

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

منوچهر عدالت جو (M.Sc.)
الهام علی آبادی (Ph.D.)

صغری بهمن‌پور (Ph.D.)
طاهره طلائی (Ph.D.)

چکیده

سابقه و هدف: صرع یک بیماری مزمن عصبی است که حدود یک در صد مردم جهان به آن مبتلا می باشند. اثر تراتوز نیسیت داروهای ضد صرع، موضوعی مهم و در عین حال مورد شک و تردید می باشد. از آنجا که میلیون‌ها نفر از این دارو استفاده می نمایند، تاثیر ناهنجاری‌زای آن حتی با احتمال نا چیز می تواند خطر ساز باشد. در این تحقیق، ضمن مطالعه اثر تراتوز نیسیت دو داروی فنی توئین و فنوباریتال، اثر آنتی تراتوزنیک 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 مقطر (حلال دارو) به آن‌ها تزریق گردید، به گروه دوم تا ششم به ترتیب فنی توئین (45 mg/kg)، فنو باریتال (3mg/kg)، اسید فولیک (15µg/kg)، فنی توئین و اسید فولیک، فنو باریتال و اسید فولیک، تزریق و یا به طریق گاوآژ خورانده شد. با توجه به اثرات مسمومیت‌زایی 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 اسپینایفیدا و گانگرن 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 فنو باریتال ۱۹ درصد بوده است. نتایج همچنین نشان داد که میزان ناهنجاری‌ها در اثر مصرف توأم فولیک اسید با داروهای مذکور کاهش می یابد؛ به طوری که در اثر مصرف توأم فنی توئین و اسید فولیک به میزان ۱۰/۷ درصد و فنوباریتال و اسید فولیک به میزان ۳/۸ درصد تقلیل می‌یابد.

استنتاج: یافته‌های این تحقیق ضمن تایید اثرات تراتوزنیک فنی توئین و فنوباریتال 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

✉ تاریخ دریافت: ۸۲/۴/۲۲ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۸۲/۶/۱۶ تاریخ تصویب: ۸۲/۱۰/۱۰

✉ شیراز - خیابان زند - دانشکده پزشکی - گروه علوم تشریحی - کد پستی ۷۱۳۴۴

مقدمه

مادران در طی دوران بارداری در معرض مواد تراتوژن 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 دایم 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 تراتوژنیسته 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 تراتوژنیسته 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 تراتوژنیسته فنی توئین 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 (۵، ۶).

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

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 تراتوژنیسته 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 مورد مطالعه به موش تجویز گردید.

تأثیر توکسیسته و ناهنجاری‌زایی بالقوه داروهای مذکور مسأله‌ای 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، فرزندان 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 تئوری در مورد چگونگی تاثیر داروهای ضد صرع مطرح می‌باشد. بعضی معتقدند که داروهای ضد صرع دارای خاصیت تراتوژنی می‌باشند (۲). مطالعاتی دیگر نیز اثری 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).

علی‌رغم مطالعات متعدد، مسأله تراتوژنیسته داروهای ضد صرع هنوز به عنوان یک معضل در جامعه پزشکی زنان و مامایی مطرح می‌باشد (۱). تحقیق مذکور نیز بر اساس مطالعات قبلی و با توجه به تئوری اول یعنی تراتوژن 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.

مواد و روش ها

در این تحقیق از موش سوری نژاد Bulb C با سن حدود ۳ ماه استفاده گردید. جهت تنظیم شرایط محیطی، ابتدا موش ها در شرایط مناسب سیکل نوری (۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی)، دما و غذا نگهداری شدند. سپس به ازا 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 موش های حامله به ۶ گروه تقسیم شدند، گروه اول به عنوان کنترل در نظر گرفته شد و معادل دوز داروهای مورد استفاده به آن ها آب مقطر تزریق گردید. گروه دوم فقط داروی فنی توئین (45 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 می شود، این دارو به وسیله گاواژ خوراندن شد. تزریقات نیز به صورت درون صفاقی (Intraperitoneal) بود. با توجه به اثرات مسمومیت زایی در جنین و سقط تعداد زیادی از جنین ها در انتها فقط ۴۳ موش حامله جهت تحقیق، موجود بود.

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

موش ها در روز نوزدهم حاملگی بی هوش و پس از باز کردن شکم، جنین های موجود در شاخ رحمی خارج گردید. سپس جنین ها در سرم فیزیولوژیکی شستشو داده شد و جنین های ناهنجار ابتدا از نظر ظاهری ضمن قرار گرفتن در سرم فیزیولوژیکی بررسی گردید. نظر به این که بررسی این ناهنجاری ها نیاز به مطالعه دقیق تری داشت، از میکروسکوپ استریو Zeiss مدل MC-80 با بزرگ نمایی ۶۰،۴۰ و ۱۰۰ استفاده گردید. جنین ها در

زیر میکروسکوپ جهت وضعیت اندام ها و ستون فقرات، مجسمه و غیره بررسی شدند. پس از بررسی مقدماتی و یادداشت ناهنجاری های محرز آناتومیک، نمونه ها در داخل محلول فیکساتیو جهت ثبوت بافتی قرار گرفت. همچنین میزان حاملگی (Pregnancy rate) در گروه های 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 آن ها ثبت شد. مقایسه آماری میزان حاملگی و نیز میزان ناهنجاری های مادرزادی در گروه های مختلف با استفاده از آزمون Chi-squar و ANOVA انجام گردید.

