

계태에서 X선 조사에 의한 선천성 심혈관 기형 발생

한양대학교 의과대학 소아과학교실

문성엽 · 최수정 · 김남수 · 염명걸 · 이 항

Teratogenic Effect of X-ray on Cardiovascular System of Chick Embryo

Sung Yup Moon, M.D., Soo Jung Choi, M.D., Nam Su Kim, M.D.,

Myung Kul Yum, M.D. and Hahng Lee, M.D.

Department of Pediatrics, Hanyang University Hospital, Seoul, Korea

ABSTRACT

Background and Objectives : Laboratory research was carried out to investigate the teratogenic effect of X-ray on chick embryos, especially with regard to cardiovascular malformation. **Materials and Methods :** The chick embryos, 242, 242 and 215 eggs, were irradiated with X-ray at the dose of 500, 750 and 1000 cGy, respectively, during the incubation period between 0 and 9 days. A control group of 90 eggs received no irradiation. After 2 weeks of incubation, the embryos were sacrificed and examined. **Results :** The survival rate of irradiated group was significantly lower than that of control group (62.5 vs. 87.8%, $p < 0.0001$). The incidence rate of cardiovascular malformation was significantly higher in the irradiated group than the control group (16.2 vs. 2.5%, $p < 0.005$). The rate of cardiovascular malformation in the irradiated group increased from 9.4% with 500 cGy to 24.5% with 1000 cGy ($p < 0.05$). There were a total of 33 cases of cardiac malformation, of which 24 were ventricular septal defects and 9 were complex congenital heart diseases. The higher the administered dose of radiation, the higher the observed incidence rate of cardiac malformation and the more complex the cardiac anomaly. Also, the rates of exocardia, exencephaly, beak anomalies and anopia were all increased in the irradiated group. **Conclusion :** X-ray irradiation of chick embryos increased the rates of death and cardiovascular malformation. The highest dose resulted in greater complexity of the cardiovascular malformation. (Korean Circulation J 2005; 35:402-410)

KEY WORDS : X-rays ; Chick embryo ; Heart ; Malformations.

서 론

선천성 심장 기형은 다양한 유전적 요소와 환경적인 유발 인자의 작용에 의하여 발생한다. 일부 심장 기형 발생에는 유전적 성향이 강하지만, 많은 심장 기형은 환경적 유발 인자의 영향을 많이 받을 수 있다. 그러므로 환경적 유발 인자 인 기형인자(teratogen)를 연구하는 것은 심장 기형 발생의 연구에 중요하다.

인체의 발생 과정 중에 유발되는 심장의 기형에 대한 연

구는 실험 동물을 이용하여 간접적으로 할 수 있다. 실험용 쥐가 실험의 재료로서 사용되고 있으며,¹⁾ 개나 고양이가 이용되기도 하나 특히 닭의 수정란은 발생기간이 3주 정도로 짧고 다루기 쉬워 많이 사용한다.

계태에서 심혈관계 기형을 유발하는 것으로 알려진 약물로는 암페타민, 알코올,²⁾ 데오피릴린(theophylline),³⁾ 카페인,⁴⁾ 아드레날린성 약물 등⁵⁻⁸⁾ 여러 종류의 약물들이 있다. 또한 중성자(neutron)를 이용하여 심장 기형을 유발하기도 하였다.⁹⁾ 그러나 X선을 이용한 최근의 연구는 드물며, 문헌상 참고하기도 어렵다.

본 연구는 계태를 대상으로 임상에서 방사선 치료로 사용하는 선형가속기에서 나오는 X선을 이용하여 계태의 선천성 기형, 특히 심장 기형 및 대혈관 기형의 빈도와 종류를 알기 위하여 시도하였다. 또한 심장 혈관 외의 기형에

논문접수일 : 2004년 12월 22일

심사완료일 : 2005년 3월 18일

교신저자 : 김남수, 133-792 서울 성동구 행당동 17번지

한양대학교 의과대학 소아과학교실

전화 : (02) 2290-8380 · 전송 : (02) 2297-2380

E-mail : namsukim@hanyang.ac.kr

대하여도 빈도와 종류를 조사하였다.

재료 및 방법

재 료

닭의 수정란을 농장에서 얻은 후 부화기에서 온도 38℃와 습도 55~70%로 인공 부화 시키면서 2주 이상 생존한 것을 실험 대상으로 하였다. 부화와 실험 조작을 위하여 다음과 같은 기구와 기재를 사용하였다.

- 1) 부화기(Incubator): KE-90(온조, 한국), Gravity convection incubator(Jisico, 한국).
- 2) 미세 수술 기구: 미세 감자, 미세 가위.
- 3) 실물 현미경: AS-3 V.P.(Nakashima, Japan).
- 4) 사진 촬영용 실물 현미경: Stemi 2000-C(Zeiss, Germany).
- 5) 실물 현미경용 사진기: MC80 DX microscopic camera (Zeiss, Germany).
- 6) 기타 준비물: 10% 포르말린 용액, 저장용 플라스틱 용기, 고정용 골판지와 침, 솜.
- 7) X ray radiator(선형가속기): Linac Mevatron KD(Siemens, Germany) 6 MeV.

방 법

수정란을 부화기에 넣기 전(0일)과 부화기에 넣고 1~9일 후에 선형가속기 Linac Mevatron KD(Siemens, Germany) 6 MeV에서 나온 X선을 500 cGy, 750 cGy, 1000 cGy로 조사하였다. 선원과의 거리는 100 cm이었다. X선 조사 후 부화기에서 계속 부화시켰으며 부화기는 38℃와 습도 55~70%로 유지시켰다.

부화기에 넣고 총 2주 이상 인공 부화시킨 계태를 부화기에서 꺼내어 난각과 양막을 제거하였다. 미세 가위를 이용하여 계태의 흉곽을 정중에서 열어 심장을 노출시키고 25 게이지 주사기를 이용하여 심장의 우심실에 10% 포르말린 용액 약 1 cc를 투여하여 심장내의 혈액을 제거한 후 10% 포르말린이 담긴 플라스틱 용기에 넣어 전체를 고정하였다. 수일이 경과한 후 계태를 용기에서 꺼내어 골판지에 침을 이용하여 사지를 고정시키고 이후 실물 현미경을 이용하여 조사하였다.

심장 외부에서 대동맥과 폐동맥의 이상 유무를 관찰하였고, 이후 우심실에서 폐동맥을 향하여 절개한 후, 우심실과 심실중격을 관찰하고 심실중격결손 유무를 파악하였으며, 폐동맥 판막의 이상 유무를 관찰하였다. 우심방을 절개하여 삼첨판과 심방의 이상을 확인하였고, 좌심실을 절개하여 대동맥 판막과 승모판막을 관찰하였다. 실물 현미경을 통하여 6배에서 25배의 비율로 관찰하였다. 심혈관계 기형과 심장 혈관 외의 기형이 나타난 계태는 Stemi 2000-C(Zeiss, Germany) 현미경으로 관찰하면서 6.5~50배의 비율로 사

진 촬영하였다.

