

적출된 쥐심장을 이용한 Fructose-1, 6 diphosphate의 심근보호 효과에 관한 실험

이철주* · 조수신* · 류재온* · 김문환* · 김세환*
이익호** · 박소라** · 서창국**

=Abstract=

Myocardial Preserving Effect of Fructose-1, 6-diphosphate in Isolated Rat Heart

Cheol Joo Lee, M.D.*, Soo Shin Cho, M.D.*, Jae On Lew, M.D.*, Moon Hwan Kim, M.D.*,
Sae Whan Kim, M.D.*, Ik Ho Lee, M.D.**, So Ra Park, M.D.**, Chang Kook Suh, M.D.**

Myocardial protection against ischemic and reperfusion injuries is still in troublesome eventhough couples of the way of myocardial protection have been applied since 1970's. One of the possibility in myocardial protection is adding Fructose-1,6-diphosphate(FDP) in cardioplegic solution. It is assumed that FDP can promote ATP production under anaerobic condition as well as inhibiting the supressing effect of lactate on phosphofructokinase.

We compared the myocardial protecting effects of FDP in crystalloid cardioplegic solution(St. Thomas formula, 10°C, pH = 7.4) and reperfusate using isolated rat hearts in modified Langendorf apparatus by the parameters of preischemic and post reperusing heart rate, time to first beat, occurrence of arrhythmia, time to stabilization, and the rate of left ventricular pressure developing. Group A (n = 10), containing no FDP in cardioplegic and reperusing solutions was control. Group B (n = 5), containing FDP in cardioplegic solution, showed statistically significant superiority of postischemic left ventricular pressure development than the control group. Group C (n = 5), containing FDP in reperfusate, showed statistically significant myocardial depressing effect than the controls. Other parameters were unremarkable. The cause is uncertain, but it is assumed that the negative feedback inhibition of FDP in energy metabolism or unknown blocking effect of FDP on certain transmembrane ionic currents is present.

In conclusion, 1) FDP in cardioplegic solution has beneficial effect on postischemic left ventricular preservation. 2) FDP is strong acid when is hydrolyzed, so precise acid titration is necessary. 3) FDP in reperfusate has negative left ventricular preservation, otherwise the mechanism is still uncertain.

(Korean J Thoracic Cardiovas Surg 1993;26:75-9)

Key words: FDP, Myocardial preservation, Cardioplegic solution.

* 인하대학교 의과대학 흉부외과학교실

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery,
Inha University College of Medicine

** 인하대학교 의과대학 생리학 교실

Department of Physiology
Inha University College of Medicine

† 본 논문의 요지는 1992년도 추계 대한흉부외과학회에서
구연되었음.

서론

개심술이 보편화된 현재에 이르러서도 혈류차단에 의한 허혈성 심근손상 및 재관류손상에 의한 개심술후의 심근 기능저하는 아직까지 해결해야 할 문제로 남아있다¹⁻⁴⁾. 1970년대 후반부터 일반화된 고칼륨⁵⁾, 저온의 심정지액 도입으로 많은 심근보호효과를 얻고있으나, 아직도 계속

연구되어져야 할 분야는 첫째, 허혈성 무산소 심정지기간에도 계속 진행되는 심근세포의 기본적인 대사작용을 어떻게 유지시키는가이고, 둘째, 혐기성대사에 의한 최종대사물을 어떻게 해결하는가이며, 셋째, 허혈성 심정지후에 재관류를 시켰을 때의 Oxygen free radical에 의한 손상이나 Calcium에 의한 손상을 어떻게 해결하는가 하는 세가지가 주류를 이루고 있다^{4, 6, 7)}. 지금까지 Procaine amide⁵⁾, Slow channel Ca²⁺ blocker^{3, 4, 8-11)}, Deferoxamine 등의 Oxygen free radical 중화제 등의 다양한 첨가물들에 의한 심근보호효과들이 보고되고 있으나¹²⁾, 저자 등은 혐기성대사에 의해 유발되는 젖산산화가 Phosphofructokinase를 억제함으로써 당질분해대사가 억제되어 고에너지의 생산이 중단되는 것을 FDP라는 중간대사물을 외부에서 투여했을 때의 심근보호효과를 평가하고자 하였다¹³⁻¹⁷⁾. 특히 심정지역에 첨가했을 때와 재관류액에 첨가했을 때 각각의 영향을 평가하고자 하였다.

