

مطالعه نقش اسید فولیک در کاهش ناهنجاری‌های تکوینی ناشی از فنی توئین و فنوباربیتال در جنین‌های موش

منوچهر عدالت جو^{*(M.Sc.)}
الهام علی آبادی^{*(Ph.D.)}

صغری بهمنپور^{*(Ph.D.)}
طا هره طلائی^{*(Ph.D.)}

چکیده

سابقه و هدف : صرع یک بیماری مزمن عصبی است که حدود یک درصد مردم جهان به آن مبتلا می‌باشند. اثر تراتوژ نیسیته داروهای ضد صرع، مو ضوعی مهم و در عین حال مورد شک و تردید می‌باشد. از آنجا که میلیون‌ها نفر از این دارو استفاده می‌نمایند، تاثیر ناهنجاری‌زای آن حتی با احتمال ناچیز می‌تواند خطرساز باشد. در این تحقیق، ضمن مطالعه اثر تراتوژ نیسیته دو داروی فنی توئین و فنوباربیتال، اثر آنتی تراتوژ نیک فولیک اسید بررسی شد.

مواد و روش‌ها : جهت این تحقیق ۸۱ موش سوری ماده به طور تصادفی انتخاب شد. سپس هر دو موش ماده با یک موش نر به مدت یک شب، مجاور شدند. موش‌های واجد پلاک واژنی به عنوان حامله محسوب گشته و به ۶ گروه تقسیم شدند. گروه اول به عنوان کنترل در نظر گرفته شد و فقط آب مقتدر (حلال دارو) به آن‌ها تزریق گردید، به گروه دوم تا ششم به ترتیب فنی توئین (۴۵ mg/kg)، فنوباربیتال (3mg/kg)، اسید فولیک (15µg/kg)، فنی توئین و اسید فولیک، فنوباربیتال و اسید فولیک، تزریق و یا به طریق گاواظ خورانده شد. با توجه به اثرات مسمومیت زایی در جنین و القاء سقط، تعداد زیادی از جنین‌ها از بین رفته و در انتها فقط ۴۳ موش حامله باقی ماند. روز ۱۹ حاملگی، رحم موش‌ها باز و جنین‌ها خارج گردید. ناهنجاری‌های مادرزادی ماکروسکوپی (gross) نظیر شکاف کام، اگزانسفالی و اسپیناپیفیدا و گانگرون دم مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها : نتایج نشان داد که بیشترین میزان ناهنجاری در گروه فنی توئین و به میزان ۲۸/۶ درصد بود و در گروه فنوباربیتال ۱۹ درصد بوده است. نتایج همچنین نشان داد که میزان ناهنجاری‌ها در اثر مصرف توأم فولیک اسید با داروهای مذکور کاهش می‌یابد؛ به طوری که در اثر مصرف توأم فنی توئین و اسید فولیک به میزان ۱۰/۷ درصد و فنوباربیتال و اسید فولیک به میزان ۳/۸ درصد تقلیل می‌یابد.

استنتاج : یافته‌های این تحقیق ضمن تایید اثرات تراتوژ نیک فنی توئین و فنوباربیتال نشان داد که تجویز اسید فولیک می‌تواند با کاهش این اثر، میزان ناهنجاری مادرزادی را تقلیل دهد.

واژه‌های کلیدی : فنی توئین، اسید فولیک، جنین ناقص‌الخلقه- علت شناسی، ناهنجاریها- علت شناسی، فنی توئین در بارداری

* گروه علوم تشریحی- دانشکده پزشکی- دانشگاه علوم پزشکی شیراز
 ☐ شیراز- خیابان زند- دانشکده پزشکی- گروه علوم تشریحی- کد پستی ۷۱۳۴۴
 ۸۲/۶/۲۲ تاریخ دریافت: ۸۲/۶/۱۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۸۲/۱۰/۱۰ تاریخ تصویب:

مقدمه

آن‌تی ترا توژنیک مطرح می‌باشد^(۱). تحقیقات متعدد نشان می‌دهد که مقدار فولات در سرم زنان مصرف کننده داروهای ضد صرع به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد^(۷). بررسی این که آیا اسید فولیک می‌تواند به عنوان یک عامل در کاهش ترا توژنیستیه داروهای ضد صرع دخالت داشته باشد یا خیر نیز از اهداف دیگر این تحقیق می‌باشد. جهت بررسی این موضوع اسید فولیک توأم با داروی ضد صرع مطالعه به موش تجویز گردید.

