

Heparin -Protamine Sulfate 상호작용의 실험적 연구**

김치경 · 이홍균*

- Abstract -

The Experimental Study of Heparin-Protamine Sulfate Interaction

Chi Kyung Kim and Hong Kyun Lee

Heparin would have been used for preventing clotting of blood during extracorporeal circulation and subsequent use of protamine sulfate and made possible the neutralization of heparin. This procedure has been adopted for eliminating one of the great causes of bleeding, especially in cardiac surgery.

In this experiment, the hypocoagulability of blood induced by heparin followed by neutralization with treatment of protamine sulfate were estimated by the Lee-White clotting time(CT), partial thromboplastine time (PTT) and protamine titration test.

The results were as follows:

- 1) Comparison of clotting time between the heparinized (2.0 mg/kg) and non-heparinized dogs was done using CT and PTT of the blood. In heparinized group (Group I), the CT lasted indefinitely and prolongation of PTT (4 times than normal) until 60 minutes. The CT (2 times) and PTT (3 times) has been shortened after 90 minutes, however they returned to normal limit level within 180 minutes.
- 2) The determination of appropriate ratio of heparin and protamine in vivo were performed. The group II (heparin 2.0 mg/kg, protamine 1.0 mg/kg) revealed rapid decrease of CT and PTT, but returned to normal after 120 minutes. The group III (heparin 2.0 mg/kg, protamine 2.0 mg/kg) returned rapidly to normal within 15 minutes. The group IV (heparin 2.0 mg/kg, protamine 3.0 mg/kg) recovered its normal level after 60 minutes. The group V (heparin 2.0 mg/kg, protamine 4.0 mg/kg) recovered its normal level after 90 minutes.
- 3) In the combined experimental study in vivo and vitro, the protamine titration test was done using the dog which were given 2.0 mg/kg and 3.0 mg/kg of heparin, respectively and coagulation time were checked after 15, 30, 60 and 120 minutes. The complete neutralization was showed to be heparin-protamine ratio of 1:1 to 1.5.
- 4) In vitro study, fresh blood were drawn into known amount of heparin content (20, 40, 60 and 100/ug per 1 ml of blood) syringe, thereafter protamine titration test was done. In all cases, the complete neutralization was found in heparin-protamine ratio of 1:0.85 to 1.5.
- 5) It was found by the present experiment that the ideal heparin-protamine ratio was 1:1 within 60 minutes and 1:0.5 after 60 minutes for avoiding the serious side effect due to overadministration of protamine sulfate.

* 흉부외과학 교실 주임교수

** 본 논문의 연구는 가톨릭중앙의료원 학술연구 조성비로 이루어졌음.

Department of Thoracic and Cardiovascular surgery, Catholic Medical College, Seoul, Korea

머 리 말

heparin은 임상적으로 혈전증예방 및 치료에 사용되는 항응고제이며 protamine-sulfate는 heparin의 중화제로 사용되고 특히 심장외과 영역에서는 인공심폐기를 사용한 체외순환시에 필요한 약제들이다.

인공심폐기에 의한 체외순환시에는 혈액을 인공회로내로 유도하여 산소를 첨가한 후 펌프에 의하여 생체혈관내로 관류시킴으로 어떤 처치를 행하지 않으면 체외순환회로뿐만 아니라 체내혈관의 혈액까지 응고될 수 있다. 따라서 이를 방지하기 위하여 heparin을 투여하게 되고, 체외순환 종료후, heparin에 의하여 응고성을 잃은 혈액의 응고성 회복과 수술후 출혈저지를 목적으로 protamine sulfate를 사용한다. 그러나 heparin 및 protamine을 다량 사용한 경우에는 여러가지 부작용이 초래된다.

heparin은 개체에 따라 감수성 및 반감기가 다르며 응고시간 연장에 따른 출혈의 위험이 있고 특히 protamine은 heparin 중화작용이 있는 반면에 그 자체의 항응고효과로 혈액응고시간연장, 혈압저하, 혈소판감소, 호흡곤란, 경련 및 서맥 등의 부작용을 일으킨다(Allan, J. & Omisky, K., 1971). 반면에 protamine 양이 적으면 혈액내에 잔류 heparin이 남아서 출혈을 조장한다.

