



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

의학박사 학위논문

정맥내 미분획 헤파린 치료를 받은 입원
환자에서 헤파린 모니터링을 위한
활성화부분트롬보프라스틴시간과 헤파린 항
Xa 검사결과 비교 및 헤파린 모니터링에
영향을 미치는 요인 분석

Comparison of activated partial thromboplastin time
and heparin anti-Xa test for heparin monitoring and
analysis of factors affecting heparin monitoring in
hospitalized patients treated with intravenous
unfractionated heparin

울 산 대 학 교 대 학 원

의 학 과

안 아 리

정맥내 미분획 헤파린 치료를 받은 입원
환자에서 헤파린 모니터링을 위한
활성화부분트롬보프라스틴시간과 헤파린 항
Xa 검사결과 비교 및 헤파린 모니터링에
영향을 미치는 요인 분석

지도교수 장 성 수

이 논문을 의학박사 학위 논문으로 제출함

2022 년 02 월

울 산 대 학 교 대 학 원

의 학 과

안 아 리

안아리의 의학박사학위 논문을 인준함

심사위원장	조영욱	인
심사위원	장성수	인
심사위원	김미영	인
심사위원	홍상범	인
심사위원	김지명	인

울산대학교대학원

2022년 02월

국문요약

배경: 헤파린은 각종 혈전 질환의 치료 및 예방에 사용되는 약물로 제조법 및 분자량에 따라 미분획 헤파린과 저분자 헤파린으로 나뉜다. 미분획 헤파린은 정맥 투여를 해야한다는 단점이 있지만 반감기가 짧고 신기능이 저하된 환자에서도 투여할 수 있다는 장점이 있어 입원 및 수술 후 가장 많이 사용되는 항응고제이다. 헤파린 모니터링 검사로는 활성화부분트롬보프라스틴시간(activated partial thromboplastin time, aPTT)와 헤파린 항 Xa 검사가 가장 많이 시행된다. aPTT 는 헤파린 등의 항응고제 이외에도 생물학적 인자에 영향을 많이 받는 검사로, 헤파린 내성이 있는 환자나, 간기능 부전 및 루푸스항응고인자 등으로 인해 baseline aPTT 가 연장된 환자들, 또는 제 VIII 인자 및 피브리노겐 등의 증가로 aPTT 반응이 떨어진 환자들에서는 특별히 헤파린 항 Xa 검사를 권고한다.

aPTT 와 달리 헤파린 항 Xa 검사는 생물학적 인자의 간섭효과가 적고, 헤파린 효과를 직접적으로 측정할 수 있다는 장점이 있으나 안티트롬빈의 영향을 받는 검사이다. 안티트롬빈 추가 여부에 따라 1 단계 헤파린 항 Xa 검사와 2 단계 헤파린 항 Xa 검사 시약이 있으나, 검사의 편리성 및 소요시간 등의 이유로 대부분의 국내 검사실에서는 안티트롬빈의 추가가 없는 1 단계 헤파린 항 Xa 검사가 시행 중이다. 현재까지 안티트롬빈의 헤파린 항 Xa 검사에 미치는 영향 및 임상적 유용성에 대해서는 연구가 부족한 실정이며, 헤파린 모니터링시에 안티트롬빈의 측정 및 투여에 대한 가이드라인도 명확하지 않다. 또한 실제 임상 상황에서 여러 생물학적 인자들이 복합적으로 작용할 때 헤파린 모니터링에 미치는 영향에 대해서도 연구가 필요하다.

대상 및 방법: 서울아산병원에서 2020 년 1 월부터 2021 년 8 월 사이에 정맥내 미분획 헤파린 치료를 받은 입원 환자 중, aPTT 과 1 단계 헤파린 항 Xa 검사를 동시에 시행한 환자 192 명의 628 검체를 대상으로 하였다. Asan Biomedical research Environment (ABLE)으로 해당 환자 및 익명화된 데이터를 추출하여 헤파린 모니터링을 위한 aPTT 와 1 단계 헤파린 항 Xa 검사결과 비교 및 환자의 나

이, 성별, 체질량지수 및 안티트롬빈, 제 VIII 인자, 피브리노겐, C-반응단백질 (C-reactive protein, CRP), 루푸스항응고인자 등 헤파린 모니터링에 영향을 미치는 생물학적 인자들을 후향적으로 분석하였다.

또한 건강대조군의 정상혼주혈장과 안티트롬빈 결핍 혈장(Affinity Biologicals, Ontario, Canada)을 이용하여 6 단계의 안티트롬빈 농도를 만들고, 각각에 0 U/mL 부터 1.0 U/mL 까지 헤파린을 첨가하여 11 단계의 헤파린 농도를 aPTT 와 1 단계 및 2 단계 헤파린 항 Xa 으로 측정하여 안티트롬빈이 헤파린 모니터링에 미치는 영향을 분석했다. SPSS version 24.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)으로 통계분석을 시행하였다.

결과: 헤파린을 투여 중인 환자에서 aPTT 와 1 단계 헤파린 항 Xa 는 약한 상관성을 보였으나, 안티트롬빈이 60% 이상인 그룹에서는 더 높은 상관성을 보였다 (각각 $R^2 = 0.154$, $R^2 = 0.419$, 모두 $P < 0.001$). 체외에서 헤파린을 혼합한 혈장에서는 aPTT 와 2 단계 헤파린 항 Xa 검사 및 1 단계 헤파린 항 Xa 검사와 2 단계 헤파린 항 Xa 검사 보다 aPTT 와 1 단계 헤파린 항 Xa 검사의 상관성이 더 좋았으며 (각각 $R^2 = 0.634$, $R^2 = 0.495$, $R^2 = 0.937$, 모두 $P < 0.001$), 특히 aPTT 와 1 단계 헤파린 항 Xa 검사의 분석의 안티트롬빈이 60% 이상인 군에서는 R^2 이 0.991 로 우수한 상관성을 보였다.

안티트롬빈이 60% 미만인 환자 그룹에서 환자 나이가 더 많았고, aPTT 와 CRP 는 더 높게, 헤파린 항 Xa 은 더 낮게 관찰되었다 (각각 $P = 0.032$, $P < 0.001$, $P < 0.001$, $P = 0.022$). 반면 CRP 가 10 mg/dL 이상인 그룹에서는 제 VIII 인자와 피브리노겐은 더 높게, 안티트롬빈은 더 낮게 관찰되었다 (각각 $P = 0.049$, $P < 0.001$, $P < 0.001$).

체외에서 헤파린을 혼합한 혈장에서 aPTT 는 안티트롬빈 농도 0%를 포함한 6 개의 그룹 모두에서, 1 단계 헤파린 항 Xa 검사에서는 0%를 제외한 5 개의 그룹 모두에서 혼합한 헤파린 농도 (0 - 1.0 U/mL)에 비례하여 직선성을 보였다 ($P < 0.001$). 또한 안티트롬빈 농도가 낮을수록 낮은 헤파린 활성도를 보였으며 aPTT 는 안티트롬빈 40%를 기준으로, 1 단계 헤파린 항 Xa 검사는 안티트롬빈 60%를

기준으로 헤파린 활성도가 과소평가 되었다. 특히 안티트롬빈이 0%인 군에서는 1 단계 헤파린 항 Xa 검사가 전혀 측정되지 않았다. 반면, 2 단계 헤파린 항 Xa 검사에서는 안티트롬빈 농도에 따른 결과의 차이가 없었다 ($P = 0.083$).

결론: 본 연구에서는 헤파린을 투여 중인 환자 검체와 체외에서 헤파린을 혼합한 혈장 검체를 이용하여 안티트롬빈이 헤파린 모니터링에 영향을 미치며, 특히 안티트롬빈의 추가가 없는 1 단계 헤파린 항 Xa 검사는 안티트롬빈의 영향을 크게 받는다는 것을 확인하여 헤파린 모니터링시에 안티트롬빈의 추적검사의 필요성을 기술하였다. 또한 본 연구에서는 안티트롬빈 수치 60%를 기준으로 통계적으로 의미 있는 결과를 얻었으며, 이를 통해 안티트롬빈이 60% 미만인 환자에서는 헤파린 모니터링 시에 체외에서(*in vitro*) 안티트롬빈의 추가가 있는 2 단계 헤파린 항 Xa 검사를 시행하거나, 안티트롬빈의 직접 투여(*in vivo*)가 도움이 될 수 있을 것으로 생각된다. 많은 상황에서 안티트롬빈의 감소는 제 VIII 인자, 피브리노겐, CRP 등 다른 급성기반응물질의 증가를 동반하므로 헤파린 모니터링 시에는 이들의 측정도 고려되어야 하며, 추후 실험적으로도 증명이 필요할 것으로 생각된다.