통 계

계태에 있어서 심실중격의 완전 폐쇄는 Hamberger-Hamilton(HH) 32기에 일어나며,¹⁰⁾ 이는 부화 약 7일 정도에 해당된다. 7일 이전에 사망한 계태는 조기 사망으로, 8일 이후 사망을 후기 사망으로 분류하였고, 생존은 부화 14일 이후까지 살아있는 것으로 정의하였다. 생존 계태에서 심장 혈관 기형과 그 외의 선천성 기형을 조사하였다.

X선을 조사하지 않은 대조군과 부화기에 넣기 전과 넣고 난 1~9일 후에 조사한 실험군에서 생존율을 비교하였으며, 또한 심장 혈관 기형 발생과 그 외의 선천성 기형의 발생에 대하여 조사 분석하였다.

통계는 피셔 직접 확률법(Fisher exact test)과 카이 검정법(chi-squared test)을 이용하였으며, 유의 수준은 5% 미만으로 하였다.

결 과

계태의 정상 심장

계태의 정상 심장은 흉곽 내에서 좌측이 아닌 중앙에 위치하고 있었다. 좌심실에서 나오는 대동맥은 사람과 달리 처음 좌 무명동맥(left innominate artery)이 나오며, 곧 우 무명동맥이 나왔다. 이후 오른쪽 대동맥궁으로서 아래로 내려갔다. 우심실에서 주폐동맥(main pulmonary artery)이 나오며, 주 폐동맥은 짧고 곧 좌우 폐동맥으로 갈라지며, 우 폐동맥은 대동맥에 가려져 앞에서는 보이지 않았다. 양 폐동맥은 모두 좌우 기관지의 위를 지나서 폐로 들어가며 사람의 좌 이성체(left isomerism)와 비슷하였다. 동맥관은 복강 동맥이 나오는 부위 바로 상부에서 기시하여 각각 폐 문부위에서 좌우 폐동맥으로 접합되어 있었다. 사람과는 달리 훨씬 하방에서 기시하며 하대동맥에서 좌 동맥관과 우 동맥관이 양쪽으로 나왔다. 심방의 모양은 사람의 심방과 비슷하게 우심방은 둥글고 좌심방은 길쭉하게 생겨져 있었다. 내부 구조에 있어서도 부화된 계태의 정상 심장은 2심방 2심실로 구성되어 있다. 삼첨판의 판막이 근육성으로 인간의 막성 판막과는 달리 단첨판이었지만, 자세히 관찰하면 심실중격에 미세판막(microleaflet)이 있었다. 심실에서는 사람의 심장에서 나타나는 막부(membranous portion)는 관찰되지 않았다. 계태의 간은 양쪽으로 있으며, 중앙을 향하여 있었다.

대조군

부화기에 넣고 X선을 조사받지 않은 수정란은 87.8%의 생존율을 보였다. 심장 및 혈관 기형으로는 심실중격결손 1개와 혈관 이상 1개가 관찰되었다. 혈관 이상은 우 무명동맥의 이상 분지이었다. 심장 혈관 외의 기형으로는 부리 이

상과 눈 결손이 각각 2개씩 발생하였으며, 각각 생존 계태의 2.5%에서 관찰되었다(Table 1).

생존율

총 802개의 계란을 부화기에 넣었으며 이중 수정되지 않은 것으로 확인된 103개의 계란을 제외하고 남은 699개의 수정란으로 실험을 하였다.

부화기에 넣기 전(0일)과 넣은 후 1~9일에 X선을 500 cGy, 750 cGy, 1000 cGy로 조사한 실험군 699개의 생존율은 437개가 2주 이상 생존하여 62.5%이었다($p<0.001$). 500 cGy 조사한 242개 중 70.7%, 750 cGy 조사한 242개 중 64.5%, 1000 cGy 조사한 215개 중 52.1%가 생존하였다. 500 cGy에서 1000 cGy로 선량이 강할수록 생존율은 감소하였다($p<0.0001$, Table 1).

X선 조사일에 따른 생존율의 차이를 보면, 즉 0일 조사에서부터 9일 후까지 조사한 실험군 사이의 생존율은 42.3%에서 73.3%까지 보였으며, X선 조사 시기에 따른 생존율의 차이는 유의하였다($p<0.0001$). 생존율은 특히 2일에 X선 저항성이 있었고 3일에 감수성이 높았고 이후 저항성이 증가하는 추세이었다(Fig. 1A). 이러한 현상은 500 cGy, 750 cGy, 1000 cGy에서 같은 양상이었다(Fig. 1B).

심장 혈관 기형

699개의 수정란 중 2주 이상 생존한 437개의 계태를 관찰하였다.

심장 기형 33개와 혈관 기형 38개로 심장 및 혈관 기형의 발생은 71개이었고, 심장 및 혈관 기형의 발생률은 전체적으로는 16.2%이었다(Table 1, $p<0.005$).

500 cGy 조사군은 9.4%, 750 cGy 조사군은 17.9%, 1000 cGy 조사군은 24.5%이었고, 500 cGy에서 1000 cGy로 선량이 강할수록 심장 및 혈관 기형이 증가하였다($p<0.05$, Table 1). 심장 및 혈관 기형은 6일 이전 조사군에서 주로 발생하였다($p<0.005$, Table 3, 4).

심장 기형(Fig. 2A, B)

심장 기형 발생에 대해서는 부화기에 넣기 전과 넣은 후 1~9일에 X선 500 cGy, 750 cGy, 1000 cGy 조사한 실험군에서 33개의 심장 기형이 발견되어 생존 계태의 7.6%이었다($p<0.05$). 500 cGy에서 750 cGy, 1000 cGy로 조사 선량이 강할수록 심장 기형 발생률이 생존 계태의 5.3%에서 7.7%, 10.9%로 증가하였다(Table 2). 0일부터 9일까지 X선 조사 일수에 따른 심장 기형의 빈도는 6일 조사군까지 많았으며, 특히 1일과 3~4일 조사군에서 많았고, 7일 이후

Table 1. Rate of survival and cardiovascular malformation among control group and X-ray irradiated groups

	No. of eggs	No. of death	No. of survivals (%)	No. of CHD+CVD (%)	No. of anomalies (%)
Control	90	11	79 (87.8)	2 (2.5)	4 (5.0)
Total	699	262	437 (62.5)	71 (16.2)	132 (30.2)
500 cGy	242	71	171 (70.7)	16 (9.4)	27 (6.2)
750 cGy	242	86	156 (64.5)	28 (17.9)	40 (9.2)
1000 cGy	215	105	110 (52.1)	27 (24.5)	65 (14.9)

CHD: congenital heart disease among live, CVD: congenital vascular disease among live, Anomalies: exocardia, exencephaly, beak anomaly, anopia

Table 2. Congenital cardiovascular disease according to the dose of radiation

	No. of survivals	No. of CHD (%)	VSD (complex)	No. of CVD (%)	No. of exocardia (%)
500 cGy	171	9 (5.3)	8 (1)	7 (4.1)	7 (4.1)
750 cGy	156	12 (7.7)	8 (4)	16 (10.3)	5 (3.2)
1000 cGy	110	12 (10.9)	8 (4)	15 (13.6)	12 (10.9)
Total	437	33 (7.6)	24 (9)	38 (8.7)	24 (5.5)
Control	79	1 (1.3)	0 (1)	1 (1.3)	0 (0)

