

## 임신랫트의 태자에서 Nitrofen 에 의해 유발된 선천성 심혈관 기형에 관한 실험연구

김원곤\* · 서경필\*\* · 서정욱\*\*\* · 지제근\*\*\*

— Abstract —

### Experimental Study on Congenital Malformations of the Heart and Great Vessels in Rat Fetuses Induced by Nitrofen

Kim Won Gon M.D.,\* Suh Kyung Phill M.D.,\*\* Suh Jung Wook M.D.\*\*\* and Ji Je Keun M.D.\*\*\*

Nitrofen (2,4-dichlorophenyl-P-nitrophenyl ether) is a diphenyl ether herbicide used for pre and post-emergent control of broad leaved weeds. This chemical was knowN to induce a variety of congenital cardiovascular anomalies with diaphragmatic hernia and hydronephrosis in the rate fetuses.

The present study was conducted to produce congenital cardiovascular anomalies in the rat fetuses by oral nitrofen administration at the indicated doses and days of gestation, and to find the characteristics of nitrofen-induced cardiovascular anomalies. All the observed fetuses were removed from the pregnant Sprague-Dawley rats sacrificed on the twenty-first day of gestation. They were preserved in 10 per cent formalin and dissection for examination were carried out under a dissecting microscope using forceps and scissors.

Following results and conclusion were based on dissecting microscopie findings on 482 offsprings.

1. The eleventh day of gestation was the most sensitive day for nitrofen induction of congenital cardiovascular anomalies in the rat. This incidence was dose-related in rats exposed on the eleventh day of gestation.
2. Ventricular septal defect was the most common single anomaly that represented more than half of the total cardiovascular anomalies, followed by aortic arch anomalies and tetralogy of Fallot.
3. Cardiac anomalies derived from infundibular maldevelopment such as tetralogy of Fallot and pulmonary atresia with ventricular septal defect were only observed in the eleventh gestation day treated group.
4. Aortic arch anomalies were found in high frequency and the great majority were characteristically anomalous right subclavian artery with left aortic arch.

**Key words;** nitrofen, congenital cardiovascular anomalies.

---

\* 경희대학교 의과대학 흉부외과학교실

\* Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, College of Medicine, Kyung-Hee University

\*\* 서울대학교 의과대학 흉부외과학교실

\*\* Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Seoul National University

\*\*\* 서울대학교 의과대학 병리학교실

\*\*\* Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Seoul National University

1987년 11월 13일 접수

## 서 론

선천성 심혈관 기형은 사람에서 그 발생빈도가 대략 1,000명 출생당 6~8명 또는 그 이상으로(Neel, 1958; Carlgren, 1959; Mitchell, 1971; Hoffman, 1978; Vongprateep, 1978; 홍등, 1983) 발생빈도가 비교적 높을 뿐만 아니라 치료하지 않고 그냥 두었을 때 대부분의 경우에서 자연 수명에 훨씬 못미쳐 조기사망하나, 적절한 수술요법으로 치료하면 완치를 기대할 수 있다는 점에서 Gross에 의한 개방성 동맥관 수술(Gross & Hubbard, 1939), Blalock에 의한 체-폐동맥 단락수술(Blalock & Taussig, 1945), 그리고 Gibbon에 의한 인공 심폐기를 이용한 획기적인 심방중격결손증 수술(Gibbon, 1953) 이후 많은 임상들의 관심을 받아 왔다. 그러나 최근까지도 일부 복잡 심기형의 경우 그 근치수술법이 정립되지 못하고 있으며, 완치를 기대할 수 있는 단순 심혈관 기형에서도 환자가 겪는 육체적, 정신적 그리고 경제적 고통을 생각하면 보다 근본적인 심혈관 기형의 발생원인 및 그 기전에 관해서 많은 연구가 있어 온 것은 당연한 일이라 하겠다. 그러나 관계 학자들의 꾸준한 연구에도 불구하고 아직 선천성 심혈관 기형의 발생원인 및 그 양상에 관해서는 모든 것이 명확하게 알려지지 않고 있는데, 일반적으로 사람에서는 선천성 심혈관 기형의 약 8%는 돌연변이원이나 염색체 이상 등의 유전적 요인이 주 원인이 되고 그리고 약 2%에서는 확인된 환경인자에 의해 유발되는 것으로 보고 있다. 따라서 나머지 약 90%는 아직 정확한 원인을 모르며 아마도 유전학적 인자와 환경성 인자의 상호 작용에 의한 것으로 보고되고 있다(Nora, 1983). 이러한 관점에서 소위 의료 선진국에서 선천성 심혈관 기형의 발생 원인 및 그 기전을 이해하고자 하는 노력의 일환으로 다양한 기형원을 사용하여 실험동물을 통해 심혈관 기형을 유발시켜 이의 과정과 그 양상을 관찰하는 소위 실험기형학적 방법을 통한 연구가 활발히 이루어져 오고 있음에도 불구하고 국내에서는 아직까지 이에 관한 연구 성적의 문헌보고가 거의 전무한 상태이다.

한편 nitrofen은 그 화학명이 2,4-dichlorophenyl- $\rho$ -nitrophenyl ether로 국내에서도 한때 농업용 제초제의 하나로 특크란 상품명으로 시판되기도 했다. 이 nitrofen의 기형 유발특성에 관한 연구는 nitrofen을 임신중인 랫트에게 투여하였을 때 그 태자의 신생 아기 사망율이 높아진다는 관찰이후(Ambrose et al, 1971)

관계 학자들이 그 사망원인을 조사하던 중 횡격막 결손과 함께 심혈관 기형이 중요한 사망원인이 된다는 것을 보고하면서 구체적으로 이루어졌다(Costlow & Manson, 1981). 이 nitrofen을 이용한 기형학적 실험 연구로 국내에서는 정·지(1984)가 nitrofen에 폭로된 임신랫트의 태자에서 횡격막 결손의 빈도와 그 발달 과정을 연구한 것이 최초인데 심혈관기형에 관한 관찰은 자세하지 아니하였다.

본 연구는 비교적 최근에 소개된 심혈관 기형 유발원인 nitrofen을 임신중인 랫트에게 투여한 뒤, 그 태자에서 유발된 선천성 심혈관 기형을 관찰함으로써 그 발생양상 및 기전의 일단을 규명하고자 하는데 그 목적이 있다.

## 연구재료 및 방법

### ① 실험동물

실험동물로는 Sprague-Dawley계 랫트를 사용하였다. Sprague-Dawley계 랫트의 선정은 이 계통의 랫트가 기형학적 연구에 보편적으로 사용되는 종류의 하나인데다 국내에서 그 구입이 손쉽기 때문이다.

실험은 먼저 암컷 랫트를 동일한 환경에서 시판 사료로 사육하여 교배가 가능한 일령으로 약 42~45일까지 키운 뒤 광학현미경을 통한 질구의 도말 표본검사로 발정기가 확인되면 그날 수컷이 있는 동물장에 넣어서 교배시킨다. 교미의 확인 방법은 다음 날 아침 암컷 질구의 도말표본에서 현미경으로 정자가 관찰되면 수태가 이루어진 것으로 간주하고 이 날을 임신 제 1일로 정하였다. 수태무렵의 암컷의 체중은 180~200gm 사이였다. 실험 랫트의 제반 관리과정에서 세계보건기구의 윤리지침을 따랐다.

