

Doxorubicin유발 심장독성에 미치는 L-Carnitine의 효과

김형춘* · 송계용* · 전구석 · 허인희

*중앙대학교 의과대학 병리학교실 · 중앙대학교 약학대학

(Received July 20, 1988)

Effect of L-Carnitine on the Cardiotoxicity Induced by Doxorubicin

Hyoung Chun Kim*, Ke Yong Song*, Ku Seok Jeon and In Hoi Huh

*Department of Pathology, College of Medicine, Chung Ang University, and

College of Pharmacy, Chung Ang University, Seoul 151-756, Korea

Abstract—This study was undertaken to elucidate the role of L-carnitine on cardiotoxicity induced by doxorubicin in mice. We designed to investigate both lipoperoxidation and histopathology in experimental group. The results obtained from prior with concurrent treatment of L-carnitine showed as follows; 1) Combination of L-carnitine showed significant inhibition of lipoperoxide in liver than heart. 2) By means of electron microscopy, we obtained histological evidence that doxorubicin-induced cardiomyopathy, is prevented by L-carnitine.

Doxorubicin은 1969년 방선균의 일종인 *Streptomyces peucetius* var *caesius*의 배지에서 분리된 anthracycline계의 항암제이며, 특히 악성종양증에서도 백혈병과 임파종에 더욱 유효한 것으로 알려져 있다.¹⁾ 그 중요 작용기전으로는 DNA와 결합하여 DNA를 사슬로하는 DNA polymerase반응을 저해하여, DNA사슬의 절단을 유발시켜 핵산 합성을 억제한다고 보고되었다.²⁾ 이상적인 항암제는 종양세포에만 선택 독성을 나타내고 주위조직에는 손상을 주지 않아야 하나, 대부분의 항암제가 심각한 부작용을 수반하고 있다. Doxorubicin유발 부작용 중 가장 치명적인 것 중의 하나가 심독성이며³⁾, 이때문에 임상에서 상당한 제약을 받고 있다.⁴⁾ 최근에 이르러 그 심독성을 경감시키는 몇몇^{5,6)} 방법이 대두 되고 있으나, 만족할 만한 효과는 나타나지 않고 있다.

본고에서는 그 기본연구의 일환으로 L-carnitine을 병용 투여하여 심독성을 경감시키려 하였다.

실험 방법

실험재료 및 시약—Doxorubicin은 이태리의 Far-

mitalia사로 부터, L-carnitine은 이태리의 Sigma-tau사에서 구입하였고 그밖의 시약은 시중의 특급시약을 사용하였으며 실험동물로는 동일조건에서 2주간 적응시킨 숫컷의 ICR계 마우스를 사용하였다.

실험군 설정—L-carnitine을 1일 200mg/kg씩 연속 8일간 투여한 L-carnitine군 doxorubicin 10mg/kg을 3일 간격으로 2회투여한 doxorubicin군 앞의 방법으로 L-carnitine과 doxorubicin을 병용시킨 군의 3군으로 나누고, 각군은 6마리로 하였다. 단, L-carnitine과 Doxorubicin이 병용 투여되는 당일에는 L-Carnitine투여 3시간 후에 doxorubicin을 투여하였다.

과산화지질의 측정—Masugi와 Nakamura의 방법⁷⁾에 따라 측정하였다. 즉, malondialdehyde가 proton존재하에서 thiobarbituric acid(TBA)시약과 축합하여 532nm에서 흡수극대를 나타내는 색소를 형성하는 원리에 의하였다.

전자현미경 관찰—도살직후 심장의 일부를 적출하여 0.01M-phosphate buffer(pH 7.2)로 만든 2.5% glutaraldehyde용액에 전 고정하고 1% osmic acid에 고정후, 무수알코올과 prophylen 과정을 거쳐 Epon으로 포매하고 얇은 절편을 만

든후 선정하여 다시 얇은 절편을 만들어 lead citrate와 uranyl acetate로 이중 염색후 투과전자현미경(JEOL, 200cx)으로 관찰하였다.