CHD: congenital heart disease among live, (complex): number of tricuspid atresia and double outlet of right ventricle, and single ventricle, VSD: ventricular septal defect, CVD: congenital vascular disease

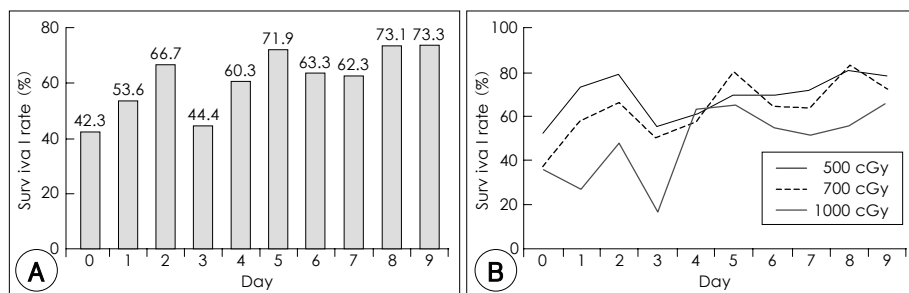


Fig. 1. A: survival rate (%) according to incubation day irradiated. B: survival rate (%) of groups irradiated with X-ray at the dose of 500 cGy, 750 cGy and 1000 cGy.

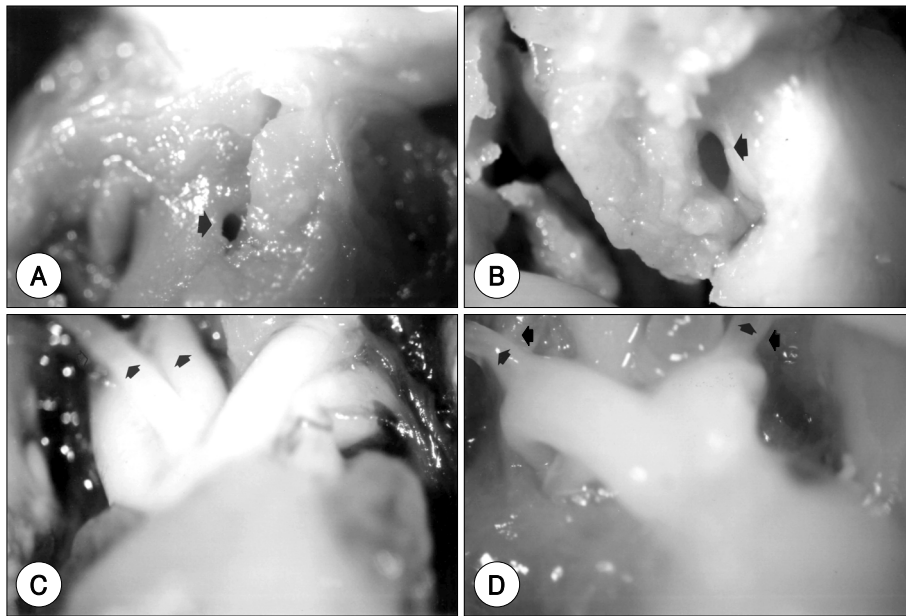


Fig. 2. Cardiovascular anomalies which were developed after X-ray irradiation. A: ventricular septal defect (arrow) in embryo irradiated at incubation of 8 days with 750 cGy. B: remote ventricular septal defect (arrow) with double outlet of right ventricle in embryo irradiated at incubation of 1 day with 500 cGy in left ventricular view. C: early branching of right innominate artery (arrow) in embryo irradiated at incubation of 2 days with 1000 cGy. D: hypoplastic aberrant right (arrow) and left innominate artery (arrow) in embryo irradiated at incubation of 3 days with 750 cGy.

Table 3. Congenital cardiovascular disease according to incubation day irradiated

Group	No. of survivals	No. of CHD (%)	No. of CVD (%)	No. of exocardia (%)
0 day	22	0 (0.0)	2 (9.1)	3 (13.6)
1 day	37	6 (16.2)	1 (2.7)	1 (2.7)
2 day	48	1 (2.1)	1 (2.1)	1 (2.1)
3 day	24	5 (20.8)	9 (37.5)	2 (8.3)
4 day	44	7 (15.9)	12 (27.3)	2 (4.5)
5 day	64	5 (7.8)	7 (10.9)	4 (6.3)
6 day	38	5 (13.2)	5 (13.2)	2 (5.3)
7 day	48	2 (4.2)	1 (2.1)	2 (4.2)
8 day	57	2 (3.5)	0.0	4 (7.0)
9 day	55	0 (0.0)	0.0	3 (5.5)
Total	437	33 (7.6)	38 (8.7)	24 (5.5)

CHD: congenital heart disease among live, CVD: congenital vascular disease

심장 기형의 빈도는 줄었다($p < 0.005$, Table 3). 조사 선량이 많을수록 심실중격결손의 크기가 증가하고 복잡기형이 나타나는 경향을 보였다. 심장 기형은 심실중격결손 24개와 복잡기형은 9개이었다. 심실중격결손은 저부위형(low type)이 16개이었고, 고부위형(high type)이 8개이었다. 복잡기형중 삼첨판 폐쇄는 부화 1일에 1000 cGy 조사받은 군에서 1개와 부화 3일에 750 cGy 조사받은 군에서 2개, 4일에 750 cGy와 1000 cGy 조사받은 군에서 각각 1개로 모두 5개가 발견되었다. 양대 혈관 우심기시 3개가 있었으며, 이들 중 삼첨판 폐쇄와 동반된 1개가 있었다. 양대혈관우심기시는 1일에 500 cGy 조사받은 군에서 1개, 1000 cGy 조사받은 군에서 1개, 5일에 750 cGy 조사받은 군에서 1개가

Table 4. Congenital cardiovascular disease according to incubation day irradiated and the dose of X-ray

Group	No. of CHD			No. of CVD			No. of exocardia		
	500 cGy	750 cGy	1000 cGy	500 cGy	750 cGy	1000 cGy	500 cGy	750 cGy	1000 cGy
0 day	0	0	0	1	1	0	0	0	3
1 day	4	0	2	0	0	1	0	0	1
2 day	0	1	0	0	0	1	0	1	0
3 day	2	3	0	3	5	1	2	0	0
4 day	0	2	5	1	2	9	0	1	1
5 day	1	1	3	2	2	3	2	0	2
6 day	1	2	2	0	5	0	0	1	1
7 day	0	2	0	0	1	0	2	0	0
8 day	1	1	0	0	0	0	0	1	3
9 day	0	0	0	0	0	0	1	1	1
Total	9	12	12	7	16	15	7	5	12

CHD: congenital heart disease among live, CVD: congenital vascular disease

발견되었다. 단심실 1개가 5일에 1000 cGy 조사받은 군에서 발견되었다. 심이좌근접(left juxtaposition of appendages)은 양대혈관우심기시 2예와 삼첨판 폐쇄에 양대혈관우심기시가 동반된 1예와 단심실 1예에서 동반되었다. 심장 탈출이 복잡기형 2예에서 동반되었다.

