

붕어의 발육 및 생식에 미치는 비소의 영향

남성숙, 이철우, 류지성, 박응로, 남규찬,
류홍일, 전성환, 나진균, 최덕일, 박광식*

국립환경연구원 환경위해성연구과

Effects of Arsenic on the Gonadal Development in Crucian Carp

Seong-Sook Nam, Chulwoo Lee, Jisung Ryu, Eung-Roh Park, Kyu-Chan Nam,
Hong-Il Rhu, Seong-Hwan Jeon, Jin-Gyun Na, Doug Il Choi and Kwangsik Park*

National Institute of Environmental Research, Environmental Research Complex,
Kyungseo-dong, Seo-gu, Incheon 404-170, Korea

ABSTRACT

To evaluate the arsenic effect of fish endocrine disruption, crucian carp (*Carassius auratus*) were treated with 0.5 mg/L and 3.0 mg/L of As_2O_3 for 14 days and gonadal development was examined by histological analysis. In ovaries from female crucian carps exposed to 3.0 mg/L, immature follicles and atretic follicles were appeared while various normal developmental stages of oocytes were shown in control group. Body weight and Gonadosomatic Index (GSI) of treated carp were also decreased compared to control group. However, no other significant histological changes in liver or kidney were shown in this exposure scheme.

This means that reproductive organs are more sensitive than other organs and arsenic may exert endocrine disrupting effect through inhibiting the development of reproductive organ in fish.

Key words : arsenic, endocrine disruptor, fish, gonadal development

서 론

비소(Arsenic)는 천연 호수나 강에서 발견되기도 하며 특히, 광산 인근지역에서 고농도로 검출되기도 한다.¹⁾ 대기 중으로는 화석연료의 채광, 제련, 제련, 연소 과정 등에 의해 다량 배출되며 비소화합물중 3가 비소인 arsenic trioxide (As_2O_3)가 독성이 가장 강한 것으로 알려져 있다.²⁻⁴⁾ $NaAsO_3$ 는 해양조류 증식 억제제로, As_2O_3 는 살충제 제조

용으로 사용되기도 하며 육상생물보다는 수서 생물에서 농축이 심한 것으로 알려져 있다.^{5,6)} 비소의 수계내 유입은 주로 강우, 공장폐수, 제초제 또는 살충제의 남용에 의해 일어나는데 비소는 수온과 마찬가지로 박테리아에 의해 메틸화되어 독성이 보다 강한 메틸- 혹은 디메틸화된 비소 화합물로 전환될 수 있고, 친지질성으로 생체내의 지방조직에 축적된다. 그동안의 연구보고에 따르면 비소 화합물질은 인체나 동물의 조직에 지속적으로 축적되어 온 것으로 알려져 있다.⁷⁻⁹⁾ 비소 화합물에 의한 어류독성 실험결과도 다수 보고되었는데 3가 비소의 경우 블루길, 송어, 금붕어 등에서 24~96시간 반수치사농도 15~60 mg/L 정도

* To whom correspondence should be addressed.
Tel : 82-32-560-7070; Fax : 82-32-568-2037
E-mail : envipark@hanmail.net

의 독성을 나타내었으며, 5가 비소의 경우는 상대적으로 독성이 낮아 반수치사농도는 3가 비소에 비해 2~10배 가량 높은 것으로 알려져 있다.¹⁰⁾ 또한 비소의 독성은 비소 화합물의 형태, 어류의 크기 뿐만 아니라 수온, 경도, pH 등의 환경적 요인에 따라 독성의 강도는 다르게 나타난다는 보고도 있다.¹¹⁾ 어류에 대해서는 조직학적 병변연구도 다양하게 시도되었는데, 비소는 간세포의 괴사를 유발하거나, 담관(膽管) 내의 이상적 세포증식을 유발하는 것 등이 대표적인 조직병변으로 알려져 있다.¹²⁻¹⁶⁾

비소는 납, 수은, 카드뮴 등과 더불어 현재 EPA에서 내분비계장애 추정물질로 분류되고 있으며,¹⁷⁾ 대표적인 사례로서 랫드가 비소에 노출되었을 때 수컷 혈액내의 테스토스테론 또는 암컷 혈액에서의 에스트로젠을 현저히 감소시킨다는 보고가 있다.^{18, 19)} 한편 비소는 성장저해 및 기형을 유발할 수도 있는데 비소 노출에 의해 체중 증가가 정상보다 약 25% 정도로 감소되었다는 보고가 있다. 인체독성과 관련한 역학조사 결과에 따르면 비소에 노출시 간질환 및 간암 등을 유발할 수 있다는 보고가 있으며, 이 밖에도 태아의 기형을 유발할 수 있다는 결과들이 발표된 바 있다.¹⁸⁾ 본 실험에서는 내분비계장애물질로 의심되는 비소를 0.5 mg/L 및 3.0 mg/L의 농도로 붕어에 노출시킨 후 생식기관의 조직학적 병변을 관찰함으로써 비소의 내분비계작용을 생식기관 발달과 관련시켜 설명하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 시험어종