대상 및 방법

실험동물은 체중 250~300 gm의 Sprague Dawley Rat을 암수구별없이 사용하였다. 실험동물은 세군으로 나누었는데 A군은 심정지역이나 재관류액에 FDP를 첨가하지 않은 군이고, B군은 심정지역에 FDP를 첨가한 군으로 하였으며, C군은 재관류액에 FDP를 첨가한 군으로 하였다. FDP는 심정지역이나 재관류액 공히 중량비 1%로 하였다. Tyrode solution은 Sodium chloride 40 mM, Potassium chloride 4 mM, Calcium chloride 1.8 mM, Magnesium chloride 1 mM, Sodium hydrophosphate 1 mM, Glucose 5.5 mM, HEPES 5 mM의 조성이었다고, 심정지역은 Sodium chloride 6.4 gm/L, Magnesium chloride 3.253 gm/L, Potassium chloride 1.193 gm/L, Calcium chloride 0.176 gm/L의 조성이었다.

실험동물의 후두부를 둔기로 강타한 후 즉시 개흉을 하여 심장을 적출하였으며, Tyrode 용액 내에서 수술기구들을 사용하여 좌우심방의 노출 및 대동맥 삼관을 하였다. 변형된 Langendorf 장치에 적출된 심장을 설치한 후 심박동이 규칙적으로 안정될 때까지 산소화된 Tyrode solution으로 비운동성 역관류시켰다. 심박동이 안정된 후 비교하고자 하는 변수들인 심박수, 부정맥의 유무, 그리고 좌심실 수축력 등을 측정하였다. 냉심정지역 (St. Thomas formula)을 관상동맥으로 관류시켜 심정지를 유발한 후 30분간의 무산소심정지를 시켰으며, 다시 산소화된 Tyrode solution으로 재관류를 하였다. 이때부터 재심박이 될 때까지의 시간, 심박이 안정될 때까지의 시간, 부정맥의 빈도, 심박수, 그리고 좌심실 수축력의 회복정도를 관찰하였다.

얻어진 결과는 Student's t test를 각 실험군간에 하였으며 p-value가 0.05 이하인 경우 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

1. Time to recovery: 30분간의 무산소성 심정지후 재관류를 시작한 시간부터 심장의 박동이 규칙적으로 될 때까지의 시간을 측정하여 각 실험군간에 비교하였다(표 1 및 그림 1). Group B와 Group C에서 회복시간이 다소 짧아 지나 통계학적인 유의성은 없었다($p > 0.05$).

2. Time to first beat: 30분간의 무산소성 심정지후 재관류 시점으로부터 최초의 심박동까지의 시간을 비교하였다(표 2 및 그림 2). 오히려 Group B와 Group C에서 통계적으로 유의하게 시간이 길어진 것을 볼 수 있는데, 그 원인을 정확히 유추할 수는 없으나 FDP라는 중간대사물질에 의한 변화된 에너지생산과정이 그 원인일 것으로 추정된다.

3. 심박수의 변화: 심정지 전과 심정지후 재관류시의 평균 맥박수의 변화를 관찰하였다(표 3 및 그림 3). Group A와 Group B의 경우 각기 17, 7회/분의 맥박수 감소를 보였으나 Group C의 경우는 오히려 35회/분의 증가를 보였다. 하지만 각 군간의 통계적 유의성은 없었다($p > 0.05$).

4. 좌심실 수축력의 변화: 심정지전과 재관류후의 좌심실 수축기압의 발생정도를 비교하였다. 심정지전의 최대

표 1. Time to Recovery

	Mean + S.D. (sec)	p-value
Group A	141 ± 71.9	
Group B	120 ± 51.0	> 0.05
Group C	105 ± 33.1	> 0.05

S.D. : Standard Deviation

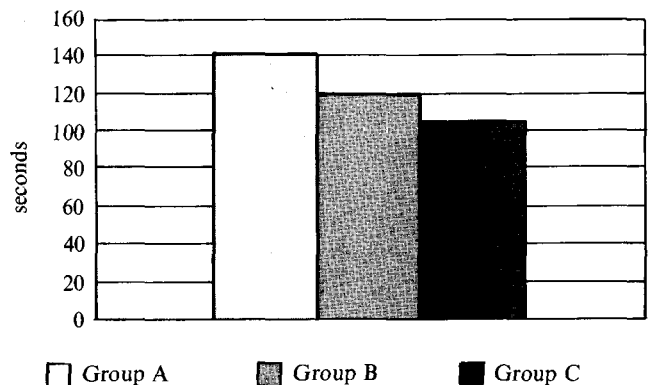


그림 1. Time to Recovery

표 2. Time to First Beat

	Mean + S.D. (sec)	p-value
Group A	25 ± 29.4	
Group B	63 ± 30.4	> 0.05
Group C	57 ± 29.8	> 0.05

