مقایسه اثرات تراتوژنیک مصرف خوراکی و تزریق داخل صفاقی داروی گاباپنتین به روی سیستم اسکلتی موش‌های Balb/c با استفاده از رنگ آمیزی آلیزارین رد اس و آلسین بلو

دکتر محمد افشار[I]

دکتر محمد مهدی حسن‌زاده طاهری[II*]

دکتر سیدعادل معلم[III]

دکتر آزاده تمیزی[IV]

دکتر جعفر گلعلی پور[V]

چکیده

زمینه و هدف: داروی گاباپنتین به عنوان یک داروی نسل جدید ضد صرع جهت درمان تشنج‌های عمومی ثانویه و یا ناقص معرفی گردیده است. اطلاعات بسیار کم و گاها متناقضی در رابطه با اثرات تراتوژنیک این دارو وجود دارد. در این پژوهش به عنوان یک مطالعه دقیق تر نواقص سیستم اسکلتی حاصل از مصرف متفاوت خوراکی و تزریق داخل صفاقی داروی گاباپنتین مورد مقایسه قرار گرفته است.

روش بررسی: در یک مطالعه تجربی تعداد ٦٠ سر موش بالغ ماده از نژاد Balb/c انتخاب و به صورت تصادفی در ٤ گروه آزمایشی تجربی و ٢ گروه کنترل به تعداد ١٠ موش در هر گروه به شرح ذیل تقسیم شدند:گروههای تجربی I و II به ترتیب ٢٥ و ٥٠ میلی‌گرم در کیلوگرم از داروی گاباپنتین را از روز شروع بارداری روزانه و تا روز١٥ حاملگی بصورت تزریق داخل صفاقی و گروههای III و IV همین دوزها از دارو را درهمین محدوده زمانی بصورت گاواژ دریافت کردند. گروههای کنترل V و VI نرمال سالین را به ترتیب بصورت تزریق داخل صفاقی و گاواژ دریافت نمودند. موش‌ها در روز ١٨ بارداری پس از بیهوشی عمیق با اتر سزارین شده وجنینها جمع‌آوری شدند و توسط استریومیکروسکوپ تحقیقاتی مورد بررسی‌های ماکروسکوپی قرار گرفتند. سپس وزن جنین‌ها، بازجذب جنینی، و تعداد جنین‌های زنده و مرده ثبت گردید. جنین‌های دارای ناهنجاری جدا شده، توسط رنگ آمیزی آلیزارین رد- آلسین بلو رنگ‌آمیزی شده و نقایص اسکلتی مشخص گردیدند. سپس توسط میکروسکوپ استریوی تحقیقاتی از آنها عکسبرداری گردید. یافته‌ها توسط آزمون‌های ANOVAو X2 با استفاده از نرم‌افزارSPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و اختلاف کمتر از ٠/٠٥ معنی‌دار تلقی گردید.

یافته‌ها: گروههای تجربی I و II اختلالات مشابهی را نشان دادند که می‌توان آنها را به سه دسته تقسیم کرد:

١- کاهش وزن جنینی و افزایش جذب جنینی ٢- ناهنجاری‌های ظاهری و٣- ناهنجاری‌های اسکلتی.

میانگین وزن جنینی در گروه تجربی I (٠/٩٨±٠/٠٦٣ گرم) ومیانگین وزن جنینی در گروه تجربی II (٠/٩١±٠/٦٥ گرم) به طور معنی‌داری کمتر از میانگین وزن جنینی در گروه کنترل (١/١٧±٠/٠٣٣ گرم) بود. همچنین افزایش جذب جنینی در هر دو گروه تجربی نسبت به گروه کنترل وجود داشت. ناهنجاریهای ظاهری مشاهده شده در دو گروه تجربی شامل اگزانسفالی، ناهنجاری اندام، کوچکی فک تحتانی و اختلال در ستون مهره‌ها و جنینهای دارای ناهنجاری‌های شدید بود. ناهنجاری اسکلتی مشاهده شده شامل تاخیر در استخوان سازی، اختلال ستون مهره‌ها عمدتا به صورت اسکولیوزیس، ناهنجاری در استخوانهای کاسه سر و هیپوپلازی مندیبول بود. در گروه‌های تجربی III و IV که دارو را به صورت گاواژ دریافت کرده بودند تنها تاخیر در استخوان سازی مشاهده گردید. در گروه‌های کنترل هیچگونه اختلالی دیده نشد.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که شیوه در معرض قرارگیری داروی گاباپنتین می‌تواند اثر مستقیمی در میزان بروز ناهنجاری‌های جنینی داشته باشد.

کلیدواژه‌ها: ١- گاباپنتین ٢- اثرات تراتوژنیک ٣- ناهنجاری‌های اسکلتی ٤- رنگ‌آمیزی آلیزارین رد- آلسین بلو

تاریخ دریافت: ٨٧/٩/١١ ، **تاریخ پذیرش:** ٨٨/١/١٧

مقدمه

صرع دومین عامل بیماری سیستم عصبی مرکزی پس از سکته مغزی می‌باشد و در حدود ١٪ افراد بزرگسال و ٥٪ کودکان در جوامع عمومی انسانی به آن مبتلا می‌باشند و قریب به اتفاق این افراد اجباراً از

این مقاله از طرح تحقیقاتی مشترک بین دانشگاههای علوم پزشکی گرگان و بیرجند به شماره ٢٨٢ سال ١٣٨٦ حاصل گردیده است.

I) دانشیار بافت و جنین‌شناسی، فلوشیپ هیستوکیمیستری از دانشگاه مک گیل کانادا، گروه علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، ایران

II) دانشیار بافت و جنین‌شناسی، گروه علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، ایران (* مؤلف مسؤول)

III) دانشیار فارماکولوژی، گروه سم‌شناسی و فارماکودینامی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ایران

IV) پزشک عمومی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، ایران

V) استاد بافت و جنین‌شناسی، گروه علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی گرگان، ایران

داروهای ضد صرع استفاده می‌کنند. استفاده از داروهای ضد تشنج در دوران حاملگی می‌تواند اثرات بالقوه مخربی برروی فرایندهای تکامل جنینی و از آنجمله رشد جنین، تکامل سیستم عصبی و متعاقب آن رشد نوزاد داشته باشد.[۱]

داروی گاباپنتین (Gabapentin) به فرمول C9H17NO2 با نام تجاری نورونتین (Neurontin) به عنوان یک داروی نسل جدید ضد صرع جهت درمان تشنج‌های عمومی ثانویه و یا ناقص استفاده می‌گردد.[۲] این دارو در سال ۱۹۹٤ توسط کارخانه دارویی Park Davisمعرفی گردید و از آن پس به عنوان مونوتراپی در درمان صرع و همچنین تسکین بسیاری از دردهای نوروپاتیک و میگرن نیز استفاده می‌گردد.[۷-۳] مکانیسم عمل این دارو هنوز به درستی مشخص نشده است و علیرغم شباهت زیاد ساختمانی این دارو با GABA به نظر می‌رسد که بر گیرنده‌های گابا اثر مستقیم نداشته باشد.

