

بررسی آثار تراژونیک مصرف داروی بنزودیازپین دیازپام در دوران بارداری بر ناهنجاریهای سیستم بینایی در جنین

نسرین تک زارع [†]M.Sc.*، کامران یارمحمدی [†]M.D.*، علیرضا تک زارع [†]M.D.*

سیدمهدی رضایت [†]Ph.D.*، محمد اکبری [†]Ph.D.*

[†] دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، گروه آناتومی، بخش جنین‌شناسی

[†] دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده پزشکی، گروه پاتولوژی

[†] اداره بهداشت و درمان نیروی هوایی ارتش جمهوری اسلامی ایران

[†] دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، گروه فارماکولوژی

[†] دانشگاه علوم پزشکی تهران - دانشکده پزشکی، گروه آناتومی

آدرس مکاتبه: تهران، صندوق پستی ۶۴۴۷-۱۴۱۵۵، دانشگاه علوم پزشکی تهران، گروه علوم تشریح

چکیده

هدف: بررسی آثار تراژونیک داروی دیازپام در دوران بارداری بر روند تکامل سیستم بینایی

مواد و روشها: موشهای رت Wistar بکر با میانگین سنی ۳ ماه و وزن ۳۰۰-۲۵۰ گرم انتخاب شده و پس از باردار شدن در سه گروه ۱- گروه شاهد، ۱۰ موش (تزریق آب مقطر)، ۲- گروه آزمایش اول، ۱۰ موش (آب مقطر و دیازپام ۳ mg/kg/day)، ۳- گروه آزمایش دوم، ۱۰ موش (آب مقطر و دیازپام ۸ mg/kg/day) تقسیم شدند. گروههای مذکور براساس تزریق دوره‌ای مواد را دریافت کرده و پس از طی مرحله بحرانی بارداری موشهای باردار کشته شده و جنینها خارج گردیده و در گروههای خاص خود قرار گرفتند.

در ابتدا جنینها مورد مطالعه میکروسکوپی از نظر بروز آنومالی‌های ظاهری قرار گرفتند. سپس برای بررسی دقیق‌تر روی ارگانوژنز درونی بافتها و ارگانها، نمونه‌های جنینی آماده شده و فیکسسیون و پروسسینگ بافتی و رنگ آمیزی H&E روی آنها انجام پذیرفت. آنگاه تمام نمونه‌ها مورد مطالعه میکروسکوپی قرار گرفتند.

یافته‌ها: با بررسی سیستم بینایی جنینهای شاهد و آزمایش، ناهنجاریهایی روی پلکها، لایه‌های سلولی کره چشم و ساختمان سلول قرنیه مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: با توجه به تجزیه و تحلیل آماری نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از داروی بنزودیازپین دیازپام در دوران حساس بارداری می‌تواند سبب القای انواع مختلفی از ناهنجاریهای سیستم بینایی، چشم و پلکها در جنین شود. یکی از بارزترین تغییرات بسته نشدن پلک در موعده مقرر روند تکاملی است و این امر سبب آسیبهایی محیطی و اختلال تکامل لایه‌های داخلی چشم و نابینایی می‌شود.

کل واژگان: بنزودیازپین، دیازپام، ناهنجاریهای سیستم بینایی، جنین موش

مقدمه

دیازپام^۱ یک داروی ضد اضطراب و آرام‌بخش از گروه بنزودیازپین‌ها^۲ است و در درمان اضطراب در مواردی که حالت تسکینی روزانه تا حد زیادی مورد نیاز باشد، از داروی طولانی اثر دیازپام استفاده می‌شود. مصرف این دارو در سالهای گذشته در کشور ما و خصوصاً در شهرهای بزرگ و صنعتی به شدت افزایش پیدا کرده است.

