

Academic Advance

ปัญหาโดยทั่วไปในเรื่องการเจริญของหัวใจ และวิธีการต่าง ๆ ในการแก้ปัญหา

สมบุญ ศรีบุญมี D.V.M. M.S., Ph.D.

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

การมองปัญหาแบบประวัติศาสตร์

เรื่องราวการเจริญของหัวใจนั้น เป็นที่สนใจของนักวิทยาศาสตร์ และนักปรัชญามานานหลายร้อยปี จึงทำให้มีประมวลความรู้เป็นปริมาณมากแบบน่าประทับใจยิ่ง โดยเฉพาะการเจริญให้เป็นหัวใจที่มีลักษณะดังที่แพทย์ทั้งหลายได้เห็นและศึกษามาแล้วอย่างละเอียดในห้องปฏิบัติการวิชำกายวิภาคศาสตร์ รวมทั้งรายละเอียดที่ท่านทั้งหลายได้ศึกษามาจากหัวใจของสัตว์ชนิดอื่น ๆ กล่าวได้สั้น ๆ ว่าเริ่มตั้งแต่ชนิดเป็นทองตรงเหมือนหลอดเลือด วิวัฒนาการขึ้นมาเป็นหัวใจสามห้อง และในที่สุดเป็นสี่ห้อง นักกายวิภาคศาสตร์อาจจะได้เปรียบนักวิทยาศาสตร์สาขาอื่น ๆ บ้างที่ได้ศึกษาการเจริญของหัวใจที่เป็นปกติ เพราะนักกายวิภาคศาสตร์นั้นมีเครื่องมือและอุปกรณ์ที่จะศึกษาการเจริญของหัวใจ ได้ละเอียดลงไปถึงระดับจุลทรรศน์

เมื่อสองสามปีมานี้เอง นักพยาธิวิทยาและแพทย์ผู้ชำนาญทางหัวใจของเด็ก ได้เริ่มศึกษาและอธิบายการเจริญผิดปกติของหัวใจที่เจริญเต็มรูปแบบแล้ว หัวใจดังกล่าวนี้ได้มาจากทารกที่คลอดออกมาแล้วเสียชีวิตโดยวิธีการสรุปเอาจากการเจริญของเอ็มบริโอว่า การ

เจริญผิดปกตินั้นได้เริ่มต้นหลายเดือนมาแล้ว เราจึงมาศึกษาแบบทดลองเป็นจำนวนน้อยมาก จนไม่พอที่จะนำมาอธิบายถึงที่มาของการเจริญผิดปกติของหัวใจได้ การศึกษาของ Shaner ในช่วงทศวรรษที่ 1940-1950 นั้น นับว่าเป็นผลงานที่โดดเด่น เพราะว่าท่านผู้นี้ได้ค้นคว้าศึกษาเอ็มบริโอจำนวนเป็นพัน ๆ ราย เพื่อหาว่ามีรายใดบ้างและเอ็มบริโอตัวใดอยู่ในขบวนการเจริญผิดปกติของหัวใจบ้าง แต่เป็นเรื่องที่โชคร้ายชนิดหนึ่งตรงที่ว่าไม่มีโอกาสได้ศึกษาความสัมพันธ์ทางกายวิภาคศาสตร์กับสรีรวิทยา โดยเฉพาะในช่วงที่ขบวนการเจริญผิดปกติกำลังดำเนินการไป

ต้นแบบอันแรกของโรคหัวใจเจริญผิดปกติที่ปรากฏขึ้นในช่วงทศวรรษที่ 1940-1950 ได้จากที่นักกายวิภาคศาสตร์ได้ค้นพบสิ่งจำเพาะที่ทำให้หัวใจเจริญผิดปกติ (Teratogen) แล้วทดลองทำให้เอ็มบริโอเจริญผิดปกติในห้องทดลองได้จริง ๆ Teratogens เหล่านี้หลาย ๆ อย่างจะทำให้เอ็มบริโอเจริญผิดปกติหลาย ๆ อย่างรวมทั้งหัวใจด้วย สัตว์พวกเลี้ยงลูกด้วยน้ำนมจะถูกใช้เป็นสัตว์ทดลอง ซึ่งสิ่งต่อไปนี้คือ dextro-amphetamine, azo dyes, และ X-rays จะทำให้หัวใจและ aortic arches