### ② 실험약품

실험용 nitrofen은 경북 농약회사에서 제조된 50% 순도의 nitrofen (2,4-dichlorophenyl- $\rho$ -nitrophenyl ether)을 화학적 정제과정을 통해 95% 이상의 농도로 만들어 사용하였는데 정제후 약제는 분말상태였으며 색은 황갈색이었다.

Nitrofen의 투여는 분말로 되어 있는 nitrofen을 50°C의 옥수수 기름에 완전히 용해시킨 후 지정된 임신날짜에 체중에 따라 조정된 양을(약 0.5~1.5ml) 금속성 경구 존대를 이용한 삽관을 통해 경구 투여하였는데 투여하였는데 투여시간은 일관성을 위해 오후 1시로 통

일하였다.

### ③ 실험 군

실험은 모두 3단계에 걸쳐 시행하였는데 1차 및 2차 실험은 nitrofen 투여시 가장 많은 심혈관 기형을 일으키는 임신일수를 찾고 그에 따른 심혈관 기형의 종류와 빈도를 관찰하는 실험이며 3차 실험은 1,2차 실험을 통해 밝혀진, nitrofen에 가장 민감한 임신 일에 다양한 농도의 nitrofen을 투여하여 약제 농도의 변화에 따른 심혈관 기형의 종류와 발생빈도를 조사하는 것이다.

#### <실험 1>

모두 4군으로 나누어 조사 관찰하였는데 제 I군은 임신 7, 8, 9일째에 사흘 연속으로 nitrofen을 임신랫트의 체중 kg당 250 gm 되게 옥수수기름에 녹여 경구투여하였고 제 II군은 임신 제 10, 11, 12일째, 제 III군은 임신 제 13, 14, 15일째 역시 동량의 nitrofen을 같은 방법으로 경구투여하였다. 대조군은 임신 제 7일에서 제 15일까지 옥수수기름만을 같은 기준으로 투여하였다. 관찰랫트의 태자수는 제 I군에서 23마리, 제 II군 42마리, 제 III군 56마리, 그리고 대조군 16마리를 합하여 모두 137마리였다.

#### <실험 2>

1차 실험을 통해 밝혀진 결과를 토대로 가장 nitrofen에 민감한 기간인 임신 제 10, 11, 12일째의 실험군을 2차 실험의 대상으로 했다. 관찰군은 역시 4군으로 제 I군은 임신 제 10일째에 하루만 nitrofen을 주었는데 용량은 임신랫트의 체중 kg당 350 mg을 경구투여하였고, 제 II군은 임신 11일째, 제 III군은 임신 12일째 동량의 nitrofen을 경구투여하였다. 대조군은 임신 제 10일에서 12일까지 사흘동안 옥수수 기름만을 동일한 방법으로 투여하였다. 관찰랫트의 태자수는 제 I군에서 36마리, 제 II군 41마리, 제 III군 53마리, 그리고 대조군 29마리, 모두 159마리였다.

#### <실험 3>

1, 2차 실험을 통해 밝혀진 성적을 토대로 nitrofen에 의한 심혈관 기형 유발에 가장 민감한 임신일인 임신 제 11일째에 다양한 농도의 nitrofen을 투여하여 농도의 변화에 따른 심혈관 기형의 발생빈도를 관찰하였다. 관찰군은 모두 6군으로 제 I군에서 제 V군까지 똑같이 모두 임신일수 제 11일째에 nitrofen을 각각 임신랫트의 체중 kg당 200mg(I), 250mg(II), 300mg(III), 350mg(IV), 400mg(V)를 투여하고 대조군은 체중에 맞춘 동량의

옥수수기름만을 역시 임신 제 11일째에 투여하였다. 관찰랫트의 태자수는 제 I군에서 29마리, 제 II군 39마리, 제 III군 31마리, 제 IV군 39마리, 제 V군 23마리, 그리고 대조군 25마리, 모두 186마리였다. 제 3차 실험에서는 태자에서 심혈관 기형의 관찰과 함께 횡격막 결손의 빈도도 함께 관찰하였다.

### ④ 태자의 관찰·심혈관 기형의 관찰

전 실험군 및 대조군에서 태자는 임신 제 21일째에 경추탈구법으로 어미쥐를 희생시킨 뒤 복부절개하에 적출하였는데 적출된 태자는 외양의 관찰 및 체중 측정후에 10% 포르말린 용액에 고정하였다.

심혈관 기형의 관찰은 포르말린 용액 고정후 24~72시간후에 이루어졌는데 전예에서 해부 현미경(Dissecting microscope)을 사용하였다. 사용한 해부 현미경은 Nikon회사 제품으로 태자의 심장관찰시 배율은 6.6배에서 15배 사이를 이용하였다. 관찰방법은 먼저 태자를 고정대위에 위치시킨 뒤 미세 수술 기구를 이용하여 흉골 정중절개를 시행하고 절개된 흉벽을 고정핀으로 벌리면서 심장을 직접 노출시켰다. 그런 다음 계획된 방법에 의하여 미세 수술 기구를 이용하여 심혈관 기형을 관찰하였는데 그 방법과 기준은 다음과 같다.

1. 먼저 심장의 전반적인 외양 관찰을 통해 심방과 심실이 제 위치에서 바른 관계를 유지하고 있는가를 보고 우심증의 여부도 확인한다.

2. 다음 대혈관 즉 대동맥과 폐동맥을 관찰하는데 대동맥에서는 대동맥궁의 방향(우측 또는 좌측)과 분지의 이상 즉 혈관류의 여부를 관찰하고 대동맥이 좌심실에서 기시하면서 폐동맥과 정상적인 위치관계를 이루고 있는가를 본다. 다음 폐동맥의 존재여부와 그 크기를 대동맥과 비교하여 관찰하고 우, 좌 폐동맥까지 추적 조사한다. 개방성 동맥관은 이때 관찰은 쉽게 가능하나 이 시기에는 심혈관 기형의 일종으로 간주하기가 곤란하여 조사 대상에서 제외하였다.

3. 다음은 심장내부 기형의 조사인데 심방중격 결손의 경우 이 시기의 심장에서는 심방벽이 너무 얇아 본 조사 방법으로는 정확한 관찰이 어렵고 또 개방성 난원공은 이 시기에 정상적으로 존재하므로 조사 대상에서 제외하였다. 따라서 관찰의 주 대상은 심실중격의 결손 여부였는데 조사 방법은 먼저 우심실의 전벽을 제거하면서 우심실 유출로의 형태를 관찰한 뒤, 좌심실 침부에 시중에서 시판되고 있는 녹색 잉크를 염색물질로 한, 1.0 ml 주사기(30 gauge)를 삽입하였다. 삽입된 주사기에

서서히 힘을 가하면서 염색물질이 우심실로 유출되는지를 관찰하는데 관찰시간은 좌심실로 주입된 염색물질이 대동맥을 빠져 나온 뒤 개방성 동맥관을 거쳐 폐동맥을 통해 다시 우심실로 새어나오기 직전까지로 하였다.