از سالهای ۱۹۷۰ تحقیقات روی مشتقات بنزودیازپین و دیازپام شروع شده (۱، ۲) در مطالعات انجام شده بروز شکاف کام‌گزارش شده بود (۳، ۴، ۵، ۶). ولی اطلاعات دقیقی از بروز عوارض جانبی بر ارگانوژنز عمومی بدن گزارش نگردیده بود.

مصرف داروها در دوران بارداری^۳ از نقطه نظر ایجاد عوارض غیر طبیعی در جنین بسیار اهمیت دارد و باید به آن توجه شود (۶، ۷، ۸). به دنبال بروز فاجعه تالیدومید مسأله تراتوژنز ناشی از تجویز داروها مورد توجه قرار گرفت. هر چند که از میزان تجویز داروها به زنان باردار کاسته شده ولیکن به علت ضرورت درمان برخی بیماریها یا ناآگاهی، داروهایی مصرف می‌شود و به علت عدم پژوهش کافی در مورد مصرف مجاز داروها و میزان مصرف آن، مشکلاتی غیرقابل جبران پیش می‌آید (۷، ۹، ۱۰). حساسترین زمان بارداری دورهٔ رویانی^۴ بوده و دوران مهمی در امر تراتوژنز به حساب می‌آید، در اثنای این فاز جنین حساسیت زیادی به داروهای مختلف دارد (۶، ۱۱، ۱۲).

با توجه به اینکه مادران باردار ناآگاهانه، به هنگام کم‌خوابی، یا بروز ویارهای بارداری یا بنا به ضرورت درمان بیماریهای عصبی مانند صرع و... از این دارو مصرف می‌کنند. مطالعات اندکی در زمینه اثرهای تراتوژنیک این دارو بر شکل‌گیری و ارگانوژنز عمومی بدن وجود داشت، در طی این تحقیق با مطالعات میکروسکوپی نوری اثرهای تراتوژنیک دیازپام را روی سیستم بینایی جنین موش به طور دقیق بررسی شد.

مواد و روشها

در این تحقیق موشهای رت بالغ نر و ماده نژاد Wistar با میانگین سنی ۳ ماه و وزن تقریبی ۳۰۰-۲۵۰ گرم به مدت یک هفته جدا از یکدیگر نگهداری شدند. موشهای نر و ماده در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار داشتند. در مرحلهٔ جفت‌گیری موشهای نر و ماده به مدت چند ساعت در قفس در کنار هم نگهداری شدند، تا عمل جفت‌گیری صورت پذیرد. سپس در فرادی آن روز با بررسی میکروسکوپی اسمیرهای واژینال و اثبات بارداری، زمان جفت‌گیری به عنوان روز صفر بارداری در نظر گرفته شد. موشها به سه گروه آزمایشی تقسیم شدند:

گروه اول: گروه شاهد، ۱۰ موش باردار، شامل موشهایی بودند که آب مقطر استریل تزریقی دریافت می‌داشتند.

گروه دوم: گروه آزمایشی اول، ۱۰ موش باردار، شامل موشهایی بودند که آب مقطر و ۳ mg/kg/day دیازپام دریافت می‌داشتند.

گروه سوم: گروه آزمایشی دوم، ۱۰ موش باردار، شامل موشهایی بودند که آب مقطر و ۸ mg/kg/day دیازپام دریافت می‌کردند. بر طبق تقسیم‌بندی فوق تزریق دوره‌ای و روزانه، از روز ۷ بارداری به صورت داخل صفاقی (i.p)^۵ در گروهها آغاز گردید و هر روز یک بار تزریق مواد ذکر شده صورت گرفت. این تزریق روزانه تا روز پانزدهم ادامه پیدا کرد. پس از سپری شدن مراحل اولیه تکامل و دوران حساس بارداری در روز هفدهم جنینها به صورت سزارین از رحم خارج شده و در گروه‌های خاص خود تقسیم‌بندی شدند (۴، ۶، ۱۳). سپس جنینهای خارج شده در محلول بوئن قرار گرفتند. پس از شمارش و گروه‌بندی جنینها، مطالعات مورفومتری روی جنینها صورت گرفت، در ابتدا با ترازوی دیجیتالی جنینها وزن شده و طول سری دم (CR)^۶ جنینها با کولیس اندازه‌گیری شده و بعد نمای ظاهری و خارجی جنینها از نظر بروز آنومالیهای ظاهری توسط استریومیکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت (۱۴). در مرحلهٔ بعد برای بررسی دقیق هیستولوژیک بر روی ارگانوژنز درونی بافتها و ارگانها، سر جنینها از بدن جدا شده و مراحل تهیه مقاطع بافت‌شناسی بر روی آنها انجام گرفت. پس از آماده شدن لامها، مطالعات میکروسکوپی روی کلیه نمونه‌ها آغاز شد.