혈관 기형(Fig. 2C, D)

전체 실험군에서 38개의 혈관 기형이 발견되어 전체 생존 계태의 8.7%이었다($p < 0.05$, Table 2). 500 cGy 조사군은 4.1%, 750 cGy 조사군은 10.3%, 1000 cGy 조사군은 13.6%이었고, 500 cGy에서 1000 cGy로 선량이 강할수록

Table 5. Other congenital anomalies according to the dose of radiation

	No. of survivals	No. of exencephaly (%)	No. of beak anomaly	No. of anopia
500 cGy	171	8 (4.7)	7 (4.1)	5 (2.9)
750 cGy	156	9 (5.8)	16 (10.3)	10 (6.4)
1000 cGy	110	6 (5.5)	37 (33.6)	10 (9.1)
Total	437	23 (5.3)	60 (13.7)	25 (5.7)
Control	79	0 (0)	2 (2.5)	2 (2.5)

Table 6. Other congenital anomalies according to incubation day irradiated

Group	No. of survivals	No. of exencephaly (%)	No. of beak anomaly (%)	No. of anopia (%)
0 day	22	1 (4.5)	0 (0.0)	0 (0.0)
1 day	37	0 (0.0)	2 (5.4)	1 (2.7)
2 day	48	2 (4.2)	3 (6.3)	2 (4.2)
3 day	24	2 (8.3)	3 (12.5)	2 (8.3)
4 day	44	2 (4.5)	8 (18.2)	3 (6.8)
5 day	64	1 (1.6)	16 (25.0)	1 (1.6)
6 day	38	1 (2.6)	5 (13.2)	0 (0.0)
7 day	48	6 (12.5)	13 (27.1)	6 (12.5)
8 day	57	3 (5.3)	6 (10.5)	6 (10.5)
9 day	55	5 (9.1)	4 (7.3)	4 (7.3)
Total	437	23 (5.3)	60 (13.7)	25 (5.7)

기형 발생률은 증가하였다(Table 2). 조사일에 따른 혈관 기형 발생은 부화 0일에서 6일까지 많았으며, 7일 이후에는 혈관 기형 발생률이 감소하였다($p<0.005$, Table 3). 혈관 기형은 우 무명동맥 이상 22개, 좌 무명동맥 이상 7개와 대동맥 궁 결손 9개이었다. 대동맥궁 결손은 750 cGy 조사받은 계태에서 7개가 발견되었으며 0일에 1개, 3일에 4개와 6일에 2개가 발견되었다. 4일에 1000 cGy로 조사받은 계태에서 2개가 발견되었다.

심장 및 혈관 외의 기형

심장 및 혈관 외의 선천성 기형은 132개가 발견되어 발생률은 30.2%이었고, 대조군과 비교하여 유의한 기형 발생률이었다($p<0.0001$). 조사 선량이 증가할수록 심장 및 혈관계 외의 선천성 기형 발생률은 증가되어 500 cGy 조사군은 6.2%, 750 cGy 조사군은 9.2%, 1000 cGy 조사군은 14.9%이었고($p<0.000001$), 5일 이후 조사군에서 많이 발생하였다.

관찰된 선천성 기형은 심장 탈출, 뇌 탈출, 부리 이상과 눈 결손이었다. 2주 이상 생존 계태에서 기형 발생률은 심장 탈출 5.5%, 뇌 탈출 5.3%, 부리 이상 13.7%, 눈 결손은 5.7%이었고 대조군과 비교하여 유의하게 증가하였다($p<0.05$, Table 2, 5). 조사 선량이 증가할수록 각각의 심장 혈관 외의 기형은 증가되는 경향이 있었으나, 통계적 유의성은 부리 이상에서만 있었다($p<0.005$). 조사일에 따른 발생률은 뇌 탈출은 7일 이후 조사군에서($p<0.05$), 부리 이상은 5일 이후 조사군에서 ($p<0.05$), 눈 결손은 7일 이후 조사군에서

Table 7. Other congenital anomalies according to incubation day irradiated and the dose of X-ray

Group	No. of exencephaly			No. of beak anomaly			No. of anopia		
	500 cGy	750 cGy	1000 cGy	500 cGy	750 cGy	1000 cGy	500 cGy	750 cGy	1000 cGy
0 day	0	0	1	0	0	0	0	0	0
1 day	0	0	0	1	0	1	1	0	0
2 day	0	1	1	1	1	1	0	2	0
3 day	1	1	0	1	1	1	0	1	1
4 day	1	0	1	1	2	5	1	2	0
5 day	1	0	0	1	3	12	0	0	1
6 day	0	1	0	1	1	3	0	0	0
7 day	2	2	2	1	3	9	2	1	3
8 day	1	2	0	0	3	3	0	3	3
9 day	2	2	1	0	2	2	1	1	2
Total	8	9	6	7	16	37	5	10	10

($p<0.05$) 통계적으로 유의하게 증가되어 있었다(Table 6, 7).

고 찰

선천성 심장 기형 발생의 외적 원인으로서는 X선

선천성 심장 기형의 원인은 완전히 밝혀져 있지 않지만 유전과 환경 인자가 원인으로 대부분 함께 작용한다. 유전적 주 원인인 1차성 기형과 환경인자가 주 원인이 2차성 기형으로 나눈다. 1차성 또는 내인성 기형이란 배(胚) 이상이 원인이며, 난자 또는 정자의 이상에 의한 것으로서 유전한다. 2차성 또는 외인성 기형은 태생기(胎生期) 중의 이상이 원인으로 태아가 발육하는 도중 감염, 중독, 외상, 방사선 등의 외부 요인에 의해 생긴 것을 의미한다.

방사선에는 이온화 방사선과 비이온화 방사선이 있다. 이온화 방사선은 X선과 감마선과 같은 광자와 알파선 및 베타선이 있다. 비이온화 방사선은 이온화 방사선보다 적은 에너지를 가지는 방사선으로 초음파, MRI, 레이저, 자외선 등이며 태아에게는 거의 영향이 없다. 이온화 방사선에 노출되면 기형의 가능성이 있으며, 빠르게 분화 과정을 겪고 있는 경우에 민감하다. 방사선의 단위로 예전에 쓰던 관용단위와 1977년 채택된 국제 표준 단위(SI)를 비교하면 흡수선량 rad는 gray(Gy)로 등가선량 rem은 sievert(Sv)로 바뀌었다. 즉 1 Gy=100 rad와 같고, 1 Sv=100 rem과 같다. X선은 이온화 방사선의 일종으로 기형을 발생하게 할 수 있다. 방사선과 관련된 염려는 암 발생에도 지대하다. 따라서 원전 수거물 또는 방사선 조사한 식품의 안전성에 대하여 일반인들은 민감하다. 원전 수거물 관리시설에서 나올 수 있는 방사선은 연간 0.01 밀리시버트(mSv)로 적으며, 자연 방사선량인 2.4 밀리시버트의 240분의 1수준에 불과하여 인체에 해가 없다. 국제원자력기구는 처분장의 권고치를 연간 0.3 밀리시버트로 정하고 있다.

이번 실험에 사용된 500~1000 cGy의 선량은 일시에 조

사하는 굉장히 많은 양으로서, 실제 임상에서 암 환자에서 사용하는 선량과 비교하면 쉽게 알 수 있다. 사람의 간에는 총 3000 cGy 정도 그리고 신장은 총 1800 cGy 정도 사용할 수 있지만 이것도 대개 분할하여 사용한다. 또한 백혈병 환자에서 사용되는 용량이다.