시험어종으로는 청평내수면 연구소로부터 분양 받은 붕어(*Carassius auratus*)를 60×40×40 cm 크기의 수조에서 수온 25±1°C, pH 7.5±0.2, 용존산소 7~8 mg/l 및 광주기 16h/8h(명/암)으로 조절되는 국립환경연구원 환경유해성연구실에서 순화시킨 후 시험에 사용하였다. 시험에 사용된 붕어는 체장 6.0~10.0 cm, 체중 8.8~13.0 g을 가지며, 외관상 기형이 없는 건강한 개체를 선별하여 사용하였다.

2. 시험물질 및 노출방법

시험에 사용한 비소는 As₂O₃이었으며 24시간마다 시험수의 반을 교환해주는 반지수식 노출방법으로 최종농도가 0.5 mg/L, 3.0 mg/L 유지되도록 하고 노출기간은 14일로 하였으며, 종결된 후 대조군 및 처리군 모두 사육수만으로 7일간 추가 노출하였다. 시험생물은 군당 각 10마리의 붕어를 처리하였고 암수 구분은 노출 후 조직검사시 결정되었다. 시험기간동안 먹이는 Tetra bits (Tetra Germany)를 1일 2회, 각 시험군에 동일한 양으로 공급하였다.

3. GSI (gonadosomatic index) 측정

노출전과 노출이 끝난 후에 각 개체의 체중 및 체장을 측정하였으며, 이 때 각 개체의 생식기를 적출하여 무게를 측정한 후 다음 식에 의하여 GSI (gonadosomatic index)를 계산하였다.

$$GSI = \frac{\text{weight of gonad}}{\text{weight of body}} \times 100$$

4. 생식기관 조직검사

노출 후 난소 또는 정소 및 간, 신장 등을 적출하고 즉시 Bouin 고정액에 24시간 동안 고정하였다. 조직의 비결합수를 제거하기 위하여 에탄올 시리즈(70%, 80%, 90%, absolute)로 탈수한 후, 조직포매장치를 사용하여 파라핀을 조직내로 침투시켜 포매하였다. 포매된 블록을 회전식 마이크로톰으로 5 μm 두께로 조직절편을 만들어 조직슬라이드를 제작하고, 0.5% 헤마톡실린과 1% 에오신 염색액으로 이중 염색하여 관찰하였다.

결과 및 고찰

1. 성장영향

As₂O₃를 처리한 결과 처리군(0.5 mg/L, 3.0 mg/L)에서 사망한 개체는 발견되지 않았으나 체중 및 체장의 증가는 저해되는 것으로 나타났으며(Fig. 1 참조), 특히 3.0 mg/L 처리군에서는 평균 체중이 노출전과 비교해 30% 가량 감소하는 심각한 성장저해 현상을 가져왔다. 한편, 평균 GSI는

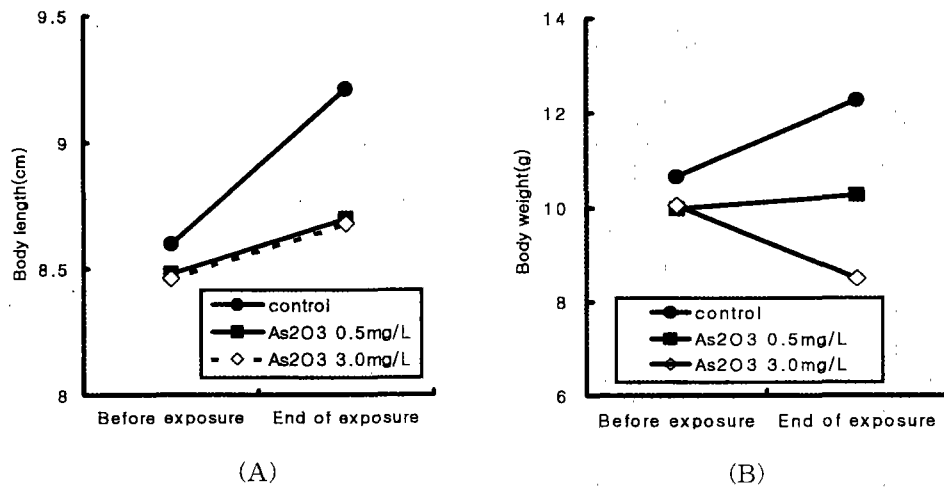


Fig. 1. Effect of arsenic on the growth of *Carassius auratus*. (A) body length (B) body weight