차 례

국문요약	i
표 차례	v
그림 차례	vi
서론	1
연구 대상 및 방법	4
1. 헤파린 투여 중인 환자 혈장을 이용한 헤파린 모니터링 검사	4
2. 체외에서 헤파린 첨가한 혈장을 이용한 헤파린 모니터링 검사	7
3. aPTT와 헤파린 항 Xa 검사의 직선성 및 상관성 비교	8
4. 헤파린 치료 범위에 따른 aPTT와 헤파린 항 Xa 검사 비교	9
5. 통계 분석 방법	10
연구결과	11
1. 헤파린 투여 중인 환자 혈장에서 aPTT와 헤파린 항 Xa 검사의 직선성 및 상관성 분석	11
2. 체외에서 헤파린 첨가한 혈장에서 aPTT와 헤파린 항 Xa 검사의 직선성 및 상관성 분석	14
3. 헤파린 투여 중인 환자에서 헤파린 치료 범위에 따른 aPTT와 헤파린 항 Xa 검사의 불일치 원인 분석	23
4. 헤파린 투여 중인 환자에서 헤파린 모니터링에 영향을 미치는 생물학적 인자	35
5. 체외에서 헤파린 첨가한 혈장에서 안티트롬빈이 헤파린 모니터링에 미치는 영향 분석	43
고찰 및 결론	47
참고문헌	53
영문요약	64

표 차례

Table 1. Baseline clinical and demographical data of the hospitalized patients treated with unfractionated heparin 6

Table 2. Frequency of activated partial thromboplastin time and 1 stage heparin anti-Xa according to subtherapeutic, therapeutic, and suprathreshold classification of heparin 24

Table 3. Patient characteristics and laboratory results according to the concordance between activated partial thromboplastin time and 1 stage heparin anti-Xa 25

Table 4. Patient characteristics and laboratory results according to factor VIII levels 36

Table 5. Patient characteristics and laboratory results according to fibrinogen levels 37

Table 6. Patient characteristics and laboratory results according to antithrombin levels 38

Table 7. Patient characteristics and laboratory results according to C-reactive protein levels 39

그림 차례

Figure 1. Correlation between 1 stage heparin anti-Xa and activated partial thromboplastin time (aPTT) with (A) (n = 628) or without outliers (B) in total hospitalized patients treated with unfractionated heparin (n = 381) 12

Figure 2. Correlation between 1 stage heparin anti-Xa and activated partial thromboplastin time (aPTT) with (A) (n = 460) or without outliers (B) in hospitalized patients treated with unfractionated heparin and with an antithrombin measured $\geq 60\%$ (n = 307) 13

Figure 3. Correlation between 1 stage heparin anti-Xa and activated partial thromboplastin time (aPTT) (A), 2 stage heparin anti-Xa and aPTT (B), and 1 stage and 2 stage heparin anti-Xa (C) *in vitro* heparin-spiked plasma (n = 66, respectively) 15

Figure 4. Correlation between 1 stage heparin anti-Xa and activated partial thromboplastin time (aPTT) according to the antithrombin levels *in vitro* heparin-spiked plasma (n = 11, respectively) 17

Figure 5. Correlation between 2 stage heparin anti-Xa and activated partial thromboplastin time (aPTT) according to the antithrombin levels *in vitro* heparin-spiked plasma (n = 11, respectively) 19

6. Correlation between 1 stage heparin anti-Xa and 2 stage heparin anti-Xa according to the antithrombin levels *in vitro* heparin-spiked plasma (n = 11, respectively) 21

Figure 7. Difference in factor VIII level according to the concordance between activated partial thromboplastin time (aPTT) and 1 stage heparin anti-Xa in hospitalized patients treated with unfractionated heparin (n = 230) 26

Figure 8. Difference in fibrinogen level according to the concordance between activated partial thromboplastin time (aPTT) and 1 stage heparin anti-Xa in hospitalized patients treated with unfractionated heparin (n = 548) 27

Figure 9. Difference in antithrombin level according to the concordance between activated partial thromboplastin time (aPTT) and 1 stage heparin anti-Xa in hospitalized patients treated with unfractionated heparin (n = 615) 28

Figure 10. Difference in C-reactive protein level according to the concordance between activated partial thromboplastin time (aPTT) and 1 stage heparin anti-Xa in hospitalized patients treated with unfractionated heparin (n = 616) 29

Figure 11. Proportion of data pairs with a high versus low factor VIII in each group of hospitalized patients treated with unfractionated heparin ($P = 0.667$) 31

Figure 12. Proportion of data pairs with a high versus low fibrinogen in each group of hospitalized patients treated with unfractionated heparin ($P = 0.698$) 32

Figure 13. Proportion of data pairs with a high versus low antithrombin in each group of hospitalized patients treated with unfractionated heparin ($P = 0.007$) 33

Figure 14. Proportion of data pairs with a high versus low C-reactive protein in each group of hospitalized patients treated with unfractionated heparin ($P = 0.294$) 34

Figure 15. Correlation between C-reactive protein and antithrombin in hospitalized patients treated with unfractionated heparin ($n = 606$) . 40

Figure 16. Correlation between C-reactive protein and factor VIII in hospitalized patients treated with unfractionated heparin ($n = 229$) . 41

Figure 17. Correlation between C-reactive protein and fibrinogen in hospitalized patients treated with unfractionated heparin ($n = 544$) . 42

Figure 18. Analysis for activated thromboplastin time (aPTT) vs heparin level according to the antithrombin levels *in vitro* heparin-spiked plasma 44

Figure 19. Analysis for 1 stage heparin anti-Xa vs heparin level according to the antithrombin levels *in vitro* heparin-spiked plasma 45

Figure 20. Analysis for 2 stage heparin anti-Xa vs heparin level according to the antithrombin levels *in vitro* heparin-spiked plasma 46

서론

헤파린은 각종 혈전 질환의 치료 및 예방에 사용되는 약물로 제조법 및 분자량에 따라 미분획 헤파린과 저분자 헤파린으로 나뉜다[1-3]. 미분획 헤파린은 정맥 투여를 해야한다는 단점이 있지만 반감기가 짧고 신기능이 저하된 환자에서도 투여할 수 있다는 장점이 있어 입원 및 수술 후 가장 많이 사용되는 항응고제이다[4-6]. 또한 체외순환막형산화요법(extracorporeal membrane oxygenation, ECMO) 기술에서도 항응고제로 헤파린이 가장 많이 사용되며 점차 그 빈도는 늘어나고 있다[7-10].

투여된 헤파린은 안티트롬빈(antithrombin, AT)과 결합하여 헤파린-안티트롬빈 복합체를 형성하고, 이는 트롬빈과 제 Xa, IXa, XIa, XIIa 인자를 비롯한 응고인자의 작용을 억제한다[11, 12]. 이중 트롬빈과 제 Xa 인자를 억제하는 것이 헤파린의 주요 기전이며 18 개 이상의 당류, 즉 5,400 Da 이상의 분자량을 가지는 미분획 헤파린은 안티트롬빈과 응고인자 모두에 결합하여 트롬빈을 억제하여 항응고 효과를 나타낸다[13-15].

헤파린의 가장 흔한 부작용은 출혈이며 이는 헤파린 투여 용량에 비례하여 증가한다[16, 17]. 하지만 헤파린은 개개인마다 매우 다양한 용량-반응 관계를 보이며, 약동학을 예측하기 어렵다[14, 18]. 출혈 및 혈전 생성을 최소화하고 충분한 혈전 질환의 치료 및 예방 효과를 얻기 위해서는 헤파린의 치료 범위 모니터링이 필요하다[19, 20]. 일반적으로 활성화부분트롬보프라스틴시간(activated partial thromboplastin time, aPTT)을 측정하여 헤파린 용량을 조정하고 항응고 효과를 모니터링 하며[18], 헤파린 항 Xa 검사(anti-Xa test)와 간이검사인 활성화응고시간 (activated clotting time, ACT) 및 혈전탄성모사도(Thromboelastography, TEG)로도 가능하다[20, 21]. 가장 최근에 발표된 헤파린 모니터링에 대한 가이드라인에서는 aPTT 검사 및 헤파린 항 Xa 검사를 추천하며, 2 회 연속으로 적정 치료 범위에 도달하기 까지 6 시간 마다 검사해야 한다[20]. 다만 헤파린 내성이 있는 환자나, 간기능 부전 및 루푸스항응고인자 등으로 인해 baseline aPTT 가 연장된 환자들, 또는 제 VIII 인자 및 피브리노겐 등의 증가로 aPTT 반응이 떨어진 환자들에서는 특별히 헤파린 항 Xa 검사를 권고한다[20].

