

رابطه بین زمان تجویز اسید والپروئیک و پیدایش نقایص کرانیوفاسیال در جنینهای رت نژاد ویستار

محمد رضا نیکروش^{Ph.D.}، مهدی جلالی^{Ph.D.}*

* گروه علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی مشهد

تاریخ وصول: اسفند ماه ۸۱، تاریخ پذیرش: اردیبهشت ماه ۸۲

چکیده

هدف: این مطالعه با فرض بر این موضوع صورت گرفت که تجویز این دارو ممکن است در یک برهه خاص از زندگی جنینی تکامل بخش خاصی از سیستم اسکلتی مثل ناحیه سر و صورت را تحت تاثیر قرار دهد.

مواد و روشها: در این مطالعه از سه گروه تجربی و سه گروه کنترل رت بارداری نژاد ویستار استفاده شد. برای گروههای تجربی به ترتیب در یکی از روزهای ۹، ۱۰ و ۱۱ بارداری، 80 mg/kg اسید والپروئیک تجویز شد و مشابه این عمل در گروههای کنترل با سرم فیزیولوژی انجام پذیرفت. برای بررسی ناهنجاریهای یاد شده در روز ۱۸، جنینهای متعلق به همه گروهها مورد مطالعه ماکروسکوپی قرار گرفته و ناهنجاریهایی ظاهری آنان به ثبت رسید. به منظور مطالعه میکروسکوپی سر جنینهای یاد شده قطع و مطابق روشهای معمول بافت شناسی آماده سازی شدند. سپس نتایج حاصل از این مطالعات جمع بندی گردیده و مورد ارزیابی و آنالیز آماری قرار گرفت. **یافته ها:** صرف نظر از نقایص تکاملی متفاوتی که در هر یک از گروههای یاد شده مورد مشاهده قرار گرفت، مهمترین نقایصی که در ارتباط با تکامل غیر طبیعی سر و صورت بعضی از نمونه های تجربی به ثبت رسید، ناهنجاریهای مربوط به جنینهای گروه تجربی ۲ بود که در مقایسه با گروههای تجربی ۱ و ۳ (به ترتیب ۱۸ درصد و ۱۶ درصد) به حدود ۶۳ درصد افزایش یافته بود.

ناهنجاریهای یاد شده به صورت اگزانسفالی، هیپوپلازی ماندیبول، میکروفتالمیا و شکاف کام دیده شد و بررسی برشهای میکروسکوپی نیز نشان داد که تکامل استخوانهای صورت و زوائد کامی و فک تحتانی نیز در بعضی از این نمونه ها با اشکال مواجه بوده است.

نتیجه گیری: چنین به نظر می رسد که اسید والپروئیک احتمالاً در برهه های خاصی از بارداری اثرات گوناگونی بر ارگانوژنز جنینی از خود نشان می دهد و به ناهنجاریهای متفاوتی منجر می شود چنانکه بالاترین میزان ناهنجاریهای ناشی از تاثیر این دارو در حدود روز دهم به ناحیه سر و صورت اختصاص می یابد.

کلیدواژه ها: اسید والپروئیک، ناهنجاری، نقایص سر و صورت، موش صحرایی بزرگ

مقدمه

اوایل دوران بارداری می تواند با گذشتن از سد جفتی وارد گردش خون جنین شود و بسته به مقدار و زمان تأثیرگذاری آن، آثار نامطلوبی بر شکل گیری ساختمانهای جنینی بر جای گذارد [۱-۳].

در این رابطه شواهد بالینی موجود بازگو کننده این واقعیت

اگر چه اسید والپروئیک یک داروی ضد صرع شناخته شده و در رابطه با این گونه بیماران در سطح وسیعی مورد استفاده قرار می گیرد در عین حال اثرهای ناهنجاری زایی آن نیز باید همواره مدنظر قرار گیرد. تجربه نشان می دهد که این دارو در

آدرس مکاتبه: مشهد، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، گروه علوم تشریح،
Email: Nikravesh@hotmail.com
کد پستی ۹۱۳۷۶

(روزهای نهم تا یازدهم) مربوط می‌شود.