4. 양대혈관 우심실 기시증은 이론상 대동맥이 거의 전적으로 우심실에서 기시하지 않는 한, 소위 50% 범칙의 정의에 의한 정도가 약한 양대혈관 우심실 기시증은 그 관찰기준에 문제가 있어 활로써 4정증과 구별 조사하지 아니하였다.

#### ⑤ 자료분석 기법

자료의 통계학적 분석은 분산분석법(ANOVA)과 비율의 가설검정법(proportion Z test)을 사용하였으며,  $P < 0.05$ 일 때 통계학적으로 의미있는 차이가 있다고 간주하였다.

### 연구 성적

#### 〈실험 1〉

선천성 심혈관 기형의 발생빈도를 보면(Table 1) 제 I군에서는 관찰 태자 23마리중 3마리, 제 II군에서는 42마리중 25마리, 제 III군에서는 56마리중 11마리가

있었고 대조군은 16마리중 1예의 심혈관 기형도 관찰되지 않았다. 통계적 분석 결과 제 II군과 제 III군은 대조군에 비해 의미있는 발생빈도의 차이를 보였으나 제 I군은 없었다( $P(Z) < 0.05$ ). 또 임신 제 10, 11, 12일째 nitrofen을 투여한 제 II군이 실험군 중에서 심혈관 기형의 유발에 가장 예민한 것으로 나타났다( $P(Z) < 0.05$ ). 적출된 태자의 평균 체중도 nitrofen을 투여받은 전 실험군에서 대조군에 비해 유의하게 감소되어 있었다( $P < 0.05$ ).

관찰된 심혈관 기형의 종류를 보면(Table 2) 제 I군에는 3예 모두가 심실중격결손증이었으며 제 II군에서는 25예중 심실중격결손증이 16예로 단연 그 발생빈도가 높았으나, 활로써 4정증 4예, 심실중격 결손을 동반한 폐동맥 폐쇄증 1예등 청색증 심기형이 이 실험군에서만 모두 5예가 발견되었으며 이외에도 대동맥궁 단축증 1예, 우측 쇄골하동맥 이상기시증 등 소위 혈관류이 4예 관찰되었다. 이중 우측 쇄골하동맥 이상기시증 1예는 심실중격결손증 1예에 합병되어 있었다. 제 III군에서는 제 I군과 마찬가지로 심실중격결손증만이 11예 관찰되었고 대조군에서는 1예의 심혈관 기형도 관찰할 수 없었다. 또 관찰된 심실중격결손증을 그 발생위치별로 분류하면 모두 30예중 제 I형이 2예였고 나머지는 모두 막

Table 1. Cardiovascular anomalies in rat fetuses exposed to nitrogen—the day finding experiment (I)

Groups (Days of treatment)	Control (corn will days 7-15)	I (Day 7,8,9)*	II (Days 10,11,12)*	III (Day 13,14,15)*
Nuber of litters	2	3	5	5
Number of fetuses recovered	16	23	42	56
Average number recovered per litter	8.0	7.7	8.4	11.2
Average body wt* of fetuses recovered (gm)	4.38±0.260 <sup>a)</sup>	3.68±0.315	3.18±0.263	3.64±0.596
Cardiovascular** anomalies abserved				
Number	0/16	3/23	25/42	11/56
Percent	0	13.0	59.5	19.8

Note: + Nitrofen was administered orally to dams in corn at 250mg/kg on the indicated days.

a) Mean ± S.D.

\* Statistically depressed relative to controls.  $P < 0.05$

\*\* Statistically significant difference between groups (proportion z test.  $p < 0.05$ )

**Table 2.** Dissecting microscope findings of fetal cardiovascular anomalies in the first experiment

Group (Days of treatment)	Control (Corn oil 7-15)	I (Day 7,8,9)	II (Day 10,11,12)	III (Day 13,14,15)
Number of fetuses observed (Number of litters)	16 (2)	23 (3)	42 (5)	56 (5)
*Cardiovascular anomalies				
VSD	—	3	16	11
TOF	—	—	4	—
P.A. + VSD	—	—	1	—
TGA	—	—	—	—
IAA	—	—	1	—
Anomalous RSCA	—	—	3(-1)**	—
Anomalous RIA	—	—	1	—
Total	0	3	25	11

Note \* VSD: Ventricular septal defect  
P.A.: Pulmonary atresia  
IAA: Interrupted aortic arch  
RIA: Right innominate artery

\*\* A Case Combined with VSD.  
TOF: Tetralogy of Fallot  
TGA: Transposition of great arteries  
RSCA: Right Subclavian artery

**Table 3.** Cardiovascular anomalies in rat fetuses exposed to nitrofen-the day finding experiment (II)

Groups (Day of treatment)	Control (Corn oil, Day 10-12)	I (Day 10)*	II (Day 11)*	III (Day 12)*
Number of litters	3	4	4	5
Number of fetuses recovered	29	36	41	53
Average number recovered per litter	9.7	9	10.3	10.6
Average body wt.* of fetuses recovered (gm)	4.30 ± 0.399 <sup>a)</sup>	3.46 ± 0.395	3.21 ± 0.391	3.39 ± 0.464
Cardiovascular anomalies recovered**				
Number	1/29	12/36	27/41	10/53
Percent	3.4	33.3	65.9	18.9

Note + Nitrofen was administered orally to dams in corn oil at 350mg/kg on the indicated days.

a) mean ± S.D.

\* Statistically depressed relative to controls, P<0.05.

\*\* Statistically significant difference between groups (proportion Z test, P<0.05)

상주위 결손형인데 소위 제 II 형과 제 III 형과의 구별은 가  
능하지 않았다.

#### <실험 2>

선천성 심혈관 기형의 발생빈도를 보면 (Table 3) 제

I 군에서 관찰 태자 36 마리중 12 마리, 제 II 군에서 41  
마리중 27 마리, 제 III 군에서 53 마리중 10 마리가 관찰  
되어 전 실험군에서 29 마리중 1 예의 심혈관 기형이 발  
견된 대조군보다 통계적으로 유의 있는 발생빈도를 보였  
다 (P(Z)<0.05). 또 3개의 실험군중 임신 제 11 일째에

nitrofen을 투여한 제Ⅱ군이 가장 예민하게 심혈관 기형을 일으켰다( $P < 0.01$ ).