یافته ها

نتایج نشان داد که تجویز داروهای فنی توئین و فنوباریتال در روزهای ۷ تا ۱۳ حاملگی به موش های سوری باعث یک سری ناهنجاری های جنینی می شود. در بین گروه های تجربی دریافت کننده فنی توئین که به صورت دوز چند گانه تجویز شده بود، ناهنجاری های 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، معنی دار می باشد ($p < 0.0001$). در گروه فنوباریتال به ترتیب شکاف کام (۷/۶ درصد)، بیش ترین و اسپینایفیدا (۲/۵ درصد)، کم ترین فراوانی را داشت. شیوع این ناهنجاری ها نیز از نظر آماری در مقایسه با گروه کنترل، معنی دار 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 بیش تر بود (جدول شماره ۱).

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

گروه	کل جنین	اگرانسفالی (تعداد(درصد)	اسپینا بیفیدا (تعداد(درصد)	شکاف کام (تعداد(درصد)	گانگرن دم (تعداد(درصد)	سایر ناهنجاری‌ها (تعداد(درصد)	مجموع ناهنجاری (تعداد(درصد)
کنترل	۱۰۰	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)
فنی توتین	۵۶	۱(۱/۸)	۵(۷/۱)	۶(۱۰/۷)	۲(۳/۶)	*۲(۳/۶)	۱۶(۲۸/۶)
فنو باریتال	۷۹	۳(۳/۸)	۲(۲/۵)	۶(۱۰/۷)	۳(۵/۱)	**۱(۱/۳)	۱۵(۱۹)
فنی توتین+ اسیدفولیک	۵۶	۰(۰)	۲(۳/۶)	۳(۵/۳)	۱(۱/۸)	۰(۰)	۶(۱۰/۷)
فنو باریتال+ اسیدفولیک	۵۲	۰(۰)	۱(۱/۹)	۱(۱/۹)	۰(۰)	۰(۰)	۲(۳/۸)
اسید فولیک	۵۹	۰(۰)	۲(۳/۴)	۰(۰)	۱(۱/۷)	***۱(۱/۷)	۴(۶/۸)

*- یک جنین مبتلا به ناهنجاری فتق 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 معنی‌دار بوده است ($P < 0/05$). بقیه گروه‌ها اختلاف معنی‌داری را با گروه کنترل نشان ندادند.

جدول شماره ۲: مقایسه میزان باروری و مرگ و میر جنین در گروه‌های موش سوری تحت تأثیر فنی توتین و فنوباریتال به تنهایی و همراه با اسید فولیک

گروه	تعداد پلاک	تعداد موش حامله	تعداد جنین‌های زنده	تعداد جنین‌های مرد و جذبی	میانگین تعداد جنین در هر موش
کنترل	۱۶	۱۰ (۶۲/۵)	۱۰۰	۶ (۵/۶)	۱۰/۱
فنی توتین	۱۹	* ۶ (۳۱/۶)	۵۶	۵ (۸/۲)	۹/۳
فنو باریتال	۱۷	۹ (۵۲/۹)	۷۹	۴ (۴/۸)	۸/۸
اسید فولیک	۱۴۰	۶ (۶۰)	۵۹	۳ (۴/۸)	۹/۸
فنی توتین+ اسیدفولیک	۷	۶ (۸۵/۷)	۵۶	۴ (۶/۷)	۹/۳
فنو باریتال+ اسیدفولیک	۱۲	۶ (۵۰)	۵۲	۳ (۵/۴)	۸/۷

* معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل $P < 0/05$

مقایسه گروه دریافت‌کننده فنی توتین (۲۸/۶ درصد) و گروه فنی توتین و اسیدفولیک (۱۰/۷ درصد) نشان داد که درصد وقوع ناهنجاری در گروه اخیر به طور معنی‌داری کاهش یافته است ($p = 0/01$) و همچنین تفاوت ایجاد ناهنجاری در گروه دریافت‌کننده فنوباریتال (۱۹ درصد) و گروه فنوباریتال و اسید فولیک (۳/۸ درصد) نیز معنی‌دار بود ($p = 0/01$). بدین ترتیب تجویز اسید فولیک به صورت درمان ترکیبی با داروهای فنی توتین و فنوباریتال به موش‌های حامله درصد ابتلاء به ناهنجاری‌ها را در جنین کاهش می‌دهد. آنالیز آماری نشان می‌داد بین گروه کنترل و گروه توأم فنی توتین و اسید فولیک درصد ناهنجاری معنی‌دار ($p < 0/01$) بوده، درحالی‌که وقوع ناهنجاری در گروه دریافت‌کننده فنوباریتال و گروه فنوباریتال و اسید فولیک معنی‌دار نبوده است ($p < 0/11$).