یافته‌ها

همانطور که قبلاً اشاره شد، در این مطالعه برای بررسی آثار دیازپام در دوران بارداری از دوز ۳ mg/kg/day و ۸ mg/kg/day استفاده شد. در بررسی اولیه تعداد کل جنینهای حاصل از سزارین، تعداد جنینهای مرده و تعداد جنینهای زنده مورد بررسی قرار گرفتند و نتایج حاصل از آن در جدول ۱ وارد شده است.

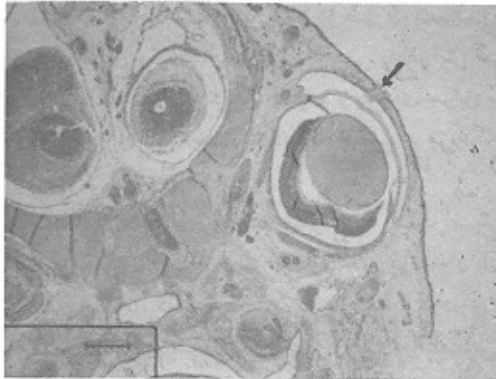
جدول ۱: مشخصات عمومی جنینهای ۱۷ روزه حاصل از عمل سزارین

| گروه‌های آزمایشی | ماده تزریقی | تعداد موشهای باردار | تعداد کل جنینها | تعداد جنینهای مرده | تعداد جنینهای زنده |
|------------------|---------------------|---------------------|-----------------|--------------------|--------------------|
| گروه کنترل | آب مقطر | ۱۰ | ۹۱ | ۱ | ۹۰ |
| گروه آزمایشی اول | ۳ mg/kg/day دیازپام | ۱۰ | ۸۹ | ۴ | ۸۵ |
| گروه آزمایشی دوم | ۸ mg/kg/day دیازپام | ۱۰ | ۸۷ | ۷ | ۸۰ |

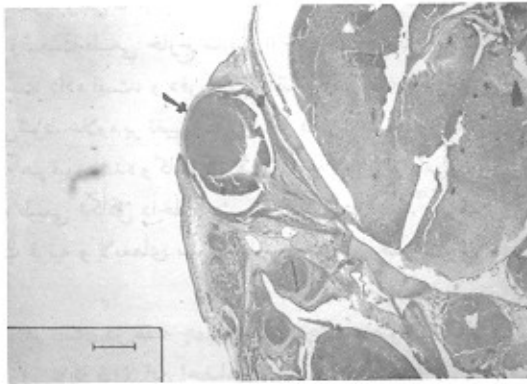
در مرحلهٔ مطالعات مورفومتریکی و هیستولوژیک روی ارگانوژنز سیستم بینایی در نمای خارجی وضعیت پلک‌ها مورد توجه قرار گرفت. بعد از بررسی کل جنینها نتایج حاصله در جدول ۲ وارد شد. و نتایج حاصل تحت آزمون دقیق فیشر قرار گرفت. بعد از مطالعات ماکروسکوپیکی، مقاطع میکروسکوپی سر جنینها آماده شده و سیستم بینایی تحت بررسی میکروسکوپی قرار گرفت.

