

Intrauterin Gelişme Geriliği Yaratılan Ratlarda İç Organlarda Görülen Histopatolojik Değişiklikler

HISTOPATHOLOGICAL CHANGES IN INTERNAL ORGANS OF RATS IN WHICH INTRAUTERINE GROWTH RETARDATION IS INDUCED

Gökhan BAYHAN*, M. Aydın KETANİ**, Deniz ERDOĞAN***, Murat YAYLA*, Ahmet YALINKAYA*, Mustafa DENİZ**, Yusuf NERGİZ****

- * Dr., Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD,
** Dr., Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, DİYARBAKIR
*** Dr., Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, ANKARA
**** Dr., Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, DİYARBAKIR

Özet

Amaç: İntra uterin gelişme geriliği (IUGR) yaratılan ratlarda fetus böbrek ve karaciğerinde ortaya çıkabilecek ultrastrüktürel değişikliklerin araştırılması.

Gereç ve Yöntem: Gebeliğin 18. gününde laparotomiye takiben Sprague Dawley tipi 10 gebe rat, intrauterin gelişme geriliği yaratacak şekilde Wigglesworth'un tarifine uygun olarak unilateral arteria uterina ligasyonuna tabi tutuldu. Gebeliğin 20-21. gününde, hysterotomi sonrası her fetüsün beyin, karaciğer ve böbrekleri tam olarak çıkartılarak tartıldı. Karaciğer ve böbrek biyopsileri %2,5'luk glutaraldehyd solüsyonunda (pH: 7.4) fikse edildikten sonra %1'lik OsO₄ ile postfiksasyonu yapıldı. Dehidratasyon işlemi için artan derecedeki etanol serileri kullanıldı, parlatma işlemi propilen oksit ile yapıldıktan sonra Araldit Cy-212'ye dokular gömüldü ve elektron mikroskopunda ultrastrüktürel olarak incelendi. Ligasyon yapılan ve yapılmayan taraf değerleri birbirleri ile karşılaştırıldı.

Bulgular: Bağlanmış taraftaki fetuslarda kontrol grubuna oranla ortalama vücut, karaciğer ve böbrek ağırlıkları azalmış; ortalama beyin ağırlıkları ise artmış olarak bulundu. Deney grubuna ait böbrek dokularının incelemede, glomerüler bazal membran kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha ince olarak gözlemlendi. Podositler yer yer silikleşmiş ya da birbirleriyle birleşerek daha geniş yüzeyler oluşturmuş durumdaydı. Birbiriyle birleşen bu podositlerin sitoplazmik içeriğinde oldukça geniş vakuolizasyonlar gözlemlendi. Bu grupta glomerüler kapillerlerin lümenleri son derece

Geliş Tarihi: 10.11.1999

Yazışma Adresi: Dr.Gökhan BAYHAN
Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi
Kadın Hastalıkları ve Doğum AD
DİYARBAKIR

Summary

Objective: To investigate the effects of unilateral uterine artery ligation on ultrastructural architecture of kidneys and livers of fetuses in pregnant rats.

Methods: Unilateral uterine artery ligation was done on the 18th day of the pregnancy in 10 pregnant rats (Sprague Dawley) according to Wigglesworth's approach. After hysterotomy at 20-21th day of gestation, fetal height, weights of the body, brain, liver and kidneys were measured. After fixation with 2.5% of glutaraldehyde solution, kidney and liver tissues were postfixed with 1% of OsO₄. Ethanol series were used in increasing degrees for dehydration procedure. After polishing procedure was done with propylene oxide, tissues were buried in Araldit Cy-212 and were evaluated ultrastructurally in electron microscopy. The results of the ligated and unligated sides were compared.