계태에서의 심장 기형 발생에 관한 기존 연구

계태 심장 발생은 장측 중배엽(splanchnic mesoderm)으로부터 시작된다.

Hamburger-Hamilton(HH) 10기(9~10 somite 시기, 발생 33시간)에 융합된 심실 부분이 하나의 관을 이루어 수축하기 시작하고, 심장관이 우측 고리를 형성하는 심장 고리(bulboventricular loop) 형성기(HH 10~11기, 발생 33~45시간)를 지나 좌·우 심실이 될 부분이 확장하면서 심실 유입부와 유출부가 반대 방향으로 이동함으로써 폐순환과 체순환의 두 혈행로가 완성되는 심장 고리 성숙기의 과정을 거치게 되며, 심실 중격의 완전 폐쇄는 HH 32기에 일어난다.¹⁰⁾ 심장 기형이 가장 잘 생기는 시기는 5일째 108시간(부화기 4.5일)에서 112시간 사이, 즉 HH 26기로 알려져 있다.⁷⁾

심장 형성 과정 중에 외부에서 방사선 조사, 물리적 조작, 화학 물질의 투여로 선천성 심장 기형이 유발되는 것으로 알려져 있다. 미세 클립을 이용하여 대동맥으로 발생할 부분을 묶음으로써 대동맥 기형을 유발시킬 수 있고,¹¹⁾ Nimustine(ACNU)을 3일된 계태에 투여하여 총동맥간(truncus arteriosus)을 유발시킬 수 있으며,¹²⁾ 부화 80시간된 계태의 심방대부에 전기 충격을 5초간 가하여 우심 저형성을 유발시킬 수 있다.¹³⁾ 베타 수용체성 약물이 심혈관계의 혈액학을 변경하여 심장 혈관 기형과 대동맥 기형 즉 대동맥 협착, 폐동맥 협착, 총동맥간 등을 야기할 수 있다.⁶⁾⁸⁾¹⁴⁾ 데오피린과 카페인이 대동맥류와 우 동맥관개존의 무형성, 우 폐동맥의 저형성과 총동맥간을 유발하며,³⁾¹⁵⁾ 데오피린을 HH 19기에 투여하면 양대혈관우심기사가 발생한다. 총동맥간은 저산소증으로 인하여, 또는 기계적 방해로 인하여 만들어질 수 있으며,¹⁶⁻¹⁸⁾ 그 밖에 약물로 에틸 알코올,¹⁹⁾ 히스타민, 페노바비탈, 히스타민에 의한 실험도 있다.

약물 외에 방사선으로 한 실험으로는 2 MeV 중성자(neutron)를 사용하여 50 cGy, 75 cGy, 100 cGy와 150 cGy 사용하여 대동맥 축착형(coarctation of aorta type) 심실 중격결손을 생성한 보고가 있다.⁹⁾ 중성자는 질계수(Quality factor)가 X선의 1에 비해 10으로 생물학적 효과가 10배로 알려져 있다.

방사선 부분 조사 및 분할 조사의 경우 개체는 방사선 저항성이 있다. 선량률에 따라 차이가 있어 총 조사 선량이 같아도 선량률이 낮으면 생물학적 효과는 감소한다. 산소 효과(oxygen effect)는 방사선 감수성은 산소 농도에 비례하는 것으로서 산소가 적으면 방사선의 저항성이 증가되는 것

이며, 1909년 발견되었다. 저온 조사하면 방사선 저항성이 증가하고, 수분 함량이 증가하면 방사선의 감수성이 증가한다. 연령에 따른 감수성이 차이가 있어 미성숙 동물에서 감수성이 높고 성체일 때 가장 낮으며 그 후 연령이 증가하면 다시 높아진다. 세포주기에 따라 감수성의 차이가 있어 일반적으로 S기 후기가 저항성이 가장 크며 M기가 감수성이 가장 크다. 방사선 감수성은 종에 따른 차이가 있고 같은 종이라도 개체에 따라 차이가 있다. 건강한 동물이 허약한 동물보다 방사선 저항성이 있다. 부신 피질 호르몬, 뇌하수체 호르몬 등 내분비 상태도 방사선 감수성에 영향을 미치며 기능 장애가 있으면 방사선 감수성이 증가한다.

계태 발생시기에 따라 X선 조사가 기형 발생에 미치는 영향

동물의 경우 일반적으로 방사선을 100 cGy 주어야 기형과 성장장애가 나타난다. 발생시기는 포유동물에서 3가지 단계, 즉 착상 전기(preimplantation), 기관 형성기(organogenesis), 태아기(fetal stage)로 나누며 쥐에서는 각각 0~5.5일, 5.5~13.5일, 13.5~20일이다.²⁰⁾ 닭의 경우는 수정란은 산란 후 약 2시간 지나면 다음 산란될 난자가 난관 누두부로 배란되고 약 15분 내에 수정이 일어나서 수정란은 산란 후 2시간 15분 내에 난관의 팽대부에 있게 된다.²¹⁾ 이를 이용하면 단세포 수정란에 외래 유전자를 주입하여 형질 전환 닭의 생산이 가능할 수 있으며,²²⁾ 또한 선천성 심장 기형에 대한 연구도 가능할 것이다. 착상 전기(보통 수정 후 0~8일 사이)에 방사선에 노출되었을 경우에는 선천성 기형을 유발하기 보다는 양극현상(all or none law)이 일어나 생명체에 치명적인 영향을 주어 대부분 유산되는 경우와 이를 극복하여 별 다른 영향 없이 자라는 경우로 나타난다. 착상 전기에는 방사선의 주 효과는 출산 전 사망이고, 형태적 이상과 성장 장애를 가지고 출생하는 경우는 드물며 염색체의 상실이 되어 수가 적어지는 특징이 있다. 전행기의 초기에 방사선 감수성이 크고 전행기 후기에 방사선 감수성이 낮아지며, 휴지 2 세포기에도 감수성이 비교적 낮지만 제 2 난할 초기에 감수성은 아주 높아진다. 쥐의 경우 착상 전에 저선량 조사를 하면 뇌 탈출이 보고되어 있다.²³⁾ 계태에서는 착상 전기를 정의하기 어렵고, 수정란으로 체외로 산란될 때 벌써 세포수가 60,000에 이르는 배반엽기 배자로 되어 있다. 본 실험에서 부화기에 넣기 전 X선 조사를 한 실험군에서 생존율이 가장 낮은 42.3%이었고, 이 군에서 생존한 계태에는 심장 기형이 없었으며, 혈관 기형 2예, 심장 탈출 3예, 뇌 탈출 1예가 발견되었다. 부화 1일의 사망률(46.4%)보다 부화 0일의 사망률(57.7%)이 더 높았다. 기관 형성기에 X선 조사를 받으면 출생 전 사망이 적고 출산할 때 사망이 많으며, 선천성 기형이 높게 나타난다. 기형의 발생은 그 기관이 형성되는 시기에 영향을 받으면 나타난다. 출산할 때 성장장애를 보일 수 있고 성체가 되면서 회복되는 일시적인 것이 주 현상이나 기형과도 밀접한 관계