1. Diazepam
2. Benzodiazepine
3. Drugs in pregnancy
4. Embryonic period
5. Interaperitoneal
6. Crown-Rump

بسیار چشمگیری با دو گروه آزمایشی دیگر دارد.



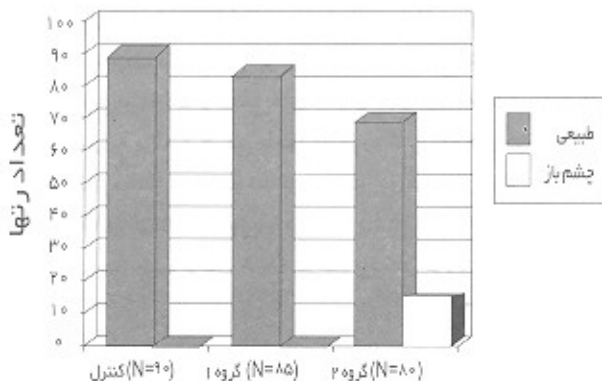
شکل ۱: مقطع سر (فروناتال) جنین ۱۷ روزه گروه کنترل اتصال پلکها به طور رتدآمیزی: هماتوکسیلین - لئوزین، بزرگنمایی: ۱۰۰× نرمال



شکل ۲: مقطع سر جنین (فروناتال) ۱۷ روزه در گروه آزمایشی دوم عدم اتصال پلکها به طور نرمال رتدآمیزی: هماتوکسیلین - لئوزین، بزرگنمایی: ۱۰۰×

همانطور که اشاره شد درصد نمونه‌های حاصل از سزارین در گروه آزمایشی ۲ که دارای پلک باز بوده‌اند با دو گروه آزمایشی اول و گروه کنترل اختلاف‌زیادی داشتند ($P < 0.001$ آزمون دقیق فیشر).

نمودار ۱: میزان بروز آنومالی پلک باز در طی ارگانوژنز در سه گروه آزمایشی مختلف



جدول ۲: میزان بروز آنومالی در مسیر ارگانوژنز

| وضعیت گروهها | پلک باز (نابینایی) | | چشم نرمال | | جمع | |
|------------------|--------------------|------|-----------|------|-------|------|
| | تعداد | درصد | تعداد | درصد | تعداد | درصد |
| گروه کنترل | ۰ | ۰ | ۹۰ | ۱۰۰ | ۹۰ | ۱۰۰ |
| گروه آزمایشی اول | ۱ | ۱/۲ | ۸۴ | ۹۸/۸ | ۸۵ | ۱۰۰ |
| گروه آزمایشی دوم | ۱۲ | ۱۵ | ۶۸ | ۸۵ | ۸۰ | ۱۰۰ |

نتایج نشان می‌دهد که نسبت چشم نرمال در گروه کنترل ۱۰۰ درصد و در گروه آزمایشی اول ۹۸/۸ و در گروه آزمایشی دوم، ۸۵ درصد است که در سطح آزمون $\alpha = 0.05$ ارتباطی بین میزان دریافت دارویی و وضعیت بینایی مشاهده می‌شود ($P < 0.001$ آزمون دقیق فیشر).

* مرفولوژی ظاهری جنینها

بر اساس بررسیهای انجام شده روی جنینهای حاصل از سزارین ۱۷ روزه، در گروه کنترل مرفولوژی ظاهری جنینها طبیعی بوده، بدن خمیدگی طبیعی C شکل خود را حفظ کرده بود و اندامها در اندازه و وضعیت طبیعی خود قرار گرفته بودند. اندامهای سر و صورت، چشمها، گوشها و دهان وضعیت نرمال و طبیعی خود را داشتند. در بررسی جنینهای گروه آزمایشی اول که در حد مجاز دارو دریافت داشته‌اند، بررسی مرفولوژی و ماکروسکوپیکی نمای ظاهری جنینها نشان داد، که ظاهر جنینها از نظر ارگانوژنز و وضعیت بدن و قرارگیری اندامها در حالت طبیعی است و تفاوت بارزی بین گروه آزمایشی اول و گروه کنترل وجود ندارد و نمای خارجی بدن کاملاً طبیعی است.