대부분의 국내 병원에서는 헤파린 항 Xa 검사가 불가능하며, 현실적으로 6 시간 마다 헤파린 항 Xa 검사를 추적하는 것은 어렵기 때문에 aPTT 로 모니터링을 시작하게 된다. 헤파린 모니터링시에 흔하게 문제가 되는 것은 헤파린 내성과 모니터링 검사 간의 불일치이다[15, 22]. 헤파린 내성은 aPTT 및 ACT 를 치료 범위까지 올리기 위해 35,000 unit/day 을 초과하는 고용량의 헤파린을 필요로 하거나, 또는 치료 범위에 도달하지 못하는 것으로 정의된다[23]. 특히 급성기 환자에서 잘 동반되는 제 VIII 인자 및 피브리노겐의 증가, 안티트롬빈의 감소는 헤파린 내성, 즉 헤파린 효과의 과소 평가의 원인이 된다[15]. 헤파린 내성의 의심되는 상황에서는 헤파린 항 Xa 검사, 특히 안티트롬빈의 추가가 있는 2 단계 헤파린 항 Xa 검사가 추천된다[15, 24].

또한 aPTT 는 헤파린 이외에도 내인성 경로 및 공통 경로에 해당되는 응고인자 및 생물학적 인자의 영향을 받는 검사로, 앞서 언급한 헤파린 내성의 원인 이외에도 간기능저하 및 소모성 인한 응고인자 결핍, 루푸스항응고인자 등이 있으면 aPTT 가 과도하게 증가하고 헤파린 효과가 과대 평가 될 수 있다 [23, 25-28]. 뿐만 아니라 aPTT 는 시약과 장비의 조합이 현재까지 300 가지가 넘게 있으며 그 조합에 따라 매우 다양한 치료 범위를 보일 수 있으며 표준화가 어렵다는 문제가 있다[29, 30]. 헤파린 항 Xa 검사는 이런 영향을 받지 않으며, 오직 투여된 헤파린 용량과 안티트롬빈의 영향만을 받게 되어 헤파린 항 Xa 검사로 해결할 수 있다[31, 32]. 하지만 헤파린 항 Xa 검사는 aPTT 와 달리, 발색 반응을 측정하는 검사로 용혈이나 고빌리루빈혈증 및 고중성지방혈증이 있으면 헤파린 효과가 과소 평가 및 과대 평가 될 수 있어 aPTT 와 헤파린 항 Xa 검사의 불일치 결과를 보일 수 있다[26, 33-35].

전통적인 헤파린 항 Xa 검사는 과량의 제 Xa 인자와 안티트롬빈을 추가하여 환자 체내의 헤파린과 결합시키고, 헤파린과 결합하지 않고 남은 제 Xa 인자가 추가된 기질과 함께 발색 반응을 일으키는 것을 이용한다[36]. 흡광도는 체내 헤파린 양에 반비례하며 aPTT 와 달리 생물학적 인자의 간섭효과가 적고, 헤파린 효과를 직접적으로 측정할 수 있다는 장점이 있다[24, 37]. 전통적인, 안티트롬빈을 추가하는, 헤파린 항 Xa 검사는 환자의 안티트롬빈 수치에 영향을 받지 않으므로 오직 투여된 헤파린 용량에만 영향을 받는다[24]. 현재 몇몇 제조사에서는 안티트롬빈 추가 여부에 따라 1 단계 헤파린 항 Xa 검사와 2 단계 헤파린 항

Xa 검사 시약을 구분하여 제조하고 있다. 검사의 편리성 및 소요시간 등의 이유로 대부분의 국내 검사실에서는 안티트롬빈의 추가가 없는 1 단계 헤파린 항 Xa 검사가 시행 중이다.

헤파린 내성 및 모니터링 검사 간의 불일치 원인 중 가장 흔한 것은 안티트롬빈 결핍으로, 많은 임상 상황에서 후천성 안티트롬빈 결핍이 발생할 수 있으며 [38-40], 특히 헤파린 투여 자체가 안티트롬빈의 제거 속도를 높여 이차적인 안티트롬빈 결핍을 만들 수 있기 때문에 헤파린 모니터링 시에 안티트롬빈의 역할은 중요하다[15]. 많은 가이드라인과 문헌에서는 안티트롬빈 결핍 시에 헤파린 항 Xa 검사로 정확한 헤파린 모니터링이 가능한 것으로 발표되고 있다[15, 20, 41]. 하지만 헤파린 항 Xa 검사 역시 안티트롬빈의 영향을 받는 검사로 국내 검사실과 같이 1 단계 헤파린 항 Xa 검사를 시행할 때는 헤파린 항 Xa 검사가 과소평가 될 수 있어서 주의가 필요하다. 현재까지 안티트롬빈의 헤파린 항 Xa 검사에 미치는 영향 및 임상적 유용성에 대해서는 연구가 부족한 실정이며, 헤파린 모니터링시에 안티트롬빈의 측정 및 투여에 대한 가이드라인도 명확하지 않다 [42]. 또한 실제 임상 상황에서 여러 생물학적 인자들이 복합적으로 작용할 때 헤파린 모니터링에 미치는 영향에 대해서도 연구가 필요하다. 본 연구의 목적은 실제 헤파린을 투여 중인 환자 검체와 헤파린을 첨가한 정상혼주혈장을 이용하여 헤파린 모니터링에 영향을 미치는 생물학적 인자에 대해 분석하고 헤파린 모니터링에 대한 지침을 제안하고자 하였다.

연구 대상 및 방법

1. 헤파린 투여 중인 환자 혈장(*in vivo* heparin-treated plasma)을 이용한 헤파린 모니터링 검사

서울아산병원에서 2020년 1월부터 2021년 8월 사이에 정맥내 미분획 헤파린 치료를 받은 입원 환자 중, 채혈시간을 기준으로 aPTT 과 1 단계 헤파린 항 Xa 검사를 동시에 시행한 환자 192 명의 628 검체를 대상으로 하였다. Asan Biomedical research Environment (ABLE)으로 해당 환자 및 익명화된 데이터를 추출하여 헤파린 모니터링을 위한 aPTT 와 1 단계 헤파린 항 Xa 검사결과 비교 및 환자의 나이, 성별, 체질량지수 및 안티트롬빈, 제 VIII 인자, 피브리노겐, C-반응단백질 (C-reactive protein, CRP), 루푸스항응고인자 등 헤파린 모니터링에 영향을 미치는 생물학적 인자들을 후향적으로 분석하였다. 또한 헤파린 투여 전 aPTT 와 프로트롬빈시간(prothrombin time, PT), 헤파린 투여 목적 등을 조사하였다 (IRB 승인번호 S2020-3038-0001).

환자의 남녀 비율은 1.5:1, 평균 연령은 57.6 세 였으며, 평균 체질량 지수는 24.5 이었다. 헤파린 치료 적응증으로는 체외순환막형산화요법이 가장 많았고 (n = 150, 78.1%), 심장 관막 수술 및 관상 동맥 우회로 이식술(coronary artery bypass graft surgery, CABG) 등의 심장 수술 후 (n = 17, 8.9%), 그 외 예방요법 (n = 12, 6.3%) 순으로 예방적 목적이 대부분을 차지했다. 헤파린 투여 전 aPTT 와 프로트롬빈시간 INR 을 시행한 환자는 167 명이었으며, 평균 aPTT 와 프로트롬빈시간 INR 각각 28.24 초, 1.121 이었다 (표 1). 루푸스항응고인자 양성인 환자는 없었다.