เจริญผิดปกติได้ สำหรับการขาดวิตามินเอและการให้มากเกินไปจะทำให้การเจริญของใบหน้าและหัวใจผิดปกติ และมีการเจริญผิดปกติของตาและระบบสืบพันธุ์ และขับถ่ายปัสสาวะเป็นสัดส่วนที่มากด้วยเกิดจากสีชื่อ Trypan blue ซึ่งผู้แปลมีประสบการณ์ในการใช้ทดลองด้วย สีสันนี้จะทำให้เอ็มบริโอของหนูแรทและเมาส์ คลอดลูกออกมาไม่มีตาหรือมีตาขนาดเล็กกว่าปกติ รวมทั้งกระดูกสันหลังสั้นกว่าปกติ หลอดเลือดขนาดใหญ่ที่ออกจากหัวใจคือ aorta และ pulmonary artery สลับตำแหน่งกันได้ ตามอุดมการณ์แล้วสารพวกนี้นักกายวิภาคศาสตร์อยากให้เห็นว่ามันสามารถทำให้มีการเจริญผิดปกติของหัวใจแบบที่ทำนายได้ 100% โดยไม่มีการเจริญผิดปกติของอวัยวะอื่นร่วมด้วย

การทดลองทำให้หัวใจเจริญผิดปกตินั้น ก้าวหน้ามาถึงขั้นสูงสุดในทศวรรษที่ 1970 นั่นคือได้ค้นพบสรรพคุณสาร bis-diamine หรือ fertilysin ว่า สามารถทำให้มีการเจริญผิดปกติที่เรียกว่า Persistent truncus arteriosus คือส่วนที่เรียกว่า truncus arteriosus ซึ่งอยู่ถัดจาก ventricle ของเอ็มบริโอไปทางหัวนั้นในละ ส่วนนี้มันยังคงอยู่ แทนที่จะถูกรวมเข้าไปเป็นผนังของ ventricle ปรากฏว่าส่วนนี้ยังคงอยู่เป็นปริมาณ 100% เอ็มบริโอจำนวนเท่าไรก็มีการเจริญผิดปกตินี้จำนวนเท่านั้น

รายละเอียดในการทดลองนี้ก็คือ ต้องให้สารนี้ในเวลาใดในระหว่างหนูก่อตัว ผู้ค้นพบสรรพคุณของสารนี้ครั้งแรกได้แก่ Taleporos, Solgo, and Oster (1978) สารนี้ทำให้เกิดการเจริญผิดปกติอื่นอีกเช่น Hypoplastic or aplastic thymus คือการที่ต่อมขั้วมัสเจริญไม่สมบูรณ์หรือไม่เจริญเลย จึงทำให้พิศเป็นไปตามลักษณะของกลุ่มอาการ Digeorge Syndrome ของเด็ก

ในช่วง 10 ปีที่ผ่านมาได้มีการทดลองให้หัวใจเจริญผิดปกติได้อีกหลายแบบที่ล้วนน่าสนใจทั้งนั้น และสารที่ทำให้เกิดการเจริญผิดปกติของหัวใจก็มีจำนวนมากขึ้นและใช้ทดลองศึกษาวิจัยกันอยู่จนถึงปัจจุบัน นักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่นกลุ่มหนึ่งนำโดย Dr. Miyagawa ได้พิสูจน์ให้เห็นว่าสาร minustine hydrochloride จะทำให้เกิดการเจริญผิดปกติแบบที่ aorta อยู่ทาง

ขวาของเส้นแบ่งกลางลำตัว และ persistent truncus arteriosus ในหนูแรท ซึ่งนับเป็นปริมาณมากด้วย (Miyagawa, Ando, and Takao 1988; Miyagawa and Kirby 1989) นอกจากนั้น Bruyere & Bilbert (1987) ได้ทดลองใช้ caffeine ทำให้หัวใจมีการเจริญผิดปกติ