در رابطه با اثرات تراتوژنیک مصرف این دارو در زمان بارداری بر روی جنین اطلاعات زیادی در دست نیست. وزن مولکولی کم این دارو (در حدود 171D) و عدم توانایی اتصال آن با پروتئین‌های پلاسما، احتمال عبور این دارو را از سد جفتی قوت می‌بخشد. FDA این دارو را جزء داروهای گروه C دسته بندی نموده است. به این معنی که شواهد زیادی دال بر اثرات تراتوژنیک این دارو بر روی انسان وجود ندارد.[۸] حداکثر دوز توصیه شده توسط FDA، ۱۸۰۰ میلی‌گرم در روز می‌باشد ولی دوزهای بیشتر تا ۳٦۰۰ میلی‌گرم در روز و حتی ٤۸۰۰ میلی گرم در روز نیز جهت درمان صرع مورد استفاده قرار گرفته است. بررسی‌های اولیه در رابطه با مصرف این دارو در زمان ارگانوژنز به صورت دوزهای خوراکیmg/day ۳۰۰۰- ۱۰۰۰ فقط با حالت تأخیر در استخوانسازی در استخوانهای جمجمه، ستون مهره‌ها و اندامهای فوقانی و تحتانی حیوانات آزمایشگاهی همراه بوده است.[۹] پاره ای دیگر از مطالعات نیز مواردی از هیدرونفروز و هیدرواورتر را در موشها به دنبال مصرف این دارو در زمان ارگانوژنز گزارش نموده‌اند.[۱۰و۱۱] علاوه براین گزارشات، شواهدی نیز به صورت گزارش موردی در خانم‌های بارداری که در دوران بارداری از این دارو مصرف نموده اند به صورت اختلالات شدیدتری مثل هولوپروزانسفالی وجود دارد.[۱۲] با توجه به اینکه در تحقیقات قبلی که از داروی گاباپنتین بصورت تزریقی استفاده نمودیم ناهنجاری‌های ماکروسکپی شدیدتری از گزارشات قبلی ارائه شده توسط شرکت تولیدی داروی گاباپنتبن مشاهده شد، که تا به حال در مطالعات انسانی این اختلالات گزارش نشده بود،[۱۳] و از طرفی در پاره ای از مطالعات انجام شده بر روی داروهای ضد صرع مثل والپروئیک اسید مشخص گردیده است که مسیر متفاوت مصرف دارو به علل مختلفی از جمله متابولیزه شدن دارو می‌تواند منجر به بروز آثار تراتوژنیکی متفاوتی گردد،[۱٤] لذا در این پژوهش به عنوان یک مطالعه دقیق تر با استفاده از تکنیک رنگ آمیزی دوبل آلیزارین رد اس و آلسین بلو اختلالات ظاهری و اسکلتی حاصل از مصرف خوراکی و تزریق داخل صفاقی داروی گاباپنتین را مورد مقایسه قرار دادیم.

روش بررسی

این مطالعه به صورت تجربی به روی ٦۰ سر موش ماده بالغ از نژاد Balb/c با حدود سنی دو ماهه و وزن تقریبی ۳۰ – ۲۵ گرم صورت گرفت. موش‌ها به مدت دو هفته قبل از آزمایش در شرایط آزمایشگاهی استاندارد، چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته، دمای ۲ ± ۲٤، رطوبت نسبی ۵۰ درصد، تهویه مناسب و تغذیه با غذای استاندارد فشرده مخصوص موشها نگهداری شدند. جهت انجام جفت گیری هر دو سر موش ماده انتخاب و به همراه یک سر موش نر درون قفس هایی از جنس

PVC قرار داده می‌شد و صبح روز بعد پلاک واژنی بررسی و در صورت مشاهده به عنوان موفقیت در بارداری تلقی می‌گردید. سپس موشهای ماده از نر جدا شده و زمان صفر بارداری (G_0) برای آنان در نظر گرفته می‌شد. موشهای ماده باردار دارای پلاک واژنی به صورت تصادفی در ٤ گروه آزمایشی تجربی و ۲ گروه کنترل به تعداد ۱۰ موش در هر گروه به شرح ذیل تقسیم می‌شدند: گروه تجربی I (دریافت کننده گاباپنتین با دوز انسانی 25 mg/kg به صورت IP)، گروه تجربی II (دریافت کننده گاباپنتین با دوزانسانی 50 mg/kg به صورت IP)، گروه تجربی III (دریافت کننده گاباپنتین با دوز انسانی 25mg/kg به صورت گاواژ) و گروه تجربی IV (دریافت کننده گاباپنتین با دوز انسانی 50mg/kg به صورت گاواژ) و گروه کنترل I (دریافت کننده نرمال سالین به صورت IP) و گروه کنترل II (دریافت کننده نرمال سالین به صورت خوراکی).

در اختیار قراردادن داروها (چه بصورت تزریقی و چه بصورت خوراکی) از روز اول حاملگی (GD ۱) تا پانزدهمین روز حاملگی (GD 15) صورت می‌پذیرفت. برای این منظور داروی گاباپنتین به صورت پودر کپسول گاباپنتین ۱۰۰ میلی گرمی ساخت کارخانه Pharma Science مونترال کانادا با استفاده از سرم فیزیولوژی رقیق می‌گردید. دوزهای مورد استفاده هم برای تزریق و هم برای گاواژ بر اساس مطالعه قبلی تعیین شدند و در حجم ۰/۱ سی سی تهیه و مورد استفاده قرار گرفت.[۱۳] موشهای باردار در روز ۱۸ بارداری سزارین شده و جنین‌های آنان از شاخ‌های رحمی خارج می‌شدند و مورد بررسی ماکروسکوپی قرار می‌گرفتند. همزمان با عمل سزارین جذب جنینی نیز بررسی می‌گردید. .جنینهای زنده جدا و مورد وزن گیری با استفاده از ترازوی دقیق دیژیتال PT210 Sartarius ساخت آلمان (با دقت ۰/۰۱ گرم) قرار می‌گرفتند. جنین‌های نا هنجار برای رنگ‌آمیزی اسکلتی انتخاب شده و برای سه روز در اتانول ۷۰٪ قرار گرفته و سپس با رنگ‌آمیزی دوگانه آلیزارین‌رداس و آلسین‌بلو وبر اساس تکنیک Kimmel and Trammel و البته با تغییراتی جزیی رنگ‌آمیزی شدند.[۱۵و۱٦] سپس تصاویری از ناهنجاری‌های اسکلتی مشاهده شده با استفاده از دستگاه استرئومیکروسکوپ دوربین دار SZX ساخت ژاپن تهیه گردید. اطلاعات جمع آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS v.11.5 و بکارگیری آزمونهای آماری X_2 و ANOVA و با توجه به سطح معنی‌دار $P < ۰/۰۵$ مورد تجزیه تحلیل آماری قرار گرفت.