서울아산병원에서의 헤파린 프로토콜은 다음과 같다. 초기 부하 용량으로 헤파린나트륨 주사액(heparin sodium injection 25,000 U/5mL, 한림제약, 한국) 3,000 U 을 정맥주사 하고, 이후 초기 유지 용량으로 헤파린 20,000 U 과 생리식염수 500cc 를 혼합하여 800 U/hour 로 지속적으로 투여한다. 헤파린의 반감기를 고려하여 처음 헤파린을 투여하고 6 시간 후에 aPTT 를 시행하여 모니터링 결과에 따라 필요 시 헤파린 유지 용량을 변경한다. 또한 헤파린 내성 및 과도한 aPTT 증가로 헤파린 효과의 과소 및 과대 평가가 의심되는 경우에는 헤파린 항 Xa, 안티트롬빈, 응고인자 및 피브리노겐 검사를 시행하고 진단검사의학과 컨설

팅을 추천하였다.

aPTT, 1 단계 헤파린 항 Xa, 안티트롬빈, 제 VIII 인자, 및 피브리노겐 검사를 위해 3.2% sodium citrate 검체를 3,500 rpm 에서 10 분간 원심침전한 후 혈소판 결핍혈장을 분리하였으며 검사는 4 시간 이내에 수행되었다. aPTT 와 피브리노겐 검사는 CS-5100 (Sysmex Corporation, Kobe, Japan) 자동응고분석기를 사용하여 각각 Actin FSL (Siemens Healthcare Diagnostics, Marburg, Germany)과 Dade[®] Thrombin Reagent (Siemens Healthcare Diagnostics, Germany)시약으로 시행하였으며, 1 단계 헤파린 항 Xa 와 제 VIII 인자 검사는 ACL-TOP 750 CTS (Instrumentation Laboratory, Milan, Italy) 자동응고분석기를 사용하여 각각 같은 제조사의 HemosIL[®] liquid anti-Xa (Instrumentation Laboratory, Italy) 와 HemosIL[®] factor VIII deficient plasma (Instrumentation Laboratory, Italy) 시약으로 시행하였다. 안티트롬빈 검사는 STA-R EVOLUTION (Diagnostica Stago, Asnieres, France) 자동응고분석기를 사용하고 시약은 같은 제조사의 STA-Stachrom ATIII (Diagnostica Stago, France)를 사용하였다. CRP 검사를 위해 혈청 검체를 분리하였다. cobas 8000 c702 (Roche Diagnostics System, Switzerland) 자동생화학분석기를 사용하고 전용 시약으로 시행하였다.

Table 1. Baseline clinical and demographical data of the hospitalized patients treated with unfractionated heparin

		Total patients (n = 192)	Total specimens (n = 628)
Gender (%)	Male	114 (59.4)	378 (60.2)
	Female	78 (40.6)	250 (39.8)
Age (yrs)		57.6 ± 15.84	55.4 ± 15.90
BMI (kg/m ²)		24.5 ± 5.01	24.8 ± 4.88
UFH Indication (%)	ECMO	150 (78.1)	549 (87.4)
	Post cardiac operation	17 (8.9)	27 (4.3)
	Other prophylaxis	12 (6.3)	30 (4.8)
	Venous thromboembolism	6 (3.1)	7 (1.1)
	Pulmonary embolism	5 (2.6)	6 (1.0)
	Portal vein thrombosis	1 (0.5)	5 (0.8)
	Other thrombosis	1 (0.5)	4 (0.6)
Baseline coagulation test	aPTT (sec)	28.24 ± 3.090	
(n = 167)	PT (INR)	1.121 ± 0.226	

BMI, body mass index; UFH, unfractionated heparin; ECMO, extracorporeal membrane oxygenation; aPTT, activated partial thromboplastin time; PT, prothrombin time

2. 체외에서 헤파린 첨가한 혈장(*in vitro* heparin-spiked plasma)을 이용한 헤파린 모니터링 검사

서울아산병원의 건강검진 수진자 중에서 백혈구수, 혈색소농도, 혈소판수, 프로트롬빈시간, 및 aPTT 검사에서 정상 결과를 보인 건강대조군을 대상으로, 당일 3.2% sodium citrate 용기에 채혈한 것을 3,500 rpm 에서 10 분간 원심침전한 후 혈소판결핍혈장을 분리하였다. 각각의 혈소판결핍혈장으로부터 수집된 정상혼주혈장(normal pooled plasma)을 안티트롬빈 결핍 혈장 (Affinity Biologicals, Ontario, Canada)으로 희석하여 각각 안티트롬빈 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100% 의 6 가지 안티트롬빈 농도의 혈장을 만들었다.

각각의 혈장에 서울아산병원에서 사용하고 있는 헤파린나트륨 주사액(heparin sodium injection 25,000 U/5mL, 한림제약, 한국)와 생리식염수를 희석하여 100 U/mL 헤파린 용액으로 만들었다. 먼저 5,000 U/mL 헤파린 100 μ L 와 생리식염수 400 μ L 를 혼합시켜서 1,000 U/mL 헤파린 농도를 만들고, 1,000 U/mL 헤파린 50 μ L 와 생리식염수 450 μ L 를 혼합시켜 100 U/mL 헤파린 용액을 만들었다. 100 U/mL 헤파린 용액을 1 U/mL 헤파린 농도를 갖는 헤파린 첨가한 혈장 (heparinized plasma)으로 만들기 위해 100 U/mL 헤파린용액 50 μ L 과 앞서 제조한 6 가지 안티트롬빈 농도의 혈장 4950 μ L 를 각각 혼합시켜서 6 가지 안티트롬빈 농도의 1 U/mL 헤파린 농도를 갖는 헤파린 첨가한 혈장을 만들었다. 6 가지 안티트롬빈 농도의 혈장에 0 U/mL 부터 1.0 U/mL 까지 0.1 U/mL 씩 헤파린 농도를 상승시켜 11 단계 헤파린 농도의 검체를 준비하였으며, 이를 각각 2 번씩 반복하여 측정하였다.

aPTT 검사 및 헤파린 항 Xa 검사는 STA-R EVOLUTION (Diagnostica Stago, France) 자동응고분석기와 같은 제조사의 시약을 사용하였다. aPTT 는 STA-PTT Automate (Diagnostica Stago, France)으로 시행하였으며, 헤파린 투여 중인 환자 혈장을 이용한 aPTT 와 달리 측정 범위를 확장하여 180 초 이상도 측정할 수 있도록 하였다. 또한 헤파린 투여 중인 환자 혈장을 이용한 헤파린 항 Xa 검사와 달리 1 단계 헤파린 항 Xa 검사와 2 단계 헤파린 항 Xa 검사를 모두 시행하였으며, 안티트롬빈의 추가가 없는 1 단계 헤파린 항 Xa 검사는 STA-Liquid Anti-Xa[®] (Diagnostica Stago, France), 안티트롬빈의 추가가 있는 2 단계 헤파린 항 Xa 검사는 STA-Staclot[®] heparin (Diagnostica Stago, France)로 시행하였다.

3. aPTT와 헤파린 항 Xa 검사의 직선성 및 상관성 비교

헤파린 치료중인 환자 혈장과 체외에서 헤파린을 혼합한 혈장에서 각각 aPTT와 헤파린 항 Xa 검사 결과에 대해 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP06-A2와 EP09-A3에 따라 직선성 및 상관성 분석을 실시하였다[43, 44]. 헤파린 치료중인 환자 혈장에서 정량값의 분석을 위해 aPTT가 180초 초과일 때는 180초로 표시하고, 헤파린 치료중인 환자의 1단계 헤파린 항 Xa 검사 HemosIL[®] liquid anti-Xa (Instrumentation Laboratory, Italy)의 결과가 검출한계인 0.04 IU/mL 미만일 때는 0.04 IU/mL로 표시했다. 체외에서 헤파린을 혼합한 혈장에서는 1단계 항 Xa 검사 STA-Liquid Anti-Xa[®] (Diagnostica Stago, France)와 2단계 항 Xa 검사 STA-Staclot[®] heparin (Diagnostica Stago, France)의 결과가 검출한계인 0.01 IU/mL 미만일 때는 0.0 IU/mL로 표시하여 회귀방정식과 상관계수(coefficient of correlation, r)를 산출하였다. 상관계수(r)가 0.975 이상 혹은 R²이 0.95 이상이면 상관성이 우수하다고 판단하였다[43]. 체외에서 헤파린을 혼합한 혈장에서는 추가적으로 6가지의 안티트롬빈 농도에 따라 각각의 aPTT와 1단계 및 2단계 헤파린 항 Xa 검사의 직선성 및 상관성 분석을 시행하였다.