مواد و روشها

برای این منظور از ۳۶ رت باکره نژاد ویستار استفاده شد که پس از آمیزش و تعیین روز صفر بارداری به طور مساوی به ۳ گروه تجربی و ۳ گروه کنترل تقسیم شدند و تحت شرایط استاندارد خانه حیوانات (آب و غذای کافی و نور و حرارت مناسب) نگهداری شدند.

نمونه‌های مربوط به هریک از گروههای تجربی به ترتیب در ساعت ۸ صبح یکی از روزهای ۹، ۱۰ و ۱۱ بارداری مورد تجویز ۸۰۰ mg/kg اسید والپروئیک (ساخت شرکت داروسازی Labaz فرانسه) قرار گرفتند که با استفاده از Animal feeding صورت گرفت و مشابه این تجویز در گروههای کنترل با استفاده از سرم فیزیولوژی صورت پذیرفت.

سپس با هدف بررسی ناهنجاریهای پدید آمده در روز ۱۸ بارداری، همه رتهای باردار در گروه تجربی و کنترل تحت بیهوشی عمیق سزارین شده و پس از شکافتن شاخه‌های رحم، جنینهای متعلق به هر مادر با ترازوی دیجیتالی به سرعت توزین شده و برای معاینات بعدی به شیشه‌های محتوی تثبیت‌کننده (فرمالین ۱۰ درصد) منتقل شدند.

علاوه بر این، جنینهای مرده و بقایای جنینی در حال جذب در هر یک از موارد مورد شمارش و ثبت قرار گرفت. پس از مرحله تثبیت، جنینهای ناهنجر متعلق به هر یک از مادران از جنینهای با ظاهر سالم جدا شده و ضمن دسته‌بندی ناهنجاریهای مشاهده شده، نقایص پدید آمده دسته‌بندی شدند.

در مرحله بعد، سر جنینهایی که دارای ناهنجاریهای سر و صورت تشخیص داده شده بودند جدا شده و بلوکهای پارافینی از آنها تهیه شد.

سپس از این نمونه‌ها برشهای میکروسکوپی با ضخامت ۱۰ میکرون در جهت کرونال تهیه گردیده و با استفاده از همتوکسیلین و اتوزین مورد رنگ آمیزی قرار گرفت تا در مطالعه میکروسکوپی هر گونه تغییر احتمالی در شکل‌گیری

است که هرگاه مادران باردار در اوایل دوران بارداری در معرض دریافت این دارو قرار گرفته‌اند در فرزندان آنان آثاری از نقایص تکاملی مختلف از جمله نقص در سیستم اسکلتی، سیستم عصبی مرکزی، دستگاه قلبی عروقی و دستگاه اداری تناسلی وجود داشته است [۴-۶]. از سوی دیگر؛ اگرچه در رابطه با تاثیرگذاری این دارو در ارتباط با بروز نقایص جنینی شواهد انکارناپذیری وجود دارد اما هنوز بسیاری از آثار آن ناشناخته مانده است [۷ و ۸] در این رابطه می‌توان به تاثیر آن بر تکامل لوله عصبی و بروز نقایصی از جمله اسپینا بیفیدا و مننگوسل اشاره کرد. پژوهش قبلی در این زمینه نشان داد که تجویز ۶۰۰ mg/kg اسید والپروئیک در دو نوبت و به فاصله ۱۲ ساعت در روز ۹ بارداری رت می‌تواند به پیدایش نقص نادر سیستم عصبی تحت عنوان Syringomyelia منجر شده و به از دست رفتن بخشهای وسیعی از ماده سفید و خاکستری نخاع منتهی شود [۹].