가 있다. 쥐(mouse)를 8일에 조사하면 뇌 탈출 같은 뇌신경계의 이상과 소안구(microphthalmia) 같은 눈의 이상이 생기고, 9일에 조사하면 귀와 코의 이상, 10일에 조사하면 우심증과 장골 이상, 11일에 조사하면 소두증(microcephaly)과 구개열이 생긴다.²⁴⁾ 사람의 경우 수정 후 10일쯤 되어 착상이 일어나고 10~43일 사이에 여러 기관을 형성하고 특히 25~37일 사이가 민감하여 이 시기에 방사선을 조사하면 선천성 기형이 잘 유발된다. 사람에서 전 임신기의 1/15에 해당하는 시기가 방사선에 매우 민감하지만, 쥐에서는 1/3에 해당하는 시기가 방사선에 민감하다. 사람의 경우 40일이 지나면 방사선에 저항성이 커진다. 사람의 경우 실험 동물과 달리 중추신경계 이외의 신체 구조의 이상이 흔하지 않은 이유는 중추신경계가 발달하는 시기가 임신의 비교적 큰 부분을 차지하고 기관형성기가 실험 동물에 비해 짧기 때문일 수 있다. 본 실험 결과도 계태에서는 장기간 방사선에 민감하였고, 이는 하등 동물로 갈수록 방사선에 영향을 받는 시기가 넓은 것으로 이해된다.

기관형성기 이후 태아기에 방사선을 조사하면 기형이 출현할 가능성이 낮으며 사망을 일으키는 선량도 발생 초기에 비해 고선량이다. 사망은 출산 후 2주 내에 발생하고 성장 장애가 나타날 수 있는데, 성장 장애는 일시적인 것이 아니라 영구적인 성장 장애이다.

방사선량을 높이면 대부분의 기관이 감수성을 나타내는 기간이 길어진다. 따라서 방사선량이 많으면 생성되는 기형의 특이도가 증가하기보다 겹치는 부분이 많아져 오히려 특이성이 적어질 수 있고, 또한 생존율이 감소되므로 기형 발생이 오히려 줄어들 수도 있다. 따라서 적절한 선량이 선천성 기형의 연구에 적합할 수 있다.

닭과 물고기의 배아에서 방사선 조사에 따른 기형의 출현과 생존율의 감소는 잘 알려져 있다. 조사 후 1일 안에 일어나는 사망은 출혈과 순환계 파괴가 특징이며, 조사 후 2~5일 사이에 죽는 배아는 성장 장애와 심한 부종이 특징이다. 부화한 닭은 흔히 사지에 기형을 보이고 크기가 작다.²⁵⁾

부화시기에 따른 조사 효과를 살펴보면, 일반적으로 닭의 배아는 2일에 비교적 방사선 저항성을 나타내다가 2~9일 사이에 감수성이 급격히 증가하며, 그 후 15일까지 저항성이 증가하다가 17일에 다시 감수성이 증가하였다는 보고가 있으며, 2일에 방사선 저항성이 있는 저자의 실험과는 유사한 점이 있다.

본 실험에서 X선을 조사하지 않은 대조군의 계태 생존율은 87.8%이었으며, 이는 본 교실에서 실시한 도파민 실험에서 50% 미만의 낮은 계태 생존율²⁶⁾과 비교하면 높은 계태 생존율에 속하였다. 이러한 결과는 부화 2주에 일찍 계태를 조사하였으므로 2주 이후 발생하는 사망을 줄일 수 있었고, 난각의 천공 및 투명 테이프로 밀봉하는 복잡한 조작이 없었고, 난황을 천자하는 조작을 하지 않았기 때문이다. 2주 이상의 생존 계태만을 대상으로 한 것은 2주 이상

부화한 수정란을 파각하여 연구하였기에 2주 전에 사망한 계태는 정확한 사망 시기를 알 수 없고 또 상당히 부패하여 해부하기가 어려웠다. 2주 미만의 대상은 너무 작아 실물 현미경으로 살피기가 어렵고, 파라핀 고정 및 염색 등의 조치를 한 후에도 현미경 관찰이 가능할 수 있을 것이다. 부패하기 전 사망 직후 바로 꺼내어 관찰하면 될 것으로 생각할 수 있으나, 국내에서 구할 수 있는 흔한 수정란은 난각이 두껍고 짙은 노란색이어서 검란기로 미리 생사의 식별이 어렵고, 매일 관찰하려면 매일 부화기에서 꺼내어야 하고, 이로 인하여 부화율이 저하될 수 있다.

심장 혈관 및 그 외의 기형

본 실험에서 심실중격결손과 대혈관 기형에 주안점을 두고 계태 심장을 생검을 하였다. 왜냐하면 심실중격결손이 동물이나 사람에게서 가장 흔한 선천성 심장병이며, 복잡기형도 거의 심실중격결손이 동반하기 때문이다. 방사선 조사에 의해 대혈관 기형의 발생이 증가하므로 대혈관의 기형에도 역점을 두어 조사하였다. 대혈관은 심장 절개를 하지 않고도 외부에서 파악할 수 있으므로 기형을 용이하게 찾을 수 있었다.

심장 기형의 발생율과 관찰된 기형의 차이는 여러 가지 요인에 의한 것이다. 조사 선량의 증가에 따라 심장 기형의 빈도와 복잡성이 증가하였다. X선의 선량을 더욱 더 증가시킨다면 심장 기형의 발생이 증가할 가능성이 있으나, 사망률도 증가하므로 심장 기형 발생이 감소할 수도 있다.

본 실험에서는 복잡 심장 기형을 포함한 심실중격결손의 발생빈도가 7.6%, 혈관계 기형의 발생 빈도가 8.7%로 다른 실험에 비하여 적었다. 저용량의 도파민 투여에 의하여 심장 기형이 14.3%의 빈도로 발생하였다. 저용량의 도파민 실험에서 발견된 것은 모두 단순 심실중격결손이었고,²³⁾ 아드레날린성 약물에 의한 기형은 대부분이 대동맥궁 부분 결손과 같은 대동맥의 기형이었다.⁶⁾⁸⁾ Kawamura 등⁹⁾이 화이트 레그혼(White Leghorn) 수정란에 중성자(neutron) 조사로 한 실험에서는 대혈관 기형이 많았으며, 심실중격결손의 형태도 소위 conal type의 심실중격결손이었다. X선을 사용한 이번의 실험에는 저부위형(low type) 심실중격결손과 고부위형(high type) 심실중격결손이 모두 발생하였다. 이러한 차이는 X선 조사의 특성으로 해석할 수 있다.

본 실험에서 부화기에 넣기 전 X선 조사를 받고 부화기에 넣어 부화한 계태에서는 심장 기형이 발생하지 않았고, 대조군과 비슷한 혈관 기형 및 심장 혈관 외의 기형을 보였다. 너무 이른 조사는 양극(all or none)의 현상으로 심장 기형을 잘 유도할 수 없고, 심장 기형은 심장 형성 시기에 외부적 자극에 의해 잘 발생한다는 일반적 관찰에 일치하였다.