یافته‌ها

گروه‌های تجربی I و II

تعداد جنینهای زنده، جذب جنینی و وزن جنینها در گروههای تجربی I و II که داروی گاباپنتین را به صورت داخل صفاقی (ip) دریافت کرده بودند و گروه کنترل I (ip) در جدول شماره ۱ ارائه شده است. تفاوت معنی‌داری در میانگین تعداد جنینهای زنده در بین گروه‌های مورد مطالعه وجود نداشت. ولی افزایش معنی‌داری در درصد جذب جنینی بین گروه‌های تجربی I (۷/۲٦٪) و گروه تجربی II (۱۲/۷۲٪) با گروه کنترل وجود داشت (به ترتیب P=۰/۰۰۰ و P=۰/۰۰۲). اختلاف معنی‌داری بین میانگین وزن جنینهای سالم گروه تجربی I (۰/۹۸±۰/۰٦۳گرم) و گروه تجربی II (۰/۹۱±۰/۰٦۵ گرم) نسبت به گروه کنترل (۱/۱۷±۰/۰۳۳ گرم) وجود داشت (P<۰/۰۵). ولی اختلاف میانگین وزنی در بین گروه‌های تجربی I و گروه تجربیII از نقطه نظر آماری معنی‌دار نبود.

گروه‌های تجربی III و IV

تعداد جنینهای زنده، جذب جنینی و وزن جنینها در

گروه تجربی III و IV که داروی گاباپنتین را به صورت گاواژ دریافت کرده بودند و گروه کنترل (گاواژ) نیز در جدول شماره ۱ ارائه شده است. تفاوت معنی‌داری در میانگین تعداد جنینهای زنده، تعداد جنینهای جذبی و وزن جنینها در بین گروه‌های مورد مطالعه تجربی و کنترل وجود نداشت.

ناهنجاری**های** ماکروسکوپی مشاهده شده در گروه**های** تجربی I و II

کوچکی فک پایین، بد شکلی در ستون مهره‌ها،نقص در اندامها، اگزانسفالی وناهنجاری شدید بدنی ازجمله اختلالاتی بود که در جنینهای این گروه‌های تجربی دیده شد (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۱- اثرات تزریق و گاواژ دوزهای ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم داروی گاباپنتین بر روی تعداد، جذب و وزن جنین موش‌های Balb/c در مقایسه با یکدیگر و گروههای کنترل

گروه‌های مورد مطالعه / موارد مورد بررسی	گروه تجربی I تزریق گاباپنتین (۲۵ Mg/kg)	گروه تجربی II تزریق گاباپنتین (۵۰ Mg/kg)	گروه کنترل I (نرمال سالین)	گروه تجربی III گاواژ گاباپنتین (۲۵ Mg/Kg)	گروه تجربی IV گاواژ گاباپنتین (۵۰ Mg/Kg)	گروه کنترل II (نرمال سالین)
تعداد موش حامله	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
تعداد کل جنینها	۱۲٤	۱۱۸	۱۳۱	۱۳۲	۱۲۷	۱۲۹
میانگین تعداد کل جنینها ± انحراف معیار	۱۲/٤±۲/۲	۱۱/۸±۲/۱	۱۳/۱±۱/۸	۱۳/۲±۱/۲	۱۲/۷±۱/۱	۱۲۹±۲/۵
تعداد جنینهای زنده (٪)	۱۱۵(٪۹۲/۷٤)	۱۰۳(٪۸۷/۲۸)	۱۳۱(٪۱۰۰)	۱۲۹(٪۹۷/۷)	۱۲۳(٪۹٦/۸۵)	۱۲۹(٪۱۰۰)
تعداد جنینهای جذبی(٪)	۹(٪۷/۲٦)	۱۵(٪۱۲/۷۲)	۰(٪۰)	۳(٪۲/۳)	٤(٪۳/۱۵)	۰(٪۰)
میانگین وزن جنینها ± انحراف معیار	۰/۹۸±۰/۰٦	۰/۹۱±۰/۰۵	۱/۱۷±۰/۰۳	۱/۱۵±۰/۰٤	۱/۰۹±۰/۰۵	۱/۱۲±۰/۰٤

جدول شماره ۲- ناهنجاریهای ظاهری در موش‌های Balb/c در معرض با گاباپنتین با دوزهای ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بصورتهای تزریقی و گاواژ در مقایسه با یکدیگر و گروههای کنترل

گروههای مورد مطالعه / موارد مورد بررسی	گروه تجربی I تزریق گاباپنتین (۲۵ Mg/kg)	گروه تجربی II تزریق گاباپنتین (۵۰ Mg/kg	گروه کنترل I (نرمال سالین)	گروه تجربی III گاواژ گاباپنتین (۲۵ Mg/Kg)	گروه تجربی IV گاواژ گاباپنتین (۵۰ Mg/Kg)	گروه کنترل II (نرمال سالین)
تعداد موش حامله	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
تعداد جنینهای مورد آزمایش	۱۱۵	۱۰۳	۱۳۱	۱۳۲	۱۲۷	۱۲۹
تعداد جنینها با کوچکی فک پایین(٪)	۱۲(٪۱۰/٤)	۱۵(٪۱٤/۵٦)	۰(٪۰)	۱ (٪۰/۷۵)	۳ (٪۰/۷۸)	۰(٪۰)
تعداد جنینها با احتلال در مهره‌ها (٪)	۵(٪۳/۳٤)	۱۰(٪۹/۷)	۰(٪۰)	۰(٪۰)	۱ (٪۰/۷۸)	۰(٪۰)
تعداد جنینها با نا هنجاری اندام (٪)	۱۱(٪۹/۵٦)	۱٤(٪۱۳/۳۹)	۰(٪۰)	۰ (٪۰)	۲(٪۱/۵۷)	۰(٪۰)
تعداد جنینها با اگزانسفالی (٪)	۳(٪۲/٦۰)	٤(٪۳/۸۸)	۰(٪۰)	۰(٪۰)	۰(٪۰)	۰(٪۰)
ناهنجاری‌های شدید (٪)	۲(٪۱/۷۳)	۳(٪۲/۹۱)	۰(٪۰)	۰(٪۰)	۰(٪۰)	۰(٪۰)