S.D. : Standard Deviation

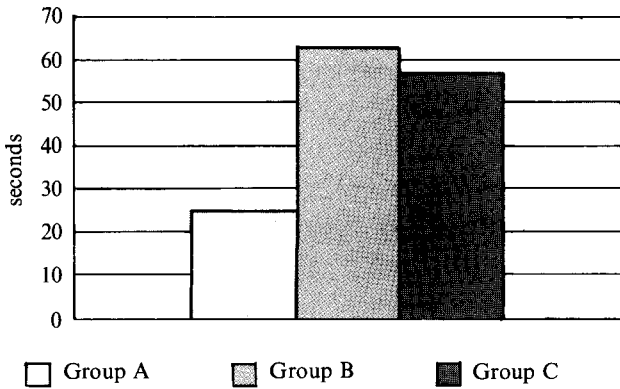


그림 2. Time to First Beat

표 3. Changes of Heart Rate

	Mean + S.D. (/min)	p-value
Group A	-17 ± 24.5	
Group B	-7 ± 8.7	> 0.05
Group C	35 ± 30	> 0.05

S.D. : Standard Deviation

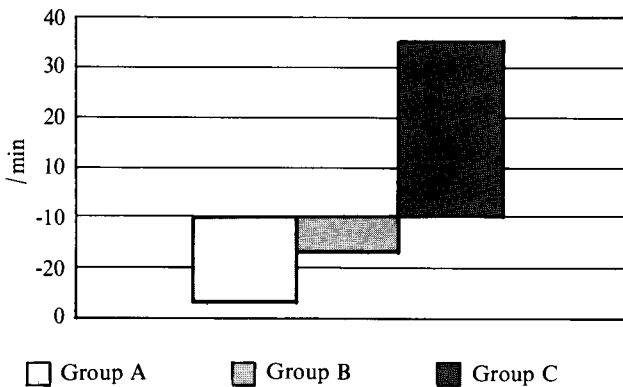


그림 3. Change of Heart Rate

좌심실압의 평균치를 100%로 하여 변화된 최대 좌심실압을 백분율로 표시하였다(표 4 및 그림 4). Group B에서는 표본군에 비해 통계적으로 유의한 좌심실압의 상승을 보였으나(115% vs 176%, $p < 0.05$), Group C에서는 오

표 4. Change of Contractility

	Mean + S.D. (% of control)	p-value
Group A	115 ± 40	
Group B	176 ± 5	> 0.05
Group C	62 ± 17	> 0.05

S.D. : Standard Deviation

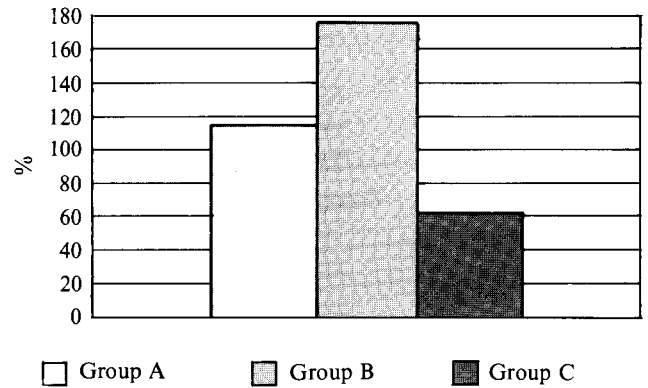


그림 4. Change of Contractility (% of Control)

히려 통계적으로 유의한 감소를 보였다(115% vs 62%, $p < 0.05$). 심정지액에의 FDP 첨가나 체외순환전의 FDP 전처치의 경우는 타 연구결과와 같은 결과를 볼 수 있으나 재관류액에의 FDP 첨가는 오히려 부정적인 효과를 보였다. 이의 정확한 대사성 원인을 설명하기는 어렵지만, 추측컨대 무산소성심정지후의 재관류시에 FDP가 유산소성 에너지생산대사에 오히려 Negative feed back 효과를 보이는 것으로 추정된다. 즉, FDP라는 중간대사물질의 외인적 첨가는 그 투여시기가 중요한 요인이 됨을 알 수 있다.

5. 재관류후의 부정맥의 빈도: 재관류후에 발생하는 부정맥의 빈도를 관찰하였던 바 각 군간에 통계적인 유의성이 관찰되지 않았다.