실험결과 및 고찰

Doxorubicin 투여후에는 용량 의존적으로 creatine kinase-MB치가 상승되나, L-carnitine은 혈청 creatine kinase-MB치를 억제한다.⁸⁾ 내인성의 carnitine이 결핍되면 세포막 안전성 유지에 손상이 오며 glutathione도 결핍되어 지질 과산화가 촉진된다.⁹⁾ 간에서의 과산화지질치를 대조로하여 심장의치를 검색한 결과는 Table I과 같다.

간에서의 doxorubicin으로 인하여 상승된 과산

화지질치는 L-carnitine이 병용되므로서 최종투여후 4일($p < 0.001$) 및 8일($p < 0.05$)에 유의하게 억제되었으며, L-carnitine을 단독으로 처리한 군보다도 과산화지질치가 억제되는 경향을 나타내었다.

그러나 심장의 경우에는 유의성 있는변화는 나타나지 않았다. 다만, L-carnitine을 병용시킬 때 전반적으로 억제되는 경향을 나타내었다.

전군의 심장을 광학현미경으로 검색하였으나, 특이한 변화는 관찰되지 않았다. 이는 급성 및 아급성 doxorubicin 독성에 의하여는 심장내의 glutathione peroxidase와 catalase의 활성이 억제되지 않으므로 L-carnitine군이나 doxorubicin 군과의 유의한 변화가 나타나지 않는 것으로 사료된다. 그러나, 만성적으로 doxorubicin에 노

Table I—Lipid peroxidation index (O,D) of liver and heart

Group	Liver			Heart		
	Days after last administration of doxorubicin					
	1	4	8	1	4	8
L-carnitine	0.16±0.09	0.57±0.11	0.38±0.06	0.19±0.19	0.54±0.17	0.33±0.07
Doxorubicin	0.37±0.06	0.82±0.06	0.50±0.04	0.17±0.06	0.60±0.12	0.43±0.10
L-carnitine+ Doxorubicin	0.11±0.03	0.40±0.01**	0.27±0.05*	0.16±0.08	0.50±0.02	0.25±0.01

Each value shows mean±S.E.

Significantly different from doxorubicin group; * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$.

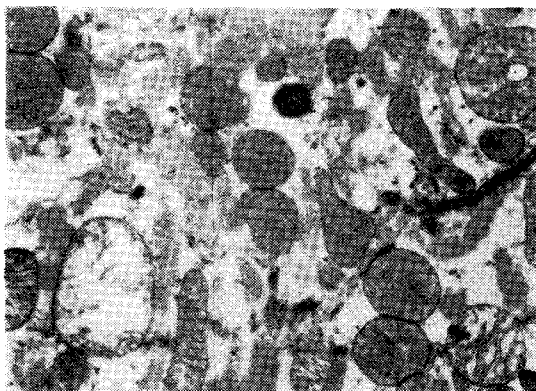


Fig. 1—Moderate intracellular edema with separation of micromyofibrils, and swelling of mitochondria on 1 day after last administration of doxorubicin (Uranyl acetate & lead citrate, $\times 10,000$).

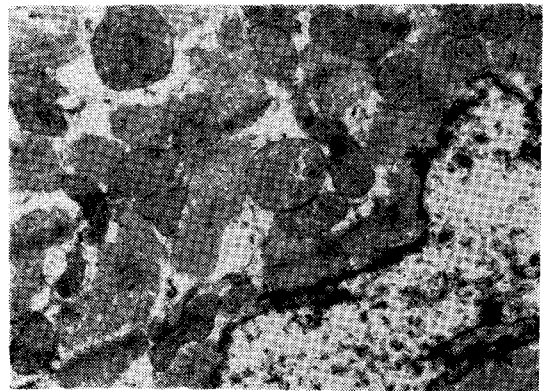


Fig. 2—Mild intracellular edema on 1 day after last administration of both L-carnitine and doxorubicin (Uranyl acetate & lead citrate, $\times 10,000$).