تأثیر توکسیستیه و ناهنجاری‌زایی بالقوه داروهای مذکور مساله‌ای مهم و در عین حال مورد شک و تردید می‌باشد. از آنجایی که تعداد افراد مصرف کننده داروهای فوق بسیار زیاد می‌باشد، اگر درصد کمی از بیماران، فرزندانی با ناهنجاری‌های مادرزادی داشته باشند، می‌توان خطر فوق را جدی تلقی نموده و آن را مورد بررسی قرار داد^(۱). براساس مطالعاتی که تاکنون انجام گرفته است، چندین ثوری در مورد چگونگی تاثیر داروهای ضد صرع مطرح می‌باشد. بعضی معتقدند که داروهای ضد صرع دارای خاصیت ترا توژنی می‌باشند^(۲). مطالعاتی دیگر نیز ارشی بودن بیماری را مطرح و توارث را به عنوان عامل ناهنجاری‌زا موثر می‌دانند^(۸). بعضی نیز مصرف داروهای ضد صرع، همراه با سابقه بیماری مادری را به عنوان عامل ناهنجاری‌های ژنتیکی مطرح می‌نمایند^(۹).

على رغم مطالعات متعدد، مسئله ترا توژنیستیه داروهای ضد صرع هنوز به عنوان یک معضل در جامعه پژوهشی زنان و مامایی مطرح می‌باشد^(۱). تحقیق مذکور نیز بر اساس مطالعات قبلی و با توجه به ثوری اول یعنی ترا توژن بودن داروهای ضد صرع طراحی شده است^(۷) تا^(۹). همان‌طور که اشاره شد بررسی تاثیر اسید فولیک در کاهش ناهنجاری‌های مذکور نیز از دیگر اهداف این تحقیق بوده است.

مادران در طی دوران بارداری در معرض مواد ترا توژن زیادی قرار می‌گیرند. این ترکیبات می‌تواند مواد شیمیایی و یا ترکیبات دارویی باشد که جهت بهبود بیماری‌های عادی و یا مزمن مصرف شده و متعاقباً می‌تواند اثرات سوء بر روی جنین داشته باشد. مادران مبتلا به بیماری صرع از جمله مادرانی می‌باشند، که مجبور به مصرف دائم دارو جهت کنترل بیماری می‌باشند^(۱). زیرا قطع داروهای مذکور باعث افزایش دفعات حملات و تشنج شدید تر در بیماران می‌گردد^(۲). Sullivan و همکارانش ضمن مطالعه اثرات ترا توژنیستیه بعضی از داروهای ضد صرع بر روی موش، میزان متفاوتی از شیوع ناهنجاری‌های مادرزادی را گزارش کرده‌اند^(۳). بعضی از محققین به تفاوت در بروز ترا توژنیستیه در موجودات مختلف اشاره نموده اند. بر اساس این مطالعات اختلاف در سیستم آنزیمی کبدی موجود در جانوران می‌تواند در چگونگی جذب و مقدار غلظت ترکیبات مذکور، نیز مؤثر باشد. Harbinson و همکارانش ضمن مطالعاتی به تفاوت‌های حساسیتی در رابطه با ترا توژنیستیه فنی توانی در موش صحرایی و موش آزمایشگاهی اشاره نموده و مرگ داخل رحمی و کاهش رشد جنین را گزارش نموده‌اند^(۴).

مطالعاتی که در انسان انجام گرفته است، اغلب به صورت آینده نگر و یا گذشته نگر بوده و با توجه به محدودیت‌های تحقیقاتی در انسان اطلاعات خاصی را در بر نداشته است. Samren در تحقیقی آماری که از کشورهای اروپایی جمع آوری شده بود، ناهنجاری‌های مادرزادی ناشی از مصرف والپروات و کلونازپام را گزارش نموده است^(۶,۵).

اسید فولیک از جمله ترکیباتی است که جهت کاهش ناهنجاری‌های لوله عصبی به زنان باردار تجویز می‌گردد و این دارو همواره به عنوان یکی از داروهای

زیرمیکروسکوپ جهت وضعیت اندام‌ها و ستون فقرات، جمجمه و غیره بررسی شدند. پس از بررسی مقدماتی و یادداشت ناهنجاری‌های محرز آناتومیکی، نمونه‌ها در داخل محلول فیکساتیو جهت ثبوت بافتی قرار گرفت. همچنین میزان حاملگی (Pregnancy rate) در گروه‌های مختلف بررسی شد. به این صورت که حیواناتی که پلاک واژنی نشان دادند به عنوان مواردی که آمیزش داشتند، تلقی شده و وقوع یا عدم وقوع حاملگی در آن‌ها ثبت شد. مقایسه آماری میزان حاملگی و نیز میزان ناهنجاری‌های مادرزادی در گروه‌های مختلف با استفاده از آزمون ANOVA و Chi-squared گردید.