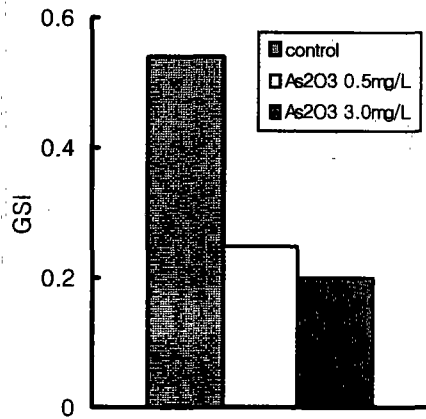


Fig. 2. Gonadosomatic index of control group and As-treated group.

암컷을 대상으로 측정하였으며 그 결과는 Fig. 2에 나타낸 바와 같다. 0.5 mg/L 처리군에서는 GSI 값이 0.25로 대조군의 50%에 미치지 못하였으며, 3.0 mg/L 처리군의 경우 0.2로 더욱 낮아지는 경향을 보임으로써 비소는 어류의 성장 뿐만 아니라 생식기의 발달과정도 억제하는 것으로 나타났다.²⁰⁾

2. 난소의 조직학적 변화

0.5 mg/L 처리군의 난소 조직은 대조군과 마찬가지로 oogonia, oocytes 등 모든 발달 단계의 난

소가 관찰되었으나, 대부분이 primary follicles 단계만 관찰되었으며, secondary follicles는 대조군에 비해 드물게 관찰되었다. 특히, 고농도인 3.0 mg/L에 노출된 붕어는 난모세포의 대부분은 미성숙되거나 퇴축된 것으로서 성숙 단계인 2차 난모세포는 전혀 관찰되지 않았다 (Fig. 3 참조). 한편 수컷의 정소조직에서는 lobule lumen의 손상정도가 관찰되었으나 정모세포의 발달저해 등의 뚜렷한 증상은 관찰되지 않았다. 이는 동일농도의 비소에 노출되었을 때 암수의 감수성 차이에 의한 결과로도 볼 수 있으나, 본 실험에서는 시험군의 대부분이 암컷으로서 수컷의 경우는 조직학적 영향을 통계적으로 판단할 수 있는 개체수에는 미치지 못하였다. 이 밖에도 간과 신장을 관찰한 결과, 3.0 mg/L 처리군의 일부 개체의 신장에서 세뇨관강의 확장이 발견되었을 뿐, 대조군과 비교해 처리군 모두에서 유의적인 병변은 관찰되지 않았다. 이러한 결과는 본 실험에서 사용한 농도에서 비소는 표적 장기에 직접적인 조직학적 손상을 나타내기 보다는 생식기 특히 난모세포의 발달에 주로 저해를 가져왔음을 알 수 있었다. 타 연구보고에 의하면 *Colisa fasciatus*를 대상으로 As₂O₃를 14 mg/L를 15일간 노출하였을 때, 난소 발달은 물론 유의적인 조직병변도 관찰할 수 없었으나 30일간 노출시킨 경우, 난모세포의 핵크기가 감소하고 퇴축된 난모세포 수가 증가되는 것으로 알려진 바 있