4. 헤파린 치료 범위에 따른 aPTT와 헤파린 항 Xa 검사 비교

헤파린 치료중인 환자 혈장을 이용한 분석에서는 서울아산병원에서 설정한 일반적 헤파린 치료 범위(aPTT 50 - 70 초, 항 Xa 0.3 - 0.7 IU/mL) (n = 614) 및 저용량 치료 범위(aPTT 40 - 60 초, 항 Xa 0.1 - 0.6 IU/mL) (n = 14)를 기준으로 치료 범위 미만(subtherapeutic), 치료 범위(therapeutic), 치료 범위 이상(supratherapeutic)을 나누었고, aPTT와 1 단계 헤파린 항 Xa 검사의 카파 계수와 일치율을 구해 일치도를 판단하였다. 카파 계수가 0.21 미만이면 약간의 일치도, 0.21 이상이면 어느 정도의 일치도, 0.41 이상이면 적당한 일치도, 0.61 이상이면 상당한 일치도, 0.81 이상이면 완벽한 일치도를 보이는 것으로 판단하였다[45]. aPTT와 1 단계 헤파린 항 Xa 검사의 치료 범위가 일치하는지, 헤파린 항 Xa에 비해 aPTT가 연장되었는지 혹은 짧아졌는지에 따라 그룹을 나누어 각군의 환자 특성 및 검사 결과를 비교하였으며, aPTT와 1 단계 헤파린 항 Xa 검사의 불일치 원인을 분석하였다. 또한 기존 문헌에서 정상범위로 보고하거나 헤파린 모니터링에 영향을 미친다고 보고한 제 VIII 인자 200%[15] (서울아산병원 정상범위 50 - 150%), 피브리노겐 350 mg/dL[46, 47] (서울아산병원 정상범위 200 - 400 mg/dL), 안티트롬빈 60%[48, 49] (서울아산병원 정상범위 80 - 120%), CRP 10 mg/dL[50, 51] (서울아산병원 정상범위 0 - 0.6 mg/dL)를 기준으로 각각 두 그룹으로 나누어 aPTT와 1 단계 헤파린 항 Xa 검사의 일치 및 불일치를 비교하고, 그룹 간 헤파린 모니터링에 영향을 미치는 생물학적 인자들의 상관성을 분석하였다.

5. 통계 분석 방법

모든 통계분석은 SPSS version 24.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 사용하였다. aPTT 와 헤파린 항 Xa 검사 결과의 상관관계는 단순 회귀분석과 Pearson의 상관계수를 사용하여 분석하였다. 치료 범위에 따른 aPTT 과 1 단계 헤파린 항 Xa 결과 비교는 선형 대 선형 결합 분석을 실시하였고, 또한 aPTT 와 1 단계 헤파린 항 Xa 일치 및 불일치 그룹에 따른 성별, 나이, aPTT, 1 단계 헤파린 항 Xa, 제 VIII 인자, 피브리노겐, 안티트롬빈, 및 CRP 결과 비교는 선형 대 선형 결합 분석 및 Kruskal-Wallis 분석을 이용하였다. 제 VIII 인자 200%, 피브리노겐 350 mg/dL, 안티트롬빈 60%, CRP 10 mg/dL 기준으로 그룹 간 헤파린 모니터링에 영향을 미치는 생물학적 인자들의 상관성 분석은 Mann-Whitney 분석과 Fisher의 정확한 검정을 이용하였다. 체외에서 헤파린을 혼합한 혈장에서 안티트롬빈 농도에 따른 aPTT 와 1 단계 및 2 단계 헤파린 항 Xa 검사 결과의 반복 측정은 반복 측정 분산분석을 이용했다. *P* 값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

연구결과

1. 헤파린 투여 중인 환자 혈장에서 aPTT 와 헤파린 항 Xa 검사의 직선성 및 상관성 분석

aPTT 와 1 단계 헤파린 항 Xa 검사를 동시에 시행한 628 검체 중 검사 당일 접수된 안티트롬빈은 615 건, 제 VIII 인자는 230 건, 피브리노겐은 548 건, CRP 는 616 건이 있었다. 총 628 검체 중 같은 환자의 반복 검사 횟수 중앙값은 2 회 (범위 1 - 26)였다. 헤파린 치료중인 환자들의 aPTT 와 1 단계 헤파린 항 Xa 는 약한 직선성과 상관성을 보였으며 ($y = 36.627x + 38.552$, $R^2 = 0.154$, $P < 0.001$), aPTT 가 180 초 초과와 1 단계 헤파린 항 Xa 검사 결과가 0.04 IU/mL 미만인 값을 제외하면 ($n = 381$) 회귀식은 $y = 22.230x + 39.356$, $R^2 = 0.136$, $P < 0.001$ 이었다 (그림 1). 안티트롬빈이 60% 이상인 그룹 ($n = 460$)에서는 aPTT 와 1 단계 헤파린 항 Xa 결과는 더 높은 상관성을 보였으며 ($y = 42.814x + 34.582$, $R^2 = 0.328$, $P < 0.001$), 안티트롬빈이 60% 이상인 그룹에서 aPTT 가 180 초 초과와 1 단계 헤파린 항 Xa 검사 결과가 0.04 IU/mL 미만인 값을 제외하면 ($n = 307$) 회귀식은 $y = 44.414x + 33.655$, $R^2 = 0.419$, $P < 0.001$ 이었다 (그림 2).

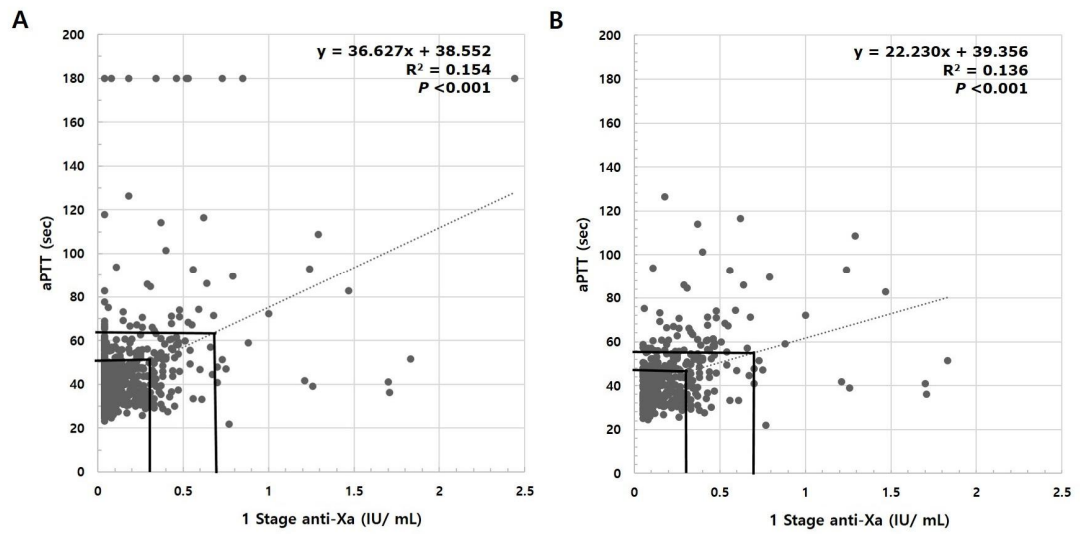


Figure 1. Correlation between 1 stage heparin anti-Xa and activated partial thromboplastin time (aPTT) with (A) (n = 628) or without outliers (B) in total hospitalized patients treated with unfractionated heparin (n = 381).

