

Studies on the Toxicity of Alcohol in the Developing Chick Embryo

Jin Sik Kim¹, Su Won Kim¹, Hye Myung Ryu¹, Jin Sik Nam², Byung Tae Min³,
Soo Hyun Park³, Jung Tae Jeon³ and Min Yoo^{1†}

¹Department of Biology, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea,

²Department of Food & Nutrition, Suwon Women's College, 336-27 Sanggi, Bongdam,

Hwasung, Kyonggi 445-895, Korea, ³Vilac Company LTD. R&D Center, Kimhae, 621-190, Korea

We have examined alcohol-induced malformation of chick embryo. Alcohol was considered to induce the malformation of developing embryo and to have bad effects on embryonic stage. We injected alcohol into air sac on day 4 of incubation. Ten % alcohol-treated group showed a little decrease on their body length compared to the untreated group and distilled water-treated group. Thirty % alcohol-treated group showed significant decrease on their body length compared to the untreated group and 10% ethanol treated group. In addition, we have observed malformation of eyeballs and bills. These results indicate that alcohol affects chicken developments and brings on malformation of developing stage.

Key Words: Alcohol, Chick embryo, Toxicity, Malformation

서 론

사회생활이 복잡해지면서 현대인들의 알코올 섭취량은 날로 증가되고 있다. 이에 따라 음주문화에 대한 사회적인 문제점과 더불어 알코올이 건강에 미치는 영향에 대해 관심이 증대되고 있다.

알코올은 동맥경화를 방지하여 관상심장질환의 위험률을 감소시키기도 하지만 (Kiechl S et al., 1998), 과도하게 섭취하면 중독성 약물이 되어 각종 면역 반응이 감소되며 (Saxena QB et al., 1980; Watson RR, 1988), 미생물에 대한 감수성이 증가되고 (Dow-Edwards DL et al., 1989; Ha TY, 1993), 간염, 간경화, 간암 등 간질환의 원인이 되기도 한다고 보고되어 있다 (Adams HG et al., 1984; Grossman CJ et al., 1988). 또한 각종 암을 유발시키는 빈도가 높아질 뿐만 아니라 암의 진행 속도에도 영향을 미치는 것으로 알려져 있으며 (Potter JD et al., 1982; Miller MW et al., 1988), 영양학적인 측면에서도 알코올의 만성적 섭취는 특정영양소들의 흡수와 대사 장애를 불러 일으켜 영양의 불균형을 초래하기도 한다. 특히 여성의 알코올 중독은 사회적으로도 심각한 문제를 야기시킬 수 있는데, 심각한 경우 태아성 알코올증 (fetal alcohol syndrome,

FAS)의 아이를 분만할 확률이 높기 때문이다. FAS의 영유아는 정신박약의 증세를 나타내고, 여러 가지 장애를 불러 일으킬 뿐만 아니라 면역세포의 결핍 등이 발생하는 것으로 알려져 있다 (Johnson S et al., 1981; Ewald SJ et al., 1988).

이에 본 실험은 기형실험을 통해 알코올이 발생과정에서 어떠한 영향을 미치는가에 대해 알아보았다. 기형실험은 알코올을 유정란의 혈관형성기에 투여함으로써 배발생에 미치는 영향과 기형유발의 정도를 확인하였다. 유정란을 이용한 발생실험은 재료를 구하기가 비교적 용이하며, 발생기간이 짧고, 비용이 저렴하여 실험에 필요한 충분한 수를 확보하기가 쉬우며, 다양한 실험군을 둘 수 있다는 장점이 있다. 이 외에도 좁은 공간에서도 실험이 가능하다는 것, 화학적, 물리학적 요인에 대한 감수성이 높다는 점 때문에 기형독성실험에 널리 사용되고 있다 (Choi JJ et al., 1989; Lim YK et al., 1990).

재료 및 방법

1. 실험동물

계배발생실험을 위해 밀양의 농장에서 사육 중인 White Leghorn 품종의 유정란을 구입하여 사용하였으며 52~63 g의 유정란을 사용하였다. 유정란의 발생율은 90% 이상이였다.