고 찰

1953년 Gibbon에 의해 체외순환을 이용한 개심술이 도입된 이래 최근에 이르러 체외순환기술의 발달 및 수술중의 심근보호법들이 많이 향상되었으며 또한 보편화되어 있다^{4, 6}. 하지만 아직까지 완전한 심근보호의 방법은 알려지지 않았으며 다양한 심근보호목적의 첨가물중에 FDP가 그중 하나에 속한다^{2, 13~18}.

허혈, 또는 저산소증의 상태에서는 해당작용(Glycolysis)이 유기대사과정에 의한 에너지공급의 부족분을 보상

하게 된다. 그러나 무기대사가 진행됨에 따른 락트산의 축적이 세포내의 산도를 더욱 떨어뜨리게 되고, 결과적으로 무기대사성 해당작용까지도 억제를 받게된다. 이로 인해 Embden-Meyerhof 경로를 통한 Catabolic activity에 관련된 수종의 효소들의 활성도가 감소된다고 알려져 있는데, 그중에서 특히 Phosphofructokinase (PFK)의 활성도가 현저히 감소하게 된다. 즉 진행된 허혈상태하에서 속도조절인자인 PFK의 활성도 감소로 인해 육탄당인산화과정의 FDP생성 전단계에서 병목현상을 유발하게 되는 것이다⁹⁾. 이런 전제하에서 허혈성 손상이 있을 때 외부에서 FDP를 공급할 수 있다면 무기대사를 원활히 하여 1 mole의 FDP가 4 mole의 ATP를 생산하고 대사되어 락트산으로 분해되며, 또한 포도당의 분해과정에서 소모되는 2 mole의 ATP를 감안하더라도 2 mole의 ATP라는 소득을 얻을 수 있다. FDP를 외인적으로 투여했을 때 무기성 해당과정이 촉진되는 기전으로는, FDP가 허혈상태에서 세포내로 유입되면 Embden-Meyerhof 경로의 고에너지기질로 작용할 뿐 아니라 직접 Phosphofructokinase의 활성도를 증가시키며, 또한 조효소로 작용하여 Pyruvate kinase의 활성을 돕는것으로 알려져 있다^{17,19)}.

한편으로 FDP가 직접 세포막에 작용하여 세포막의 안정성을 향상시킨다는 보고들이 있다. 즉, 허혈성 손상으로 부터 심근세포들의 안정성을 강화하여 허혈성 손상후의 심장기능의 회복시간을 단축한다는 것이다. 그 기전을 정확히 설명하지는 못하지만 Mizushima의²⁰⁾ 보고에 의하면 FDP 처치군에서 허혈성 손상후의 심근내 pH가 현저히 높았다는 사실을 미루어보아 전술했던 바와 같은 기전으로 추정할 수 있다.

1989년 Galzigna 등은¹⁵⁾ FDP를 처치한 단일 심근세포에서 허혈성 손상을 준후에 표본군과의 비교를 해본 결과 FDP 처치군에서 Ca²⁺의 세포내 유입이 현저히 감소함을 밝혔다. 즉, 어떤 유형의 Ca²⁺ 경로인지는 알 수 없으나 허혈성 손상후의 세포내 Ca²⁺ 과축적을 예방하여 심근세포의 회복시기에 ATP의 소모를 방지한다는 것이다. 또한 Bernardini 등은²⁾ 어떤 경로인지 확인하기는 어려우나 FDP의 심근보호기능은 세포막의 이온의 흐름과 관계있다고 보고하였다.

저자들의 실험결과를 보면 좌심실수축력의 회복이 FDP 전처치군에서 유의하게 증가된 것을 볼 수 있는데 이는 타 실험보고와 동일한 결과이다. 그외의 변수들은 유의한 잇점을 발견할 수 없었다. Ripari 등이¹⁷⁾ 보고한 결과들과는 다소 다른 양상을 보이거나 혈류역학적인 유효성을 입증한 면에서는 같은 맥락으로 사료된다²¹⁾.

FDP가 과연 당질대사의 어떤 과정에 긍정적으로 작용하는지는 생화학적, 분자생물학적인 뒷받침이 되어야 설

명이 될것으로 생각되나 FDP의 최종효과에 대한 여러 실험들의 결과는 대개 일치하는 것으로 보아 심정지액이나 수술전 처치는 허혈성 심근손상을 억제하는데 긍정적인 효과가 있는 것으로 판단된다.