Results: While mean body, liver and kidney weights of the fetuses of the ligated side were all found reduced, mean brain weight was found increased than those of control fetuses. While investigation of kidney tissues, glomerular basement membrane was observed thinner than those of control group. Podocytes were indistinct or combined to be formed extensive surface with focal distribution. Intracytoplasmic vacuolation was observed in coalesced podocytes. The lumens of glomerular capillars were wide and fullfil with erythrocytes in this group. In liver samples of experimental group, the first impression of characteristics were occasional mitochondrial degeneration. Rough endoplasmic reticulum tubulus were wider than those of control group and dense deposits were observed within it. Furthermore hepatocytes nucleolus were more chromatical then those of controls.

Conclusions: In artificially defective uteroplacental circulations, fetal life was compromised, weights of liver and

geniş ve eritrositlerle dolu olduğu gözlemlendi. Deneysel grubuna ait karaciğer örneklerinde hepatositlerde ilk göze çarpan özellik yer yer mitokondrial dejenerasyonların bulunmasıydı. Granüllü endoplazmik retikülüm tubulusları kontrol grubuna göre oldukça genişlemiş idi ve içlerinde yoğun madde birikimi görüldü. Ayrıca hepatositlerin çekirdekleri kontrol grubu hepatosit çekirdeklerine oranla daha kromatik olarak izlendi.

Sonuç: IUGR yaratılan rat fetüslerinde karaciğer ve böbrekte dolaşım bozukluğuna bağlı ağırlıklarda azalma ile birlikte elektron mikroskopta incelendiğinde ultrastrüktürel yapıda değişikliklerin olduğu gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Rat, Fetus, Gelişme geriliği, Histopatoloji, Elektron mikroskopi

T Klin Jinekoloj Obst 2000, 10:156-161

kidneys were affected negatively and some ultrastructural changes were observed in electron microscopy.

Key Words: Rat, Fetus, Growth retardation, Histopathology, Electron microscopy

T Klin J Gynecol Obst 2000, 10:156-161

Perinatal morbidite ve mortalitenin önemli nedenlerinden biri olan intrauterin gelişme geriliği, hayvan deneyleri aracılığı ile laboratuvar şartlarında da incelenmeye çalışılmıştır. Wigglesworth'un (1) yaptığı ilk deneysel modelden beri ratlar üzerinde birçok değişik çalışma yapılmıştır (2-13). Genelde, arteria uterinalarda kısmi veya total oklüzyon yapılarak fetoplasenter gelişme bozuklukları meydana getirilebilmektedir. Pollack ve Divon 1992 yılında intrauterin gelişme geriliğinin üç safhadan oluştuğunu ileri sürmüştür (14). Birinci hafta organların hücrelerinin sayıca arttığı dönemdir ve konsepsiyonda erken ikinci trimestire kadar uzanır. İkinci dönemde hem hücrelerin bölünerek çoğalmasına ve hem de organların gelişmesine neden olan hiperplazi ve hipertrofi dönemi başlar. Son safhada sellüler hipertrofi dönemi başlar. Kimyasal, viral veya genetik etkenler erken dönemde etki yaptıklarında hücrelerin hem sayısı hem de büyüklükleri etkilendir. Son dönemi ilgilendiren plasental yetersizliklerde ise primer olarak hücre büyüklükleri etkilendir ve sonuçta intrauterin organlar (en sık da karaciğer) boyları küçük kalır (14,15).

Bu çalışmadaki amacımız öncelikle gebe ratlarda deneysel bir intrauterin gelişme geriliği yaratmak, bu işlemin fetal organ gelişimi ve özellikle böbrekler ve karaciğer üzerindeki elektron mikroskopik düzeydeki etkilerini incelemektir.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışma Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Araştırma Merkezi'nde (DÜSAM) yaşları 60-70

gün arasında değişen, daha önce hiç doğum yapmamış Sprague Dawley tipi 14 dişi rat üzerinde yapıldı. Çiftleşme için gerekli hazırlıklar yapıldıktan sonra, 14 değişik erkek rat ile birlikte bırakıldılar. Birlikteliğin 48. saatinde erkekler ayrıldı ve bugün gebeliğin 1. günü olarak kabul edildi. Tüm dişi ratlar aynı ortamda tutuldu, aynı besinlerle ayrı kafeslerde beslendi.