2. 재 료

Ethanol 등 본 실험에서 사용한 모든 시약들은 Sigma Co. (USA) 제품을 구입하여 사용하였으며, epp. tube와 tip, petridish,

* 논 문 접 수: 2004년 8월 20일

수 정 재 접 수: 2004년 9월 17일

† Corresponding author: Min Yoo, Department of Biology, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea
Tel: 053-580-5953, Fax: 053-580-5537
e-mail: ymin@kmu.ac.kr

1 ml disposable syringer 등은 일회용품을 사용하였다. 실험에 사용된 모든 초자기구와 해부용 가위, 해부용 핀셋 등은 121℃에서 30분간 고압증기멸균한 뒤 사용하였다.

3. 부란기 조건

온도와 상대습도를 조절할 수 있고 공기순환과 난자를 회

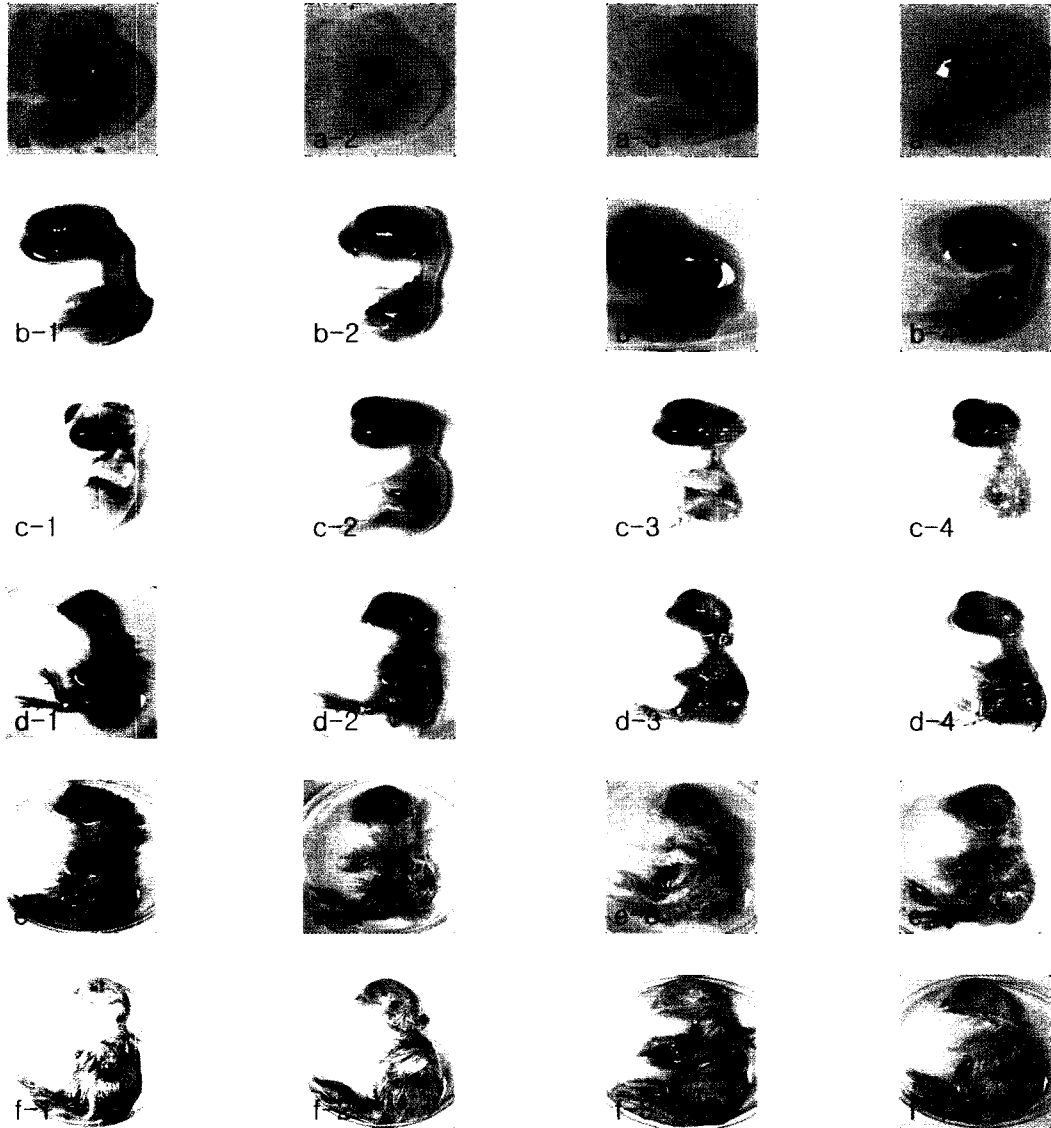


Fig. 1. Prograssive development of chick embryo. A represents 6th day of incubation. B, C, D, E, F represent 9th, 12th, 15th, 18th, 21st day of incubation, respectively. No. 1 represents control group. No. 2 represents distilled water-treated group. No. 3 represents 10% alcohol-treated group. No. 4 represents 30% alcohol-treated group.



Fig. 2. Various malformation of chick embryo induced by alcohol

전시키는 교반시설이 있는 부란기를 사용하였다. 부란기의 조건은 온도 37~38℃, 상대습도 50~60%를 유지하였다.

4. 시험군 설정