یافته‌ها

نتایج نشان داد که تجویز داروهای فنی توئین و فنوباریتال در روزهای ۷ تا ۱۳ حاملگی به موش‌های سوری باعث یک سری ناهنجاری‌های جنینی می‌شود. در بین گروه‌های تجربی دریافت کننده فنی توئین که به صورت دوز چند گانه تجویز شده بود، ناهنجاری‌های مختلف از جمله شکاف کام، اسپینایفیدا، کانگرن دم و اگزانسفالی مشاهده گردید (جدول شماره ۱).

مقایسه گروه کنترل با گروه دریافت کننده فنی توئین نشان داد که تفاوت درصد ایجاد ناهنجاری در گروه فنی توئین نسبت به گروه کنترل، معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.0001$). در گروه فنوباریتال به ترتیب شکاف کام (۷/۶ درصد)، بیشترین و اسپینا بیفیدا (۲/۵ درصد)، کمترین فراوانی را داشت. شیوع این ناهنجاری‌ها نیز از نظر آماری در مقایسه با گروه کنترل، معنی‌دار بود ($p < 0.0001$). درصد وقوع ناهنجاری در گروه دریافت کننده فنی توئین (۲۸/۶ درصد) و در مقایسه با گروه فنوباریتال (۱۹ درصد) نیز بسیار بیشتر بود (جدول شماره ۱).

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از موش سوری نژاد Bulb C با سن حدود ۳ ماه استفاده گردید. جهت تنظیم شرایط محیطی، ابتدا موش‌ها در شرایط مناسب سیکل نوری (۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی)، دما و غذا نگهداری شدند. سپس به ازاء دو موش ماده، یک موش نر در قفس قرار داده شد و صبح روز بعد با مشاهده پلاک واژنی، روز اول حاملگی مشخص گردید. سپس موش‌های حامله به ۶ گروه تقسیم شدند، گروه اول به عنوان کنترل در نظر گرفته شد و معادل دوز داروهای مورد استفاده به آن‌ها آب مقطترتریق گردید. گروه دوم فقط داروی فنی توئین (۴۵ mg/kg)، گروه سوم فنوباریتال (30mg/kg)، گروه چهارم اسید فولیک (15µg/kg)، گروه پنجم فنی توئین و اسید فولیک و گروه ششم فنوباریتال و اسید فولیک دریافت نمودند. نظر به این که اسید فولیک به صورت خوراکی تجویز می‌شود، این دارو به وسیله گاواز خورانده شد. تزریقات نیز به صورت درون صفاقی (Intraperitoneal) بود. با توجه به اثرات مسمومیت‌زاوی در جنین و سقط تعداد زیادی از جنین‌ها در انتهای فقط ۴۳ موش حامله جهت تحقیق، موجود بود.

زمان گرفتن دارو در فاصله روزهای ششم تا سیزدهم حاملگی (روش دوز چند گانه) یعنی از شروع لانه گزینی تا زمان ارگانوژن در ساعت ۸ بامداد هر روز ادامه داشت.

موش‌ها در روز نوزدهم حاملگی بی‌هوش و پس از باز کردن شکم، جنین‌های موجود در شاخ رحمی خارج گردید. سپس جنین‌ها در سرم فیزیولوژیکی شستشو داده شد و جنین‌های ناهنجار ابتدا از نظر ظاهری ضمن قرار گرفتن در سرم فیزیولوژیک بررسی گردید. نظر به این که بررسی این ناهنجاری‌ها نیاز به مطالعه دقیق تری داشت، از میکروسکوپ استریو Zeiss مدل MC-80 با بزرگنمایی ۴۰، ۶۰ و ۱۰۰ استفاده گردید. جنین‌ها در

جدول شماره ۱: مقایسه میزان ناهنجاری در گروههای مختلف تحت تأثیر داروهای ضد صرع باکترل در جنین موش سوری