이러한 heparin과 protamine의 상관관계에 비추어 저자는 heparin에 의하여 응고성을 잃은 혈액에 protamine을 여하히 주입하면 속히 그리고 정확하게 그 응고성이 회복되느냐를 검사하기 위하여 주입된 heparin에 대해서 protamine에 의한 혈액응고성의 시간적 회복과 heparin에 대한 protamine의 적정중화비를 검색하였다.

재 료 및 방 법

실험동물은 체중 10~20 kg의 건강한 한국산 잡견을 암수구분없이 사용하였다.

실험견은 2.5% pentobarbital sodium(Nembutal)을 체중 kg당 30 mg을 전족정맥내에 주사하여 전신마취후 기관내삽관을 시행한 후 "Harvard dual phase control respirator pump"로 100% 산소와 공기를 1:1 비율로 환기시켰다. 마취후 채혈 및 약제투여를 용이하게 실시하기 위하여 양측 대복재정맥을 절개하여 폴리에틸렌 카테더를 유치시켰다.

검사는 Lee-White 법(Lee & White, 1954)에 따른 Clotting time(CT)과 partial thromboplastin time(PTT, Langdell, 1953) 및 protamine titration test

(Parkins, 1949)로 측정하였고, 약제로는 sodium heparin(U.S.P. Abbott Lab. North Chicago, IL 600-64, U.S.A.)과 protamine sulfate(Novo Industri A/S, Copenhagen, Denmark)를 사용하였다.

실험은 아래와 같이 생체실험군, 생체·시험관 실험군 및 시험관실험군으로 나누어 시행하였다.

A. 생체실험군

실험견은 25 마리를 사용하였다. 제1군은 체중 kg 당 2.0 mg의 heparin을 주입한 후 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180분 간격으로 채혈하여, CT와 PTT를 측정하여 heparin의 반감현상을 관찰하였다. 제2군은 heparin에 대한 protamine의 항응고성을 알기 위하여 체중 kg 당 1.0 mg의 protamine을 정주한 후 위와 같은 시간 간격으로 채혈하여 CT와 PTT를 측정하여 시간경과에 따른 혈액응고성회복을 관찰하였고, 제3군은 protamine을 체중 kg 당 2.0 mg, 제4군은 3.0 mg, 제5군은 4.0 mg으로 위와 같은 방법으로 관찰하였다.

B. 생체·시험관실험군

순환혈액내에서 heparinized 혈액의 heparin과 protamine의 적정중화치를 시험관에서 측정기 위하여 실험견 15 마리를 사용하였다.

처음 5 마리는 체중 kg 당 2.0 mg의 heparin을 정주한 후 10, 30, 60, 120분후 채혈하여, protamine titration test를 이용하였다. 즉, 0.1 cc 증류수에 0.5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 100, 200, 400 μ g의 protamine이 포함된 시험관 13 개에 채혈한 혈액을 각각 1 cc 씩 분주한 후 응고시간을 측정하였다.

다음 5 마리에서는 체중 kg 당 3.0 mg의 heparin을 정주한 후 10, 60분후 채혈하여 protamine titration test를 실시하였고, 나머지 5 마리는 체중 kg 당 2.0 mg의 heparin을 정주한 후 1 시간 경과후, 체중 kg 당 1.0 mg의 heparin을 추가 주사한 후 10, 60분후 채혈하여 protamine titration test를 실시하였다.

C. 시험관실험군

시험관내에서 heparin과 protamine의 적정중화치를 구하기 위하여 5 마리 개에서 시행하였다.

증류수 0.5 cc속에 heparin이 각각 300, 600, 900, 1500 μ g이 포함된 주사기에 혈액 14.5 cc를 채혈하여 heparin과 혈액을 충분히 혼합함으로써 혈액 1 ml 당 heparin 20, 40, 60, 100 μ g이 각각 포함되게 한 후 protamine titration test를 실시하여 적정중화치를 측정하였다.