นักวิทยาศาสตร์บางท่านใช้สุนัขชนิดพิเศษ (Keshond dog) ที่ผสมพันธุ์ขึ้นเอง เพื่อศึกษาขบวนการที่ทำให้เกิด persistent truncus arteriosus (Van Mierop, Patterson, and Schnarr, 1987) Dr. Layton (1984) ได้ทำการผสมหนูโมสพันธุ์หนึ่งที่มี situs inversus เกิดขึ้นเป็นประจำ เพื่อใช้ศึกษาการงอของหัวใจในขณะที่กำลังเจริญจากท่อตรงให้เป็น 4 ห้อง ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ที่ยังไม่ได้อธิบายกันให้ลึกซึ้ง

Kirby (1988) ได้ทำแบบอย่างหนึ่งให้หัวใจเจริญผิดปกติ นั่นคือตัดเอา neural crest ออก ผลที่ได้คือการเจริญผิดปกติของหัวใจแบบที่ทำนายล่วงหน้าได้ และเป็นปริมาณที่มากด้วย

เมื่อนักวิทยาศาสตร์ได้ค้นพบวิธีการทำให้หัวใจเจริญผิดปกติได้หลายอย่างแล้วเช่นนี้ เราก็มองจำเป็นต้องสรุปผลของขบวนการเจริญผิดปกติของหัวใจ โดยอาศัยหัวใจที่เจริญผิดปกติจนสิ้นสุดแล้วอีกต่อไป ปัจจุบันเราสามารถติดตามขบวนการเจริญผิดปกติของหัวใจในระหว่างที่กำลังเจริญได้หลายอย่างแล้ว ซึ่งจะทำให้เราได้เรียนรู้ขบวนการเจริญแบบทันเหตุการณ์ในการเจริญตามปกติ และลำดับเหตุการณ์ในการเจริญของโครงสร้างและหน้าที่ในการเจริญผิดปกติของหัวใจต่อไป ก่อนอื่นเราจะต้องศึกษารายละเอียดของการเจริญผิดปกติให้ได้เพียงพอเสียก่อน แล้วจึงจะเป็นพื้นฐานสำหรับการศึกษาทดลองในการเจริญผิดปกติที่ได้ดียิ่งขึ้น ขบวนการเจริญตามปกติก็ต้องอาศัยปฏิกริยาระหว่างเนื้อเยื่อต่าง ๆ และการเคลื่อนย้ายของกลุ่มเซลล์ (extension, adhesion, and contraction) สิ่งเหล่านี้ยังมีความสลับซับซ้อน ซึ่งเป็นการลำบากที่จะทดลองศึกษาในขณะที่เอ็มบริโอกำลังเจริญ และจะต้องให้ดำเนินการเจริญไปได้โดยไม่ตาย

เพื่อที่จะแสดงให้เห็นว่านักวิทยาศาสตร์ที่สนใจทางด้านนี้ ท่านกำลังทำอะไรกันนั้น เราจำเป็นต้องติดตามเรื่องนี้จากการประชุมทางวิชาการที่ผ่านมา 2

ครั้งสุดท้าย ครั้งที่ 1 ในเดือนธันวาคม พ.ศ.2527 มีการประชุมเรื่องการเจริญของหัวใจ สนับสนุนโดยสถาบัน 2 แห่ง ได้แก่ National Heart, Lung, and Blood Institute กับ National Institute of Health โดยแบ่งออกเป็น 8 หัวข้อ ได้แก่

- 1) การสังเคราะห์โปรตีน และการเจริญของกล้ามเนื้อหัวใจ
- 2) การแบ่งเซลล์ ปฏิกริยาระหว่างเซลล์, การรวมกลุ่มของเซลล์ และการเคลื่อนย้ายของกลุ่มเซลล์
- 3) การเจริญเปลี่ยนแปลง (differentiation) และบทบาทของสารที่อยู่นอกเซลล์ (extracellular matrix)
- 4) การเจริญของโครงสร้างและหน้าที่ในระบบการเต้นของหัวใจ
- 5) การเจริญของท่อหัวใจ การเต้นครั้งแรก และผลจากการไหลเวียนของเลือด
- 6) การเจริญแบ่งห้องหัวใจ
- 7) พัฒนาการทางด้านสรีรวิทยาในระหว่างการเจริญของหัวใจ และ
- 8) มองจากมุมของการทำหน้าที่ของหัวใจในระหว่างการเจริญ