결 론

본 인하대학교 의과대학 흉부외과학교실에서는 무기성 당질분해과정의 중간물질인 FDP를 심정지액과 재관류액에 첨가하여 심근보호 효과를 관찰하였던 바 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. FDP는 용해되었을 때 강한 산성을 유발하므로 이의 첨가시는 세심한 중화의 노력이 필요하다.
2. 심정지액에 FDP를 첨가한 군에서 심정지후의 좌심실 수축력 회복이 뚜렷이 향상됨을 알 수 있었다(p < 0.05).
3. 재관류액에 FDP를 첨가한 경우 오히려 역효과를 보였는데 이의 원인은 앞으로 생화학적인 방법으로 규명이 필요하다.

References

1. Allen DG, Orchard CH. Myocardial contractile function during ischemia and hypoxia. *Circ Res* 1987;60:153-68
2. Bernardini N, Bernardini MC, Tacca D. Fructose-1,6-diphosphate reduces acute ECG changes due to doxorubicin in isolated rat heart. *Experientia* 1988;44:100-2
3. Katz AM, Reuter H. Cellular calcium and cardiac cell death. *Am J Cardiol* 1979;44:188-90
4. McGoon DC. The ongoing quest for ideal myocardial protection. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1985;89:639-53
5. Gay WA, JR., Ebert PA. Functional, metabolic, and morphologic effects of potassium-induced cardioplegia. *Surg* 1973; 74:284-90
6. Menasche P, Grousset C, Mouas C, Piwnica A. A promising approach for improving the recovery of heart transplants. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1990;100:13-21
7. Merli M, Bergui G, Cattani C, Berti F, Marchetti M. Recovery of post-arrest cardiac performance. *Riv Eur Sci Med Farmacol* 1989;11:175-82
8. Balderman SC, Chan AK, Gage AA. Verapamil cardioplegia: Improved myocardial preservation during global ischemia. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1984;88:57-66
9. Chapman RA, Tunstall J. The calcium paradox of the heart. *Prog Biophys Molec Biol* 1987;50:67-96
10. Hendriks FFA, Jonas J, Laarse AVD et al. Cold ischemic arrest: Comparison of calcium-free and calcium-containing solutions. *Ann Thorac Surg* 1985;39:312-7
11. Yamamoto F, Braimbridge MV, Hearse DJ. Calcium and cardioplegia. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1984;87:908-12
12. Ferreira R, Burgos M, Milei J et al. Effects of supplementing cardioplegic solution with deferoxamine on reperfused human

- myocardium*. J Thorac Cardiovasc Surg 1990;100:708-14
13. 김형복, 김광택. Fructose-1, 6-diphosphate가 첨가된 심근보호액의 임상적용. 대흉외지 1991;24:669-73
 14. 나국주, 최종범, 안병희 등. 흰쥐의 적출 작업성 심장에서 허혈성 심정지시 Fructose-1, 6-diphosphate (FDP)의 심근 보호 작용. 대흉외지 1990;23:646-53
 15. Galzigna L, Rizzoli V, Bianchi M, Rigobello MP, Scuri R. *Some effects of fructose-1,6-diphosphate on rat myocardial tissue related to a membrane-stabilizing action*. Cell Biochem Funct 1989;7:91-7
 16. Janz TG, Leasure J, Olson JE. *The effects of fructose-1, 6-diphosphate on myocardial damage in acute coronary artery occlusion*. Resuscitation 1991;22:450-4
 17. Ripari P, Pieralisi G. *Effects of fructose-1,6-diphosphate on heart rate, ventilation, oxygen consumption and endurance performance*. Pharmatherapeutica 1988;5:249-55
 18. Marchionni N, Conti A, Alfieri WD et al. *Hemodynamic and electrocardiographic effects of Fructose-1, 6-diphosphate in acute myocardial infarction*. Am J Cardiol 1985;56:266-9
 19. 이정렬, 홍종면, 김용진, 노준량, 서경필. 체외순환후 Fructose-1, 6-diphosphate(FDP)가 적혈구에 미치는 영향. 대흉외지 1992;25:693-701
 20. Mizushima m. *Effects of dichloroacetate in the ischemic heart. Analysis of hemodynamics, myocardial energy metabolism and myocardial pH*. Hokkaido-Igaku-Zasshi 1990;65:298-310
 21. Markov AK, Oglethorpe NC, Blanke TM, Lehan PH, Hellem HK. *Hemodynamic, electrocardiographic, and metabolic effects of fructose diphosphate on acute myocardial ischemia*. Am Heart J 1980;100:639-46