성 직

A. 생체실험군

실험 제 1군에서는 heparin 투여후 CT는 정상치(450.8 ± 3.11 초)보다 지연되어 60 분까지는 관찰시간 2 시간까지는 응고되지 않았으나 그후 90 분후에는 720.8 ± 3.11 초, 180 분후에는 459.4 ± 2.70 초로 정상회복되었다(표1). PTT는 heparin 정주후 정상치(14.6 ± 0.54 초)에서 129.2 ± 3.20 초로 지연되고 그후 점차 회복되어 180 분후에는 15.6 ± 0.54 초로 거의 정상치에 가깝게 회복되었다(표 2).

제 2군에서는 heparin 정주후 CT는 응고되지 않았지만, protamine 을 체중 kg 당 1.0 mg 을 정주하면 15 분후에는 860.0 ± 15.3 초로 회복되고, 120 분후에는 정상회복되었다(표 1). PTT 도 heparin 정주후 121.4 ±

1.84 초로 지연되고, protamine 정주후 15 분후에 21.0 ± 2.28 초로 회복되며 180 분후에 15.2 ± 0.44 초로 정상으로 회복되었다(표 2).

제 3군에서는 heparin 정주후 CT가 응고되지 않았으며 체중 kg 당 2.0 mg의 protamine 정주후 15 분후에 452.20 ± 30.3 초로 정상회복되었고(표 1), PTT 도 140.4 ± 9.93 초로 16.2 ± 1.30 초로 급격히 정상회복되었다(표 2).

제 4군에서는 heparin 정주후 CT가 응고되지 않았으나 체중 kg 당 3.0 mg의 protamine 정주후 15 분후에 497.8 ± 3.11 초로 회복된 후, 45 분후에는 450.2 ± 4.14 초로 정상회복하였고(표 1), PTT 도 protamine 투여후 134.2 ± 5.45 초로부터 15 분후에 15.8 ± 1.02 초로 정상회복하였다(표 2).

제 5군에서는 heparin 정주후 CT가 응고되지 않았으며 체중 kg 당 4.0 mg의 protamine 정주후 15 분후에

표 1. Administration of heparin(2.0 mg/kg) and neutralization with protamine sulfate in vivo. (using L-W coagulation time; second, X; no clot)

Group does of protamine(mg/kg) Minutes after heparin injection	I	II	III	IV	V
	0	1.0mg/kg	2.0mg/kg	3.0mg/kg	4.0mg/kg
Control	450.8 ± 3.11	445.0 ± 9.20	449.8 ± 6.49	447.6 ± 4.56	432.0 ± 8.22
Heparin(2.0mg/kg)	X	X	X	X	X
15	X	860.0 ± 15.3	452.0 ± 3.03	497.8 ± 3.11	573.2 ± 1.00
30	X	785.0 ± 16.1	450.1 ± 3.08	458.8 ± 2.23	567.2 ± 8.34
45	X	705.6 ± 7.19	449.2 ± 5.76	450.2 ± 4.14	464.8 ± 4.98
60	X	559.6 ± 1.34	456.4 ± 5.41	451.0 ± 4.41	441.8 ± 8.60
90	720.8 ± 3.11	511.4 ± 3.32	450.0 ± 7.03	449.2 ± 4.65	433.8 ± 8.57
120	513.0 ± 6.16	461.2 ± 8.97	451.4 ± 4.77	450.8 ± 1.64	430.4 ± 8.11
180	459.4 ± 2.70	440.0 ± 8.39	451.4 ± 6.34	448.8 ± 4.71	433.6 ± 7.47

표 2. Administration of heparin(2.0 mg/kg) and neutralization with protamine sulfate in vivo. (using PTT; second)