از سوی دیگر؛ دور نمای تحقیق پیرامون آثار آن بر این موضوع دلالت دارد که هنوز در مطالعات آینده اثرهای این دارو جای بحث و بررسی فراوان وجود دارد، زیرا برخی از گزارشهای علمی منتشر شده در خصوص بروز ناهنجاریهای ناشی از تاثیر این دارو بر زمان تجویز و غلظت دارو تاکید نموده است [۱۰-۱۲]. براساس اینگونه مطالعات، تجویز این دارو در مقاطع زمانی خاصی از بارداری ممکن است بروز ناهنجاریهای متفاوتی را در پی داشته باشد که بروز ناهنجاریهای سیستم عصبی [۶]، نقایص اسکلتی از قبیل اسپینا بیفیدا و نقص اندامهای حرکتی [۲] و ناهنجاریهای قلبی عروقی از آن جمله است [۱۱]. بنابراین با توجه به اینکه دوره بحرانی ارگانوژنز در جنین رت بین روزهای ۹/۵ تا ۱۱/۵ بارداری (معادل هفته‌های سوم و چهارم زندگی جنینی انسان) قلمداد شده است [۱۳]، در این پژوهش سعی شده است تا مشخص شود که آیا تجویز اسید والپروئیک بر مبنای آنچه که گفته شد؛ آیا می‌تواند به صورت انتخابی ناحیه خاصی از سیستم اسکلتی مثل تکامل سر و صورت را تحت تاثیر قرار دهد و اگر چنین است نقایص یاد شده بیشتر به کدامیک از روزهای این محدوده زمانی خاص

یافته‌ها

عناصر تشکیل دهنده ناحیه صورت بهتر مشخص گردد.

نقایص پدید آمده در گروه‌های تجربی سه گانه دارای تنوع و تغییر در تعداد این ناهنجاریها بود که بسته به روز تجویز دارو متفاوت بود (جدول ۱ و ۲).

سپس نتایج مربوط به وزن جنینها و نقایص تکاملی ثبت شده گروههای مختلف با استفاده از ANOVA مورد آنالیز آماری قرار گرفت و از برشهای مربوط به نمونه‌های ناهنجار نیز پس از مطالعه میکروسکوپی اقدام به تهیه عکس گردید.

جدول ۱. نتایج جنینی حاصل از هریک از گروه‌های تجربی و کنترل ($\pm$ SEM)

گروه وزن	جنینهای هر گروه	جنینهای ناهنجار	تعداد جذبه‌های جنینی اولیه	تعداد مرگ‌های داخل رحمی	میانگین جنینی به گرم
تجربی ۱	$38 \pm 2/1$	$11 (31/5\%)^{**}$	$9 (17/3\%)^{***}$	$7 (13/4\%)^{***}$	$0/87 \pm 0/14^{***}$
کنترل ۱	$65 \pm 1/8$	۱	-	-	$1/09 \pm 0/57$
تجربی ۲	$49 \pm 1/6$	$10 (20/4\%)$	$5 (8/6\%)$	$4 (6/8\%)$	$0/92 \pm 0/08$
کنترل ۲	63 ± 1	-	-	-	$1/12 \pm 0/14$
تجربی ۳	53 ± 1	$5 (9/4\%)$	$2 (3/4\%)$	$3 (5/1\%)$	$0/97 \pm 0/11$
کنترل ۳	$68 \pm 1/5$	-	-	-	$1/4 \pm 0/42$

* مقایسه میانگین تعداد جنینهای هر یک از گروه‌های تجربی، نسبت به گروه‌های کنترل مشابه و همچنین نسبت به همدیگر معنی دار بود ($P < 0/00001$)

** نسبت جنینهای ناهنجار در گروه تجربی ۱ نسبت به تجربی ۲ دارای اختلاف معنی داری نیست در حالی که نسبت این گروهها در مقایسه با گروه تجربی ۳ معنی دار است ($P < 0/005$).

*** درصد جذبه‌های جنینی و مرگ‌های داخل رحمی نسبت به میانگین کل جنینهای هر گروه (اعم از زنده، جذبی و مرده) محاسبه گردیده است.

**** مقایسه میانگین وزن جنینهای تجربی نسبت به همدیگر معنی دار نبود در حالی که این نسبت در هر یک از گروه‌های تجربی نسبت به کنترل مشابه معنی دار بود. ($p < 0/05$).

جدول ۲. نوع و درصد ناهنجاریهای ایجاد شده نسبت به تعداد جنینهای ناهنجار هر یک از گروهها.