Gebeliğin onsekizinci gününde 10 mg/kg Xylazine (Rompun-Bayer), 90 mg/kg Ketamin (Ketalar) anestezisi altında karın derisine orta hatta 3 cm'lik kesi yapılarak abdominal boşluğa ulaşıldı. Kornulardaki fetus sayıları ayrı ayrı kaydedildi. Gebe ratlarda (n:9), kornuların iç yanında bulunan arteria uterinalardan sağ tarafta bulunan serviks-kornu sınırının hemen üzerinde atravmatik no:4/0 katgüt ile bağlandı. Batın katları kapatıldı.

İlk operasyon sırasında çalışma grubundaki 14 ratdan beşinde gebeliğin oluşmadığı görüldü. İki ratın erken doğum yaptığına karar verildi. İlk girişim sırasına göre yapılan relaparotomi sırasında iki ratda peritonit gelişmiş olduğu ve fetusların tamamına yakınının ölmüş olduğu saptandı. Fetusları karışan veya vücut ve organ bütünlüğü kaybolan bu denekler (n:9) çalışma dışında bırakıldı, 5 rat son incelemeye alındı. Arteri bağlanan kornuda bulunan 29 fetustan 7'si intrauterin dönemde kaybedildi ve kalan 22'si çalışmaya dahil edildi. Kontrol kornundaki 25 fetustan hepsi sağdı.

İlk operasyondan ortalama 72 saat sonra ratlara aynı yöntem ile genel anestezi uygulandı, relaparo-

Tablo 1. Ligasyon ve kontrol gruplarının sonuçları

	Fetal ağırlık (g) (ort±SD)	Fetal boy (cm) (ort±SD)	Beyin (g) (ort±SD)	Karaciğer (g) (ort±SD)	Toplam böb- rek ağırlığı (g) (ort±SD)	Beyin/ karaciğer (ort±SD)
Ligasyon grubu (n:22)	2.409±0.671	2.95±0.30	1.43±0.19	1.35±0.65	0.22±0.08	1.06±0.30
Kontrol grubu (n:25)	2.792±0.569	3.04±0.29	1.38±0.18	1.74±0.69	0.27±0.08	0.79±0.26
p	<0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.01

tomu yapıldı, uterus tek parça halinde çıkartıldı. Ligasyon yapılan (çalışma grubu) ve yapılmayan (kontrol grubu) taraftaki gebelik ürünleri ayrı ayrı gruplandırıldı. Bunlarda canlı ve ölü fetus sayısı değerlendirildi, boyları kumpas ile, genel vücut ağırlığı hassas terazi ile ölçüldü (± 0.001 g). Her fetusta dekapitasyonu takiben beyin çıkartıldı, laparotomi ile karaciğer ve her iki böbrek mikromanipülasyon ile zedelenmeden çıkartıldı ve tartıldı. Böbrek biyopsileri %2.5'lük glutaraldehit solüsyonunda (pH:7.4) fikse edildikten sonra %1'lik OsO_4 ile postfiksasyonu yapıldı. Dehidratasyon işlemi için artan derecedeki etanol serileri kullanıldı, parlatma işlemi propilen oksit ile yapıldıktan sonra Araldit Cy-212'ye dokular gömüldü.

İstatistikler için student t testi kullanıldı, $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Ligasyon yapılan tarafta bulunan fetuslarda beyin dışında incelenen tüm organlarda istatistiksel olarak anlamlı gelişme geriliği olduğu ($p < 0.05$), beyin ağırlığının ise ligasyon yapılan grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte daha fazla olduğu saptanmıştır. Beyin karaciğer oranına bakıldığında ligasyon grubu ile kontrol grubu arasında ileri derecede anlamlı farklılık mevcuttu ($p < 0.01$). Ligasyon yapılan taraftaki fetüslerin ortalama fetal ağırlığında %13.71 oranında gerilik ortaya çıkmıştır. Ligasyon yapılan ve kontrol grubundaki fetuslarda fetus ağırlıkları ve boyu, beyin, karaciğer ve toplam böbrek ağırlığı Tablo 1'de gösterilmiştir.