Group does of protamine(mg/kg) Minutes after heparin injection	I	II	III	IV	V
	0	1.0mg/kg	2.0mg/kg	3.0mg/kg	4.0mg/kg
Control	14.6 ± 0.54	14.0 ± 0.70	14.0 ± 0.70	14.8 ± 0.84	15.2 ± 0.83
Heparin(2.0mg/kg)	129.2 ± 3.20	121.4 ± 1.81	140.4 ± 9.93	134.2 ± 5.45	113.4 ± 5.02
15	125.6 ± 4.15	21.0 ± 2.23	16.2 ± 1.30	18.0 ± 1.22	21.6 ± 1.14
30	91.2 ± 2.58	20.0 ± 1.58	15.6 ± 0.89	17.6 ± 1.14	21.2 ± 0.83
45	74.8 ± 3.83	18.6 ± 1.14	15.4 ± 0.54	16.2 ± 1.09	15.6 ± 0.89
60	58.0 ± 2.34	18.8 ± 1.00	14.8 ± 0.83	16.0 ± 1.05	15.8 ± 0.83
90	41.4 ± 1.07	19.0 ± 1.00	14.4 ± 1.67	15.8 ± 1.02	15.4 ± 0.89
120	18.2 ± 1.30	16.2 ± 0.44	14.2 ± 0.44	15.6 ± 0.89	15.6 ± 0.54
180	15.6 ± 0.54	15.2 ± 0.44	14.6 ± 0.89	14.9 ± 0.89	15.4 ± 0.44

573.2 ± 1.00 초로 회복되고, 60분후에는 441.8 ± 8.60초로 정상회복되었고(표1), PTT도 protamine 투여후 113.4 ± 5.02초로부터 21.6 ± 1.14초로 회복된 후, 60분후에는 15.6 ± 0.89초로 정상회복되었다(표2).

B. 생체·시험관실험군

순환혈액내에 체중 kg 당 2.0mg의 heparin을 정주하여 혈액 1ml당 26μg 정도의 heparin이 포함된제한군에서는 heparin정주후 10분후에 25 ~ 35μg의 protamine에서, 30분후에는 20 ~ 30μg에서, 60분후에는 15 ~ 30μg에서, 120분후에는 10 ~ 20μg의 protamine의 농도에서 중화되어 5분안에 응고되었고 시간경과에 따라 10분후에는 10 ~ 100, 30분후에는 10 ~ 100, 60분후에는 5 ~ 100, 120분후에는 0 ~ 100 μg의 protamine 농도에서 완전중화되어 응고되었다(표3).

순환혈액내에 체중 kg당 3.0mg의 heparin을 정주하여 혈액 1ml당 39 μg의 heparin이 포함된 군에서는 heparin정주후 10분후에 30 ~ 40 μg의 protamine에서

중화되었고, 60분후에는 25 ~ 35 μg에서 중화되고 heparin을 체중 kg 당 2.0 mg을 정주한 후 1시간후에 추가로 heparin을 체중 kg당 1.0 mg을 정주한 군에서는 10분후에 25 ~ 40 μg의 protamine에서 중화되었고, 60분후에 20 ~ 35 μg의 protamine에서 중화되었다(표4).

C. 시험관실험군

혈액 1 ml 당 20 μg의 heparin이 포함된 군에서는 5분안에 20~35 μg의 protamine으로 중화되어 응고되었고, 10분안에는 15 ~ 45, 15분안에는 15 ~ 45, 20분후에는 10~100 μg에서 중화되었다. 혈액 1 ml 당 heparin이 40 μg 포함된 군에서는 5분안에 35 ~ 50의 protamine에서 중화되었고, 10분안에는 30 ~ 50, 15분안에는 30 ~ 100. 20분후에는 25 ~ 100 μg에서 중화되어 응고되었다. 혈액 1 ml 당 60 μg의 heparin이 포함된 군에서는 5분안에 50 ~ 100, 15분안에 40 ~ 100, 20분안에 40 ~ 200 μg의 protamine에서 중화되어 응고되었다. 혈액 1 ml 당 100 μg의 heparin이 포함된 군에서는 5분안에 100, 15분안에 100 ~ 200