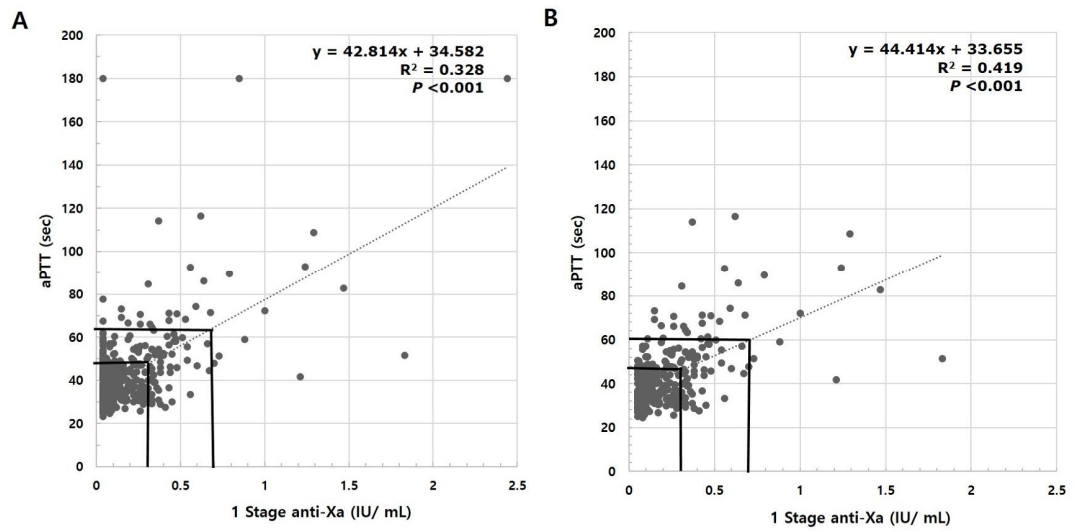


Figure 2. Correlation between 1 stage heparin anti-Xa and activated partial thromboplastin time (aPTT) with (A) (n = 460) or without outliers (B) in hospitalized patients treated with unfractionated heparin and with an antithrombin measured $\geq 60\%$ (n = 307).

2. 체외에서 헤파린 첨가한 혈장에서 aPTT 와 헤파린 항 Xa 검사의 직선성 및 상관성 분석

체외에서 헤파린을 혼합한 혈장에서 aPTT, 1 단계 및 2 단계 헤파린 항 Xa 검사의 직선성과 상관성은 다음과 같았다 (그림 3). aPTT 와 2 단계 헤파린 항 Xa 검사 및 1 단계 헤파린 항 Xa 검사와 2 단계 헤파린 항 Xa 검사 보다 aPTT 와 1 단계 헤파린 항 Xa 검사의 상관성이 더 좋았다 (각각 $R^2 = 0.634$, $R^2 = 0.495$, $R^2 = 0.937$, 모두 $P < 0.001$). 특히 aPTT 와 1 단계 헤파린 항 Xa 검사의 분석에서 안티트롬빈이 60% 이상일 때는 R^2 이 0.991 로 우수한 직선성과 상관성을 보였다 ($P < 0.001$). 안티트롬빈 60% 인 그룹, 40%인 그룹, 20%인 그룹 순서로 회귀식의 기울기가 증가했다. 안티트롬빈이 0%인 군에서는 모든 헤파린 농도에서 1 단계 헤파린 항 Xa 이 모두 검출한계 미만 (< 0.01)으로 측정되었고, 1 단계 헤파린 항 Xa 검사뿐만 아니라 aPTT 도 낮게 측정되었다 (그림 4).

aPTT 와 2 단계 헤파린 항 Xa 검사 분석에서는 안티트롬빈이 60% 이상일 때 R^2 이 0.915 였으며 ($P < 0.001$), 안티트롬빈이 0%인 군에서는 2 단계 헤파린 항 Xa 검사에 비해 aPTT 가 크게 영향을 받아 낮게 측정되었다 (그림 5). 1 단계 헤파린 항 Xa 검사와 2 단계 헤파린 항 Xa 검사의 분석에서는 안티트롬빈이 60% 이상일 때 R^2 이 0.909 였으며 ($P < 0.001$), 안티트롬빈이 0%인 군에서도 2 단계 헤파린 항 Xa 는 잘 측정되었다 (그림 6).

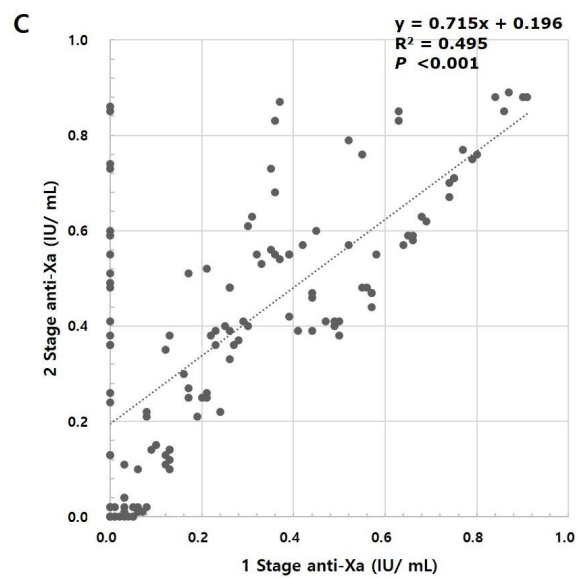
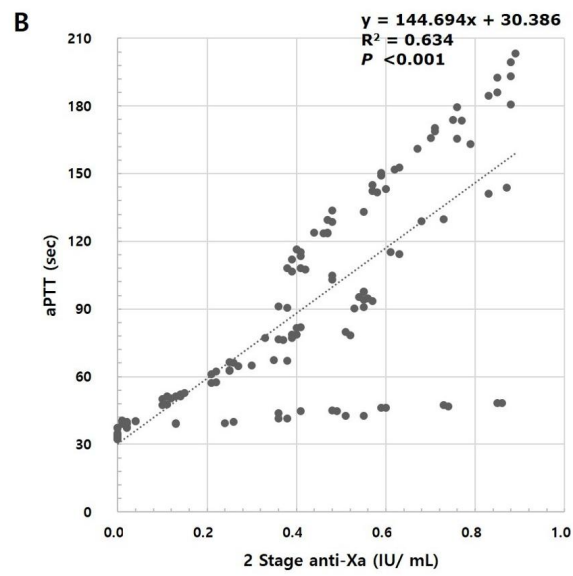
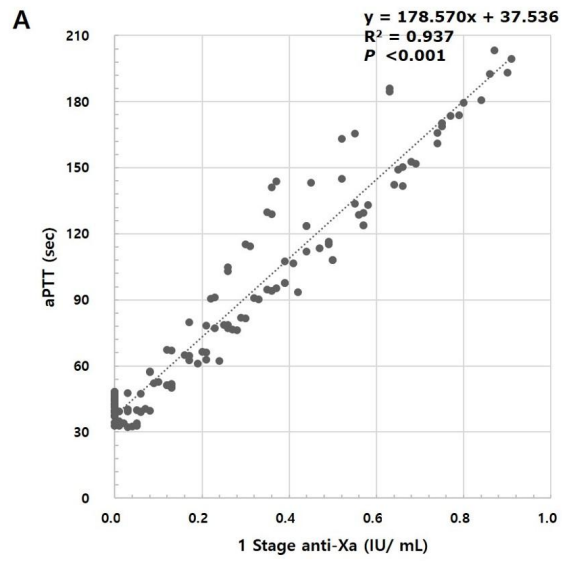


Figure 3. Correlation between 1 stage heparin anti-Xa and activated partial thromboplastin time (aPTT) (A), 2 stage heparin anti-Xa and aPTT (B), and 1 stage and 2 stage heparin anti-Xa (C) *in vitro* heparin-spiked plasma (n = 66, respectively).