무처치 대조군과 멸균수만을 투여한 용매 대조군을 두었으며, EtOH 처리군은 10%, 30%의 농도의 실험군을 두었다.

5. 시험물질 투여

수정란의 air sac 부근에 미리 작은 구멍을 만든 다음 발생시켰다. 발생 중인 무처치 대조군을 0~4일까지 매일 같은 시간에 깨어 발생정도를 확인하여 혈관형성이 왕성하게 일어나는 3~4일에 농도별로 용액을 투여하였다. 무처치 대조군은 아무 것도 첨가하지 않은 채 부란기에 넣어 두었고, 멸균수만을 처리한 대조군과 나머지 시험군의 투여량은 100 µl/egg로 하였다. 용액의 투여방법은 air sac 부근에 미리 만들어 놓은 구멍을 통해 1 ml disposable syring을 이용해 조심스럽게 투여하였다.

6. 검사와 통계적 처리

검사는 6일, 9일, 12일, 15일, 18일, 21일에 시행하였으며, 매일 같은 시간에 하였다. 수정란을 petridish에 깨어 발생 중인 Chick embryo를 육안으로 검사하였으며, 발생의 유무와 기형, 체장을 조사하고, 디지털 카메라로 촬영하였다.

결 과

Chick embryo의 혈관형성은 발생 3일에 시작하였고, 발생 4일에 왕성하게 형성되어 있었다. 따라서 발생 4일에 무처치 대조군을 제외한 멸균수 투여 대조군과 알코올 투여 실험군에 각각 멸균수와 알코올을 100 µl씩 투여하였고, 발생 6일, 9일, 12일, 15일, 18일, 21일에 petridish에 조심스럽게 깨어 육안으로 형태적 기형과 체장을 조사하였다 (Fig. 1). 무처치 대조군과 비교해 용매 대조군인 멸균수 투여 대조군은 거의 같은 모습과 체장을 보였지만 발생 후반부에서 유의성 있는 체장의 감소가 보였다. 이에 반해 10% 알코올 투여군에서는 멸균수 투여 대조군과 발생 후반부부터 체장의 감소가 비슷하였으나, 30% 알코올 투여군에서는 체장이 눈에 띄게 감소되었으며, 발생의 정도도 다른 실험군에 비해 느린 것으로 확인되었다. 또한 30% 알코올 투여군의 일부에서는 안구와 부리에 대한 기형이 동시에 나타남을 볼 수 있었다 (Fig. 2).