Gebeliğin 18. gününde ratlarda arteria uterinanın tek taraflı bağlanması ve muhtemel doğum tarihinden hemen önce fetüslerin karaciğerlerinin, böbreklerinin elektron mikroskopisi altında ince-

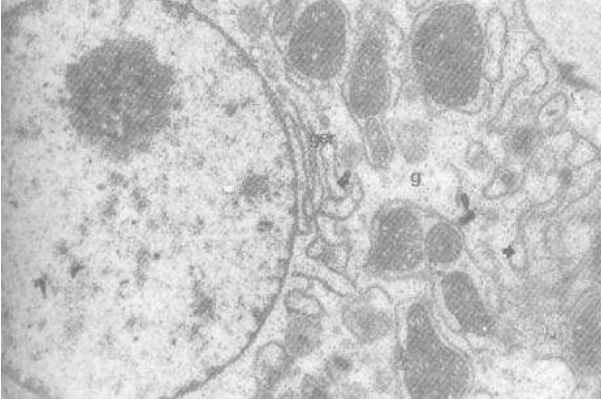
lenmesi sonucunda kontrol grubuna ait karaciğer dokularının ultrastrüktürel yapıları normal görünümdeydi. Deney grubuna ait örneklerde; hepatositlerde ilk göze çarpan özellik yer yer mitokondrial dejenerasyonların bulunmasıydı. GER tubulusları kontrol grubuna göre oldukça genişlemiş idi ve içlerinde yoğun madde birikimi görüldü (Şekil 1). Ayrıca hepatositlerin çekirdekleri kontrol grubu hepatosit çekirdeklerine oranla daha kromatik olarak izlendi (Şekil 2).

Deney grubuna ait böbrek dokularının incelemesinde, glomerüler bazal membral kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha ince olarak gözlemlendi. Bu grupta glomerüler kapillerlerin lümenlerinin son derece genişlemiş olduğu ve eritrositlerle dolu olduğu izlendi (Şekil 3). Podositler yer yer silikleşmiş ya da birbirleriyle birleşerek daha geniş yüzeyler oluşturmuş durumdaydı. Birbirleriyle birleşen bu podositlerin sitoplazmik içeriğinde oldukça geniş vakuo-lizasyon gözlemlendi (Şekil 4).

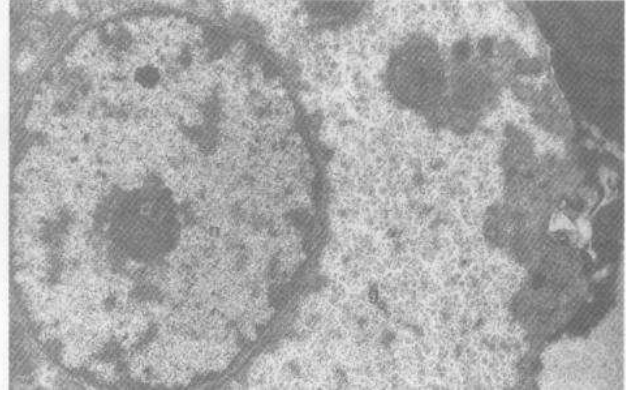
Tartışma

İnsan gebeliklerindeki gelişme geriliğini taklit etmek üzere planlanan, Wigglesworth'ün (1) ilk tarif ettiği deneysel model ile ratlar üzerinde intrauterin gelişme geriliği ortaya çıkarılabilmektedir (5,6,10,16-23). Bu metodda gebeliğin 17. gününde arteria uterinanın total oklüzyonu söz konusu iken hornların ortasında parsiyel oklüzyonu ile insandaki intrauterin gelişme geriliği en iyi şekilde taklit edilebilmektedir.