표 3. Heparin(2.0 mg/kg) administration in vivo, and protamine neutralization using protamine titration test in vitro. O; clot, x; no clot.

does no protamine (μg/ml)		0	5	10	15	20	25	30	35	40	50	100	200	400	
Minutes after heparin injection															
CT(min.)															
10	5	x	x	x	x	x	0	0	0	x	x	x	x	x	
	10	x	x	x	x	0	0	0	0	0	0	x	x	x	
	15	x	x	x	0	0	0	0	0	0	0	x	x	x	
	20	x	x	x	0	0	0	0	0	0	0	0	x	x	
	30	x	x	0	0	0	0	0	0	0	0	0	x	x	
30	5	x	x	x	x	0	0	0	x	x	x	x	x	x	
	10	x	x	x	0	0	0	0	0	0	x	x	x	x	
	15	x	x	x	0	0	0	0	0	0	x	x	x	x	
	20	x	x	0	0	0	0	0	0	0	0	0	x	x	
	30	x	x	0	0	0	0	0	0	0	0	0	x	x	
60	5	x	x	x	0	0	0	0	x	x	x	x	x	x	
	10	x	x	0	0	0	0	0	0	x	x	x	x	x	
	15	x	x	0	0	0	0	0	0	0	x	x	x	x	
	20	x	x	0	0	0	0	0	0	0	0	0	x	x	
	30	x	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	x	x	
120	5	x	x	0	0	0	x	x	x	x	x	x	x	x	
	10	x	x	0	0	0	0	x	x	x	x	x	x	x	
	15	0	0	0	0	0	0	0	x	x	x	x	x	x	
	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	x	x	x	x	
	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	x	x	

표 4. Comparison study of initial 3.0 mg/kg heparin dose and initial 2.0 mg/kg heparin, after one hour additional 1.0 mg/kg heparin dose in vivo and protamine titration test in vitro. 0; clot, x; no clot.

		does of protamine ($\mu\text{g/ml}$)												
		0	5	10	15	20	25	30	35	40	50	100	200	400
Minutes after heparin injection														
Initial heparin 3.0 mg/kg injection	CT(min.)													
	5	x	x	x	x	x	x	0	0	0	x	x	x	x
	10	x	x	x	x	x	x	0	0	0	0	x	x	x
	15	x	x	x	x	x	0	0	0	0	0	0	x	x
	20	x	x	x	x	0	0	0	0	0	0	0	x	x
	30	x	x	x	0	0	0	0	0	0	0	0	x	x
	5	x	x	x	x	x	0	0	0	x	x	x	x	x
	10	x	x	x	x	0	0	0	0	x	x	x	x	x
	15	x	x	x	0	0	0	0	0	0	x	x	x	x
	20	x	x	x	0	0	0	0	0	0	0	x	x	x
	30	x	x	0	0	0	0	0	0	0	0	0	x	x
	Initial heparin 2.0 mg/kg injection, after 1 hour, additional 1.0 mg/kg injection.	5	x	x	x	x	x	0	0	0	0	x	x	x
10		x	x	x	x	0	0	0	0	0	0	x	x	x
15		x	x	x	0	0	0	0	0	0	0	x	x	x
20		x	x	x	0	0	0	0	0	0	0	0	x	x
30		x	x	0	0	0	0	0	0	0	0	0	x	x
5		x	x	x	x	0	0	0	0	x	x	x	x	x
10		x	x	x	0	0	0	0	0	x	x	x	x	x
15		x	x	0	0	0	0	0	0	0	0	x	x	x
20		x	x	0	0	0	0	0	0	0	0	x	x	x
30		x	x	0	0	0	0	0	0	0	0	0	x	x

μg 의 protamine에서 중화되어 응고되었다(표 5).