کوچکی فک پایین (Brachygnathia) شایعترین ناهنجاری مشاهده شده در بین جنینهای گروه‌های تجربی I و II بود. نتایج بدست آمده از این پژوهش نشان داد که حدود ۱۰/٤درصد در گروه تجربی I و ١٤/٥٦ درصد درگروه تجربی II، دارای مندیبول کوچکتر از نرمال بودند که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین میزان جنینها با فک کوچکتر موجود در گروه‌های تجربی I و جنینها در گروه‌های تجربی II با جنینهای موجود درگروه کنترل وجود داشت. در این جنینها به علت کوچکی فک پایین، پوزه حیوان حالت نوک تیز پیدا کرده بود (شکل شماره ۱).

شکل شماره ۱– جنینی با فک کوچک(Brachygnathia) (پیکان سفید رنگ) را نشان می‌دهد. این جنین مربوط به گروه آزمایشی ۱ بوده است که روزانه ۲۵ میلیگرم داروی گاباپنتین را بصورت تزریقی دریافت نموده‌اند.

اختلال در اندام (Limb deformities) دومین اختلال شایع در بین موش‌های گروه‌های تجربی بود که عمدتاً به صورت چرخش غیر طبیعی اندام‌های فوقانی و تحتانی و جنینهایی با اندام‌های تکامل نیافته بود (شکل شماره ۲). در گروه تجربی I ٩/٥٦ درصد و در گروه تجربی II به میزان ۱۳/۳۹ درصد ازجنینها ی موجود در این گروهها دارای ناهنجاری در اندام‌های فوقانی و تحتانی بودند. از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین میزان جنینها با ناهنجاری در اندام موجود در گروه تجربی I و جنینهای با ناهنجاری در اندام موجود در گروه تجربی II (P= ۰/۰۰۰) با جنینهای موجود درگروه کنترل وجود داشت.

شکل شماره ۲– ناهنجاری اندامها (Limb's deformities) در جنین موش را نشان می‌دهد. این جنین مربوط به گروه آزمایشی ۲ بوده است که روزانه ۵۰ میلیگرم داروی گاباپنتین را بصورت تزریقی دریافت نموده‌اند.

دفرمیتی در ستون مهره‌ها (Vertebral deformities) سومین ناهنجاری شایع در بین جنینهای گروههای تجربی بود. نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان داد که در گروه تجربی I میزان این ناهنجاری ٤/٣٤ درصد و در گروه تجربی II به میزان ۹/۷ درصد بود. در این جنینها ستون مهره‌ها انحنا ی طبیعی خود را از دست داده بود. از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین میزان دفرمیتی در ستون مهره‌های جنینهای گروه‌های تجربی I و جنینها در گروه‌های تجربی II با جنینهای موجود درگروه کنترل وجود داشت (جدول شماره ۲).

تعدادی از جنینها در گروه تجربی I (٢/٦٪) و در گروه تجربی II (٣/٨٨٪) دارای اگزانسفالی (Exencephaly) بودند. در این جنینها استخوان‌های کاسه سر تشکیل نشده بود و مغز کاملا از کاسه سر بیرون زده بود (شکل شماره ۳). اما تنها در جنینهای گروه تجربی ۲ که دوز ۵۰ میلی‌گرم در گیلوگرم را دریافت کرده بودند، میزان این ناهنجاری در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار بود (جدول شماره ۲).

شکل شماره ۳– جنینی با ناهنجاری اگزانسفالی (پیکان سفید رنگ) را نشان می‌دهد. این جنین مربوط به گروه آزمایشی ۲ بوده است که روزانه ۵۰ میلیگرم داروی گاباپنتین را بصورت تزریقی دریافت نموده‌اند.

تعداد کمی از جنینها در گروه تجربی I (۱/۷۳ درصد) و در گروه تجربی II (۲/۹۱ درصد) دارای ناهنجاری‌های شدید بدنی (Sever malformation) بودند بطوریکه تشخیص قسمتهای مختلف بدن آنها به سختی امکان پذیر بود. این جنینها اغلب دارای جثه بسیار کوچک و سفید رنگ بودند (شکل شماره ٤). تنها در جنینهای گروه تجربی II که دوز ۵۰ میلی‌گرم در گیلوگرم را دریافت کرده بودند، میزان این ناهنجاری با گروه کنترل معنی‌دار بود (جدول شماره ۲).

شکل شماره ۴- جنینی با ناهنجاری شدید را نشان می‌دهد بطوریکه قسمتهای مختلف بدن قابل تشخیص نیستند. این جنین مربوط به گروه آزمایشی ۲ بوده است که روزانه ۵۰ میلیگرم داروی گاباپنتین را بصورت تزریقی دریافت نموده‌اند.

ناهنجاری‌های ماکروسکوپی مشاهده شده در گروه‌های تجربی III و IV

تنها تعداد کمی از جنینها در گروه‌ها ی تجربی III و IV دارای اختلالاتی مثل کوچکی فک پایین، ناهنجاری در اندام و ستون مهره‌ها بودند ولی هیچ یک از این اختلالات در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار نبود (جدول شماره ۲).

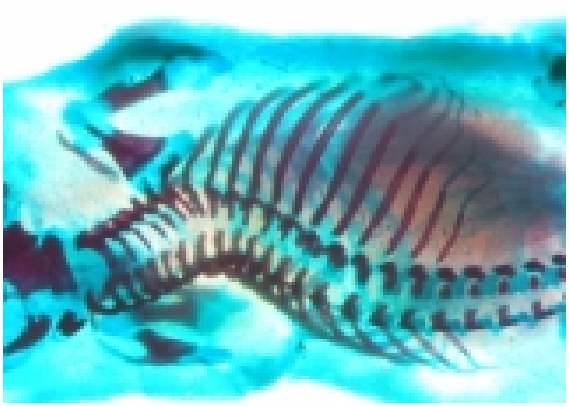
ناهنجاری‌های اسکلتی مشاهده شده در گروه‌های تجربی I و II

هیپوپلازی فک پایین، اختلال در مهره‌ها، بد شکلی در استخوان‌های سر، تاخیر در استخوان سازی اختلالاتی بود که در جنینهای گروه‌های تجربی فوق بعد از رنگ‌آمیزی دوگانه استخوا ن دیده شد (جدول شماره ۳).