مجموع ناهنجاری	سایر ناهنجاری‌ها	گانگرن دم	شکاف کام	اسپینا یفیدا	اگرانفسالی	کل جنین	گروه
تعداد(درصد)	تعداد(درصد)	تعداد(درصد)	تعداد(درصد)	تعداد(درصد)	تعداد(درصد)	تعداد(درصد)	
۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۱۰۰	کترول
۱۶(۲۸/۶)	*۲(۳/۶)	۲(۳/۶)	۶(۱۰/۷)	۵(۷/۱)	۱(۱/۸)	۵۶	فی توئین
۱۵(۱۹)	**۱(۱/۳)	۳(۵/۱)	۶(۱۰/۷)	۲(۲/۵)	۳(۳/۸)	۷۹	فتو باریتال
۶(۱۰/۷)	۰(۰)	۱(۱/۸)	۳(۵/۴)	۲(۳/۶)	۰(۰)	۵۶	فی توئین+ اسید فولیک
۲(۳/۸)	۰(۰)	۰(۰)	۱(۱/۹)	۱(۱/۹)	۰(۰)	۵۲	فتو باریتال+ اسید فولیک
۴(۶/۸)	***۱(۱۷)	۱(۱/۷)	۰(۰)	۲(۳/۴)	۰(۰)	۵۹	اسید فولیک

*- یک جنین مبتلا به ناهنجاری فقط ناف (امفالوسل) و دیگری مبتلا به همی پلزی و اسکولیوز بود.

**- این جنین علاوه بر گانگرن دم دچار تغییر شکل و گانگرن در ناحیه پای چپ نیز بود.

***- جنین نابالغ و بدقواره

درصد، در گروه فنوباریتال ۵۲/۹ درصد و در گروه کنترل ۶۲/۵ درصد بوده است. اختلاف میزان حاملگی بین گروه اول در مقایسه با گروه کنترل معنی دار بوده است ($P < 0.05$). بقیه گروهها اختلاف معنی داری را با گروه کنترل نشان ندادند.

جدول شماره ۲: مقایسه میزان باروری و مرگ و میر جنین در گروههای موش سوری تحت تاثیر فنی توئین و فنوباریتال به تنها بی و همراه با اسید فولیک

* معنی دار در مقایسه با گروه کنترل $P < 0.05$

مقایسه گروه دریافت کننده فنی توئین (۲۸/۶ درصد) و گروه فنی توئین و اسیدفولیک (۱۰/۷ درصد) نشان داد که درصد وقوع ناهنجاری در گروه اخیر به طور معنی داری کاهاش یافته است ($p=0.01$) و همچنین تفاوت ایجاد ناهنجاری در گروه دریافت کننده فنوباربیتال (۱۹/۳ درصد) و گروه فنوباربیتال و اسید فولیک ($p=0.01$) درصد نیز معنی دار بود. بدین ترتیب تجویز اسید فولیک به صورت درمان ترکیبی با داروهای فنی توئین و فنوباربیتال به موش‌های حامله درصد ابتلاء به ناهنجاری‌ها را در جنین کاهاش می‌دهد. آنالیز آماری نشان می‌داد بین گروه کنترل و گروه توازن فنی توئین و اسید فولیک درصد نا هنجاری معنی دار ($p<0.01$) بوده، در حالی که وقوع ناهنجاری در گروه دریافت کننده فنوباربیتال و گروه فنوباربیتال و اسید فولیک معنی دار نبوده است ($p>0.01$).

یافته های مربوط به میزان حاملگی (Pregnancy rate) در گروه های مختلف در جدول شماره ۲ آورده شد. در موش های دریافت کننده فنی توثیق میزان حاملگی ۳۱/۶

بحث

نیز ناهنجاری‌های عمد (Major)، تأخیر رشد جنینی و هیپوپلازی صورت را در فرزندان متولد شده از مادران مبتلا به صرع که دارو مصرف می‌نمودند در مقایسه با مادران مصروف‌عی که دارو دریافت ننموده بودند، مشاهده کردند(۱۴).

تحقیقات دیگر نیز نشان داده است که فنی توئین و فنوباریتال با غلظت بالا می‌تواند نفوذ پذیری غشاء نسبت به یون کلسیم را کاهش داده و با مهار روندهای وابسته به کلسیم، از جمله آزاد سازی واسطه‌های شیمیایی و هورمونی باعث مهار استیل کولین گردد. متعاقب این فرآیند با مهار جذب آمینو اسید‌ها می‌تواند بر پروتئین سازی نیز اثر گذاشته و در نتیجه بر ساختمنان اعضاء نیز اثر تخریبی داشته باشد(۱). اثر مخرب مذکور نیز می‌تواند به صورت ناهنجاری‌های مشاهده شده در این تحقیق بروز نماید و با تداخل در عدم رشد سلولی و عدم اتصال زواید کامی و یا کاهش در تکثیر سلولی و مهار پروتئین سازی باعث اختلال در رشد و نقص در تکامل اندام‌ها گردد.