2차 실험에서 관찰된 심혈관 기형의 종류를 보면(Table 4)제Ⅰ군에서는 모두 12예중 반인 6예가 심실중격결손증이었으며 나머지 6예중 대동맥궁 단속증이 2예, 좌측 대동맥궁에 우측 쇄골하동맥 이상기시증 및 우측 대동맥궁에 좌측 쇄골하동맥 이상기시증등 대동맥궁 이상이 4예에서 단독으로 관찰되었다. 심실중격결손증 6예중 2예에서 각각 대동맥궁 이상이 동반되어 있었다. 제Ⅱ군에서는 모두 27예중 활로씨 4정증이 13예로 특징적으로 가장 높은 빈도를 보였으며 이외 심실중격결손증과 활로씨 4정증에 각각 합병된 2예를 포함하여 모두 9예가 관찰되었다. 심실중격결손증 22예의 위치별 분류는 막상주위 결손형이 20예, 누두부에 위치한 소위 제Ⅰ형이 2예였으며 근육형은 없었다.

### 〈실험 3〉

선천성 심혈관 기형 및 횡격막 결손의 빈도를 보면(Table 5) 제Ⅰ군에서 관찰 태자 29마리중 심혈관 기형이 4마리, 그리고 횡격막 결손이 8마리였으며, 제Ⅱ군에서는 39마리중 각각 6마리와 3마리, 제Ⅲ군에서는 31마리중 각각 12마리와 15마리, 제Ⅳ군에서는 39마리중 각각 19마리와 21마리, 제Ⅴ군에서는 23마리중 각각 9마리와 15마리가 관찰되었고 대조군에서는 선천성 심혈관 기형이나 횡격막 결손이 1예도 관찰되지 않았다. 심혈관 기형의 경우 제Ⅰ군을 제외하고는 모든 실험군이 대조군에 비해 통계적으로 유의한 발생 빈도의 차이를 보였으며( $P < 0.05$ ), 횡격막 결손의 경우에는 제Ⅱ군을 제외한 전 실험군이 대조군에 비해 발생빈도가 높았다( $P < 0.05$ ). 또 실험군중 심혈관 기형의 발생은 임신랫트의 체중 kg당 nitrofen 300mg 이상의 투여군인 제Ⅲ,Ⅳ,Ⅴ군이 제Ⅰ,Ⅱ군에 비해 그 빈도가 유의하게 증가되어 있었으며 반면 횡격막 결손은 제Ⅳ,Ⅴ군에서 제Ⅰ,Ⅱ,Ⅲ군에 비해 그 발생빈도상 유의있는 차이를 보였다( $P < 0.05$ ).

관찰 심혈관 기형의 종류를 보면(Table 6) 전 실험군에서 심실중격결손증이 가장 많이 관찰되어 모두 25예였는데 모두가 막상주위 결손형이었다. 활로씨 4정증은 모두 10예, 그리고 우측 쇄골하동맥 이상 기시증은 14예가 관찰되었고 우측 대동맥궁에 거울상 분지를 가진 1예가 제Ⅳ군에서 관찰되었다. 전체 심혈관 기형 50예중에서 횡격막 결손과 합병된 예는 30예로 60%를 차지하고 있었는데 횡격막 결손의 위치는(Table 7) 전

체 횡격막 결손 62예중 우후방에 발생한 것이 52예로 단연 많았으며, 1예가 좌후방에 그리고 나머지 2예는 양측성으로 생겼다.

또 3차 실험에서 관찰된 심혈관 기형의 성별 발생빈도는 Table 8과 같다.

## 고 찰

Nitrofen은 그 화학명이 2,4-dichlorophenyl-*p*-nitrophenyl ether인 diphenyl ether계 제초제 중의 하나로 nitrophenol, TOK, TOK E25, 또는 Nip 등의 이명으로도 불리며(Stone & Manson, 1981) 국내에서도 특크란 상품명으로 농업용 제초제로 시판된 바 있으나 최근 그 발암성 등의 문제로(Millman, 1978) 공급이 중단되었다. Nitrofen의 임신 중 독성에 관한 연구는 Ambrose et al (1971)과 Kimbrough et al (1974)이 임신랫트에 일정농도 이상의 nitrofen을 함유한 음식물을 섭취시킬 경우 그 태자의 신생아기 사망율이 높아진다는 것을 관찰함으로써 시작되었다. 이러한 신생아기 사망의 원인에 관해서 Kimbrough et al (1974)은 사망한 예에서 모두 호흡부전 증세를 보이면서 청색증과 함께 사망하고 또 부검소견상 폐의 발달이 제대로 되지 않았거나 무기폐의 소견을 보임을 관찰하고 nitrofen이 폐의 발달과정에서 표면활성물질의 생성에 영향을 미쳐 이것이 호흡부전 및 사망의 주 원인일 것을 시사하였으나 Stone & Manson (1981)은 생화학적 또는 물리화학적 실험 관찰을 통해 nitrofen이 폐표면활성물질의 생성에는 영향을 미치지 못하므로 신생아 사망의 주 원인으로 폐가 일차 표적장기가 아니거나 또는 nitrofen이 폐의 발달과정중 아직 밝혀지지 않은 조기의 어떤 단계에 작용하여 영향을 미칠 가능성을 보고하였다. nitrofen독성으로 인한 신생아기 사망의 표적장기에 관한 연구는 Costlow & Manson (1981)에 의해 본격적으로 이루어졌는데 임신랫트에서 nitrofen을 임신 제 11일째에 투여하였을 때 태자의 출생후 체중 및 사망율의 증가가 가장 유의있게 관찰되었으며 이때 출생후 5일까지 생존을 기준으로 했을 때 50% 치사량은(LD 50) 순도 99% 이상의 nitrofen을 사용했을 시에 임신랫트의 체중 kg당 110mg으로 보고되었다.

또 신생아기 사망의 주된 원인장기로서 횡격막 결손과 더불어 심혈관 기형이 유발되는 것을 관찰하였는데 이때 처음으로 nitrofen에 의해 선천성 심혈관 기형이 유발된다는 것을 보고하였다.

**Table 4.** Dissecting microscopic findings of fetal cardiovascular anomalies in the second experiment.

Groups (Days of treatment)	Control (Corn Oil, Days 11-12)	I (Day 10)	II (Day 11)	III (Day 12)
Number of fetuses observed (Number of litters)	29	36	41	53
*Cardiovascular anomalies	(3)	(4)	(4)	(5)
VSD	1	6	7	8
TOF	—	—	13	—
PA	—	—	—	—
TGA	—	—	—	—
IAA	—	2	—	—
Anomalous RSCA	—	4(-1)*	9(-2)***	2
Anomalous LSCA with right aortic arch	—	2(-1)**	—	—

Note \* Abbreviations were same as table 2.

\*\* A Case Combined with VSD.

\* A Case Combined with VSD.