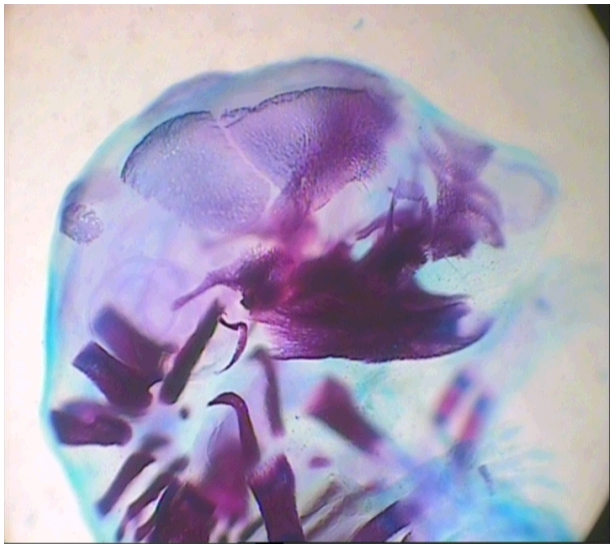
جدول شماره ۳- اختلالات اسکلتی در موشهای Balb/C در معرض گاباپنتین با دوزهای ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بصورتهای تزریقی و گاواژ در مقایسه با یکدیگر و گروههای کنترل

گروههای مورد مطالعه / مواردمورد بررسی	گروه تجربی I تزریق گاباپنتین (۲۵ Mg/kg)	گروه تجربی II تزریق گاباپنتین ۵۰((Mg/kg	گروه کنترل I (نرمال سالین)	گروه تجربی III گاواژ گاباپنتین (۲۵ Mg/Kg)	گروه تجربی IV گاواژ گاباپنتین (۵۰ Mg/Kg)	گروه کنترل II (نرمال سالین)
تعداد موش حامله	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰	۱۰
تعداد جنینهای مورد آزمایش	۱۱۵	۱۰۳	۱۳۱	۱۳۲	۱۲۷	۱۲۹
تعداد جنینها با هایپوپلازی مندیبولار(٪)	(٪۱۰/٤)۱۲	(٪۱٤/٥٦)۱۵	۰(٪۰)	(٪۰/۷۵)۱	(٪۲/۳٦)۳	۰(٪۰)
تعداد جنینها با اختلال در مهره‌ها (٪)	(٪۳/۳٤)٥	(٪۹/۷)۱۰	۰(٪۰)	(٪۰/۷۵)۱	(٪۷/۸) ۱	۰(٪۰)
تعداد جنینها با اختلال در استخوانهای کاسه سر (٪)	(٪۱۳/۰٤)۱۵	(٪۱۹/٤۱)۲۰	۰(٪۰)	(٪۱/٥)۲	(٪۲/۳٦)۳	۰(٪۰)
تعداد جنینها با تاخیر در استخوان سازی (٪)	(٪۱۷/۳۹)۲۰	(٪۲٦/۲۱)۲۷	۰(٪۰)	(٪۳)٤	(٪٤/۷۲)٦	۰(٪۰)

تفاوت آماری معنی‌داری در تعداد جنینها با هیپوپلازی فک پایین در مقایسه گروه تجربی I و گروه تجربی II با گروه کنترل وجود داشت (P<۰/۰۵). اختلال در مهره‌ها به صورت دفرمیتی در مسیر طبیعی ستون مهره‌ها عمدتا به صورت اسکولیوزیس در هر دو گروه تجربی به صورت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل بیشتر بود (شکل شماره ۵). بد شکلی در استخوان‌های سر بیشتر در استخوانهای فرونتال و پاریتال به صورت روی هم قرار گرفتن و تشکیل ناقص استخوان مشاهده گردید (شکل شماره ٦).



شکل شماره ۵ – جنینی با ناهنجاری اسکولیوز را نشان می‌دهد که با آلیزارین رد – آلسین بلو رنگ‌آمیزی شده است. این جنین مربوط به گروه آزمایشی ۱ بوده است که روزانه ۲۵ میلیگرم داروی گاباپنتین را بصورت تزریقی در یافت نموده‌اند.



شکل شماره ۶– جنینی با ناهنجاری استخوانهای کالواریا (Calvaria deformity) را نشان می‌دهد که با آلیزارین رد – آلسین بلو رنگ‌آمیزی شده است. این جنین مربوط به گروه آزمایشی ۲ بوده است که روزانه ۵۰ میلیگرم داروی گاباپنتین را بصورت تزریقی در یافت نموده‌اند.

این تحقیق نشان داد که در گروه تجربی I به میزان ۱۳/۰٤ درصد و در گروه تجربی II به میزان ۱۹/٤۱ درصد از جنینهای موجود در این گروهها دارای این ناهنجاری بودند و از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین میزان جنینها با ناهنجاری در استخوان‌های سر در گروه تجربی I (P=۰/۰۰۰) و جنینهای گروه تجربی II (P= ۰/۰۰۰) با جنینهای موجود در گروه کنترل وجود داشت. تاخیر در استخوان سازی در استخوان‌های کف دست و پا کاملا مشهود بود. عدم تشکیل مراکز اولیه استخوان سازی درمتاکارپ‌ها و متاتارس‌ها و بندهای انگشتان دست و پا کاملا مشخص بود. در استخوانهای دراز تشکیل دهنده ساعد و ساق نیز از تراکم استخوان سازی کاسته شده بود. همینطور در استخوان‌های سقف جمجمه(Calvaria) نیز این تاخیر در استخوان سازی دیده می‌شد. نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان داد که در گروه تجربی I میزان این اختلا ل ۱۷/۳۹ درصد و در گروه تجربی II به میزان ۲٦/۲۱ درصد بود و از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین میزان جنینها با تاخیر در استخوان سازی در گروه تجربی I (P= ۰/۰۰۰) و جنینها با تاخیر در استخوان سازی موجود در تجربی II (P= ۰/۰۰۰) با جنینهای موجود در گروه کنترل وجود داشت.

ناهنجاری‌های اسکلتی مشاهده شده در گروه‌های تجربی III و IV

تقریباً تمام اختلالات مشاهده شده در گروه‌های تجربی I و II در این گروه‌های تجربی نیز دیده شدند ولی میزان آن بسیار کم بود و اختلافات از نظر آماری معنی‌دار نبود. فقط در گروه تجربی III (۳ درصد جنین‌ها) و در گروه تجربیIV، ٦ مورد (٤/۷۲ درصد) جنینها دارای اختلال تاخیر در استخوان سازی بودند که از نظر آماری بین گروه‌های تجربی III و IV و نیز در مقایسه باگروه کنترل تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید (P<۰/۰۵) (جدول شماره ۳).