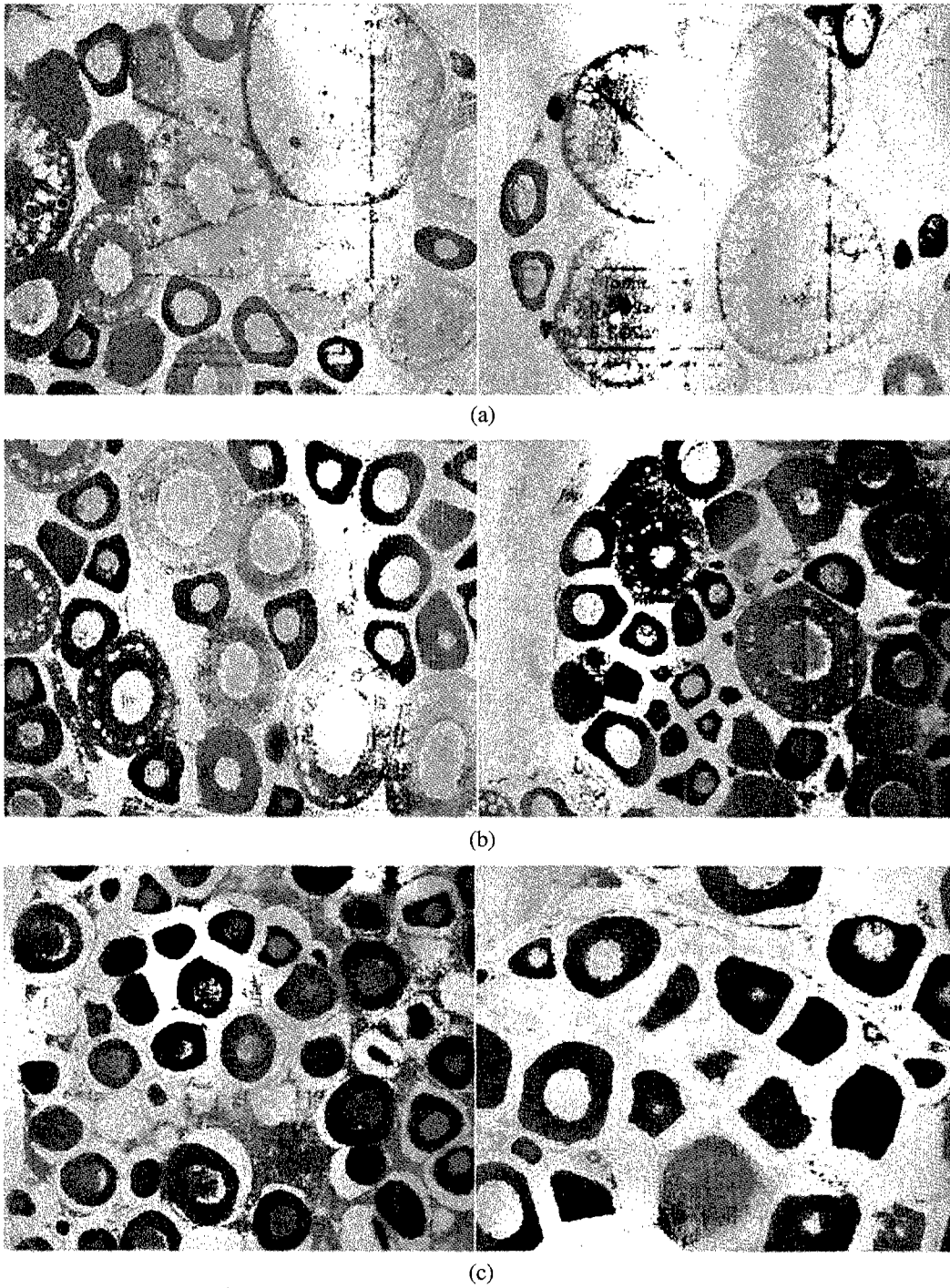


Fig. 3. Histological observation of oocytes in control and As-treated group.

(A) control group : Different developmental stages of oocytes and maturing oocytes were observed.

(B) 0.5 mg/L arsenic treated group : There were fewer secondary or maturing oocytes than in untreated group.

(C) 3.0 mg/L arsenic treated group : Secondary oocytes or maturing oocytes were not observed.

다.^{21, 22)} 이러한 결과와 본 결과를 비교하여 볼 때 보다 낮은 농도인 3.0 mg/L에 14일간 노출된 붕어는 난소발달 뿐만 아니라 성장에도 심각한 영향을 나타내는 것으로 보아 비소의 영향은 어종, 개체크기, 환경 등에 따른 영향 차이가 있을 것으로 추정된다.²³⁾

본 실험 결과, 비소는 붕어에서 난소 발달을 저해하는 것으로 밝혀졌으며, 향후 보다 구체적인 내분비계장애 영향을 평가하기 위해서는 비소의 생식기 발달저해와 관련된 메카니즘을 규명하기 위한 추가적인 농도 설정 및 성 호르몬의 합성, 대사와 관련하여 보다 세부적인 분자생물학적 연구가 필요하리라 사료된다.