یافته‌های مربوط به میزان حاملگی (Pregnancy rate) در گروه‌های مختلف در جدول شماره ۲ آورده شد. در موش‌های دریافت‌کننده فنی توتین میزان حاملگی ۳۱/۶

بحث

نتایج نشان داد که دو داروی فنی توئین و فنوباریتال دارای اثرات تراتوژنیسته 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 گردند (۱). فنی توئین و فنوباریتال با عبور از جفت و با ورود به بدن جنین دارای سطح پلاسمایی برابر با بدن مادر می‌گردند و در نتیجه می‌توانند از طریق خون و مایعات بدن در ماتریکس خارج سلولی نیز منتشر گردند. 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 نقایص جنینی گردد (۱۰).

فنی توئین و فنوباریتال در طبقه‌بندی F.D.A (انجمن غذا و دارو)، جزء گروه D قرار دارند که مصرف آن توسط زنان باردار با محدودیت‌هایی همراه است (۱۱). در تحقیق حاضر نقش مخرب این داروها و اثرات تراتوژنیک آن‌ها در ایجاد ناهنجاری‌های جنینی نظیر شکاف کام، اسپینایفیدا، گانگرن دم و اگر انسفالای تایید گردید.

MC Auley در مطالعه ای مروری ضمن بررسی فارماکوسیتیک 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 تعدیل‌کننده 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 نظیر اگرانسفالای و اسپینایفیدا و شکاف کام مشاهده گردید. درحالی‌که در برخی مطالعات به صورت مخروطی شدن و هیپوپلازی بندانگشتان گزارش شده بود (۱۳). Holmes و همکارانش

نیز ناهنجاری‌های عمده (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 مصروعی که دارو دریافت ننموده بودند، مشاهده کردند (۱۴).

تحقیقات دیگر نیز نشان داده است که فنی توئین و فنو با ریتال 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 ساختمان 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 توام اسید فولیک به ۱۰/۷ درصد کاهش یافته است. اثر آنتی فولات 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 کاتابولیسم و یا دفع بیش از حد آن می‌تواند در ایجاد عوامل آنتی فولات داروهای ضد صرع مؤثر باشد (۱۳، ۱۴، ۱۵). اسید فولیک با اثر تحریکی در سنتر DNA در رشد و تمایز سلولی تأثیر داشته و مطالعات نشان داده است که تجویز توام فولیک

مهاجرت سلولی، القاء و تمایز سلول ها و یا تغییر در ماتریکس خارج سلولی نیز باشد. این عوامل در نهایت باعث تشکیل اندام‌های ناهنجار و یا مرگ سلولی و سقط جنین می‌گردد (۱۹). تأثیرات فنی توئین و فتوباریتال در افزایش مرگ سلولی و نیز سقط جنین می‌تواند توجه‌کننده کاهش میزان حاملگی حیوانات دریافت‌کننده داروهای مذکور باشد.

براساس یافته‌های این تحقیق می‌توان گفت که با استفاده از اسید فولیک می‌توان خطر ایجاد ناهنجاری مادرزادی توسط داروهای ضد صرع فنی توئین و فتوباریتال را کاهش داد.

اسید و فنی توئین می‌تواند باعث کاهش اثر تراژوژنیسته این دارو گردد (۱۶، ۱۷).

اختلالاتی نظیر اسپینایفیدا و اگرانسفالی که مربوط به نقایص لوله عصبی می‌باشد نشان دهنده اختلال در چین خوردگی لوله عصبی اولیه و یا نقص در بسته شدن سوراخ عصبی (Neuropore) قدامی می‌باشد، که ممکن است در نتیجه اختلال در سنتز 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 تراژوژنیسته این دارو گردیده است. اختلالات مذکور می‌تواند در اثر اشکال در

فهرست منابع

- 1- Roger JP, Brian SM, Antiepileptic drugs in katzung, B, G. ed. *Basic and clinical pharamacology*. 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 carbamazepine, clonazepam, ethosuximide, phenobarbital, phenytoin and primidone in micetocol. *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 Oprenatal 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 syndrom. *N ngl J Med* 1990, 322: 1567-1572
- 16- Klipson FA. Subnormal serum folate and macrocytosis associated with anticonvulsant drug threapy. *Blood* 1964; 23: 68-83.
- 17- Kondo A, Kimura K, Isobe Y, Kamihiro 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.