ในการประชุมครั้งนี้ก็ได้รับความรู้ใหม่ในเรื่อง contractile protein isoforms ทั้งในหัวใจที่ปกติและผิดปกติ นอกจากนั้นก็มีการเสนอความรู้ใหม่ในเรื่อง cell adhesion molecules ที่สำคัญและจำเป็นในการควบคุมการเจริญจัดรูป (morphogenesis)

ครั้งที่ 2 ในเดือนพฤศจิกายน 2531 จัดขึ้นที่สถาบันหัวใจของประเทศญี่ปุ่นในกรุงโตเกียว สนับสนุนโดย Sankei Press, International Society and Federation of Cardiology, and Japan Research Promotion Society for Cardiovascular Diseases หัวข้อที่ประชุมกันมีอยู่ 6 เรื่อง คือ

- 1) Cellular and Molecular basis for cardiovascular morphogenesis
- 2) Extracellular matrix, cell migration, and interaction
- 3) Physiological Aspects of developing heart
- 4) Pathogenesis of congenital heart disease

5) Etiology and epidemiology of congenital heart disease

6) Morphogenesis of congenital heart disease

จะเห็นได้ว่าหัวข้อเรื่องก็คล้ายกับครั้งก่อน การประชุมวิชาการในส่วนแรกนั้นได้พูดถึงพื้นฐานระดับโมเลกุลของการเจริญของกล้ามเนื้อหัวใจ และการจัดตัวของ myofibrils ตามมาด้วยเรื่องการเจริญของ cytoskeleton ของเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ มีการอภิปรายถึง neural crest ตามด้วย extracellular matrix และการแบ่งห้องหัวใจบริเวณที่ atrium ต่อกับ ventricle วันที่สองของการประชุมได้จัดให้เป็นการประชุมอภิปรายเรื่องทางสรีรวิทยาของหัวใจในระหว่างการเจริญ ตลอดจนการไหลเวียนโลหิต การเกิดพยาธิสภาพของหัวใจที่เจริญผิดปกติ และสาเหตุของการเจริญผิดปกติ ในวันสุดท้ายได้ประชุมกันถึงเรื่องกายวิภาคศาสตร์ของหัวใจที่เจริญผิดปกติในมนุษย์ โดยเฉพาะเรื่อง Atrioventricular septal defect และหัวใจอยู่กลับข้างจากปกติ

รายละเอียดนั้นมาก แต่จะเลือกเอาจุดที่น่าสนใจมาก ๆ ของผู้เขียนมากเล่าในที่นี้ เช่น ข้อมูลที่ว่า myosin เจริญปรากฏในระยะ (stage) 7 - 8 ของเอ็มบริโอไก่ โดยใช้ monoclonal antibody ที่จำเพาะต่อ myosin ที่อยู่ในเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ เป็นสารสำคัญในการศึกษาว่า myosin อยู่ที่ใดในเนื้อเยื่อหรือในเซลล์ การกระจายของ myosin ในกล้ามเนื้อหัวใจเหล่านี้จะอยู่ที่บริเวณ terminal web และปรากฏอยู่ก่อนก่อนที่จะมีการเต้นของหัวใจ ผลงานอันหนึ่งที่ใช้ H^3 -thymidine ได้ผลว่าในขณะที่ผนังหัวใจเพิ่มความหนาอยู่นั้น ซึ่งเกิดขึ้นในช่วงวันแรกของการไหลเวียนของเลือด จะเห็นว่าการแบ่งเซลล์จะมีมากในชั้นนอกสุดของผนังหัวใจกว่าชั้นอื่นๆ ปรากฏการณ์เช่นนี้ถือว่าการจัดตัวของ myosin ของกล้ามเนื้อหัวใจ (polarization of the myocardium) ดังนั้นเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจที่แก่และถือว่าเจริญเปลี่ยนแปลง (differentiation) ถึงขั้นสุดแล้วจะอยู่ชั้นลึกๆ ใกล้ไปทางห้องหัวใจ คือข้างตรงข้ามกับเซลล์อ่อนที่แบ่งได้ใหม่