بحث

این مطالعه نشان داد که شیوه در معرض قرارگیری داروی گاباپنتین می‌تواند اثر مستقیمی در میزان بروز ناهنجاریهای جنینی داشته باشد و تزریق داخل صفاقی این دارو می‌تواند اثرات تراتوژنیک بسیار بیشتری نسبت به مصرف خوراکی آن داشته باشد.

اثرات تزریق داخل صفاقی گاباپنتین

یافته‌های این پژوهش نشان دادند که مصرف گاباپنتین با دوزهای 25 Mg/kg (تقریبا معادل ۱۸۰۰mg/day) و 50Mg/kg (تقریبا معادل ۳۶۰۰mg/day) به صورت تزریق داخل صفاقی می‌تواند باعث کاهش وزن جنینی، افزایش جذب جنینی، کوچکی فک پائین، ناهنجاری در ستون فقرات،،ناهنجاری در اندام‌ها، اگزانسفالی، ناهنجاری شدید بدنی، هیپوپلازی مندیبول، ناهنجاری استخوان‌های سر و تاخیر در استخوان سازی بشود. نتایج بدست آمده از این مطالعه با مطالعات تجربی Petrere و Anderson در سال ۱۹۹٤ که اعلام کردند تا دوز ۳۰۰۰ Mg/day گاباپنتین هیچ اثر مضری بر روی مادر و جنین دیده نمی‌شود، مغایر است.[۱۰]

در بررسی جذب جنینی نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان داد که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین میزان جنینهای جذبی موجود در گروه تجربی I و میزان جنینهای جذبی گروه تجربی II با جنینهای جذبی گروه کنترل وجود داشت. مشابه این نتایج را افشار و گلعلی پور در بررسی خود بر روی گاباپنتین با دوزهای ۱٤۰۰Mg/day و ۱۸۰۰ Mg/day که به صورت داخل صفاقی در ده روز اول بارداری تزریق شده بود، بدست آوردند.[۱۳] همچنین Prakash و همکارانش نیز که گاباپنتین را با دوز های ۱۸۰۰ Mg/day و ۳٦۰۰ Mg/day به صورت داخل صفاقی تزریق کرده بودند، در گروه هایی که دارو را دراوایل و میانه بارداری دریافت کرده بودند، نتایج مشابهی را گزارش نموده‌اند.[۱۵]

در بررسی وزن جنینی نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان داد که میانگین وزن جنینهای موجود در گروه‌های تجربی I و II از میانگین وزن جنینهای موجود درگروه کنترل کمتر می‌باشد. این نتایج با مطالعه افشار و گلعلی پور هم خوانی داشته است.[۱۳] همچنین در مطالعه Prakash و همکارانش که علاوه بر وزن جنینی قد جنینها نیز اندازه گیری شده بود، اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های تجربی که دارو را در میانه وانتهای بارداری دریافت کرده بودند، با گروه کنترل وجود داشت وکوچکی جثه شاخص بوده است.[۱۵] درمطالعه‌ای که Montouris بر روی ۳۹ زن بار دار مبتلا به صرع که گاباپنتین مصرف می‌کردند، انجام داد کاهش وزن جنینی بسیار شاخص بوده است.[۱۷]

کوچکی فک پایین (Brachygnathia) شایع ترین ناهنجاری‌های مشاهده شده در بین جنینهای گروه‌های تجربی I و II بود. این یافته توسط مطالعه Prakash وهمکارانش که کوچکی فک پایین نیز از نتایج مطالعه آنها بود، تایید می‌گردد.[۱۵] رنگ‌آمیزی دوگانه استخوان نیز این مسئله را نشان داد که کوچکی فک پایین در اثر هیپوپلازی فک پایین ایجاد گردیده است.

یکی دیگر از ناهنجاری‌های ماکروسکوپی جنین‌ها، نقص در اندام‌ها بود. این ناهنجاری‌ها عمدتا به صورت عدم رشد طبیعی و چرخش صحیح اندام‌ها دیده شد. ناهنجاری در اندام در مطالعه افشار و گلعلی پور و Prakash به صورت عدم چرخش و کوتاهی اندام دیده شده است.[۱۳و۱۵] بنابر این مطالعات موجود تایید می‌نمایند که گاباپنتین توانایی ایجاد ناهنجاری در اندام‌ها را داراست.

از نواقص دیگر مشاهده شده می‌توان به ناهنجاری در مهره‌ها اشاره کرد. این اختلال عمدتا به صورت خمیدگی‌های غیر طبیعی در مسیر ستون مهره‌ها به صورت اسکولیوزیس دیده شد. انحراف در ستون فقرات در مطالعه قبلی افشار و گلعلی پور نیز دیده شده بود.[۱۳] در مطالعه Prakash تنها به کوتاهی گردن اشاره شده

است.[۱۵]

ناهنجاری شدید بدنی نیز از مواردی است که باید به آن اشاره کرد. ۱/۷۳ درصد از جنینها در گروه تجربی I و ۲/۹۱ درصد از جنینها در گروه تجربی II دارای ناهنجاری‌های بسیار شدید بودند. این جنینها دارای جثه بسیار کوچک، سفید رنگ و دارای ناهنجاری‌های فراوان در قسمتهای مختلف بدن بودند. از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین جنینهای گروه تجربیI (P=۰/۱۳) با گروه کنترل وجود نداشت ولی بین گروه تجربی II با گروه کنترل اختلاف آماری معنی‌داری دیده شد (P=۰/۰۴۹). این ناهنجاری نیز درمطالعات قبلی بر روی سایر داروهای ضد صرع بدست نیامده است. بنابر این علی رغم کم بودن این ناهنجاری‌ها، این مسئله را می‌بایست جدی تلقی نمود و مطالعات دقیق تری را در این زمینه انجام داد.