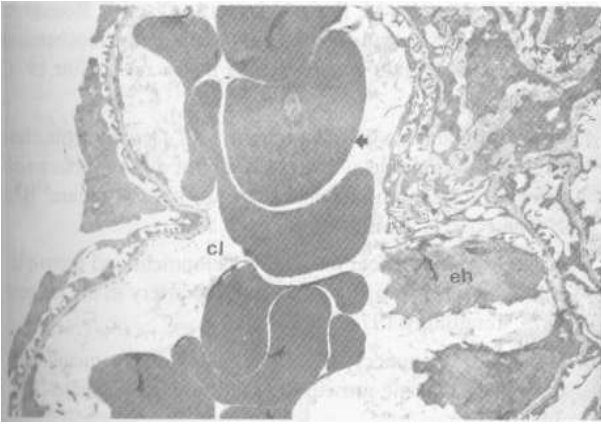
Hayashi ve ark. (10), parsiyel oklüzyon yapılan kornu tarafındaki fetüslerin karaciğer ağırlıkları ile ligasyon yapılmayan fetüslerin karaciğerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğunu bildirmişlerdir. Beyin ağırlıkları arasında ise belirgin farklılık bulamamışlardır (10). Beyin



Şekil 1. Deney grubuna ait hepatositin mikrofotografisinde GER tubuluslarında dilatasyon (ger), sitoplazmada aşırı glikojen granülü birikimi (g), GER tubuluslarında dilatasyon ve içlerinde madde birikimi (tek ok) (Boyama: Uranil asetat kurşun sitrat x 7000).



Şekil 2. Deney grubuna ait böbreğin mikrofotografisinde çekirdeğin kontrol grubundaki hepatositlerin çekirdeklerine oranla kromatik görünümü (n), sitoplazmada granül birikimi (g) izlenmektedir (Boyama: Uranil asetat kurşun sitrat x 7000).



Şekil 3. Deney grubuna ait böbreğin mikrofotografisi. Kapiller lümenini oldukça genişlemiş olduğu (cl), kapiller lümeninde bol miktarda eritrosit (tek ok), endotel hücresi (eh) izlenmektedir (Uranil asetat kurşun sitrat x 3000).



Şekil 4. Deney grubuna ait böbreğin mikrofotografisi. Podositlerin sitoplazma içeriğinde vakuolizasyon (v), podositlerde azalma (tek ok), kapiller lümeni (cl), eritrosit (e) izlenmektedir (Uranil asetat kurşun sitrat x 12.000).

ağırlıkları arasında belirgin farklılık olmaması beyin koruyucu etkiye bağlanmaktadır. Bizim çalışmamızda da beyin ağırlıkları arasında belirgin farklılık tespit edilmemiştir.

Brown ve ark. (6), bu gibi deneklerde hem vücut, hem de beyin ağırlığında azalma saptarken, Nitzan ve ark. (7), karaciğer, beyin dokusunun ligasyon işlemi ile oluşturulan gelişme geriliğinde glukoz tüketiminin arttığını ve aminoasit tüketiminin azaldığını ileri sürmüşlerdir.

Chanez ve ark. ligasyon yapılarak gelişme geriliği yaratılmış fetüslerin beyin korteksinde amino-

asitlerde selektif bölgesel anormallikler oluştuğunu tespit etmişlerdir (23). Bizim incelediğimiz serimizde rat fetüslerin beyin hücrelerinde karaciğer ve böbrek hücrelerinde görülen hipoplazik değişiklikleri gözlemedik.