อีกงานหนึ่งซึ่งใช้ Leu-7 เป็นตัวสำหรับทำเครื่องหมายเพื่อบอกว่าเนื้อเยื่อนั้นเจริญจาก neural crest พบ

ว่ามีปฏิกิริยาอยู่ที่บริเวณ SA node กับ AV node ของหัวใจมนุษย์ รวมทั้งที่ Bundle of His ด้วย จึงเป็นข้อพิสูจน์ได้ว่า conduction system ของหัวใจถือกำเนิดมาจาก neural crest นั้นเอง

มีอนุภาคคล้าย adheron ซึ่งประกอบด้วย fibronectin และกลัยโคโปรตีน สามารถทำให้ endothelium ที่บริเวณ atrium กับ ventricle ต่อกัน มีปรากฏการณ์ที่เรียกว่า transformation ให้ไปเป็น mesenchyme ได้ และปรากฏการณ์นี้จะสามารถขัดขวางได้ด้วย antibody ที่เตรียมได้จาก adheron-like particle ดังกล่าวแล้วด้วย

ในเรื่อง conduction system ของหัวใจนั้น มีผลงานที่น่าสนใจยิ่งที่มีการใช้ voltage-sensitive dye แสดงให้เห็นว่ามี action potential, มี pace-maker potential, และการเกิดจังหวะการเต้น เหล่านี้เตรียมพร้อมได้ก่อนจะมีการเต้นเป็นครั้งแรก ปฏิกิริยาทางไฟฟ้าจะเกิดขึ้นได้เองและกระจายอยู่ทั่วไปใน cardiac primordia ในระยะที่เอ็มบริโอมีโซไมท์คู่ที่ 6 และช่วงระยะต้น ๆ ที่มีคู่ที่ 7 พอเจริญมาถึง stage 9 เนื้อเยื่อที่เป็น pace-maker จะมารวมตัวกันอยู่ทางด้านซ้ายของผนัง artium

ปัญหาทางด้านอัตราการเต้นของหัวใจ ความดันโลหิต การไหลเวียนของโลหิตใน dorsal aorta ก็มีผู้ทำการศึกษาโดยดูผลที่อาจเกิดจากสารต่อไปนี้ ได้แก่ acetylcholine, isoproterenol, และ caffeine ผลจากการทดลองปรากฏว่า ในเอ็มบริโอไก่จะต่างจากเอ็มบริโอหนูแรท สารชนิดต่างๆ ที่กล่าวนั้น ไม่มีชนิดใดมีผลต่อความดันโลหิตของเอ็มบริโอหนูแรท แต่มีผลต่อความดันโลหิตของเอ็มบริโอไก่ทุกตัว อันนี้อาจจะเป็นเพราะความสามารถที่สะสมไว้ที่ placenta ของสัตว์จำพวกเลี้ยงลูกด้วยน้ำนม ในการแก้ไขมิให้กระทบกระเทือนต่อเอ็มบริโอ ซึ่งน่าจะเป็นเรื่องที่ต้องศึกษากันในอนาคตต่อไป

ปัญหาหลัก

ปัญหาหลักมีหลายปัญหาที่จะต้องได้รับการแก้ไข ปัญหาต่างๆ ในระบบชีววิทยา ไม่ว่าพื้นฐานและประยุกต์เป็นเรื่องที่ต้องใช้เวลาในการหาความรู้ใหม่เพื่อนำไปสู่การแก้ไขปัญหา ดังจะเห็นได้จากการประชุมวิชาการ