گروه	ناهنجاری سر و صورت	نقص اندام حرکتی	ناهنجاری ستون مهره‌ها	سایر موارد
تجربی ۱*	$2 (18/19\%)^{**}$	$3 (27/28\%)$	$6 (47/54\%)$	-
کنترل	-	۱	۱	-
تجربی ۲	$7 (63/63\%)$	$1 (9/09\%)$	$2 (18/18\%)$	$1 (9/09\%)^{***}$
کنترل	-	-	۱	-
تجربی ۳	$1 (16/66\%)$	$4 (66/66\%)$	-	$1 (16/66\%)^{***}$

* تعداد هر یک از ناهنجاریها در گروه تجربی ۱ نسبت به تجربی ۲ معنی دار است ($P < 0/05$).

** نسبت ناهنجاریهای سر و صورت در گروه تجربی ۱ نسبت به تجربی ۲ نیز کاهش معنی داری را نشان می‌دهد ($P < 0/005$).

*** در میان ناهنجاریهای پدیده آمده در گروه تجربی ۲، یک مورد نقص عدم تشکیل جدار توراکس و در گروه تجربی ۳، یک مورد پیچ‌خوردگی دم نیز مشاهده گردید.

می‌شود [۱۵].

از آنجا که این سلولها در مقابل تراتوژنهایی از قبیل الکل، رتینوئیک اسید و والپروئیک اسید و سایر این‌گونه ترکیبات آسیب‌پذیر هستند هرگونه تغییر در پروسه جابجایی و تمایز آنها می‌تواند به بروز نقایص مختلفی از قبیل تکامل نابهنجار ماکزیلا، ساختمان بینی، ساختمان کام، لبها و ماندیبول منجر شود [۱۶].

یکی از دلایل این آسیب‌پذیری احتمالا این واقعیت است که سلولهای ستیغ عصبی فاقد آنزیمهایی هستند که از بین برنده رادیکالهای آزاد اکسیژن محسوب می‌شوند [۱۷].

این‌گونه رادیکالها تحت تاثیر فعالیت‌های متابولیک مادری از ترکیبات سمی و تراتوژن حاصل می‌شوند و از طریق جفت، محیط سلولهای جنینی در حال تمایز را نیز فرا می‌گیرند [۱۸]. بنابراین طبیعی به نظر می‌رسد که هرگونه عامل مداخله‌گر که در طی این برهه زمانی خاص بتواند بر روند تمایز سلولی این ناحیه تاثیر بگذارد، ناهنجاریهایی از قبیل عدم رشد استخوانهای صورت، تکامل غیر طبیعی استخوانهای ماکزیلا، دیواره بندی ناقص بینی، شکاف کام و شکاف لب و یا هیپوپلازی ماندیبول را ممکن است به دنبال داشته باشد [۱۹].

از سوی دیگر امروزه براساس مطالعات تجربی متعدد که به‌صورت *In vivo* و *In vitro* بر روی جوندگان کوچک انجام گرفته، این موضوع نیز به اثبات رسیده است که اسید والپروئیک به عنوان یک تراتوژن مؤثر می‌تواند به پیدایش ناهنجاریهای مختلفی از قبیل نقایص سیستم عصبی و سیستم اسکلتی منجر شود [۲۰-۲۲].

در این رابطه مشخص شده است که تجویز این دارو می‌تواند به نقایصی از قبیل میکروسفالی و باز ماندن لوله عصبی در ناحیه سر یا در طول کانال نخاعی منجر شود [۲۳-۲۵].

گزارشات کلینیکی در انسان نیز بر این موضوع دلالت دارد که تجویز این دارو در اوایل بارداری می‌تواند به نقایص اسکلتی، ناهنجاریهای قلبی عروقی، ادراری تناسلی، کرانیوفاسیال، شکل‌گیری غیر طبیعی اندامهای حرکتی و اسپینا بیفیدا منجر شود [۲۶-۲۷].

در این رابطه گزارش شده است که ناهنجاریهای یاد شده در

در این میان ناهنجاریهای اسکلتی بیشتر به‌صورت نقایص ستون مهره‌ای به‌صورت عدم تشکیل قوس خلفی مهره‌های پشت و کمر (اسپینابیفیدا) بود که به‌طور عمده در بین جنینهای مربوط به گروه تجربی ۱ مشاهده شد.