Yaptığımız çalışmada, ligasyon tarafında %21.2 oranında fetus ölümü meydana gelmiştir. Ligasyon grubundaki fetüslerin ortalama ağırlığı %11.6 oranında azalmıştır. Sağ kalan fetüslerde beyin, ağırlık olarak gelişme geriliğine uğramakta, hatta gelişimini arttırarak sürdürmekte, beyin ağırlığının genel vücut ağırlığına oranı da art-

maktadır. Bu olay bize stres durumlarında dolaşımın beyin kanlanmasını koruyucu etkisini düşündürmektedir. Ligasyon yapılan taraftaki fetüslerin karaciğer ve böbreklerinde saptanan istatistiksel olarak anlamlı gelişme geriliği ve hücresele düzeyde gözlenen hipoplazinin uteroplasental kanlanmadaki azalmanın bir sonucu olduğunu düşünmekteyiz.

Genel gözlemlerimiz, fetal gelişimin o taraf kornundaki fetus sayısına bağlı olduğunu göstermektedir. Fetus sayısı az olan tarafta fetal gelişim daha iyi olmaktadır. Çalışmamızda denekler arasında sayısal açıdan taraf farklılığı olmamakla birlikte, her deneğin içindeki fetus dağılımında geniş oynamalar olması, sonuçlarımızın anlamlılığını etkilemiş olabilir. Ligasyon ve kontrol gruplarındaki fetus sayısının her rat için eşit olması, çalışmanın bu durumdan en az düzeyde etkilenmesini sağlayabilecektir. Ayrıca 48 saatlik çiftleşme periodunun da fetal yaşı ve fetal gelişimi etkilemiş olduğunu, bu sürenin daha kısa tutulması halinde elde edilen fetusların ağırlığında geniş oynamalar olmayacağını düşünmekteyiz. Ancak bu işlemler daha fazla sayıda denek ile çalışmayı gerektirecektir.

Sonuç

Ratlarda gebeliğin 18. gününde arteria uterininin tek taraflı bağlanması, bağlanan tarafın kornunda dolaşım bozukluğuna ve elde edilen canlı fetus sayısında belirgin azalmaya yol açmaktadır. Sağ kalan fetusların organ gelişimlerini devam ettirdikleri, fetus boyu ve ağırlığında, karaciğer, böbrek gibi bazı iç organlarda ve fetus eklerinde kısmen gelişme geriliği ortaya çıktığı ancak beyin gelişiminin bu olaydan etkilenmediği gözlenmiştir. İntrauterin dönemde uteroplasental dolaşımın engellenmesi, fetal dolaşımında "beyin koruyucu etki"nin ortaya çıkmasına neden olmaktadır.

1. Ligasyon yapılan kornu tarafından elde edilen canlı fetus sayısı daha az olmaktadır,

2. Ligasyon tarafından elde edilen canlı fetuslarda, istatistiksel olarak anlamsız olmakla birlikte gebelik ürünlerinin (plasenta+amnion sıvısı+fetus) toplam ağırlığında, ayrıca fetal ağırlık ve boyda gerilik görülmektedir,

3. Ligasyon taraftaki canlı fetuslarda ağırlık açısından karaciğer ve böbrekte gelişme geriliği or-

taya çıkmakta, bununla beraber ultrastrüktürel düzeyde değişiklikler görülmektedir.

4. Beyin, ligasyon girişiminden etkilenmemekte, hatta genel vücut ağırlığı ile karşılaştırıldığında gelişimini arttırarak sürdürmektedir.