เพื่อจะนำไปสู่การประยุกต์ใช้แก้ปัญหา ว่าในระยะเวลา 10 ปีที่ผ่านมาและอีก 5 ปีที่ประชุมกันครั้งต่อไปนั้น การแบ่งหัวข้อประชุมก็ยังไม่ได้เปลี่ยนไป ทั้งนี้ก็เพราะเราต้องอาศัยเครื่องมือใหม่ที่จะต้องใช้เวลาคิดค้นและประดิษฐ์ เราต้องอาศัยวิธีการที่จะต้องพัฒนาขึ้นมาอีก เราต้องการเวลาอีกนานกว่าที่จะได้ความก้าวหน้าไปจนถึงขั้นที่สามารถเปลี่ยนหัวข้อเรื่องของการประชุมวิชาการภายใต้หัวข้อ การเจริญผิดปกติของหัวใจ และแนวทางที่จะนำไปสู่การแก้ปัญหา

Dr. kirby ได้ตั้งความหวังไว้ว่า ในอนาคตข้างหน้านั้นเราน่าจะมีความก้าวหน้าทางวิชาการทางด้านความเข้าใจ และความรู้ที่ได้จากการศึกษาค้นคว้าวิจัยโดยรวมเอาปัญหาด้านโครงสร้าง สัมพันธ์กับการทำหน้าที่ ลึกลงไปถึงระดับโมเลกุล ในการเจริญตามปกติ และการเจริญผิดปกติของหัวใจ วิธีการศึกษาทดลองในระดับโมเลกุลก็ได้เริ่มใช้กันโดยทั่วไปแล้ว ซึ่งเท่ากับการปฏิบัติวิธีการศึกษาทางสาขา Experimental Embryology แล้ว

อนาคตทางวิชาการของกลุ่มที่ Dr.Kirby สังกัดอยู่นั้น อาศัยวิธีการทางด้านชีววิทยาระดับโมเลกุล มาใช้ศึกษา neural crest ในเรื่องการเคลื่อนย้ายและการเจริญเปลี่ยนแปลง (differentiation) เพื่อมุ่งหา gene ตัวจำเพาะที่ไปแสดงฤทธิ์ออกผลให้เกิดเจริญตามปกติของหัวใจ และคาดหวังไว้ว่าจะสามารถเลือกทำให้มันหมดฤทธิ์เป็นตัวๆ ไป แล้วสามารถติดตามเหตุการณ์ทางด้านการเจริญของโครงสร้างกายวิภาคและสรีรวิทยาในขบวนการเจริญตามปกติของหัวใจ

วิธีการทดลองศึกษาวิจัยแบบ molecular biology นั้นบางครั้งต้องยอมรับว่ามันหวิโหวดฮือฮาจริง แต่มันมีข้อวิเศษ และข้อวิเศษที่สำคัญที่สุดที่จะต้องนำมาใช้ด้วยเทคนิคและวิธีการต่างๆ ที่เรามีอยู่ปัจจุบันนี้ก็ถือว่าเรามีอยู่ครบครัน ที่จะหยั่งเข้าไปสู่ความลึกถึงมหัศจรรย์ของการเจริญของหัวใจเพื่อหาความรู้ใหม่ เพื่อนำมาใช้แก้ปัญหาทางสุขภาพที่รบกวนการแก้ไขอีกมาก ทางอีสานเราก็ยังมีโรคไหลตาย ให้เราคิดกันอีกต่อไป อนาคตนั้นอยู่ในมือของเราแล้ว

Based on : Kirby, M.L (1991) Overviews of Problems and Approaches in Heart Development. Annals of The New York Academy of Science. 588:1-7