참 고 문 헌

- O'Rourke MK, Rogan SP, Jin S and Robertson GL. Spatial distributions of arsenic exposure and mining communities from NHEXAS Arizona, *J. Exp. Anal. Environ. Health* 1999; 25(3) : 446-455.
- Manahan SE. *Toxicological chemistry*, 2nd ed., Lewis Publishers, Michigan 1992; 260-268.
- Ni J, Chen G, Li X, Liu H, Huang Y, Fang Z, Chen S and Wang Z. Pharmacokinetics of intravenous arsenic trioxide in the treatment of acute promyelocytic leukemia, *Chin Med J* 1998; 111(12) : 1107-1110.
- Bachleitner-Hofmann T, Gisslinger B, Grumbeck E and Gisslinger H. Arsenic trioxide and ascorbic acid: synergy with potential implications for the treatment of acute of myeloid leukaemia, *Br J Haematol* 2001; 112(3) : 783-786.
- McGeachy SM and Dixon DG. Whole-body arsenic concentration in rainbow trout during acute exposure to arsenate, *Ecotoxicol Environ Saf* 1992; 24(3) : 301-318.
- Cockell KA, Hilton JW and Bettger WJ. Chronic toxicity of dietary disodium arsenate heptahydrate to juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Arch Environ Contam Toxicol* 1991; 21(4) : 518-527.
- Mattusch J, Wennrich R, Schmidt AC and Reisser W. Determination of arsenic species in water, soils and plants, *J. Anal Chem* 2000; 366(2) : 200-213.
- Cooper CM and Gillespie WB. Arsenic and mercury concentrations in major landscape component of an intensively cultivated watershed, *Environ Pollut* 1999; 111(1) : 67-74.
- Munoz O, Devesa V, Suner MA, Velez D, Montoro R, Urieta I, Macho ML and Jalon M. Total and inorganic arsenic in fresh and processed fish product, *J. Agric Food Chem* 2000; 48(9) : 4369-4376.
- Sorensen EMB. Toxicity and accumulation of arsenic in green sunfish, *Lepomis cyanellus*, exposed to arsenate in water, *Bull. Environ. Contam. Toxicol* 1976; 15 : 756-764.
- Thermal effects on the accumulation of arsenic in green sunfish, *Lepomis cyanellus*, *Arch. Environ. Contam. Toxicol* 1976; 4 : 8-13.
- McGeachy SM and Dixon DG. The impact of temperature on the acute toxicity of arsenate and arsenite to rainbow trout (*Salmo gairdneri*), *Ecotoxicol Environ Saf* 1989; 17(1) : 86-93.
- Elsa M. Sorensen, *Metal Poisoning in Fish*, CRC press, 74-82.
- Kotsanis N, Iliopoulou-Georgudaki J. Arsenic induced liver hyperplasia and kidney fibrosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by microinjection technique: Asensitive animal bioassay for environmental metal-toxicity, *Bull Environ Contam Toxicol* 1999; 62(2) : 169-178.
- Cockell KA and Bettger WJ. Investigations of gallbladder pathology associated with dietary exposure to arsenate heptahydrate in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Toxicology* 1993; 77(3) : 233-248.
- Bartolome B, Cordoba S and Nieto S. Fernandez-Herrera J., Garcia-Diez A, Acute arsenic poisoning: clinical and histopathological features, *Br J Dermatol* 1999; 141(6) : 1106-1119.
- Jones, Tammy, U.S.EPA, Las Vegas, NV, Private communication December 12, 1996.
- Environmental endocrine disruptors, A handbook of property data, Lawrence H. Keith, Version 1.0, June 1997; John Wiley and Sons, Inc.
- Omura M, Tanaka A, Hirata M, Zhao M, Makita Y, Inoue N, Gotoh K and Ishinishi N. Testicular toxicity of gallium arsenide, indium arsenide and arsenic oxide in rats by repetitive intratracheal installation, *Fundam Appl Toxicol* 1996; 32(1) : 72-78.
- Shukla JP, and Pandey KT. Impaired ovarian functions in arsenic-treated freshwater fish, *Colisa fasciatus*, *Toxicol Lett* 1984 Jan; 20(1) : 1-3.
- Shukla JP and Pandey K. Impaired functions in arsenic-treated freshwater fish, *Colisa fasciatus*, *Toxicol Lett* 1984; 20(1) : 1-3.
- Spehar RL, Fiant JT, Anderson RL and Defoe DL. Comparative toxicity of arsenic compound and their accumulation in invertebrate and fish, *Arch Environ Contam*

- Toxicol 1980; 9(1) : 53-63. :
23. Bires J, Maracek I, Bartko P, Biresova M and Weissova
T. Accumulation of elements in sheep and the effects
upon qualitative and quantitative ovarian changes, Vet
Toxicol 1995; 37(4) : 349-356.