آخرین ناهنجاری ظاهری، وجود اگزانسفالی بود. .علی رغم اینکه این ناهنجاری در دو گروه تجربی I و II دیده شد ولی تنها در گروه تجربی II ودر مقایسه با گروه کنترل از نظر آماری معنی‌دار بود. بسیاری از داروهای ضد صرع توانایی ایجاد نقص لوله عصبی (NTD) را دارا می‌باشند ولی تاکنون در رابطه با ایجاد NTD توسط گاباپنتین هیچ مطالعه‌ای بجز مطالعه قبلی افشار و گلعلی پور که در بررسی‌های خود به اسپینا بیفیدا سیستیکا در ناحیه سینه‌ای ستون مهره‌ها اشاره کرده بودند، ذکر نگردیده است و این مسئله نیز نیاز به بررسی‌های دقیق تری دارد.[۱۳]

از اختلالات اسکلتی مشاهده شده می‌توان به ناهنجاری در استخوان‌های سر اشاره کرد. بد شکلی در استخوان‌های سر بیشتر در استخوان‌های فرونتال و پاریتال به صورت روی هم قرار گرفتن و تشکیل ناقص استخوان مشاهده گردید. در نتایج بدست آمده از مطالعات قبلی، این نتیجه گزارش نشده است.

در بررسی ماکروسکوپی انجام شده بر روی اسکلت جنین‌ها، تاخیر در استخوان سازی کاملا مشهود بود. این تاخیر بیشتر در استخوان‌های کف دست و پا بود. .عدم تشکیل مراکز اولیه استخوان سازی درمتاکارپ‌ها و متاتارس‌ها و بندهای انگشتان دست و پا کاملا مشخص بود. در استخوان‌های دراز تشکیل دهنده ساعد و ساق پا نیز از تراکم استخوان سازی کاسته شده بود. همینطور در استخوان‌های سقف جمجمه (Calvaria) نیز این تاخیر در استخوان سازی دیده می‌شد.

اثرات مصرف خوراکی گاباپنتین

در این مطالعه مشخص گردید که میزان ناهنجاری‌ها در اثر مصرف خوراکی این دارو به میزان زیادی کاهش پیدا می‌نماید. تنها ناهنجاری برجسته تاخیر دراستخوان سازی بود که بمیزان ۳ درصد در جنینهای گروه تجربی III و ٦ مورد (٤/٧٢ درصد) در جنینهای گروه تجربی IV مشاهده گردیده و از نظرآماری بین گروههای تجربی III و IV در مقایسه با گروه کنترل تفاوت می‌کرد و معنی‌دار بود (P<۰/۰۵).

در مطالعه‌ای که گاباپنتین بصورت داروی خوراکی با دوزMg/day ۳۰۰۰-۱۰۰۰ در زمان ارگانوژنز دراختیار موش قرارداده بودند، تاخیردراستخوانی شدن جمجمه، مهره‌ها، بازوها و ساعد دیده شده بودکه با یافته‌های این مطالعه همخوانی دارد.

این که چه مکانیسم‌های احتمالی در ایجاد اثرات تراتوژنیکی این دارو در هنگام تزریق داخل صفاقی دخالت دارد، نیاز به بررسی دقیق تری دارد ولی با توجه به مکانیزم‌های احتمالی سایر داروهای ضد صرع مکانیزم‌های احتمالی زیر را می‌توان مورد نظر قرار داد:

۱- تغییر درمتابولیسم اسید فولیک و کاهش سطح اسید فولیک.[۱۸] ۲- تغییر در غلظت رتینول و مشتقات آن بخصوص ۱۳ سیس رتینوئیک اسید، که ترکیبات بسیار مهمی در جهت تکامل ساختار بخش‌های مختلف بدن هستند. ۳- ایجاد آپوپتوزیس در بین سلول‌های لوله عصبی.[۱۹] ٤- تولید رادیکال‌های آزاد از قبیل اپوکساید

در طی مراحل متابولیزه شدن آن.[۱۳] ۵- تغییر در غلظت نوروترانسمیتر گاماآمینوبوتیریک اسید (GABA).[۲۰] با توجه به اینکه ساختمان گاباپنتین شباهت زیادی به نوروترانسمیتر گابا دارد و در واقع یک آنالوگ گابا می‌باشد، محتمل تر به نظر می‌رسد که گاباپنتین از طریق تغییر در غلظت و یا دخالت در متابولیسم گابا اثرات تراتوژنیکی خود را مخصوصا در زمینه ایجاد نقایص لوله عصبی اعمال نماید.

در رابطه با تفاوت میزان ناهنجاری‌ها بر اساس نوع در معرض قرار گیری این دارو می‌توان مطالعاتی را مطرح کرد که نشان می‌دهد اگر مسیر تجویز داروهای ضد صرع متفاوت باشد، آثار تراتوژنیک متفاوتی می‌تواند به دنبال داشته باشد. برای مثال Nau در تحقیقی که به روی تجویزهای متفاوت والپروئیک اسید انجام داده نشان داد که مسیر تزریقی والپروئیک اسید از تجویز خوراکی آن می‌تواند آثار تراتوژنیکی شدیدتری به دنبال داشته باشد.[۱۴] در مطالعه ما نیز در رابطه با داروی گاباپنتین این مسئله به اثبات رسید.

نتیجه‌گیری

مصرف خوراکی و تزریقی داروی گاباپنتین اثرات تراتوژنیکی بسیار متفاوتی را در جنینهای موش سوری از نژاد Balb/c ایجاد می‌نماید. مطالعات تکمیلی بیشتری در این زمینه می‌بایست صورت پذیرد.

تقدیر و تشکر

این مقاله از نتایج حاصل از طرح تحقیقاتی مشترک بین دانشگاههای علوم پزشکی گرگان و بیرجند به شماره ۲۸۲ حاصل گردیده است. بدینوسیله از معاونت‌های آموزشی و تحقیقات دو دانشگاه و همچنین از خدمات تکنیکی سرکار خانم مریم لطفی و زحمات آقای خراشادیزاده و خانم دکتر شیرزاد و خانم حسینی و خانم یوسفی در پژوهشکده بوعلی در جهت همکاری در طرح و تهیه عکس‌های این پژوهش تشکر می‌نمائیم.