Suggested Further Readings

1. SHANER, R.F. 1951.. Complete and corrected transposition of the aorta, pulmonary artery and ventricles in pig embryos, and a case of corrected transposition in a child. *Am.J. Anat.* 88: 35-62.
2. SHEPARD, T.H. 1973. Catablog of Teratogenic agents. Johns Hopkins Press, Baltimore, MD.
3. WARKANY, J.1971. Congenital malformations. Year Book Med Publishers, Chicago. IL.
4. WILSON, J.G. & J. WARKANY. 1949. Aortic arch cardiac anomalies in the offspring of Vitamin A deficient rats. *Am. J. Anat.* 85: 113-155.
5. KALTER, H. & J. WARKANY. 1961. Experimental production of congenital malformations in strains of inbred mice by maternal treatment with hypervitaminosis A. *Am.J. Pathol.* 38:1-21.
6. LANGMAN, J. & G. W. WELCH. 1996. Effect of vitamin A on development of the central nervous system. *J. Comp. Neurol.* 128:1-16.
7. WILSON, J.G. 1955. Teratogenic activity of several axo dyes chemically related to trypan blue. *Anat. Rec.* 123: 313-333.
8. TALEPOROS, PI, M.P. SALGO & G. OSTER. 1978. Teratogenic action of a bis (dischloroacetyl) diamine on rats: Patterns of malformations produced in high incidence at time-limited periods of development. *Teratology* 18:5-16.
9. OKAMOTO, N., Y. SATOW, J.Y. LEE, H. SUMIDA, K. HAYAKAWA, S. OHDO & T. OKISHIMA. 1984. Morphology and pathogenesis of the cardiovascular anomalies induced by bis-(dichloroacetyl) diamine in rats. In *Congenital Heart Disease: Causes and Processes*. J.J. Nara & A. Takao, Eds. Futura. Mount Kisco, NY.
10. IKEDA, T., T. MATSUO, K. KAWAMOTO, K. IWASKI & T. JUBASHI. 1984. Bis-diamineinduced defects of the branchial apparatus in rats. In *Congenital Heart Disease: Causes and Processes*. J.J. Nora & A. Takao, Eds. Futura. Mount Kisco, NY.
11. MIYAGAWA, s. & M.L.KIRBY. 1989. Pathogenesis of persistent truncus arteriosus induced by nimustine hydrochloride in the chick embryo. *Teratology* 39:287-294.
12. MIYAGAWA, S., ANDO, M. & A. TAKAO. 1988. Cardiovascular anomalies produced by nimustine hydrochloride in the rat fetus. *Teratology* 38: 553-558.
13. BRUYERE, H.J., b.J. MICHAUD, E.F.GILBERT & J.D. FOLTS. 1987. The effects of cardiateratogenic doses of caffeine on eardiac function in the 3-day chick embryo. *J. Appl. Toxicol.* 7: 197-203.
14. VAN MIEROP, L. H.S., D.F. PATTERSON & W.R. SCHNARR. 1977. Hereditary conotruncal septal defects in Keeshond dogs: Embryologic studies. *Am. J. Cardiol.* 40: 936-950.
15. LAYTON, W.M. 1984. The biology of asymmetry and the development of the cardiac loop. In *Cardiac Morphogenesis*. V.J. Ferrans, G. Rosenquist & C. Weinstein, Eds. Elsevier. New York.
16. MORRISON-GRAHAM, K. & J.A. WESTON. 1989. Mouse mutants provide new insights into the role of extracellular matrix in cell migration and differentiation. *Trends Genet.* 5:116-121.
17. KIRBY, M.L. 1988. Role of extracardiac factors in heart development. *Experientia* 44: 944-950.
18. MAHDAVI, V., R. MATSUOKA & B. NADALGINARD. 1984. Molecule characterization and expression of the eardiac α - and β -myosin heavy chain genes In *Cardiac Morphogenesis*. V.J. Ferrans, G. Rosenquist & C. Weinstern. Eds. Elsevier. New York.
19. NAG, A.C.,M. CHENG & R.H. ZAK. 1984. Cell proliferation and expression of myosin isoforms in cardiac muscle cells in culture. In *Cardia. Morpinopenesis*. V.J. Ferrans, G. Rosenquist & C. Weinstein, Eds. Elsevier. New York.
20. HOFFMAN, S., M. GRUMET & G.M. EDELMAN. 1984. Cell adhesion molecules in the histogenesis of nerve and muscle. In *Cardiac Morphogenesis* W.J. Ferrans, G. Rosenquist & C. Weinstein, Eds. Elsevier. New York.
21. CLARK, E.B. 1984. Ventricular function and cardiac grows in the chick embryo. In *Cardiac Morphogenesis*. V.J. Ferrans, g. Rosenquist & C. Weinstein, Eds. Elsevier. New York.
22. WAGMAN, A.J. & E.B. CLARK. 1984. The Frank-Starling redddddship in the embryo. In *Cardiac Morphogenesis*. V.J. Ferrans, G. Rosenquist & Weinstein, Eds. Elsevier. New York.