Teşekkür: Elektron mikroskopi ünitesinde, araştırmamızın yapılmasında yardımlarını esirgemeyen Gazi Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr.Deniz Erdoğan'a ve Doç.Dr.Candan Özoğul'a teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Wigglesworth JS. Experimental growth retardation in the fetal rat. *J Pathol* 1964; 88:1.
2. Oh W, D'Amodio MD, Yap LL, Hohenauer L. Carbonhydrate metabolism in experimental intrauterine growth retardation in rats. *Am J Obstet Gynecol* 1970; 108:415-21.
3. Bernal A, Morales M, Feria-Velasco A, Chew S, Rosado A. Effect of intrauterine growth retardation on the biochemical maturation of brain synaptosomes in the rat. *J Nutr* 1974; 104:1157-64.
4. Roux JM, Jahchan T, Fulchignoni MC. Desoxyribonucleic acid and pyrimidine synthesis in the rat during intrauterine growth retardation: responsiveness of several organs. *Biol Neonate* 1975; 27:129-40.
5. Bruce NW. The effect on fetal development and utero-placental blood flow of ligating a uterine artery in the rat near term. *Teratology* 1977; 16:327-31.
6. Brown JD, Vannucci RC. Cerebral oxidative metabolism during intrauterine growth retardation. *Biol Neonate* 1978; 34:170-3.
7. Nitzan M, Orloff S, Schulman JD. Placental transfer of analogs of glucose and amino acids in experimental intrauterine growth retardation. *Pediatr Res* 1979; 13:100-3.
8. Morand O, Chanez C, Masson M, Dumont O, Flexor MA et al. Intrauterine growth retardation (malnutrition by vascular ligation) induces modifications in fatty acid composition of neurons and oligodendrocytes. *J Neurochem* 1981; 37:1057-60.
9. Vileisis RA, Fain J, Oh W. Fatty acid synthesis in rat fetuses with intrauterine growth retardation. *Metabolism* 1982; 31:217-22.
10. Hayashi TT, Dorko ME. A rat model for the study of intrauterine growth retardation. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 158:1203-07.
11. Mughal MZ, Ross R, Tsang RC. Clearance of calcium across in situ perfused placentas of intrauterine growth-retarded rat fetuses. *Pediatr Res* 1989; 25:420-2.
12. Antebi E, Lehmann JM, Gingold A, Nobel M. The effect of impairment of blood supply to the rat uterus. *Int J Fertil* 1991; 36:376-8.

- 13.Thordstein M, Hedner T. Cerebral and adrenal monoamine metabolism in the growth-retarded rat fetus under normoxia and hypoxia. *Pediatr Res* 1992; 31:131-7.
- 14.Pollack RN, Divon MY. Intrauterine growth retardation: Definition, classification and etiology. *Clin Obstet Gynecol* 1992; 35:99.
- 15.Winick M. Cellular changes during placental and fetal growth. *Am J Obstet Gynecol* 1971; 109:166.
- 16.Hophy M, Harel S, Yavin E. Urinary excretion of prostacyclin in a rat model of uteroplacental vasculature occlusion: implications for fetal growth retardation. *Reprod Fertil Dev* 1996; 8:895-901.
- 17.Lane RH, Chandorkar AK, Flozak AS, Simmons RA. Intrauterine growth retardation alters mitochondrial gene expression and function in fetal and juvenile rat skeletal muscle. *Pediatr Res* 1998; 43:563-70.
- 18.Lane RH, Flozak AS, Ogata ES, Bell GI, Simmons RA. Altered hepatic gene expression of enzymes involved in energy metabolism in the growth-retarded fetal rat. *Pediatr Res* 1996; 39:390-4.
- 19.De Wachter AM, Morsink L. The effects of ritodrine on experimentally induced intrauterine growth retardation in the rat. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1979; 239:138-47.
- 20.Kollée LA, Monnens LA, Trijbels JM, Veerkamp JH, Janssen AJ. Experimental intrauterine growth retardation in the rat. Evaluation of the Wigglesworth model. *Early Hum Dev* 1979; 3:295-300.
- 21.Tanaka M, Natori M, Ishimoto H, Miyazaki T, Kobayashi T, Nozawa S. Experimental growth retardation produced by transient period of uteroplacental ischemia in pregnant Sprague-Dawley rats. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 171: 1231-34.
- 22.Rabin O, Lefauconnier JM, Chanez C, Bernard G, Bourre JM. Developmental effects of intrauterine growth retardation on cerebral amino acid transport. *Pediatr Res* 1994; 35:640-8.
- 23.Chanez C, Rabin O, Heroux M, Giguere JF. Cerebral amino acid changes in an animal model of intrauterine growth retardation. *Metab Brain Dis* 1993; 8:61-72.