فهرست منابع

1- Lowe SA. Drugs in pregnancy. Anticonvulsants and drugs for neurological disease. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol; 2001. 15: 863-76

2- The US Gabapentin study group No.5. Gabapentin as add-on therap in refractory partial epilepsy: A double – blind, placebo – controlled parallel-group study. Neurology; 1993. 43: 2292-98

3- Bergey GK, Morris HH, Rosenfeld W. Gabapentin monotherapy I: An 8-day double-blind, dose - controlled, multi center study in hospitalized patients with refractory complex partial or secondarily generalized seizures. Neurology; 1997. 49: 739-45

4- Beydun A, Fischer J, Labar DR. Gabapentin monotherapy II: A 26 week, double –blind, dose - controlled multi center study of conversion from poly therapy in outpatients with refractory complex partial or secondarily generalized seizures. Neurology; 1997. 49: 746-52

5- Backonja M, Beydun A, Edwards KR. Gabapentin for the symptomatic treatment of painful neuropathy in patients with diabetes mellitus: A randomized controlled trial. JAMA; 1998. 280: 1831-۳۸

6- Micheal Rowbotham, Norman Harden, Brett Stacey, Paula Bernstein, Leslie Magnus –Miller. Gabapentin for the treatment of post therapeutic Neuralgia: A randomized controlled trial. JAMA; 1998. 280: 1837-42

7- Spira PJ, Beran RG. Gabapentin in the prophylaxis of chronic daily headache: A randomized, placebo – controlled study. Neurology; 2003. 61(12): 1753-59

8- Tatum WO, Galvez R, Enbadis SB, Carrazana E. New Antiepileptic Drug. Arch Fam Med; 2000. 9: 1135-41

9- Briggs GG, Freeman RK, Yaffi SJ. Drug in pregnancy and lactation: A reference guide to total and neonatal risk. . 8th ed. Philadelphia (PA): Lippincott Williams & Wilkins; 2008. P. 802-803 5th ed. USA: Lippincott Williams&Wilkins; 1998. P. 477-78

10- Petrere JA, Anderson JA. Developmental toxicity studies in mice, rats and rabbits with the anticonvulsant Gabapentin. Fundum Appl Toxicol; 1994. 23: 585-9

11- Neurontin product monograph [Internet]. New York: Pfizer; C2008 [cited 2008 Oct 20]. Available from: http://media.Pfizer.com/files/products/uspi_neurontin.pdf.

12- Rosa F. Holoprosencephaly and antiepileptic exposure.Teratology; 1995. 51(4): 230

13- Afshar M, Golalipoor MJ. Teratogenic effects of Gabapentin on neural tube and development in mice. Neurosciences; 2008. l13(3): 447-49

14- Nau H. Valproic acid teratogenicity in mice after various administration and Phenobarbital-pretreatment regimens: The parent drug and not one of the metabolites assayed is implicated as teratogen. Fundam appl Toxicol; 1986. 6(4): 662-68

15- Prakash, Prabhu LV, Rai R, Pai MM, Yadav SK, Madhyastha S, et al. Teratogenic effects of the anti convulsant Gabapentin in mice. Singapore Med J, 2008.49(1): 47- 53

16- Kimmel CA, rammell C. A rapid procedure for routine double staining of cartilage and bone in fetal and adult animals. Stain Technol; 1981. 56(5): 271-73

17- Montouris G. Gabapentin exposure in human pregnancy: Results from the Gabapentin registry. Epilepsy & Behavior Journal; 2003. l4: 310-17

18- Dansky Lv, Rosenblatt Ds, Anderson E. Mechanisms of Teratogenesis: Folic acid and antiepileptic therapy. Neurology; 1992 42(4 suppl): 32-42

19- Nau H, Tzimas G, Modry M. Antiepileptic drugs alter endogenous retinoid concentration: A possible mechanism of teratogenesis of anticonvulsant therapy. Life Science; 1995. 57(1): 53-60

20- Wayne Briner. The effect of GABA receptor ligands in experimental spina bifida occulta. BMC Pharmacology; 2001. 1: 2

Comparative Study of Teratogenic Effects of Gabapentin Administration via Peritoneum and Gavages on Skeletal System of Mice Fetuses Using Alizarin-red S and Alcian-blue Staining Techniques

M.Afshar,PhD[I] *M.M.Hasanzadeh,PhD[II] A.Mo'allem,PhD[III] A.Tamizi,MD[IV] J.Golalipour,PhD[V]

Abstract

Background & Aim: Gabapentin is a novel antiepileptic drug that is used for the treatment of partial and secondary generalized seizures. There are few and sometimes contradictory reports concerning the teratogenic effects of this drug. This study was done to compare teratogenic effects of gabapentin on skeletal system when it is used intraperitoneally and via gavages.

Material and Method: In an experimental research, 60 mature female Balb/c mice were chosen and randomly divided into six groups: two experimental groups which received 25mg/kg (I), and 50 mg/kg (II) of gabapentin intraperitoneally from the initiation of pregnancy for the first 15 days of pregnancy. The other two experimental groups,i.e. III and IV, received the same doses at the same periods but via gavages. Two control groups,i.e. V and VI, received normal saline at the same time intraperitoneally and via gavages. Dams were dissected under deep anesthesia by eter inhalation on the 18th gestational day and embryos were harvested. The macroscopic observation was performed by a stereomicroscope. Then the embryos' weights, resorption and the number of dead and alive fetuses were determined and registered. Finally, malformed fetuses were double strained for bone and cartilage and their skeletons were examined. Data were analyzed by ANOVA and Chi-square tests using SPSS software. Differences less than 0.05 ($P < 0.05$) were considered significant.

Results: Both experimental groups I and II revealed similar malformations which can be categorized as three sets: 1- Decreased fetal body weight and increased fetal resorption 2-Macroscopic external malformations 3- Skeletal malformations.The mean fetal body weight in group I (0.98 ± 0.063 g) and group II ($0.91 \pm 0/06$ g) was lower in comparison to the control group (1.17 ± 0.033 g). Also, an increase in resorbed fetuses was observed in both experimental groups as compared to the fetuses in the control group. Macroscopic malformations in both experimental groups included exencephaly, limbs defects, brachygnathia, vertebral column deformity and generally malformed fetuses. Skeletal malformations included delayed ossification, scoliosis, calvaria deformity and mandibular hypoplasia. In the experimental groups III and IV only delayed ossification was observed.No malformation was found in the control groups.

Conclusion: This study revealed that the route of gabapentin administration may induce different teratogenic effects on mice fetuses.

Key Words: 1) Gabapentin 2) Teratogenic Effects 3) Skeletal Malformation 4) Alizarin-red S Alcian-blue Staining

I)Associate Professor of Histology & Embryology.Fellowship of Histochemistry. Anatomy Department.Birjand University of Medical Sciences and Health Services.Birjand,Iran.

*II) Associate Professor of Histology & Embryology. Anatomy Department.Birjand University of Medical Sciences and Health Services.Birjand,Iran.(*Corresponding Author)*

III) Associate Professor ofPharmacology.Department of Toxicologyand Pharmacodynamics.Mashhad University of Medical Sciences and Health Services.Mashhad,Iran.

IV)General Physician. .Birjand University of Medical Sciences and Health Services.Birjand,Iran.

V) Professor of Histology & Embryology. Anatomy Department.Gorgan University of Medical Sciences and Health Services. Gorgan, Iran.