تکامل غیر طبیعی اندامهای حرکتی به شکل فوکوملیا، میکرومیلیا (در جنینهای گروه تجربی ۱) و سین داکتیلی (در جنینهای مربوط به گروه تجربی ۳) نمونه‌هایی دیگر از ناهنجاری بود که در جنینهای متعلق به این گروهها مشاهده شد. یک مورد ناهنجاری نادر باز ماندن جدار توراکس و یک مورد پیچ خوردگی دم نیز به ترتیب در جنینهای مربوط به گروههای تجربی ۲ و ۳ به ثبت رسید.

ناهنجاریهای سر و صورت که بخش عمده نقایص جنینی مربوط به جنینهای گروه تجربی ۲ را به خود اختصاص داده بود، به صورت میکروفتالمیا، عدم تقارن صورت و هیپوپلازی ماندیبول و نقص تشکیل جمجمه به‌صورت اگزانسفالی قابل مشاهده بود (شکل ۱).

بررسی برشهای میکروسکوپی نیز نشان داد که درصد قابل توجهی از این نقایص (جدول ۲) با نقص شکاف کام همراه شده است. در تکامل طبیعی کام، زواید کامی ماکزیلا از طرفین به خط وسط رسیده و سپتوم میانی بینی نیز از بالا به سمت پایین امتداد یافته و با آنها جوش می‌خورد.

بدین ترتیب ضمن شکل‌گیری کام سخت، حفرات بینی نیز از یکدیگر متمایز می‌شوند (شکل ۲). در ناهنجاریهای شکاف کام مربوط به نمونه‌های تجربی، زواید کامی به هم نرسیده و زبان در بین آنها باقی مانده بود (شکل ۳). به این ترتیب با عدم اتصال تیغه بینی به زواید کامی، حفرات بینی راست و چپ نیز از همدیگر متمایز نمی‌شوند.

بحث

با پی‌گیری روند تکامل جنینی سر و صورت مشخص می‌شود که سلولهای مشتق از ستیغ عصبی برای تشکیل ناحیه کرانیوفاسیال دارای اهمیت تعیین‌کننده‌ای هستند [۱۴].

در نتیجه اختلال در مهاجرت این سلولها به سمت ناحیه سر و صورت در حال تکامل، منجر به ناهنجاریهای شدید این بخشها

بنابراین چنین به نظر می‌رسد که تاثیر این دارو در روز نهم بارداری علاوه بر ایجاد ناهنجاری، در سطح گسترده‌ای به مرگ جنینی نیز منجر می‌شود.

براساس این یافته‌ها اگر چه از اثرهای امبریوتوکسیک این دارو در روز دهم نیز کاسته نشده است اما در مقایسه ناهنجاریهای ایجاد شده در این سه روز، به نظر می‌رسد که نقایص سر و صورت بالاترین رتبه (۶/۶۳ درصد) و پس از آن به ترتیب نقایص ستون مهره‌ها (۱۸ درصد) و نقایص اندامهای حرکتی (۹ درصد) در رتبه‌های بعدی اهمیت قرار گرفته‌اند.

در روز یازدهم نیز اگرچه به شکل قابل ملاحظه‌ای از دامنه ناهنجاریها کاسته شده است اما هنوز شواهدی از نقایص پدید آمده به چشم می‌خورد که بیشتر به تمایز نهایی اندامهای حرکتی محدود می‌شود.

مقایسه تعداد جنینها نیز بر این موضوع دلالت دارد که اختلاف در تعداد آنها در هر یک از این روزها نسبت به گروههای کنترل و نیز در گروههای تجربی نسبت به همدیگر معنی دار به نظر می‌رسند.

این موضوع ثابت می‌کند که علاوه بر اینکه اسید والپروئیک از راه تاثیرگذاری بر پروسه رشد و تکامل جنینی مانع از ارگانوژنز طبیعی می‌شود، با اختلال در روند تمایز، پروسه تکثیر سلولی را نیز در بافتهای جنینی با مشکل مواجه می‌نماید که کاهش وزن معنی دار جنینهای تجربی نسبت به کنترل دلیل دیگری بر این موضوع محسوب می‌شود.