고 찰

Chick embryo 발생실험에서는 알코올의 농도가 증가함에

따라 발생과정이 진행되면서 발생과정이 느려짐과 동시에 유의적으로 체장이 다소 감소하는 것을 볼 수 있었다. 일부의 경우에 있어서는 안구, 부리 등 기형도 발생하였다. 이처럼 알코올이 발생과정에 유의적으로 영향을 주는 것으로 추정되나 정확한 기준을 마련하기에는 좀더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다. Chick embryo를 이용한 발생실험의 결과는 다른 동물실험과 비교했을 때 다소간의 차이가 있다는 단점이 있기 때문이다. 이는 시약의 투여시간과 투여정도, 온도와 습도 등 외부의 영향, 실험자의 투여방법 등에 따라 차이를 보일 수 있으며, 시험물질의 특성, 수정란의 상태와 보관 중의 온도 등에 의해 영향을 받기도 한다. 이러한 이유로 약 1,000여 개 이상의 수정란을 실험에 사용하였지만 Chick embryo 발생실험의 특성상 변수가 너무 많이 작용함으로써 일관된 기준을 마련하기에 다소 부족함이 있다고 사료된다. 따라서 본 연구의 결과를 기초로 이러한 사항들을 고려하여 알맞은 실험방법을 선택해야 할 것이며 무엇보다 수정란을 이용한 발생실험에 대한 명확한 기준이 필요하다.

감사의 말씀

본 연구는 과학기술부·한국과학재단 지정 계명대학교 전통미생물자원 개발 및 산업화 연구센터의 지원에 의한 것임.

REFERENCES

- Adams HG, Jordan C. Infections in the alcoholic. *Med Clin North Am.* 1984. 68: 179-200.
- Choi JJ, Lee YS, Ahn HY. Studies on the Teratogenicity of Food Additives in the Developing Chick Embryo. *Kor J Food Hygienes* 1989. 4(3): 185-190.
- Dow-Edwards DL, Trachtman H, Riley EP, Freed LA, Milhorat TH. Arginine vasopressin and body fluid homeostasis in the fetal alcohol exposed rat. *Alcohol.* 1989. 6: 193-198.
- Ewald SJ, Walden SM. Flow cytometric and histological analysis of mouse thymus in fetal alcohol syndrome. *J Leukocyte Biol.* 1988. 44: 434-440.
- Grossman CJ, Mendenhall CL, Roselle GA. Alcohol and immune regulation. in vivo effects of ethanol on concanavalin A sensitive thymic lymphocyte function. *Int J Immunopharmac.* 1988. 10: 187-195.
- Ha TY. Effect of ethanol feeding on interleukin production, tumour induction and other immunocompetency in mice. *Adv Biosciences.* 1993. 86: 143-161.
- Jerrells TR, Marietta CA, Eckardt MJ, Majchrowicz E, Weight FF. Effects of ethanol administration on parameters of immunocompetency in rats. *J Leukocyte Biol.* 1986. 39: 499-510.

- Johnson S, Knight R, Marmer DJ, Steele RW. Immune deficiency in fetal alcohol syndrome. *Pediatr Res.* 1981. 15: 908-911.
- Kiechl S, Willeit J, Rieger G, Egger G, Oberhollenzer F, Bonora E. Alcohol consumption and atherosclerosis: What is the relation? Prospective results from the Bruneck Study. *Stroke.* 1998. 29: 900-907.
- Kim SH, Park SY, Lee DJ, Kang BS, Choi CH, Ryu KS. Effect of Supplemental Lactobacillus on Laying Performance, Intestinal Microflora and Egg Quality. *Kor J Poult Sci.* 2000. 27(3): 235-242.
- Lim YK, Choi JJ, Lee MW, Lee YS. Teratogenicity of Food Residual Organophosphate in the Developing Chick Embryo. *Kor J Food Hygiene.* 1990. 5(4): 171-178.
- Miller MW, Dow-Edwards DL. Structural and metabolic alteration in rat cerebral cortex induced by prenatal exposure to ethanol. *Brain Res.* 1988. 474: 316-326.
- Potter JD, McMichael AJ, Harshorne JM. Alcohol and beer consumption in relation to cancers of bowel and lung. *J Chron Dis.* 1982. 35: 833-842.
- Saxena QB, Mezey E, Adler WH. Regulation of natural killer activity in vivo II. The effect of alcohol consumption on human peripheral blood natural killer activity. *Int J Cancer.* 1980. 26: 413-417.
- Watson RR. Ethanol, immunomodulation and cancer. *Prog Food Nutr.* 1988. 12: 189-209.