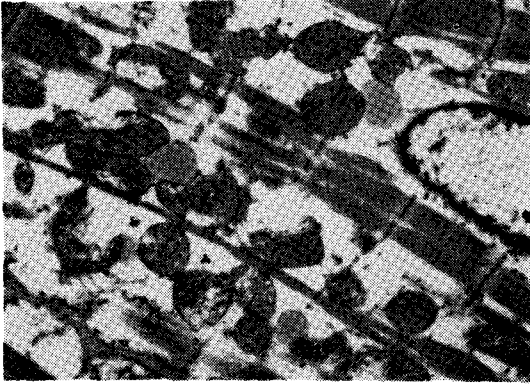


Fig. 3—Marked intracellular edema and mitochondrial damage by loss of mitochondrial cristae on 4 days after last administration of doxorubicin (Uranyl acetate & lead citrate, $\times 8,200$).

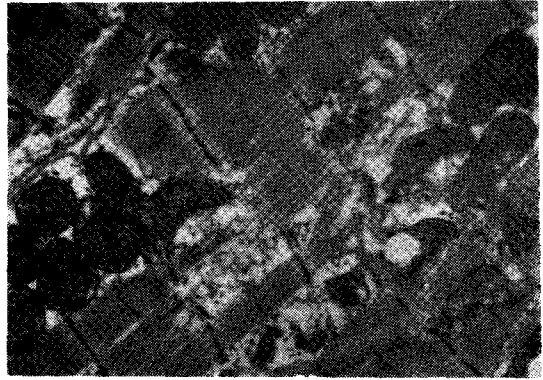


Fig. 4—Mild intracellular edema on 4 days after last administration of both L-carnitine and doxorubicin (Uranyl acetate & lead citrate, $\times 10,000$).

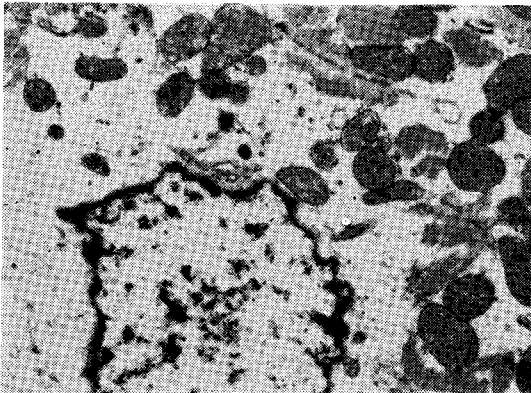


Fig. 5—Marked intracellular and perinuclear edema on 8 days after last administration of doxorubicin (Uranyl acetate & lead citrate, $\times 8,200$).

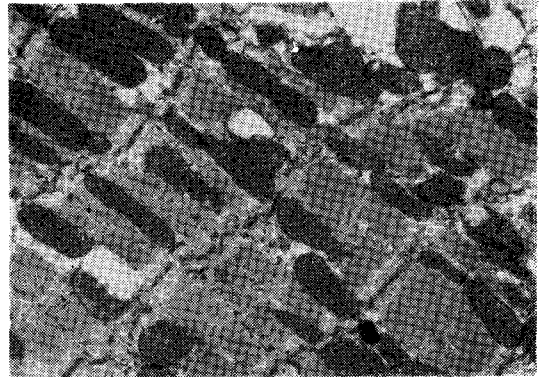


Fig. 6—Well preserved myocardium with vacuolation of mitochondria on 8 days after last administration of both L-carnitine and doxorubicin (Uranyl acetate & lead citrate, $\times 10,000$).