در بررسی ماکروسکوپیکی جنینهای گروه آزمایشی دوم، شکل بدن از وضعیت طبیعی خارج شده و تا حدودی چرخش C شکل خود را از دست داده است و دفورمیتی واضحی در نمای خارجی کل بدن دیده می‌شود. در اکثر جنینهای این گروه علاوه بر تغییر شکل لب و دهان، چشمها کوچکتر بوده و پلکها به هم فیوز شده و کاملاً باز بودند.

* بررسی میکروسکوپی جنینها

در بررسی میکروسکوپی و بافت‌شناسی گروه کنترل و گروه آزمایشی اول چشمها در محل طبیعی خود قرار داشتند. پرده‌های پلکی بر اساس سیر طبیعی روند تکامل بسته و فیوز شده‌اند و تمام طبقات چشم در وضعیت طبیعی و در مکان اصلی خود ایجاد شده‌اند.

در مطالعه میکروسکوپی جنینهای گروه آزمایشی دوم، سیستم بینایی تعداد زیادی از جنینها دچار تغییراتی شده بود. اندازه کره چشم کمی کوچکتر از نمونه‌های طبیعی به نظر می‌رسید. پلکها در تعدادی از نمونه‌ها به هم فیوز نشده و کاملاً باز و لایه‌های سلولی و پرده‌های داخلی چشم، شبکیه، عنبیه و... از حالت طبیعی خارج شده بودند (شکل ۲).

در بررسی کل جنینهای سزارین شده در گروههای مختلف آزمایشی و مطالعه سیستم بینایی آنها، نتایجی به دست آمده که در جدول ۱ و ۲ وارد شده و میانگین نتایج به دست آمده در نمودار ۱ رسم شد. تعداد نمونه‌های آنومال دارای پلک باز در گروه آزمایشی دوم اختلاف

بحث

دیازپام دارای خاصیت ضداضطراب و آرام‌بخشی است (۳). بررسی محققین نشان داده است که این دارو در صورت مصرف زیاد در زمان بارداری احتمال وقوع ناهنجاریهای جنینی را افزایش می‌دهد (۴، ۵، ۶، ۷). مطالعات و بررسیهای گسترده و پیگیری سوابق بیماران نشان داده که این دارو سبب اختلالات دستگاه عصبی، بروز شکاف کام و لب و نابینایی می‌شود (۶، ۱۲).

از آنجایی که تعدادی از زنان باردار به علت اضطراب و نگرانی، بیماری صرع ناگزیر از مصرف دارو حتی در دوران بارداری هستند، یا گاهی بر اثر ناآگاهی و درمان و پارهای شدید بارداری از این دارو استفاده می‌کنند. مصرف این دارو در روزهای مختلف می‌تواند سبب اختلالاتی شود، در این بررسی به احتمال اثر دارو بر سیستم بینایی جنین رت توجه شد. همان طور که اشاره شد با تزریق دیازپام با دوزهای مختلف در سه گروه آزمایشی پارامترهای مذکور بررسی شد.

در بررسی ماکروسکوپیک جنینهای گروه آزمایشی دوم، شکل بدن از وضعیت طبیعی خارج شده و تا حدودی چرخش C شکل خود را از دست داده است، و دفرمیتی واضحی در نمای خارجی کل بدن دیده می‌شود. علاوه بر تغییر شکل لب و دهان، چشمها کوچکتر بوده و پلکها به هم فیوز نشده و کاملاً باز هستند (شکل ۲). این امر بر ارگانوژنز و روند طبیعی تکامل داخلی چشم اثر گذاشته است. به طوری که ضخامت قرنی و لایه‌های سلولی داخل چشم با وضع طبیعی تفاوت دارد.