به هر حال پیدایش ناهنجاریهای متفاوت در روزهای ۹ تا ۱۱ بارداری رت نشان داد که نقایص تکاملی گوناگونی در طی این برهه از زندگی جنینی بروز می‌نماید که میزان آن بسته به روز تجویز دارو تغییر می‌کند.

در عین حال آنچه که به عنوان هدف اصلی در این مطالعه مد نظر قرار گرفت، پیدایش و میزان ناهنجاریهای سر و صورت بود که به صورت هیپوپلازی ماندیبول و شکاف کام و عدم تقارن صورت با بالاترین درصد حاصل در روز دهم زندگی جنینی مشاهده شد.

بنابراین با توجه به شواهد موجود، چنین احتمالی بعید به نظر نمی‌رسد که در حدود روز دهم زندگی جنینی رت که

نوزادانی که مادران آنها در اوایل بارداری اسید والپروئیک دریافت نموده اند نسبت به افراد معمولی ۲۰ برابر بیشتر است [۲۸].

لذا با توجه به اینکه زمان بحرانی ارگانوژنز در جنین رت بین روزهای ۹/۵ تا ۱۱/۵ بارداری تخمین زده می‌شود [۱۳].

هدف از این پژوهش پاسخ به این سؤال است که در کدامیک از روزهای یاد شده تاثیر این دارو ممکن است به ایجاد نقایص تکاملی سر و صورت منجر شود. با توجه به اینکه سطح سرمی اسید والپروئیک با گذشت حدود ۳۰ دقیقه پس از تجویز به بالاترین حد رسیده و حدود ۳ ساعت ثابت می‌ماند [۲۹].

طبیعی به نظر می‌رسد که تاثیر این دارو در هر یک از روزهای یاد شده و حتی در برهه زمانی خاص متعلق به هر روز بتواند در ارتباط با ناهنجاری‌زایی آثار متفاوت و متغیری بر جای گذارد.

نکته دیگر اینکه ثابت شده است که بروز بعضی از ناهنجاریها از قبیل نقایص ستون مهره‌ها در ارتباط با تجویز اسید والپروئیک، نقایص وابسته به دوز محسوب می‌شود [۳۰]. مهمتر اینکه دوزهای متغیر در زمانهای حساس ارگانوژنز حتی ممکن است نواحی خاصی از سیستم اسکلتی را تحت تأثیر قرار دهد چنانکه تجویز ۲ دوز ۶۰۰ میلی‌گرمی در اوایل و اواخر روز ۹ بارداری رت می‌تواند به نقص در تشکیل مهره‌های کمری منجر شود در حالی‌که معادل آن در ۳ دوز ۴۰۰ میلی‌گرمی در روز یاد شده چنین تاثیری را از خود بروز نمی‌دهد [۳۰].

نتایج حاصل از این مطالعه نیز بیانگر این موضوع است که بروز تکامل غیر طبیعی ارگانهای مختلف که تحت تاثیر اسید والپروئیک به وقوع می‌پیوندد، در هر یک از روزهای یاد شده (۹ تا ۱۱) بارداری رت تفاوت پیدا می‌کند.

در این رابطه مشخص شد که بخش عمده‌ای (۵/۳۱ درصد) از ناهنجاریها، متعلق به روز نهم بارداری است که در صد قابل ملاحظه (۴/۵۴ درصد) از این تعداد را در این مرحله، ناهنجاریهای ستون مهره‌ها تشکیل می‌دهد. براساس این یافته‌ها تعداد جذبه‌های جنینی و مرگ‌های داخل رحمی نیز نسبت به سایر گروهها افزایش نشان می‌دهد.