\*\*\* Cases Combined with TOF or VSD

**Table 5.** Cardiovascular anomalies and diaphragmatic defects in fetuses exposed to nitrofen — the dosage finding experiment

Groups	Control	I	II	III	IV	V
Dosage of nitrofen	(Corn oil)	(200 mg/kg)	(200 mg/kg)	(300 mg/kg)	(350 mg/kg)	(400 mg/kg)
Body wt. of litter						
Number of litters	2	3	4	3	4	2
Number of fetuses recovered	25	29	39	31	39	23
Average number recovered per litter	12.5	9.7	9.8	10.3	9.8	11.5
Average body wt. of fetuses recovered (gm)	4.25 ± 0.129 <sup>a)</sup>	3.34 ± 0.204	3.23 ± 0.292	2.95 ± 0.499	3.13 ± 0.270	3.03 ± 0.634
Cardiovascular** anomalies observed						
Number	0/25	4/29	6/39	12/31	19/39	9/23
Percent	0	13.8	15.4	38.7	48.7	39.1
Diaphragmatic defects observed.**						
Number	0/25	8/29	3/39	15/31	21/39	15/23
Percent	0	27.6	7.7	48.4	53.8	65.2

Note a) Mean ± S.D.

\* Statistically depressed relative to controls, P&lt;0.05.

\*\* Statistically significant difference between groups (proportion Z test, P&lt;0.05)

**Table 6.** Dissecting microscopic findings of fetal cardiovascular anomalies in the third experiment.

Groups	Control	I	II	III	IV	V	
							Dosage of nitrofen
	Body wt. of litter	(Corn oil)	(200 mg/kg)	(200 mg/kg)	(300 mg/kg)	(350 mg/kg)	(400 mg/kg)
Number of fetuses	observed	25	29	39	31	39	23
	(Number of litters)	(2)	(3)	(4)	(3)	(4)	(2)
*Cardiovascular anomalies							
VSD	—	2 (2) <sup>p</sup>	5 (1) <sup>p</sup>	6 (3) <sup>p</sup>	8 (6) <sup>p</sup>	4 (2) <sup>p</sup>	
TOF	—	—	1	2 (2) <sup>p</sup>	4 (2) <sup>p</sup>	3 (3) <sup>p</sup>	
PA	—	—	—	—	1 (1) <sup>p</sup>	—	
IAA	—	—	—	—	—	—	
TGA	—	—	—	—	—	—	
Aberrant RSCA	—	2 (-1)*	—	5 (3) <sup>p</sup> (-1)*	5 (3) <sup>p</sup>	2 (1) <sup>p</sup>	
Right aortic arch with mirror image branching	—	—	—	—	1 (1)	—	
Total	0	4	6	12	19	9	

Note \* Abbreviations were same as table 2.

\* A case combined with VSD.

( )<sup>p</sup> Cases combined with diaphragmatic defect.

**Table 7.** Location of diaphragmatic defect.

Location	Groups						Total
	Control	I	II	III	IV	V	
Right posterior	—	7	3	14	20	15	59
Left posterior	—	1	—	—	—	—	1
Bilateral	—	—	—	1	1	—	2
Total	0	8	3	15	21	15	62

**Table 8.** Frequency of cardiovascular anomalies according to sex.

	Examined fetuses	Cardiovascular anomalies	Percent
Male	97	26	26.8
Female	89	24	27.0

일반적으로 임신랫트에 똑같은 기형원을 주요 장기 형성기간에 투여했을 때에도 그 투여시기의 차이에 따라 발현되는 선천성 기형의 양상에 많은 차이가 있는 것으로 알려져 있다. 즉 같은 기형원에 의해서도 그 기형원에 의해 폭로된 임신랫트의 임신일수에 따라 심혈관기형이 많이 생길 수도 있고 또는 뇌 기형이나 안 기형이 많이 생길 수도 있는 것이다(Wilson, 1965). 또 심혈관 기형내에서도 그 다양한 종류와 복잡한 발생기전 때문에 특히 랫트처럼 임신일수가 짧은 동물에서는 기형원에 폭로된 임신일수의 조그만 차이가 다른 심혈관 기형을 유발시킬 가능성이 있는 것이다.

본 연구의 제 1차 실험에서는 랫트의 주요 장기 형성기(majororganogenesis)인 임신 제 7일에서 제 15일 사이를 3개의 실험군으로 나눈 뒤 어느 시기가 가장 기형원에 민감하게 심혈관 기형을 유발시키며 그 양상이 어떤가를 보았는데 이때 임신일수의 계산은 연구자에 따라서 약간의 차이가 있는데 Okamoto(1980)는 질구의 도말표본에서 정자가 관찰된 날의 오전 10시 그리고 Fox & Goss(1957, 1958)는 오전 0시를 임신 제 0일



의 시작시간으로 계산하였고 Wilson (1955)은 정자가 관찰된 임의의 오전 시간의 24시간후를 임신 제 1일로 정의했다. 또 Taleporos et al (1978), Costlow & Manson (1981) 등은 질구의 도말표본에서 정자가 관찰되면 그 날을 임신 제 1일로 간주하였는데 본 연구에서도 후자와 같은 방법으로 임신일수를 산정하였다.

1차 실험결과 임신 제 10, 11, 12일째 nitrofen을 투여한 제 II군에서 심혈관 기형의 발생 빈도도 가장 많을 뿐 아니라 제 I군과 제 III군에서는 발생 심혈관 기형이 심실중격결손증 뿐인데 비해 활로씨 4 징증, 폐동맥 폐쇄증 등 청색증 심혈관 기형을 포함하여 우측 쇄골하동맥 이상기시증등의 혈관류, 그리고 대동맥궁 단축증 등의 다양한 소위 복잡 심혈관기형을 많이 일으킨다는 것이다.

이것은 이 시기가 폐의 발아 (Shepard, 1980)등과 함께 heart tube의 굴절, conal ridge의 등장 그리고 동맥간 팽창부 형성 등 심장발육의 결정적인 형태학적 변화가 일어나는 시기라는 점과 (Okamoto, 1980) 일치하는 소견이라 하겠다.

또 2차 실험결과 임신 제 10~12일 중에서 임신 제 11일째가 현저하게 높은 빈도의 심혈관 기형이 관찰되었는데 특징적으로 활로씨 4 징증이 13예로 심실중격결손증보다 오히려 더 높은 빈도로 나타났으며 또 이 실험군에서만 관찰되었다.

사람에서와는 달리 임신기간이 짧은 랫트에서는 하루의 차이로 심장의 형태학적 변화가 현저히 이루어짐을 감안할 때 아마도 이 시기가 heart tube의 굴절 시작과 함께 활로씨 4 징증의 형태학적 특성을 가름하는 누두부의 태생학적 형성 발달이 가장 뚜렷이 일어나는 시기일 가능성이 있다.

Nitrofen 투여후 이 약물이 태자에게 영향을 미치는 시간은 Nitrofen을 방사성 동위원소로 표시하고 경구 투여하면 임신랫트의 태자에서 2시간후에 처음 발견되고 4~6시간 후에 최대량에 도달하는 것을 보아 (Costlow & Manson, 1983) 본 실험에서와 같이 오후 1시에 Nitrofen을 투여하면 임신 제 11일에 해당되는 심장의 발육시기에 기형원이 작용할 것을 추정할 수 있다.