본 실험에서 심장 기형은 심실중격결손이 24개이었고 복잡기형은 9개이었다. 심실중격결손은 저부위형 16개와 고부위형 8개로 X선 조사 시기와 X선 조사 선량에 따른 유의

한 차이는 없었다. 복잡기형으로 삼첨판 폐쇄 5개, 양대혈관우심기시 3개와 단심실 1개가 있었다. 심이좌근접(left juxtaposition of appendages)은 양대혈관우심기시 2예, 삼첨판 폐쇄에 양대혈관우심기시가 동반된 1예, 단심실 1예에서 동반되었다. 심이좌근접은 사람에게서도 복잡심장기형의 전조로 알려져 있으며, 특히 수정 대혈관 전위가 동반된 삼첨판 폐쇄에서 많다.²⁷⁾ 그러나 본 실험에서 수정 대혈관 전위를 인위적으로 만들 수 없었다. 심장 탈출이 복잡기형 2예에서 동반되었다.

X선을 사용한 본 실험은 직접적인 조작을 하지 않고 또한 혈액학적 변화를 직접 일으키지 않는 실험으로 핵산에 영향을 주어 체세포 돌연변이를 일으켜 기형을 형성한 것으로 보이며, 약물에 의한 혈액학의 변화가 아닌 생화학적 변화가 원인으로 추정되기 때문에 분자유전학적 기전에 대한 해답을 찾기 위해 더 많은 실험과 관찰이 요구된다. 본 실험처럼 X선을 조사하여 선천성 심장 및 혈관 기형을 연구한 문헌이 있을 것이지만 너무 오래된 문헌으로 접근이 가능하지 않아 오히려 문헌 고찰이 어려웠다.

관찰이 용이한 심장 및 혈관 외의 기형 즉 심장 탈출, 뇌 탈출, 부리 이상과 눈 결손에 대해 조사하였다. 심장 탈출은 하이드로코티존(hydrocortisone)을 계태에 제 4 일째 주었을 때 84.8%가 나타나며, 이는 앞쪽의 체표면을 닫는 중간엽(mesenchyme)의 증식이 억제되기 때문이며,²⁸⁾ 호모시스테인(homocysteine)에 의해서 세포자살(apoptosis)을 통해 심내막상 결손과 심장 탈출 등이 발생하였다.²⁹⁾ 딜란틴(dilantin)에 의해서 심장 탈출이 10%에서 발생하였다.³⁰⁾ 본 실험에 의해서 심장 탈출이 생존 계태의 5.5%에서 나타났고, 심장기형이 동반된 예도 있었다.

계태에서의 뇌 탈출은 많은 선량에서도 쉽게 잘 생기는 기형은 아니어서 평균 5.3%에서 발생하였다. 부리 이상은 부화 5일 이후 조사군에서 두드러지며($p < 0.05$), 1000 cGy를 조사한 군에서 많이 관찰되었다. 눈 결손은 7일 이후 조사군에서 많이 발생하였다($p < 0.05$).

사람에 대한 X선의 영향 유추와 권고

생물에 대한 방사선의 영향은 성장 장애, 태내 사망/사산 또는 출생 후 사망, 기형이며, 이러한 영향의 중요한 요소는 방사선의 종류, 방사선량, 방사선량율과 발생 시기이다. 계태에서의 실험 결과에서 나타난 질적 변화는 사람에게서도 일어날 것이다. 사람에게서 자궁내 방사선 피폭에 대한 경험은 나가사키와 히로시마의 원폭 환자인데, 히로시마의 진원지로부터 1200 m 이내에 있던 11명의 산모의 출산아 중 7명의 소뇌증 및 정신박약이 있었고, 다운 증후군과 선천성 심장병이 높은 빈도로 나타났다. 이들은 약 500 cGy의 감마선과 200 cGy의 중성자선을 받았으리라 추정된다. 방사선 용량과 관련된 위험도를 살펴보면 5 cGy 미만이면 손상 위험이 적으며, 5~10 cGy에서는 불확실하고, 10~50 cGy

는 임신 1기에 손상의 위험이 증가하며, 50 cGy 이상은 전 임신시기에 걸쳐 위험이 높다. 모체의 방사선학적 검사를 통해서 태아에 미치게 되는 방사선 양은 치과 촬영 0 μ Gy, 단순 흉부 촬영 10 μ Gy, 단순 요추 촬영 7.2 mGy, 복부 혈관조영 2.5 cGy, 폐 스캔 0.3 mGy, 뼈 스캔 6 mGy, 복부 컴퓨터단층 촬영 8 mGy이다. 일반적으로 기형이 발생할 수 있는 방사선량은 10 cGy 정도이고, 성장장애는 10 cGy 이상일 때 발생할 수 있으나, 동물의 경우는 100 cGy를 넘어야 성장장애를 일으킬 수 있다.

성인 여자에서는 반드시 마지막 월경 주기를 확인하고 X선 촬영을 하여야 한다. 태아 기형과 연관이 있는 것은 5 cGy 이상이며 임신 최초 6주 동안 10 cGy(0.1 Gy) 이상의 폭로이면 인공임신중절을 고려할 수 있다. 대부분 X선 검사가 5 cGy 이하이다. 약물과 방사선에 의해 기형 발생 위험에 대해 과장되게 알려져서 근거가 없는 임신 중절을 많이 행하고 있다. 의사는 임신을 지속시켰을 때의 위험도와 유산에 따른 위험도를 함께 환자에게 알리고, 방사선에 의한 것이 아니어도 경미한 기형을 포함하면 태아의 4~6%에서 기형이 발생할 수 있고, 10 cGy 미만의 방사선량으로 유산을 정당화하기에는 충분하지 않다고 조언하여야 한다.

요 약

배경 및 목적 :

계태의 발생과정에서 X선 조사에 따른 선천성 기형 특히 심장 및 혈관 기형 유발과 유발된 기형의 종류를 알기 위하여 연구하였다. 또한 심혈관 외의 기형 발생에 대해서 조사하였다.

방 법 :

닭의 수정란을 인공부화기에 넣기 전과 부화기에 넣고 1일 후부터 9일 후까지 10개의 실험군으로 나누어, 의료용 선형가속기 Linac Mevatron KD(Siemens, Germany) 6 MeV X선을 500 cGy, 750 cGy와 1000 cGy를 각각 조사하였다. X선 조사를 하지 않은 수정란을 대조군으로 하였고, 각 군은 최소 20개의 수정란을 사용하였다. 2주 이상 부화시킨 후 계태를 개흉하여 포르말린으로 고정하였고, 실물 현미경 하에 해부하였다.