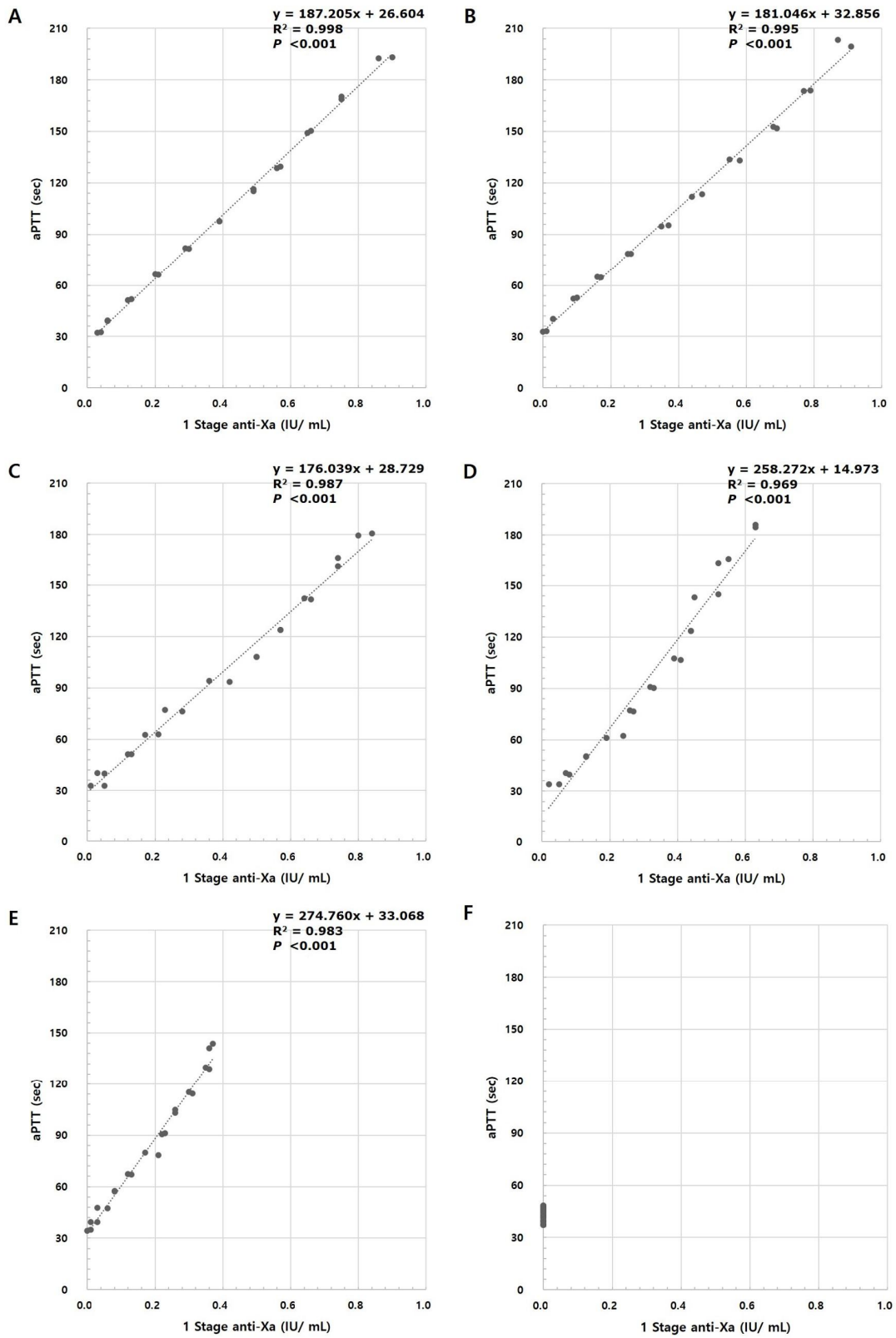


Figure 4. Correlation between 1 stage heparin anti-Xa and activated partial thromboplastin time (aPTT) according to the antithrombin levels *in*

vitro heparin-spiked plasma (n = 11, respectively).

Antithrombin 100% (A), antithrombin 80% (B), antithrombin 60% (C),
antithrombin 40% (D), antithrombin 20% (E), antithrombin 0% (F).

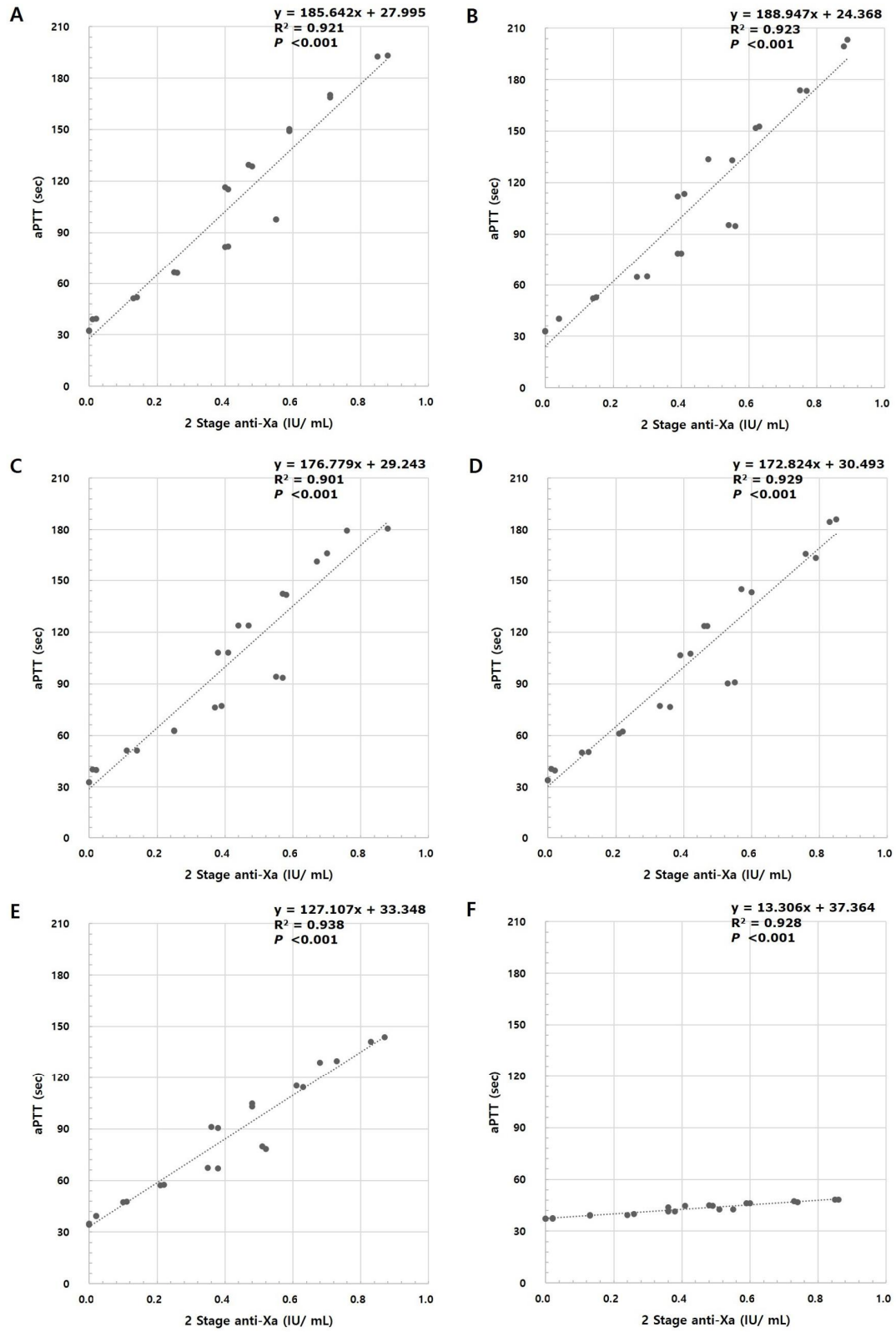


Figure 5. Correlation between 2 stage heparin anti-Xa and activated partial thromboplastin time (aPTT) according to the antithrombin levels *in*

vitro heparin-spiked plasma (n = 11, respectively).

Antithrombin 100% (A), antithrombin 80% (B), antithrombin 60% (C),
antithrombin 40% (D), antithrombin 20% (E), antithrombin 0%
(F).