در انسان در هفته چهارم تکامل چشم و صورت آغاز می‌شود (موش روز ۷ تا ۱۵). این اعضاء حسی ویژه نسبت به اثرهای مواد تراژونیک بسیار حساس هستند (۱۴). بیشترین آسیب در روند تکامل در طول هفته چهارم تا ششم به وجود می‌آید.

با توجه به نتایج به دست آمده تجویز دیازپام با دوز ۸ mg/kg/day سبب القای ناهنجاری در سیستم بینایی می‌شود، ناهنجاریهای چشم متنوع هستند. استفاده بیش از حد مجاز از دارو در دوران حساس بارداری باعث تحریک نورواکتودرم و اکتودرم سطحی می‌شود و مسیر تکامل را به هم می‌زند و یکی از بارزترین تغییرات بسته نشدن پلکها در موعد مقرر است و این امر سبب آسیبهای محیطی و اختلال تکامل کلیه لایه‌های داخلی چشم می‌شود.

در این پژوهش با تزریق دوزهای مختلف دارو در گروههای آزمایشی مختلف اثر دارو را بر روند تکامل سیستم بینایی بررسی شد. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل‌های آماری نشان می‌دهد که نسبت بینایی یعنی اتصال به موقع و طبیعی پلکها در گروه کنترل که هیچگونه دارویی دریافت نکرده‌اند، ۱۰۰ درصد بوده است. در گروه آزمایشی اول که به میزان ۳mg/kg/day و دیازپام دریافت داشته‌اند میزان بینایی یا به عبارتی درصد چشم نرمال ۹۸/۸ درصد بود. در گروه آزمایشی دوم که

به میزان ۸ mg/kg/day داروی دیازپام را دریافت کرده بودند، میزان بینایی ۸۵ درصد بود. این امر ارتباط مستقیمی را بین میزان دریافت دارویی و وضعیت بینایی نشان می‌داد ($P < 0.001$ آزمون دقیق فشر). بر اساس اطلاعات به دست آمده اختلاف معنی‌داری بین گروه شاهد و آزمایشی دوم به دست آمد. این ناهنجاری به صورت باز ماندن پلک (در زمانی که باید بسته می‌شد) در نمونه‌ها بروز کرد. اثرهای تراژون دارو بر تکامل سر و صورت و چشم‌ها با مشاهدات Juarand در سال ۱۹۸۸ مطابقت داشت. وی مشاهده کرد که در جنین رت متعاقب استفاده از دیازپام با دوز بالا شکاف کام و لب به وجود می‌آید و تعدادی از جنینها نیز پلکهایشان باز باقی می‌ماند (۱۵). ایجاد اشکالات سیستم بینایی بر اساس مطالعات Katz (۴) با دوز دارو رابطه مستقیم دارد و این ناهنجاری با دوز ۸ mg/kg/day ایجاد می‌شود با توجه به مقادیر اختلاف میانگین بین گروه آزمایشی دوم با گروههای دیگر روی نمودار به این نتیجه می‌رسیم که تجویز این دارو با دوز بالا در روزهای حساس بارداری سبب القای ناهنجاریهای مختلف روی سیستم بینایی و تکامل سر و صورت می‌شود. بر طبق مطالعات و نتایج به دست آمده از جنینهای سزارین شده در گروه کنترل، در بررسی ماکروسکوپیک و بررسی مرفولوژی ظاهری، بدن خمیدگی طبیعی و C شکل خود را حفظ کرده است و اندامها در اندازه و وضعیت طبیعی خود قرار گرفته‌اند. اندامهای سر و صورت، چشمها، گوشها و دهان وضعیت طبیعی خود را دارند.