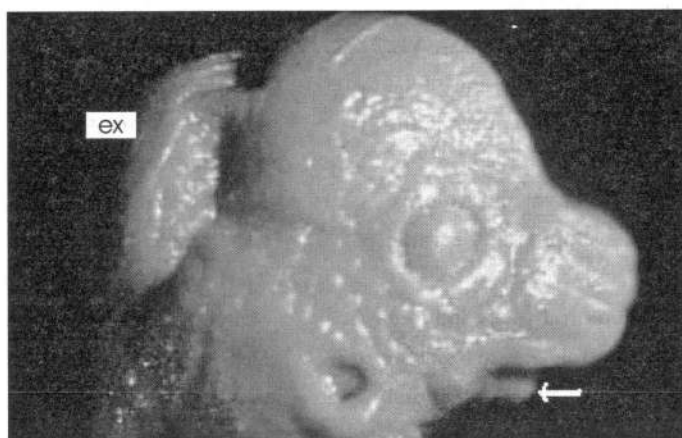
روند مهاجرت این سلوها را به گونه‌ای تحت تاثیر قرار دهد که بخش عمده نقایص جنینی به ناهنجاریهای سر و صورت اختصاص یابد.

سلولهای مزانشیمی مشتق از ستیغ عصبی به ناحیه دهان اولیه (Ostomodeum) می‌رسند تا بر جستگی‌های ماگزیلاری و ماندیبولار را در اطراف آن تشکیل دهند، اسید والپروئیک بتواند

References

1. Oberemm A, Kirschbaum F. Valproic acid induced abnormal development of the central nervous system of three species of amphibians: Implications for neural tube defects and alternative experimental systems. *Teratog Carcinog Mutagen* 1992; 12: 251-62.
2. Bjerkedal T, Czeizel AA, Goujard J, Kallen B. Valproic acid and spina bifida. *Lancet* 1982; 2: 1096.
3. Spiegelstein O, Chatterjee N, Alexander G, Finnell RH. Teratogenicity of valproate conjugates with anticonvulsant activity in mice. *Epilepsy Res* 2003; 57 (2-3): 145-52.
4. Rengasamy P, Padmanabhan RR. Experimental studies on cervical and lumbar ribs in mouse embryos. *Congenit Anom* 2004; 44(3): 156-71.
5. Davidson DL. Letter to the editor. Discordant twins for neural tube defect on treatment with sodium valproate. *Seizure* 2002; 11(7): 445.
6. Sodhi P, Poddar B, Parmar V. Fatal cardiac malformation in fetal valproate syndrome. *Indian J Pediatr* 2001; 68(10): 989-99.
7. Hanson DK, Grafton TF. Lack of attenuation of valproic acid - induced effects by folic acid in rat embryos in vitro. *Teratology* 1991; 43: 575-82.
8. Walmod PS, Foley A, Berezin A, Ellerbeck UH, Nau E, Bock V. Cell motility is inhibited by the antiepileptic compound, valproic acid and its teratogenic analogues, *Cell Motil Cytoskeleton*, 1998; 40: 220-37.
9. Nikraves MR, Jalali M. Valproic Acid-induced Syringomyelia in Rat Fetuses, *Scientific Journal of Hamadan University of Medical Sciences*, 2005; 4: 5-12.
10. Wide K, Winbladh B, Kallen B. Major malformations in infants exposed to antiepileptic drugs in utero, with emphasis on carbamazepine and valproic acid: a nation-wide, population-based register study. *Acta Paediatr* 2004; 93(2): 174-6.
11. Daniels T, Gallagher M, Tremblay G. Effects of valproic acid on cardiac metabolism. *Can J Physiol Pharmacol* 2004; 82(10): 927-33.
12. Scheffer RE, Niskala A. The diagnosis of preschool bipolar disorder presenting with mania: open pharmacological treatment. *J Affect Disord* 2004; 1: 25-34.
13. O'Rahilly S. Early human development and the chief source of information on staged human embryos. *Eur J Obstet Gynec Reprod Biol* 1979; 9: 273.
14. Opperman LA, Adab K, Gakunga PT. Transforming factor-beta 2 and beta 3 regulate fetal rat cranial suture morphogenesis by regulating rates of cell proliferation and apoptosis. *Dev Dyn* 2000; 279: 237-47.
15. Johnston MC, Bronsky PT. Prenatal craniofacial development new insights on normal and abnormal morphogenesis. *Crit Rev Oral Biol Med* 1995; 6(1): 25-79.
16. Johnston MC, Bronsky PT. Prenatal craniofacial development: new insights on normal and abnormal mechanisms. *Crit Rev Oral Biol Med* 1995; 6(4): 398-422.
17. Kulima K, Nystrom AM, Scholz B, Gustafson AL, Dencker L, Stigson M. Valproic acid teratogenicity: a toxicogenomics approach *Environ Health Perspect*, 2004; 112(12): 1225-35.
18. Semczuk-Sikora A, Semczuk M. Effect of anti-epileptic drugs on human placenta and the fetus. *Gynecol* 2004; 75(2): 166-9.
19. Johnston MC, Bronsky PT. Animal models for human craniofacial malformations. *J Craniofac Genet Dev Biol* 1991; 11(4): 277-91.
20. Lundberg YW, Cabrera RM, Greer KA, Zhao J, Garg R, Finnell RH. Mapping a chromosomal locus for valproic acid-induced exencephaly in mice. *Mamm Genome* 2004; 15(5): 361-9.
21. Okada A, Kurihara H, Aoki Y, Bialer M, Fujiwara M. Amidic modification of valproic acid reduces skeletal teratogenicity in mice. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol* 2004; 71(1): 47-53.
22. Menegola E, Broccia ML, Di Renzo F, Giavini E. Comparative study of sodium valproate-induced skeletal malformations using single or double staining