일반적으로 기형원의 투여용량에 따라 기형의 발생양상에 차이가 있는데 적게는 정상 발달에 아무런 장애를 주지 않는 용량에서 많게는 태자나 심지어 어미까지 죽이는 치사량 사이에 소위 기형 유발용량대가 있는 것으로 알려져 있다 (Wilson, 1965). 본 연구의 제 3차 실험에서 임신 제 11일째 nitrofen을 250mg/kg 이상 투

여하였을 때 대조군에 비해 의미있는 심혈관 기형의 발생이 있었으며 300mg/kg 이상의 실험군에서 보다 증가하였다. 그러나 횡격막 결손의 경우 제 I군보다 오히려 제 II군에서 대조군과 통계적 차이가 없는 발생 빈도가 보인 것은 그 이유가 확실치 않다.

랫트에서 심혈관 기형의 자연적인 발생빈도는 랫트의 계통에 따라 약간의 차이를 보이고 있는데 Long-Evans Substrain에서 8.5% (Fox & Goss, 1965), Long-Evans California에서 1.2% (Fox, 1967), Wistar에서 3.8% (Inomata & Yasuda, 1971), Walter Reed-Carworth에서 7.5% (Clemmer & Telford, 1966) 등으로 보고되고 있다. 본 실험에 사용한 Sprague-Dawley의 경우 3.2~4.7%의 발생 빈도가 보고되고 있는데 (Haring, 1960, 1966; Inomata & Yasuda, 1971) 대부분 심실중격결손증이였다. 본 실험의 경우 전체 대조군 70예에서 심실중격결손증이 1예 관찰되어 약 1.4%의 발생빈도를 보였다.

심실중격결손증은 사람에서 이첨 대동맥 판막을 제외하고 임상적 의의가 있는 선천성 심장기형중에 가장 많은 빈도로 발생하여 대부분의 보고에서 전체 심장 기형의 약 25~35%를 차지하고 있고 (Carligen, 1959; Mitchell et al, 1971, Bound & Logan, 1977; Ando & Takao, 1978) 국내에서의 보고도 34.6%로 역시 가장 많다 (홍등, 1983). 랫트에서도 심실중격결손의 발생빈도가 가장 높은 것으로 알려져 있는데 (Okamoto, 1980) 본 실험에서도 전체 심혈관 기형 139예중 77예가 심실중격결손증으로 약 55.4%를 차지하고 있다. 또 심실중격결손증의 위치는 4예만이 상심실구 위쪽에서 발생하는 소위 제 I형이었고 나머지는 모두 막성 주위 결손형이였다.

활로씨 4 징증은 모두 27예가 관찰되었는데 모두 특징적인 형태학적 모양을 하고 있었다. 폐동맥은 대동맥 크기의 약 1/3에서 1/2 사이로 대부분 작았다. 전술한 바와 같이 양대혈관 우심실 기시증은 그 정의상 활로씨 4 징증과 구별되나 (Lev et al, 1972) 대동맥 기승이 90%까지는 활로씨 4 징증의 형태학적 유사성만 있으면 활로씨 4 징증으로 간주할 수도 있고 (Stewart et al, 1979) 또 본 관찰방법으로는 대동맥 기승의 정도를 정확히 알기가 곤란하여 활로씨 4 징증과 구별하여 조사하지 않았는데 앞으로 보다 엄격한 관찰이 필요하다 하겠다.

폐동맥 폐쇄증은 1차 실험의 제 II군과 3차 실험의 제 IV군에서 모두 2예가 관찰되었는데 2예 다 큰 막상



Fig. 1. Gross appearance of rat fetuses whose mothers were sacrificed on the twenty-first day of gestation. Above is fetus treated with nitrofen on the eleventh day of gestation and below is control.

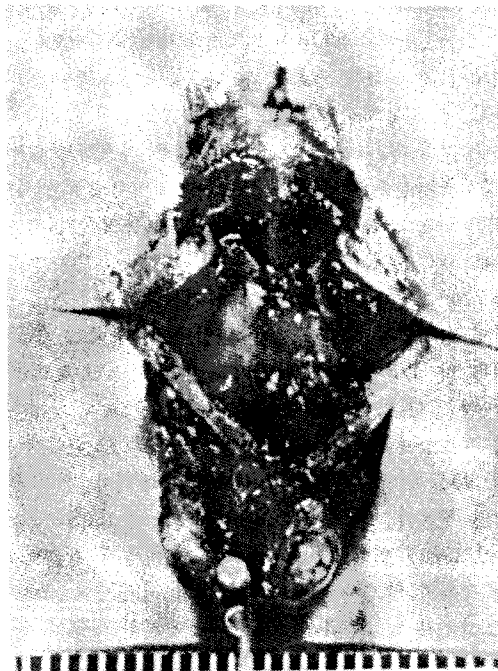


Fig. 2. Position for dissecting microscopic examination after median sternotomy of rat fetus. Heart is well shown in the middle of field

주위 심실중격결손을 동반하고 있었으며 누두부와 주폐 동맥의 근위부의 형태는 보존되어 있었으나 유출로는 폐쇄되어 혈류의 차단이 있었다. 이는 한때 Collett & Edwards (1949)의 분류상 제 IV형으로 동맥간의 한 형으로 간주되기도 했으나 최근 그 발생기전이 다른 것으로 생각되어 위성 동맥간 또는 심실중격 결손증을 합병한 폐동맥 폐쇄증 등으로 불리게 되었다.

혈관류는 대동맥궁의 태생학적 발달 이상으로 기인하며 그 발생기전은 Edwards (1953, 1977)의 "Hypothetic double aortic arch"에 의한 설명으로 널리 이해되고 있는데 그 형성 본질은 대동맥궁의 태생학적 발달과정에서 정상적으로 퇴화되어야 할 혈관부위는 계속 남아 있고 계속 남아 있어야 할 부분은 비정상적으로 퇴화하는데 있다. 혈관류의 분류는 Edwards의 이론에 근거를 둔 Stewart 식 분류가 널리 통용되고 있는데(Ma-



Fig. 3. Interior of the right ventricle and pulmonary trunk of nitrofen treated fetus. Arrow points to subarterial ventricular septal defect. Contrast dye was injected through LV apex and VSD was well demarcated on RV side.



Fig. 4. Interior of the right ventricle of nitrofen treated fetus. Arrow points to perimembranous ventricular septal defect. Contrast dye, same as Fig. 3.

ttthews & Hammon, 1983) 사람에서는 분류 중 제 I 형인 중부 대동맥궁, II B 형인 좌측 대동맥궁에 우쇄골하 동맥 이상기시, III A 형인 우측 대동맥궁에 거울상 분지형, 그리고 III B 형인 우측 대동맥궁에 좌쇄골하 동맥 이상기시등이 자주 관찰되나(Arciniegas et al, 1979 : Richardson et al, 1981) 본 실험에서는 총 35 예의 혈관류중 III B 형인 좌측 대동맥궁에 우측 쇄골하동맥 이상기시가 31 예를 차지해 매우 특징적인 현상을 보였다. 이러한 빈도가 본 실험에 국한된 것인지 아니면 보다 보편적인 현상으로 결론할 수 있는지의 여부는 보다 집중적인 관찰이 필요하다 하겠다. 이 III B 형은 불완전 혈관류의 일종으로 사람에서 약 0.5%의 발생빈도로(Pass & Sade, 1983) 비교적 흔하긴 하나 완전한 혈관류를 이루지 못하기 때문에 임상적인 증상을 일으키는 경우는 매우 드물다(Moes, 1983).