همان‌طور که از نتایج این تحقیق مشخص گردد، با افزایش اسید فولیک می‌توان درصد وقوع این ناهنجاری‌ها را کاهش داد، به طوری که درصد ناهنجاری‌های فنی توئین از ۲۸/۶ درصد در اثر مصرف توان اسیدفولیک به ۱۰/۷ درصد کاهش یافته است. اثر آنتی‌فولات داروهای ضد صرع به خصوص فنی توئین که از جمله عوارض ناهنجاری‌زای دیگر این تحقیق می‌باشد، نیز در راستای تحقیقات دیگران بوده است. کمبود فولات در اثر افزایش کاتabolیسم و یا دفع بیش از حد آن می‌تواند در ایجاد عوامل آنتی‌فولات داروهای ضد صرع مؤثر باشد(۱۵،۱۴،۱۳). اسید فولیک با اثر تحریکی در ستر DNA در رشد و تمایز سلولی تأثیر داشته و مطالعات نشان داده است که تجویز توازن فولیک

نتایج نشان داد که دو داروی فنی توئین و فنوباریتال دارای اثرات تراوتوزنیستیه می‌باشند. داروهای ضد صرع با ویژگی‌های مشترک از جمله جذب خونی و انتقال در پلاسما می‌توانند به راحتی از خون عبور نموده و در نهایت توسط مکانیسم کبدی دفع گردد(۱). فنی توئین و فنوباریتال با عبور از جفت و با ورود به بدن جنین دارای سطح پلاسمایی برابر با بدن مادر می‌گردد و در نتیجه می‌توانند از طریق خون و مایعات بدن در ماتریکس خارج سلولی نیز منتشر گردد. با توجه به نقش ماتریکس خارج سلولی در تکامل جنین، ممکن است این داروها از این طریق بر تکامل جنین از جمله القای سلولی، مهاجرت و تکثیر سلولی اثر گذاشته و حتی افزایش آن‌ها در سطح پلاسما می‌تواند باعث نفایص جنینی گردد(۱۰).

فنی توئین و فنوباریتال در طبقه‌بندی F.D.A (انجمان غذا و دارو)، جزء گروه D قرار دارند که مصرف آن توسط زنان باردار بامحدودیت‌هایی همراه است(۱۱). در تحقیق حاضر نقش مخرب این داروها و اثرات تراوتوزنیک آن‌ها در ایجاد ناهنجاری‌های جنینی نظری شکاف کام، اسپینایفیدا، گانگرن دم و اگز انسفالی تایید گردید.

MC Auley در مطالعه‌ای مروری ضمن بررسی فارماکوسینتیک داروهای ضد صرع به مراقبت‌های قبل از بارداری اشاره نموده است(۱۲). وی معتقد است قبل از اقدام به بارداری در زنان بیمار باید یک بررسی کلی درباره دوز دارو و عوامل تعديل کننده آن صورت گیرد و در رابطه با تداخل داروهای آنزیمی و یا فولیک اسید، جهت کنترل داروها نیز تصمیمات لازم اتخاذ گردد. در این تحقیق، ناهنجاری‌های اسکلتی نظری اگزانسفالی و اسپینایفیدا و شکاف کام مشاهده گردید. در حالی که در برخی مطالعات به صورت مخروطی شدن و هیپوپلازی بندانگشتان گزارش شده بود(۱۳)، Holmes و همکارانش

مهاجرت سلولی، القاء و تمایز سلول هاو یا تغییر در ماتریکس خارج سلولی نیز باشد. این عوامل در نهایت باعث تشکیل اندام های ناهنجار و یا مرگ سلولی و سقط جنین می گردد(۱۹). تاثیرات فنی توئین و فتوباربیتال در افزایش مرگ سلولی و نیز سقط جنین می تواند توجیه کننده کاهش میزان حاملگی حیوانات دریافت کننده داروهای مذکور باشد.

براساس یافته های این تحقیق می توان گفت که با استفاده از اسید فولیک می توان خطر ایجاد ناهنجاری مادرزادی توسط داروهای ضد صرع فنی توئین و فتوباربیتال را کاهش داد.

اسید و فنی توئین می تواند باعث کاهش اثر تراتوژنیستیه این دارو گردد(۱۶،۱۷).