고 안

개심술에서 인공심폐기를 사용할 때 heparin은 혈액 응고를 방지하기 위하여 투여된다. 그리고 체외순환 종료시에는 protamine을 투여하여 heparin을 중화시켜서 출혈을 방지한다. 이때 heparin과 protamine의 용량 비를 어떻게 결정하느냐가 논란의 대상이 되고 있다.

heparin은 1916년, McLean에 의하여 강력한 항응고 효과가 있음이 발견되었고 heparin의 항응고효과는 혈장내에 존재하는 heparin-cofactor라는 물질의 존재시에만 발생한다고 1939년에 Brinkhons 등이 보고한 바 있고, 1950년에는 Lytleton이 혈장내의 antithrombin activity와 heparin-cofactor가 밀접한 관계가 있다는 것을 지적하였다. 이러한 학자들은 heparin과 antithrombin이 thrombin을 중화시키는 속도를 50~100배 정도 촉진시켜 항응고작용을 나타낸다고 시사하였으며 그후 1968년에 Abildgaard에 의하여 입증되었다.

heparin 존재시 protamine을 투여하면 일반적 경향은 protamine이 혈액성분과 결합하는 것 보다는 오히려 heparin과 먼저 작용하여 heparin의 항응고효과를 중화시키고 만약 중화시키고 남은 protamine이 존재하면 protamine 자체의 항응고효과를 나타낸다(Allen, 1947). 또한 antithrombin에 의한 thrombin의 중화를 purified human protein preparation을 이용하여 thrombin-antithrombin 복합체가 형성되어 heparin 존재시에는 순식간에 일어나나 protamine sulfate가 이것을 방해하여 heparin 중화작용이 나타난다고 보고한 바 있다(Robert, 1974).

protamine은 강한 염기성의 단백질과 같은 물질이며, 이 자체는 비록 heparin과 같이 강하지는 못하나 항응고효과가 있다. 이러한 항응고작용은 thromboplastin의 lipid moiety와 결합하여 thromboplastin을 비활성화시킴으로서 발생한다. 이외에 protamine은 뇌에 존재하는 prothrombin이 thrombin으로 전환되는 속도를 저하시키거나 방해하며 thrombin에 의해 fibrinogen이 fibrin으로 전환되는 것을 촉진한다고 보고한 바 있다

표 5. Heparin in vitro and protamine titration test in vitro. 0; clot, x; no clot.

dose of protamine($\mu\text{g}/\text{ml}$)	dose of heparin ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	0	5	10	15	20	25	30	35	40	50	100	200	400
	CT(min.)													
20	5	x	x	x	x	0	0	0	0	x	x	x	x	x
	10	x	x	x	0	0	0	0	0	x	x	x	x	x
	15	x	x	x	0	0	0	0	0	0	x	x	x	x
	20	x	x	x	0	0	0	0	0	0	x	x	x	x
	30	x	x	0	0	0	0	0	0	0	0	x	x	x
40	5	x	x	x	x	x	x	x	x	0	0	x	x	x
	10	x	x	x	x	x	x	0	0	0	0	x	x	x
	15	x	x	x	x	x	x	0	0	0	0	x	x	x
	20	x	x	x	x	x	0	0	0	0	0	x	x	x
	30	x	x	x	x	x	0	0	0	0	0	x	x	x
60	5	x	x	x	x	x	x	x	x	x	0	0	x	x
	10	x	x	x	x	x	x	x	x	x	0	0	x	x
	15	x	x	x	x	x	x	x	x	x	0	0	0	x
	20	x	x	x	x	x	x	x	x	0	0	0	0	x
	30	x	x	x	x	x	x	x	x	0	0	0	0	x
100	5	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	0	x	x
	10	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	0	x	x
	15	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	0	0	x
	20	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	0	0	x
	30	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	0	0	x

Ferguson, 1940). Cecil(1953)에 의하면 protamine 은 thromboplastin 생산 및 속도를 저하시킨다고 보고한 바 있으며 매우 높은 농도의 protamine 은 fibrinogen의 침강을 일으키고, 비교적 낮은 농도에서는 fibrinoplastic작용을 갖고 blood thromboplastin의 생산이나 속도를 촉진시키거나 thromboplastin 형성에는 영향이 없다. 비교적 높은 농도에서는 blood thromboplastin, prothrombin 과 calcium 사이의 작용을 방해한다.