대동맥궁 단속증은 3예가 관찰되었는데 모두 Celc-

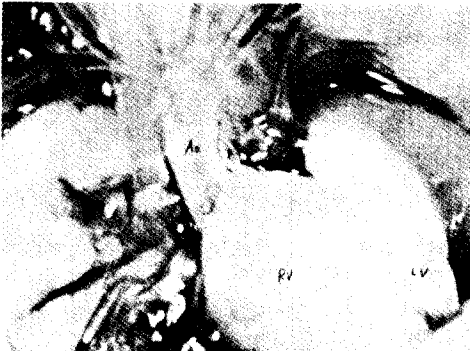


Fig. 5. Heart and major arteries of nitrofen treated fetus with tetralogy of Fallot. Note small pulmonary artery and large aorta.



Fig. 6. Heart and major arteries of nitrofen treated fetus with pulmonary atresia + ventricular septal defect. Arrow points to atretic main pulmonary artery.



Fig. 7. Large patent ductus arteriosus of control fetus. Note small left pulmonary artery. Patent ductus arteriosus is normal finding at this stage of fetus.



Fig. 8. Interrupted aortic arch, type B of nitrofen treated fetus. Note large pulmonary artery and left subclavian artery arising from descending aorta.



Fig. 9. Left aortic arch with aberrant right subclavian artery of nitrofen treated fetus.



Fig. 11. Left diaphragmatic hernia of nitrofen treated fetus. X refers to herniated liver.



Fig. 10. Right aortic arch with aberrant left subclavian artery of nitrofen treated fetus. Aberrant left subclavian artery is not shown in this figure.



Fig. 12. Right diaphragmatic hernia of nitrofen treated fetus.

ria & Patton (1959)의 분류상 B형으로 좌측 총경동맥과 좌측 쇄골하동맥 사이가 단절되어 있는 경우인데 사람에서 대동맥궁 단속증의 3가지 형중 가장 빈도가 높은 형이다 (Van Praagh et al, 1971). 이 기형의 발생기전은 대동맥궁의 태생기 성분중일부가 퇴화를 일으켜 생기는 것으로 해석되고 있는데 퇴화를 일으키는 원인에 관해서는 대동맥궁을 통한 혈류의 감소가 직접 원인이라고 보고 있다 (Congdon & Wang, 1936; Jaffee, 1967). 즉 대동맥궁 단속증을 가진 심장의 내부를 보면 특징적으로 상 심실구의 좌측전이 일어나 있어 근육성 대동맥하 협착증과 큰 폐동맥하 심실중격 결손을 야기시킨다. 이로 인해 심실중격결손을 통해 많은 양의 좌우 단락이 형성되므로써 상행대동맥으로의 혈류가 우회되고 대신 폐동맥과 동맥관의 혈류가 증가하여 대동맥 단속과 동맥관의 확장이 초래된다는 것이다 (Van

Praagh et al, 1971). 본 증례에서도 큰 상 심실성 심실중격결손이 관찰되어 일치된 소견을 보였다. 그러나 그 발생기전상 예외가 없는 것이 아니어서 드물게 심장 내부 기형없이 대동맥 단속증만이 올 수 있고 (Pillshury et al, 1964) 이 때는 아마도 다른 요인이 작용할 것으로 보고 있다 (Congdon & Wang, 1926).

## 결 론

Nitrofen을 이용하여 임신 랫트의 태자에서 선천성 심혈관 기형을 유발시킨 뒤 해부 현미경하의 관찰을 통해 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 임신 랫트의 nitrofen 투여시 임신 제 11 일째 투여군에서 선천성 심혈관 기형의 발생빈도가 가장 예민하게 증가하며, 이때 심혈관 기형의 발생빈도는 nitr-

ofen의 용량과 비례한다.

2. Nitrofen으로 유발된 선천성 심혈관기형중 심실중격결손증의 발생빈도가 가장 높아 전체의 반 이상을 차지하며 그 다음 빈도로 대동맥궁 이상과 활로씨 4징증이 차지하였다.

3. 활로씨 4징증이나 심실중격 결손증을 동반한 폐동맥 폐쇄증과 같이 누두부의 이상 형성을 동반하는 심기형은 특징적으로 임신 제 11 일째 nitrofen 투여군에서만 발견되었다.

4. 대동맥궁 이상이 전체적으로 높은 빈도로 유발되었는데 그 대부분은 좌측 대동맥궁에 병합된 우측 쇄골하동맥 이상기시증이었다.