- methods. *Reprod Toxicol* 2002; 16(6): 818-23.
23. Lajeunie E, Barcik U, Thorne JA, Ghouzzi VE, Bourgeois M, Renier D. Craniosynostosis and fetal exposure to sodium valproate. *J Neurosurg* 2001; 95(5): 778-82.
24. Dawson DA. Joint action of t- retinoic and valproic acids on *Xenopus* embryo development. *Teratog Carcinog Mutagen* 1991; 11: 317-25.
25. Oberemm A, Kirschbaum F. Valproic acid induced abnormal development of the central nervous system of three species of amphibians: Implications for neural tube defects and alternative experimental systems. *Teratog Carcinog Mutagen* 1992; 12: 251-62.
26. Omtzigt JG, Los FJ, Grobde DE, Pijpers L, Jahoda MG. The risk of spina bifida aperta after first trimester exposure to valproate in a prenatal cohort. *Neurology*, 1992; 42: 119-25.
27. Omtzigt JG, Nau H, Los FJ, Pijpers L, Lindhout D. The disposition of valproate and its metabolites in the late first trimester and early second trimester of pregnancy in maternal serum, urine, and amniotic fluid: effect of dose comedication and the presence of spina bifida. *Eur J Clin Pharmacol* 1992; 43: 381-8.
28. Bjerkedal T, Czeizel AA, Goujard J, Kallen B. Valproic acid and spina bifida. *Lancet* 1982; 2: 1096.
29. Dencker L, Nau H, D'Argy R. Marked accumulation of valproic acid in embryonic neuroepithelium of the mouse during early organogenesis. *Teratology* 1990; 41: 699-706.
30. Ehlers K, Sturje H, Merker HJ, Nau H. Valproic acid induced spina bifida: a mouse model. *Teratology* 1992; 45: 145-54.



▲ شکل ۱. جنین تجربی مربوط به گروه تجربی ۲، همراه با اکزانسفالی (ex) و هیپوپلازی ماندیبول (←).

✓ شکل ۲. برش میکروسکوپی در جهت کروئال از ناحیه صورت یک جنین در گروه کنترل. در این نما همان گونه که دیده می شود زوائد کامی به هم جوش خورده و منجر به تشکیل کام سخت (p) شده است. سپتوم میانی بینی (ns) با ادامه به سمت پایین و اتصال به کام سخت باعث تمایز حفرات بینی (nc) از همدیگر شده است. در این نما، زبان (t) در موقعیت طبیعی خود در حفره دهان دیده می شود. رنگ آمیزی: H&D، بزرگنمایی: $\times 40$

✓ شکل ۳. برش میکروسکوپی در جهت کروئال از یک جنین تجربی گروه ۲ همراه با ناهنجاری شکاف کام. در این تصویر همانگونه که ملاحظه می شود. زائده کامی (ps) سمت چپ با سپتوم میانی بینی (Ns) جوش خورده ولی زائده کامی راست جدا مانده و منجر به شکاف یک طرفه کام (پیکان نشانه) شده است.