در بررسی میکروسکوپی و مطالعات بافت‌شناسی گروه کنترل چشمها در محل طبیعی خود در طرفین سر واقع شده‌اند و پرده‌های پلکی بر اساس سیر طبیعی روند تکامل بسته و فیوز شده‌اند و تمام طبقات چشم در وضعیت طبیعی ایجاد شده‌اند. زیرا در روزهای حساس تشکیل و تکامل چشم یعنی روزهای ۷ تا ۱۴ در اثر فیوز به موقع پلکها محیط مناسب برای تکامل و تشکیل لایه‌های مختلف چشم ایجاد شده است. در روند طبیعی تکامل چشم، پلکهای فوقانی و تحتانی به طور طبیعی به هم فیوز شده و کاملاً به هم می‌چسبند. در زمانی که پلکها به هم چسبیده‌اند، روند تکاملی لایه‌های مختلف چشم به طور کامل صورت می‌پذیرد و بعد از طی دوره‌ای مجدداً پلکها از هم جدا می‌شوند، سپس تکامل پلک صورت می‌گیرد.

در بررسی جنینهای گروه آزمایشی اول که در حد مجاز دارو دریافت داشته‌اند بررسی مرفولوژی و ماکروسکوپیک نمای ظاهری جنین از نظر ارگانوژنز و وضعیت طبیعی بدن و قرارگیری اندامها در جای طبیعی خود تفاوت بارزی بین گروه آزمایشی اول و گروه کنترل وجود ندارد و نمای خارجی بدن کاملاً طبیعی است. لذا به نظر می‌رسد مصرف دارو در حد مجاز (در صورت نیاز مادران باردار) و رعایت الگوی مصرف مناسب مشکلی را برای مادر باردار و جنینهایشان پیش نمی‌آورد.

References

1. Liljequist R, Linnolia M, Mattila MJ: Effect of Diazepam and chlorpromazine on memory Functions in

man. Eruop clin pharmacol 1978; 13: 339-343

2. Leaf RC, Wnek DJ, Gay PE, Corcia RM, Lamon S:



Chloridiazepoxide and Diazepam Induced mice Killing by Rats. *Pharmacologia* 1975; 44: 23-28

3. Spielmann H, Kruger C, Tenschert Vogel R: Studies on the embryotoxic risk of drug treatment during the preimplantation period in the mouse. *Bio Med* 1986; Feb 36(2); 219-223

4. Katz RA: Effect of diazepam on the embryonic development of the palate in the rat. *Develop Biol* 1988; 8(2): 155-166

5. Tocco D, Renskers K, Zimmerman EF: Diazepam induced cleft palate in the mouse and lack of correlation with the H-Z locus. *Teratology* 1987; 35(3): 439-445

6. Livezey CT, Marczynski TJ, McGrew EA, Belahan FZ: Prenatal exposure to diazepam, late postnatal teratogenic effect. *Neurobehav Toxicol Teratol* 1986; 8(5): 433-440

7. Fridman JM, Politka JE: *Teratogenic Effects of drugs, a resources for clinicians*. Johns Hopkins university press, Baltimore, 1994

8. Pastusza K: *Maternal and Fetaltotoxicology* edited by chdren. 2nd, Marcel, New York, 1994, 77-79

9. McElhatton PR: *Reprod Toxicol* 1994; 8(6): 461-465

10. Cilman Ad: *Coodman and Cilman's the pharmacological Basis*. 8ed, New York, Macmillian 1990

11. Brain PF, Ajarem JS, Petkov VV: The application of ethpharmacological techniques to behavioural teratology. *Acta physiolo pharmacolo Bulg* 1996; 1294: 3-11

12. Toker JC: Benzodiazepines and the developing rat: a critical review. *Neurosci Biobehav* 1995; 9(1): 101-111

13. Lauer JA, Adams PM, Johnson Km: Perinatal diazepam exposure, behavioral and neurochemical consequences. *Neurotoxicol teratol* 1987; 9(3): 213-219

14. Marjorie A. waddell H: *life Before Birth*. 2ed England, Mosby-wolf, 1996

15. Juarand A: Teratogenic activity experimental update. *Teratology* 1988; 38: 101-111