## REFERENCES

1. 정화순, 지재근. Nitrofen이 백서의 황격막 발달에 미치는 영향에 관한 연구, 대한병리학회지, 1984, 18 :122-135.
2. 홍창익, 윤용수, 최정연 외 2인. 한국인의 선천성 심질환. 대한의학협회지, 1983, 26 : 721 - 735.
3. Ambrose AM, Larson JF, Borzelleca, et al: *Toxicological studies on 2,4 dichlorophenyl-p-nitrophenyl ether*. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 19:263-275, 1971.
4. Ando M, Takao A: *Racial difference in the morphology of common cardiac anomalies in proceedings of the first Asian society of pediatric cardiology meeting*. Tokyo, 56-63, 1978.
5. Arciniegas, E, Hakimi M, Hertzler JH, et al: *Surgical management of congenital vascular rings*. *J. Th. Orac. Cardiovasc. Surg.* 77:721-727, 1979.
6. Blalock A, Taussig HB: *The surgical treatment of malformations of the heart*. *JAMA* 128:189-202, 1945.
7. Bound JP, Logan WFW: *Incidence of congenital heart disease in Blackpool, 1957-1971*. *Br. Heart J.* 39:445-450, 1977.
8. Butler N, Claireaux AE: *Congenital diaphragmatic hernia as a cause of perinatal mortality*. *Lancet*. 1:659-663, 1962.
9. Carlgren LE: *The incidence of congenital heart disease in children born in Gothenberg, 1941-1950*. *Br. Heart. J.* 21:40-50, 1959.
10. Celoria GC, Patton RB: *Congenital absence of the aortic arch*. *Am. Heart J.* 58:407-413, 1959.
11. Clemmer TP, Telford IR: *Abnormal development of rat heart during prenatal hypoxic stress*. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* 121:800-803, 1966.
12. Collett RW, Edwards JE: *Persistent truncus arteriosus-a classification according to anatomic types*. *Surg. Clin. North. Am.* 152-158, 1949.
13. Congdon ED, Wang HW: *The mechanical processes concerned in the formation of the differing types of aortic arches of the chick and the pig and in the divergent early development of the pulmonary arches*. *Am. J. Anat.* 37:499-520, 1926.
14. Costlow RD, Manson JM: *The heart and diaphragm: target organs in the neonatal death induced by nitrofen (2,4-dichlorophenylp-nitrophenyl ether)*. *Toxicology* 20:209-227, 1981.
15. Costlow RD, Manson JM: *Distribution and metabolism of the teratogen nitrofen (2,4-dichloro-4-nitro diphenyl ether) in pregnant rats*. *Toxicology* 26:11-23, 1983.
16. David TJ, Illingworth CA: *Diaphragmatic hernia in the southwest of England*. *J. Med. Genet.* 13:253-262, 1976.
17. Edwards JE: *Malformations of the aortic arch system manifested as vascular rings*. *Lab. Invest.* 2:56, 1953.
18. Edwards JE: *Anomalies of the aortic arch system*. *Birth Defects* 13:47, 1977.
19. Fox MH, Goss CM: *Experimental production of a syndrome of congenital cardiovascular defects in rats*. *Anat. Rec.* 124:189-208, 1956.
20. Fox MH, Goss CM: *Experimentally produced malformations of the heart and great vessels in rat fetuses-atrial and caval abnormalitie*. *Anat. Rec.* 129:309-332, 1957.
21. Fox MH, Goss CM: *Experimentally produced malformations of the heart and great vessels in rat fetuses-transposition complexes and aortic arch abnormalities*. *Am. J. Anta.* 102:65-92, 1958.
22. Fox MH: *Genetic transmission of congenital membranous ventricular septal defects in selectively inbred substrains of rats*. *Cir. Res.* 20:422-433, 1967.
23. Gibbon JH: *Application of a mechanical heart-lung apparatus to cardiac surgery, in recent advances in cardiovascular physiology and surgery*. University of Minnesota Minneapolis. 107-113, 1958.
24. Gross RE, Hubbard JP.: *Surgical ligation of a patent ductus arteriosus-report of first successful case*. *JAMA* 112:729-731, 1939.
25. Haring OM: *Cardiac malformations in rats induced by exposure of the mother to carbon dioxide during pregnancy*. *Circ. Res.* 8:1218-1227, 1960.
26. Hoffman JJE, Christianson R: *Congenital heart disease in a cohort of 19, 502 births with long follow-up*. *Am. J. Car-*

- diol. 42:641-647, 1978.
27. Inomata N, Yasuda M: *Prevalence and types of spontaneous interventricular septal defects in rat fetuses. Exp. Anim.* 20:15-20, 1971.
  28. Jaffee OC: *The development of the arterial outflow tract in the chick embryo heart. Anat. Rec.* 158:35-42, 1967.
  29. Kimbrough RD, Gains TB, Linder RE, et al.: 2, 4-Dichlorophenyl-p-nitrophenyl ether. *Arch. Environ. Health.* 28:316-320, 1974.
  30. Lev M, Bharati S, Meng CCL, et al: A concept of doubleoutlet right ventricle. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 64:275-281, 1972.
  31. Lie TJ: *The malformation complex of the absence of the arch of the aorta-Steidele's complex. Am. Heart J.* 73:615-625, 1967.
  32. Matthews JT, Hammon JW: *Anomalies of the aortic arch system, in vascular disorders of childhood. Lea & Febiger, philadelphia, 21-35, 1983.*
  33. Millman HA: *Pancreatic carcinogenesis and naturally occurring pancreatic neoplasms of rats and mice in the NCI carcinogenesis testing program. J. Environ. Path. Tox.* 1978, 1:829-840.
  34. Mitchell SC, Korones SB, Berendes HW: *Congenital heart disease in 56, 109 births incidence and natural history. Circulation* 43:323-332, 1971.
  35. Moes CAF: *Vascular rings and anomalies of the aortic arch, in Heart disease in infancy and childhood, third ed, Macmillan publishing Co., New York, 856-881, 1983.*
  36. Moulton AL, Malm JR: *Pulmonary atresia with ventricular septal defect, in Thoracic and cardiovascular surgery, fourth ed., Appleton-Century-Crofts, Norwalk, 837-842, 1983.*
  37. Neel JL: *Study of major congenital defects in Japanese infants Am. J. Hum. Genet.* 10:498-445, 1958.
  38. Nora JJ: *Etiologic aspects of heart disease, in Moss's heart disease in infants, children, and adolescents, third ed, Williams & Wilkins, Baltimore, 2-10, 1983.*
  39. Okamoto N, Satow Y, Hidaka N, et al: *Morphogenesis of congenital heart anomaly-bulboventricular malformations. Jap. Circ. J.* 42:1105-1120, 1978.
  40. Okamoto N: *Normal and abnormal morphogenesis of the rat heart, in Congenital abnormalities of the heart. Igaku-Shoin, Tokyo, 195-242, 1980.*
  41. Pass HI, Sade RM: *Tracheo-esophageal compressive syndromes of vascular surgery, fourth ed, Appleton Century Crofts, Norwalk, 1983, 699-710.*
  40. Richardson JV, Doty DB, Rossi NP, et al: *Operation for aortic arch anomalies. Ann. thorac. Surg.* 31:426-432, 1981.
  41. Shepard TH: *Catalog of teratologic agents, third ed., Johns Hopkins University press, Baltimore, 13, 1980.*
  42. Richardson JV, Doty DB, Rossi NP, et al: *Operation for aortic arch anomalies. Ann. Thorac. Surg.* 31:426-432, 1981.
  43. Shepard TH: *Catalog of teratologic agents, thrid ed., Johns Hopkins University press, Baltimore, 13, 1980.*
  44. Stewart RW, Kirklin JW, Pacifico AD, et al: *Repair of doubleoutlet right ventricle-an analysis of 62 cases. J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 78:502-514, 1979.
  45. Stone LC, Manson JM: *Effects of the herbicide 2,4-dichlorophenyl-p-nitrophenyl ether (nitrofen) on fetal lung development in rat. Toxicology* 20:195-207, 1981.
  46. Taleporos P, Salgo MP, Oster G: *Teratologic action of a bis (ichloroacetyl) diamine on rats-patterns of malformations produced in high incidence at time-limited periods of development. Toxicology* 18:5-16, 1978.
  47. Van Praagh R, Bernhard WF, Rosenthal A, et al: *Interrupted aortic arch-surgical treatment. Am. J. Cardiol.* 27:299-211, 1971.
  48. Vongprattep C: *pediatric cardiology in Thailand, in proceedings of the first Asian society of pediatric cardiology meeting Tokyo, 43-48, 1978.*
  49. Warkany J, Roth CB: *Congenital malformation induced in rats by maternal vitamin A deficiency-II. Effects of varying the preparatory diet upon the yield of abnormal young J. Nutrition* 35:1-11, 1948.
  50. Wilson JG: *Teratologic activity of several azo dyes chemically related to trypan blue. Anat. Rec.* 123:313-334, 1955.
  51. Wilson JG: *Embryological considerations in teratology, in Teratology principles and techniques, The University of Chicago press, Chicago, 251-261, 1965.*