اختلالاتی نظیر اسپیناپیدا و اگزانسفالی که مربوط به نقاچیں لوله عصبی می باشد نشان دهنده اختلال در چین خوردگی لوله عصبی اولیه و یا نقص در بسته شدن سوراخ عصبی (Neuropore) قدمای می باشد، که ممکن است درنتیجه اختلال در ستون ماتریکس و یا DNA بوده و عدم تشکیل کالواریا را نیز به دنبال داشته باشد(۱۷). طبق مطالعات انجام شده، تجویز توأم اسید فولیک و فنی توئین باعث کاهش اثر تراتوژنیستیه این دارو گردیده است. اختلالات مذکور می تواند در اثر اشکال در

فهرست منابع

- 1- Roger JP, Brian SM, Antiepileptic drugs in katzung, B, G. ed. *Basic and clinical pharmacology*. 7th edition Stanford: Appleton & lange, 1998: 386-408.
- 2- Hanson JW, Smith DW. The fetal hydantoin syndrome. *J Pediatr* 1976; 87(2): 285-290.
- 3- Sullivan FM, Melhatton PR. A comparison of the teratogenic activity of the antiepileptic drugs carbamozepine, clonazepam, ethosuximide, phenobarbital, phenytoin and primidone in micetoxicol. *Appl Pharmacol*. 1977; 40: 365-378.
- 4- Harbison RD, Becker BA. Diphenylhydantoin teratogenicity in rats. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1972; 22: 193-200.
- 5- Mallow DW, Herrick MK, Gathman G. Fetal exposure to anticonvulsant drugs. *Arch Pathol Lab Med*. 1980; 104: 215-18.
- 6- Samren EB, Van duijn CM, Koch S, Hiilesma VK, Klepel H. Maternal use of antiepileptic drugs and the risk of major congenital malformations: a joint European prospective study of human teratogenesis associated with maternal epilepsy. *Epilepsia*. 1997; 38(9): 981-990.
- 7- Dansky LV, Rosenblatt DS, Andermann E. Mechanism of teratogenesis: folic acid and antiepileptic therapy. *Neurology*. 1992, 42 (Suppl 5): 32-42.
- 8- Holmes LB, Harvey EA, Brown KS, Hayes AM, Khoshbin S. Anticonvulsant teratogenesis, A study design for newborn infants. *Teratology*. 1994; 49: 202-207.
- 9- Gaily E, Granstrom ML, Hiilesma V, Brady A. Minor anomalies in offspring of epileptic mothers. *J Pediatr* 1988; 112: 520-529.
- 10- Mirkin BL. Diphenylhydantoin: Placental transport, fetal localization, neonatal

- metabolism and possible teratogenic effects. *J Pediatr.* 1971; 78: 329-337.
- 11- Khodam R. *Generic medicine of Iran.* 2nd edition, Hayan pulisher, 1998: 551-3.
- 12- Mc Auley JW, Anderson GD. Treatment of epilepsy in women of reproductive age: pharmacokinetic considerations. *Clin. Pharmacokinet* 2002; 41(8): 559-79.
- 13- Bokhari A, Connolly S, Coull BA, Harvey EA, Holmes LB. Effects on toes from prenatal exposure to anticonvulsants. *Teratology* 2002; 66(3): 122-6.
- 14- Holmes LB, Harvey EA, Coull BA, Huntington KB, Khoshbin S, Hayes AM, Ryan LM. The teratology of anticonvulsant drugs. *N Engl J Med* 2001; 344(15): 1132-8.
- 15- Buehler BA, Delimont D, Vanweas M, Finnel RH. Prenatal prediction of the fetal hydantoin syndrome. *N Engl J Med* 1990; 322: 1567-1572
- 16- Klipson FA. Subnormal serum folate and macrocytosis associated with anticonvulsant drug therapy. *Blood* 1964; 23: 68-83.
- 17- Kondo A, Kimura K, Isobe Y, Kamihira O, Matsuura O, Gotoh M, Okai I. Folic acid reduces risks of having fetus affected with neural tube defects: dietary folate and plasma folate concentration. *Nippo Hinyokikai Gakkai Zasshi* 2003; 94(5): 551-9.
- 18- Schardein JL, Dresner AJ, Hentz DL, Petrere A, Fitzgerald JE. The modifying effect in folic acid and the diphenylhydantoin induced teratogenicity in mice. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1973; 24: 150-158.
- 19- Kaufman MH. The role of the embryology in teratology research, with particular references to the development of the neural tube and heart. *J Reprod Fert* 1981; 62: 607-623.