출 후에는 selenium의 감소가 나타나 심장내의 glutathione peroxidase가 감소되며, 반응성 산소대사물 등의 공격이 증가되어 과산화지질의 생성을 촉진시키는 것으로 생각된다.¹⁰⁾ 전자현미경적 검색의 결과는 Fig. 1-6과 같다. Doxorubicin 최종투여, 1일 후에는 사립체의 팽화와 중등도의 부종이 관찰되었으나, L-carnitine 병용으로 경미한 세포내 부종이 관찰되었다. 또 4일 후의 현저한 세포내 부종과 사립체 소조(cristae)의 부분적 소실은 L-carnitine 병용으로 경도의 세포내 부종이 관찰되었다. 또한 8일후의 핵주

위의 세포내 현저한 부종은 L-carnitine의 병용으로 사립체내의 공포만이 관찰되었다.

이와 같은 L-carnitine 심장보호효과는 전반적으로 나타났으나, 개체차가 인정되었다. Doxorubicin 유발 심근증은 근미원섬유(myofibril)의 손상과 근형질세망의 확장에서 비롯되며, 유리기 생성장소인 근형질세망과 사립체는 calcium pool의 조절에 중요한 역할을 한다. 이때 doxorubicin에 노출된 심장에서는 calcium이 상승하게 되어 병변을 야기시킬 수 있다. L-carnitine의 병용효과에서 보여지는 사립체의 정상화는 calcium

조절제로서의 가능성이 시사될 수도 있을 것으로 생각된다.

결 론

Doxorubicin유발 심장독성에 미치는 L-carnitine의 효과를 검색하기 위하여 마우스를 대상으로, doxorubicin 10mg/kg씩 3일간격으로 2회 투여하면서 L-carnitine을 사전 및 병용투여시킨 마우스의 과산화지질치와 전자현미경적관찰을 한 결과의 결과는 다음과 같다.

(1) L-carnitine은 doxorubicin으로 인하여 상승된 간의 과산화지질치를 최종투여 4, 8일후에 현저히 감소시키고, 심장의 과산화지질치도 억제시키는 경향을 나타내었다.

(2) L-carnitine은 doxorubicin으로 인한 세포내 현저한 부종과 사립체 변성을 정상화하였다.

문 헌

- 1) Blum, R.H., and Carter, S.K.: Adriamycin-A new anticancer drug with significant clinical activity. *Ann. Intern. Med.* 80, 249 (1974).
- 2) Momparler, R.L., Karon, M., Siegle, S.E. and Avila, F.: Effect of adriamycin on DNA, RNA and protein synthesis in cell free systems and intact cells. *Cancer Research.* 36, 2891 (1976).
- 3) Carter, S.K.: Adriamycin-A review. *J. Nat. Cancer. Inst.* 55, 1265 (1975).
- 4) Von Hoff, D.D., Rozenzweig, M. and Piccart, M.: The cardiotoxicity of anticancer agents. *Seminar in Oncology.* 9, 23 (1982).
- 5) Sonneveld, P.: Effect of α -tocopherol on the cardiotoxicity of adriamycin in the rats. *Cancer Treat. Rep.* 62, 1033 (1978).
- 6) Domae, N., Sawada, H., Matsuyama, E., Konishi, T., and Uchino, H.: Cardiomyopathy and other chronic toxic effect induced in rabbits by doxorubicin and possible prevention by coenzyme Q10. *Cancer Treat. Rep.* 65, 79 (1981).
- 7) Masugi, F. and Nakamura, T.: Measurement of thiobarbituric acid value in liver homogenate solubilized with sodium dodecylsulfate and variation of the values affected by vitamin E and drugs. *Vitamins (Japan)* 51, 21 (1977).
- 8) Neri, B., Comparini, T., Miliani, A., Torcia, M., and Ciapini, A.: Protective effects of L-carnitine on acute adriamycin and daunomycin cardiotoxicity in cancer patients. *Trials Journal (London).* 20, 98 (1983).
- 9) Ferri, L., Galiazzo, F., and Siliprandi, N.: Carnitina, significato biochimicoe medico. *Progr. Med.* 34, 709 (1987).
- 10) Revis, N.W. and Marusic, N.: Glutathione peroxidase activity and selenium concentration in the hearts of doxorubicin treated rabbits. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 10, 945 (1978).