol. Pediatr Pharmacol*. 1981; 1: 291-303.
- 18- Mark S, Yerby Ms, Kaplan P, Tran T. Risks and management of pregnancy in women with epilepsy. *Cleveland Clinic J Med*. 2004; 71: 25-37.
- 19- Leppik IE. Antiepileptic drugs in development: prospects for the near future. *Epilepsia*. 1994; 35: 29-40.
- 20- Padmanabhan R, Abdulrazzaq YM, Bastaki SM, Shafiulla M, Chandra SI. Experimental studies on reproductive toxicologic effects of lamotrigine in mice. *Birth Defects Res Part B Dev Repord Toxicol*. 2003; 68: 428-38.
- 21- Dansky LV, Strickler SM, Andermann E, Miller MA, Seni MH. Spielberg SP Pharmacogenetic susceptibility to phenytoin teratogenesis. In: Wolf P, Dam M, Janz D, Dreifuss FE, eds. *Advances in epileptology*. New York: Raven Press; 1987: 555-9.
- 22- Green N, Drvota V, Vesterqvist O. Pronounced reduction of in vivo prostacyclin

- synthesis in humans by acetaminophen (paracetamol). *Prostaglandins*. 1989; 37: 311-15.
- 23- O'brien WF, Krammer J, O'leary TD, Mastrogiannis DS. The effect of acetaminophen on prostaminoph on prostacyclin production In pregnant women. *Am J Obstet Gynecol*. 1993; 163: 1164-69.
- 24- Kreindler JJ, Slutsky J, Haddad ZH. The effect of food colors and sodium benzoate on rat peritoneal mast cells. *Ann Allergy*. 1980; 44: 76-81.
- 25- Papotti M, Negro F, Camey JA, et al. Mixed medullary follicular carcinoma of the thyroid; A morphological, immunohistochemical and in situ hybridization analysis of 11 cases. *Virchows Arch*. 1997; 430: 397-405.
- 26- Menegola E, Broccia ML, Giavini E. Atlas of rat fetal skeleton double stained for bone and cartilage. *Teratology*. 2001; 64: 125-33.
- 27- Pack AM, Morrell Mj. Epilepsy and bone health in adults. *Epilepsy behave*. 2004; 5Suppl 2: S24-9.
- 28- Vorhees CV. Fetal hydantoin syndrome in rats: dose-effect relationships of prenatal phenytoin on postnatal development and behavior. *Teratology*. 1987; 35: 287-303.
- 29- Inouye M. Differential staining of cartilage and bone in fetal mouse skeleton by Alcian Blue and Alizarin Red S. *Congenital Anomalies*. 1976; 16: 171-1.
- 30- Liporace J, D'Abreu A. Epilepsy and woman health family planning, bone health, Menopause, and menstrual-related seizures. *Mayo Clin Proc*. 2003; 78: 497-506.
- 31- Siessere S, Semprini M, Lopes RA, et al. Phenytoin action in the lingual mousea of rat fetuses: morphometric study. *Inter J Morphol*. 2004; 22: 149-54.

Teratogenic Effects of Phenytoin in NMRI Mouse Fetuses

Torabi BM¹, Shiravi A¹, Vaezi GH²

¹Dept. of Biology, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran.

²Dept. of Biology, Islamic Azad University, Semnan Branch, Semnan, Iran.

Corresponding Author: Torabi BM, Dept. of Biology, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran.

E-mail: torabi_mahboobeh@yahoo.com.

Received: 2 Jan 2012

Accepted: 9 Jul 2012

Background and Objective: One of the most important complications of utilization of anti-epilepsy drugs in pregnancy is an increase of fetal abnormality. There is not enough information about the role of phenytoin on teratogenic effects on pregnancy and on fetal organogenesis. Hence, this study was designed to determine the macroscopic abnormalities created by continuous use of phenytoin during organogenesis of fetus.

Materials and Methods: Forty pregnant mice (NMRI type) were divided into three experimental groups (I, II, III) and one control group. Three experimental groups I, II, III received 60mg/kg, 75 mg/kg, and 90 mg/kg per day with 0.2 ml volume from the day 6.5 (GD_{6/5}) to day 14.5 (GD_{14/5}) of pregnancy intraperitoneally (i.p.). The control group received the same volume of normal saline instead. The mice on the day 18.5 of pregnancy were sacrificed, and their tail lengths, weights, and abnormalities were studied. Data were analyzed by ANOVA and Tukey tests.

Results: In the experimental groups, the mean weight and tail length was reduced significantly compared to the control group ($P<0.05$). In all three experimental group (I, II, III) abnormalities such as absorption of same fetal, hemorrhage in different organs and follicular thyroid was increased significantly compared to the control group ($P<0.05$).

Conclusion: Our results show that utilization of the drug phenytoin in mouse during organogenesis not only induces absorption of some fetuses, weight loss, and tail length reduction, but it can also induce abnormalities such as hemorrhage and follicular thyroid.

Keywords: Phenytoin, Teratogenicity, Fetal, Mouse