개심술에서 인공심폐기를 사용할 때 일반적으로 사용하는 heparinization 소전설명서가 없는 것은 heparin에 대한 개개인의 반응이 많은 변동을 갖기 때문이다. 개심종료시 출혈을 방지하기 위해서 투여한 heparin을 protamine으로 중화시키는데, 이 중화정도를 아는 데는 whole blood coagulation time, partial thromboplastin time, ground-glass coating time, 및 thrombin clotting time test가 있으나 이들은 수술실내에서 실시키 어렵고 heparin reversal 평가가 제한되기에 최근에는 이를 복용하여 혈액응고시간을 혈액의 activated recalcification time test(BART)로 추적한 보고가 있고(Robert H., 1976), activated coagulation time

(ACT)가 흔히 이용되고 있다(Hattersley, 1966).

일반적으로 heparin을 protamine으로 중화시에 heparin 양의 1~2배의 protamine을 주는 것이 관례이며 만약 CT가 정상으로 회복안되면 더 많은 양의 protamine을 주는 것으로 되어 있다.

본 실험에서는 heparin 양에 0.5, 1, 1.5, 2배의 protamine을 주어 실험하였으며 가장 적합한 것이 1배로 추정되었다.

Parkins(1949)등의 보고에 의하면 시험관내 중화시 heparin 양의 100~150%의 protamine이 필요하고, 생체내에서는 중화시 heparin 양의 60~80%의 protamine이 필요하다고 보고한 바 있으며, 본 실험과 비교해 볼 때 거의 비슷한 결과를 보이고 있다. 인체 실험에서는 heparin 50 mg을 주사한 후 1시간후에는 정상 CT보다 4배정도 연장되었다가 차차 단축하여 3시간후에 정상으로 되돌아왔고 50 mg heparin 주사후, 15분후에 protamine을 15~25 mg 주사하면 CT가 정상으로 회복되지 못하고 40~50 mg을 준 경우에는 CT가 5분안에 정상회복함을 보고한 바 있다(Parkin et al. 1949), Murray N.(1959) 등에 의하면 주어진

heparin을 완전중화하는데 필요한 protamine 양은 heparin의 75%정도이고 heparin투여후 1시간후에는 effective heparin level이 빠르게 감소하기 때문에 protamine은 주어진 heparin의 50%만 주어도 완전중화가 일어난다고 보고한 바 있다. 최근개심술을 실시한 환자에게 주어진 heparin 양에 1.5배의 protamine 투여시 75%에서는 완전중화가 일어나, 정상 activated coagulation time (ACT)을 나타내나, 25%에서는 좀 더 많은 양의 protamine 투여후 완전중화됨을 보고한 바 있다 (Kenneth L., 1975).

본 생체실험에서는 heparin을 체중 kg 당 2.0 mg 투여후 1시간경과까지는 응고가 안되고 약 90분후에는 CT가 2배, PTT가 약 4배로 증가되고 3시간후에는 CT, PTT 모두 정상치로 회복됨을 보았다. heparin : protamine 비율을 1 : 1 투여하면 약 15분 경과후 CT, PTT 모두 정상치로 회복되었으나 1:0.5 비율에서는 CT 및 PTT가 지연되나 약 1시간후에는 정상치로 회복되었으며, 1:1.5 및 1:2에서는 CT, PTT가 약간 지연된 후 60, 90분후에 정상회복되었다. 그리고 생체 및 시험관실험에서는 투여된 heparin 양의 80~130%의 protamine에서 완전중화됨을 보았고, heparin 투여후 1시간후에는 50%의 protamine으로서 완전중화되었다. 시험관실험에서는 100~150%의 protamine에서 완전중화됨을 보여 생체실험보다 약간 많은 protamine 치를 보이고 있다.