결 과 :

조사군의 생존율은 전체적으로 62.5%이었고, 대조군의 생존율은 87.8%이었다($p < 0.001$). 조사 선량이 강할수록 생존율은 70.7%에서 52.1%로 유의하게 감소하였다($p < 0.0001$). 심장 및 혈관 기형의 발생률은 생존 계태의 16.2%이었다($p < 0.005$). 심혈관 기형 발생률은 선량이 강할수록 증가하였고, 6일 이전 조사군에서 기형이 주로 발생하였다($p < 0.005$). 심장 기형의 발생률은 생존 계태의 7.6%이었고($p < 0.05$), 조사 선량이 강할수록 생존 계태의 5.3%에서 10.9%로 증가하였다. 6일 이전 조사군에서 심장 기형이 주로 발생하였

다($p<0.005$). 조사 선량이 많을수록 심실중격결손의 크기가 증가하고 복잡기형이 나타나는 경향을 보였다. 심장 기형의 종류는 심실중격결손이 24개이었고 복잡기형이 9개이었다. 혈관 기형의 발생률은 생존 계태의 8.7%이었고($p<0.05$), 조사 선량이 강할수록 혈관 기형이 증가하였고, 6일 이전 조사군에서 주로 발생하였다($p<0.005$). 혈관 기형은 우 무명동맥 이상 22개, 좌 무명동맥 이상 7개와 대동맥 궁 결손 9개이었다. 심장 혈관 기형 외의 관찰된 선천성 기형의 발생률은 심장 탈출은 5.5%, 뇌 탈출은 5.3%, 부리 이상은 13.7%, 눈 결손은 5.7%이었다. 조사 선량이 증가할수록 증가되는 경향이 있었으며($p<0.000001$), 뇌 탈출은 7일 이후, 부리 이상은 5일 이후, 눈 결손은 7일 이후 X선 조사에서 통계적으로 유의하게 증가하였다.

결 론 :

계태 발생 과정 중 심장 및 혈관의 형성이 활발한 시기에 X선 조사가 심장 혈관 기형을 잘 유발하여 6일 이전 조사군에서 많이 발생하였다. 조사 선량이 증가함에 따라 생존율이 적어지고 복잡 심장 기형이 발생하였다. 심혈관 외의 선천성 기형도 조사 선량이 증가함에 따라 기형의 빈도가 증가하였다.

중심 단어 : X선 ; 계태 ; 심장 ; 기형.

REFERENCES

- Han YM, Yoo JH, Choi JY, Seo JW. Pathology of cardiac anomalies and systemic edema in the murine fetus with trisomy 16. *Korean Circ J* 1999;29:612-24.
- Fang TT, Bruyere HJ Jr, Kargas SA, Nishikawa T, Tagagi Y, Gilbert EF. Ethyl alcohol-induced cardiovascular malformations in the chick embryo. *Teratology* 1987;35:95-103.
- Gilbert EF, Bruyere HJ Jr, Ishikawa S, Cheung MO, Hodach RJ. The effect of methylxanthines on catecholamine-stimulated and normal chick embryos. *Teratology* 1977;16:47-52.
- Hawkins JA, Hu N, Clark EB. Effect of caffeine on the cardiovascular function in the stage 24 chick embryo. *Dev Pharmacol Ther* 1984;7:334-43.
- Hodach RJ, Gilbert EF, Fallon JF. Aortic arch anomalies associated with the administration of epinephrine in the chick embryos. *Teratology* 1974;9:203-9.
- Hodach RJ, Hodach AE, Fallon JF, Folts JD, Bruyere HJ, Gilbert EF. The role of β -adrenergic activity in the production of cardiac and aortic arch anomalies in chick embryo. *Teratology* 1975;12:33-45.
- Gilbert EF, Bruyere HJ Jr, Ishikawa S, Cheung MO, Hodach RJ. The effect of practolol and butoxamine on aortic arch malformation in β -adrenoreceptor stimulated chick embryos. *Teratology* 1977;15:317-23.
- Kuhlmann RS, Kolesari GL, Kalbfleisch JH. Reduction of catecholamine-induced cardiovascular malformations in the chick embryo with metoprolol. *Teratology* 1983;28:9-14.
- Kawamura T, Takao A, Ando M. Spectrum of the coarctation type of ventricular septal defect in the chick induced by neutron radiation. In: van Praagh R, Takao A editors. *Etiology and Morphogenesis of Congenital Heart Disease*. Futura publishing Co: 1980. p.235-50.
- Hamberger V, Hamilton HL. A series of normal stages in the development of the chick embryo. *J Morphol* 1951;88:49-92.
- Rychter Z. Experimental morphology of the aortic arches and the heart loop in the chick embryo. *Adv Morph* 1962;2:333-71.
- Chon Y, Masahiko A, Takao A. Conotruncal anomalies produced by nimustine hydrochloride or bisdiamine in chick. In: van Praagh R, Takao A editors. *Congenital Heart Disease: causes and processes*. Futura publishing Co: 1984. p.237-47.
- Chon Y, Masahiko A, Takao A. Spectrum of hypoplastic right ventricle in chick experimentally produced by electrical shock. In: van Praagh R, Takao A editors. *Congenital Heart Disease: causes and processes*. Futura publishing Co: 1984. p.249-64.
- Jaffee OC. The development of the arterial outflow tract in the chick embryo heart. *Anat Rec* 1967;158:35-42.
- Bruyere HJ Jr, Nishikawa T, Uno H, Gilbert JE, Gilbert EF. Pulmonary stenosis with ventricular septal defect, common aortopulmonary trunk, and dextroposition of the aorta: morphologic and qualitative physiologic effects in caffeine-treated chick embryos. *Teratology* 1986;33:119-26.
- Grabowski CT, Paar JA. The teratogenic effects of graded doses of hypoxia on the chick embryo. *Am J Anat* 1958;103:313-47.
- Gessner IH, van Mierop LH. Experimental production of cardiac defects: the spectrum of dextroposition of the aorta. *Amer J Cardiol* 1970;23:272-278.
- Gilani SH, Jaffee OC. Congenital cardiovascular anomalies in chick embryos exposed to x-irradiation and hypothermia. *Am J Obstet Gynecol* 1971;111:47-52.
- Fang TT, Bruyere HJ Jr, Kargas SA, Nishikawa T, Takagi Y, Gilbert EF. Ethyl alcohol-induced cardiovascular malformations in the chick embryo. *Teratology* 1987;35:95-103.
- Russell LB, Russell WL. An analysis of the changing radiation response of the developing mouse embryo. *J Cell Physiol* 1954;43 (Suppl 1):103-49.
- Perry MM. A complete culture system for the chick embryo. *Nature* 1988;331:70-2.
- Perry MM, Sang HM. Transgenesis in chickens. *Transgenic Res* 1993;2:125-33.
- Rugh R. Low levels of X-irradiation and the early mammalian embryo. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med* 1962;87:559-66.
- Rugh R. Why radiology? *Radiology* 1964;82:917-20.
- Rugh R, Grupp E. Ionizing radiation and congenital anomalies in vertebrate embryos. *Acta Embryol Morphol Exp* 1959;2:257-68.
- Koo BS, Kim NS, Kim YJ, Moon SY, Lee H. Teratogenic effect of dopamine on the embryonic chick heart. *J Korean Pediatr Soc* 2000;43:913-9.
- Freedom RM, Harrington DP. Anatomically corrected malposition of the great arteries: report of 2 cases, one with congenital asplenia: frequent association with juxtaposition of atrial appendages. *Br Heart J* 1974;36:207-15.
- Kosar K. Malformation spectra and embryoletality following intraamniotic administration of glucocorticoids in the chick embryo. *Anat Anz* 1990;171:211-7.
- Li Y, Chen X, Zhao X, Hu B. Relationship between homocysteine-induced apoptosis and teratogenesis in developing avian embryo. *Wei Sheng Yan Jiu* 1999;28:275-8.
- Singh M, Shah GL, Singh KP. Teratogenic effects of dilantin on thoraco-abdominal organs of developing chick embryos. *Indian J Exp Biol* 2000;38:1026-30.