본 실험중 protamine에 의한 부작용은 발견할 수 없었으며 응고기전측정방법에서는 CT test가 시간적으로 PTT test보다 더 예민하게 반응하는 것을 볼 수 있었다.

맺 음 말

개를 이용한 동물실험을 통하여 heparin을 투여하여 응고성을 잃은 혈액에 protamine sulfate를 0.5배에서 2배까지 비율로 중화시키어 응고성회복을 관찰하였으며, 생체실험, 생체·시험관실험 및 시험관실험을 실시하여 생체와 시험관에서의 서로 다른점을 관찰하였다.

1) heparin만을 투여한 군에서는 혈액응고시간 및 partial thromboplastin time은 heparin 투여후 혈액채취 시간에 따라 현저한 차이를 보였다.

2) heparin만을 투여한 군에서는 혈액응고시간 및 PTT가 180분후에 모두 정상회복하였다.

3) heparin 투여후, 60분 이내에서는 1:1, 60분후에는 1:0.5의 heparin-protamine 비율에서 혈액응고 시간과 PTT가 가장 빨리 정상으로 회복되었다.

4) 시험관실험에서는 heparin - protamine 비율이 1 :

0.85에서 1:1.5로 생체실험군보다 약간 연장되어 있다.

5) 이 실험결과 protamine sulfate를 과잉투여후 발생이 예측되는 부작용을 피하기 위한 가장 이상적인 heparin - protamine 중화비율은 heparin 투여후 60분 이내에는 1:1이고, 60분 이후에는 1:0.5가 가장 적합함이 밝혀졌다.

REFERENCES

1. Abildgaard, U. (1968). Cited from Heparin action, Robert, D. & Rosenberg, M.D. (1974). *Circulation*, 49, 603-605.
2. Allan, J. & Ominsky, K. (1971). *Is protamine a clinically important anticoagulation?* *Anesthesia*, 35, 123-125.
3. Allen, J.G. (1974). *Some observations on bleeding tendency in thrombocytopenic purpura.* *Ann. Inter. Med.* 27, 382-385.
4. Brinkhous, K. & Smith, H.P. (1939). *The inhibition of blood clotting: An unidentified substance which act in conjunction with heparin to prevent the conversion of protamine into thrombin.* *Am. J. Physiol.* 125, 683-687.
5. Cecil, H. (1958). *Anticoagulant action of protamine sulfate.* *Ann. Med. Exp. Biol.* 57, 130-133.
6. Ferguson, J.H. (1940). *Anticoagulant action of protamine sulfate.* *Am. J. Phys.* 130, 759-763.
7. Hattersley, P.G. (1966). *Activated coagulation time of whole blood.* *J.A.M.A.* 196, 436-438.
8. Kenneth, L., Mattox, M.D., Gene, A. & Arthur, C. (1975). *Use of the activated coagulation time in intraoperative heparin reversal for cardiovascular operations.* *Ann. Thorac. Surg.* 19, 634-638.
9. Langdell. (1953). *Cited from the textbook of clinical pathology.* 7th. Ed., 1966. 731.
10. Lee, R.I. & White, P.D. (1913). *A clinical study of the coagulation time of the blood.* *Am. J. Med. Sci.* 145, 495-503.
11. Lyttleton, J.W. (1954). *The antithrombin activity of heparin.* *Biochemistry J.* 58, 15-18.
12. Murray N. Anderson, M.D., Marinne M., and Guy A. Alfano. M.D., Buffalo, N.Y. (1959). *Experimental studies of heparin-protamine activity with special reference to protamine inhibition of clotting.* *Surgery*, 46, 1060-1068.

13. Parkin, T.W. & Walter, F.K. (1949). *Neutralization of the anticoagulant effects of heparin with protamine (salmine)*. *Am. Heart J.* 37, 333-342.
14. Robert, D. & Rosenbery. (1974). *Heparin action*. *Circulation.* 190, 603-605.
15. Robert, H.F. & A.J. Clement. (1976). *Individual responses to heparinization for extracorporeal circulation*. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 72, 875-879.
-