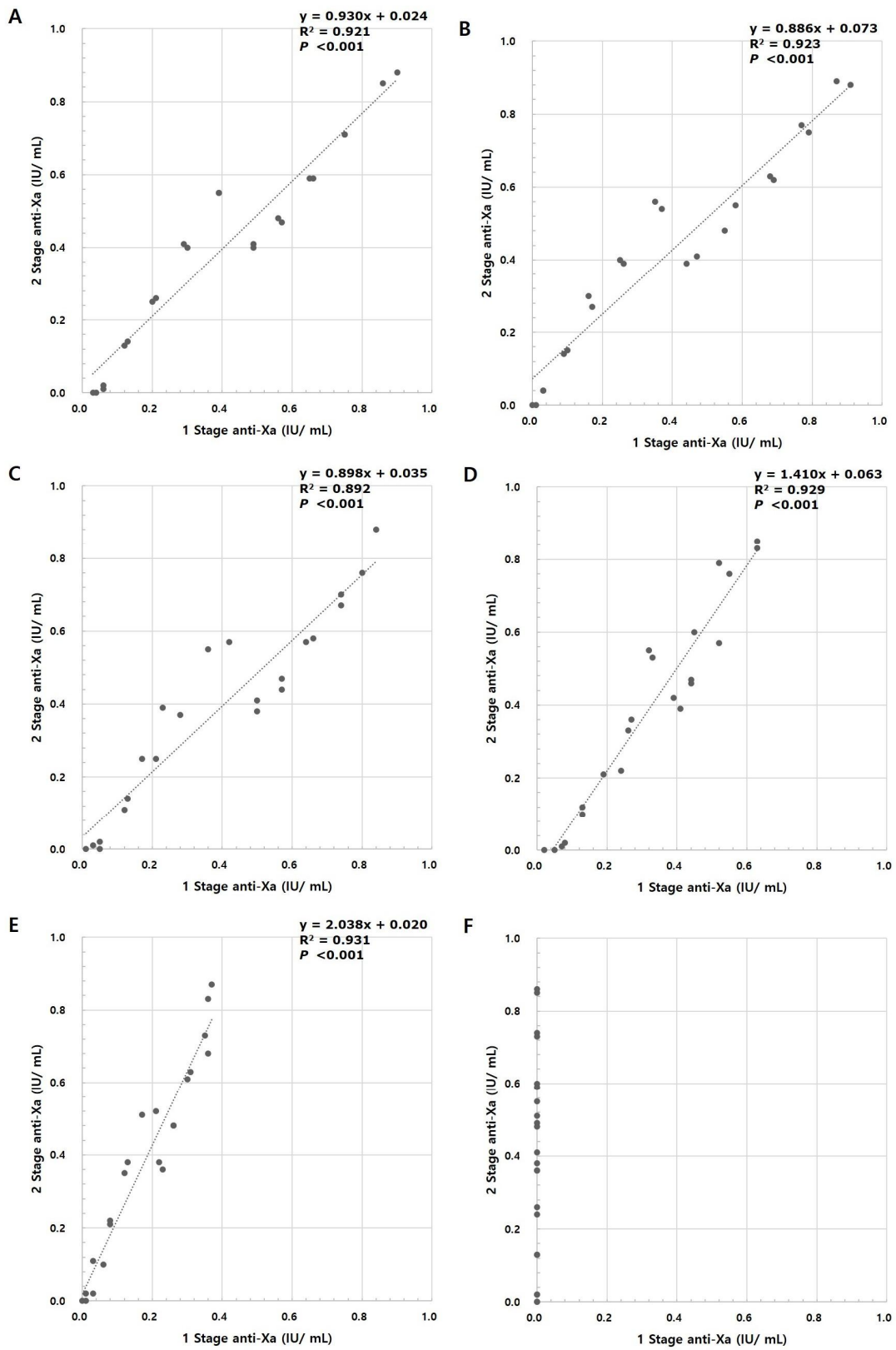


Figure 6. Correlation between 1 stage heparin anti-Xa and 2 stage heparin

anti-Xa according to the antithrombin levels *in vitro* heparin-spiked plasma (n = 11, respectively).

Antithrombin 100% (A), antithrombin 80% (B), antithrombin 60% (C), antithrombin 40% (D), antithrombin 20% (E), antithrombin 0% (F).

3. 헤파린 투여 중인 환자에서 헤파린 치료 범위에 따른 aPTT 와 헤파린 항 Xa 검사의 불일치 원인 분석

총 628 검체 중 aPTT 와 1 단계 헤파린 항 Xa 검사의 치료 범위에 따른 분류는 표 2 과 같았다. aPTT 와 헤파린 1 단계 헤파린 항 Xa 검사 모두에서 가장 흔한 것은 치료 범위 미만에 해당되었으며, 치료 범위, 치료 범위 이상 순서였다. 치료 범위가 일치하는 데이터는 481 (76.6%)쌍에서 관찰되었다. 98 쌍 (15.6%)에서 1 단계 헤파린 항 Xa 에 비해 aPTT 가 연장된 결과를 보였고, 49 쌍 (7.8%)에서 1 단계 헤파린 항 Xa 에 비해 aPTT 가 짧아진 결과를 보였다.

전체 데이터의 카파 계수는 0.296 으로 어느 정도의 일치도를 보였고, 안티트롬빈이 60% 이상인 그룹 (n = 460)에서 카파 계수는 0.385 로 일치도의 정도는 차이가 없었다 (각각 $P < 0.001$). 반면, 안티트롬빈이 60% 미만인 그룹 (n = 155)에서 카파 계수는 0.121 로 약간의 일치도를 보였다 ($P = 0.030$). 또한 제 VIII 인자가 200% 이상인 그룹 (n = 77)에서 카파 계수는 0.326, 제 VIII 인자가 200% 미만인 그룹 (n = 153)에서 카파 계수는 0.248, CRP 10 mg/dL 이상인 그룹 (n = 190)에서 카파 계수는 0.252, CRP 10 mg/dL 미만인 그룹 (n = 426)에서 카파 계수는 0.315 로 모두 어느 정도의 일치도를 보였고, 일치도의 정도는 차이가 없었다 (각각 $P < 0.001$). 반면, 피브리노겐이 350 mg/dL 이상인 그룹 (n = 205)에서 카파 계수는 0.370 로 어느 정도의 일치도를 보였고, 피브리노겐이 350 mg/dL 미만인 그룹 (n = 343)에서 카파 계수는 0.188 로 약간의 일치도를 보였다 (각각 $P < 0.001$).

aPTT 와 1 단계 헤파린 항 Xa 검사의 치료 범위 일치 혹은 불일치에 따라 환자 특성 및 검사 결과를 비교하였다. 1 단계 헤파린 항 Xa 에 비해 aPTT 가 짧아진 그룹에서 남성 비율이 더 적었고 ($P = 0.003$), 제 VIII 인자와 피브리노겐이 높게 측정되었지만 통계적 유의성은 없었다 (각각 $P = 0.234$, $P = 0.238$). 1 단계 헤파린 항 Xa 에 비해 aPTT 가 연장된 그룹에서는 안티트롬빈이 낮게, CRP 가 높게 측정되었다 (각각 $P < 0.001$, $P = 0.050$). (표 3, 및 그림 7, 8, 9, 10).

Table 2. Frequency of activated partial thromboplastin time and 1 stage heparin anti-Xa according to subtherapeutic, therapeutic, and suprathereapeutic classification of heparin

		aPTT			
		Sub- therapeutic	Therapeutic	Supra- therapeutic	Total
1 stage heparin anti-Xa	Sub- therapeutic	439	71	12	522 (83.1%)
	Therapeutic	38	34	15	87 (13.9%)
	Supra- therapeutic	8	3	8	19 (3.0%)
Total		485 (77.2%)	108 (17.2%)	35 (5.6%)	628
Kappa					0.296
Concordance					481 (76.6%)

aPTT, activated partial thromboplastin time

Table 3. Patient characteristics and laboratory results according to the concordance between activated partial thromboplastin time and 1 stage heparin anti-Xa

	aPTT and 1 stage heparin anti-Xa discordant		aPTT and 1 stage heparin anti-Xa concordant (n = 481)	<i>P</i>
	aPTT < anti-Xa (n = 49)	aPTT > anti-Xa (n = 98)		
Male (%) (n = 628)	36.7	61.2	62.4	0.003
Age (yrs) (n = 628)	58.1 ± 2.31	55.1 ± 1.67	55.1 ± 0.72	0.274
aPTT (sec) (n = 628)	39.87 ± 1.105	71.91 ± 3.420	39.68 ± 0.679	< 0.001
1 stage heparin anti-Xa (IU/mL) (n = 628)	0.553 ± 0.0539	0.158 ± 0.0177	0.112 ± 0.0092	< 0.001
Factor VIII (%) (n = 230)	208.4 ± 17.83	171.8 ± 9.43	178.3 ± 6.07	0.234
Fibrinogen (mg/dL) (n = 548)	356.8 ± 23.21	315.3 ± 17.64	329.3 ± 8.09	0.238
Antithrombin (%) (n = 615)	77.6 ± 3.27	61.7 ± 2.08	75.3 ± 0.88	< 0.001
CRP (mg/dL) (n = 616)	6.824 ± 1.1388	9.661 ± 0.8962	8.532 ± 0.3190	0.050

aPTT, activated partial thromboplastin time; CRP, C-reactive protein

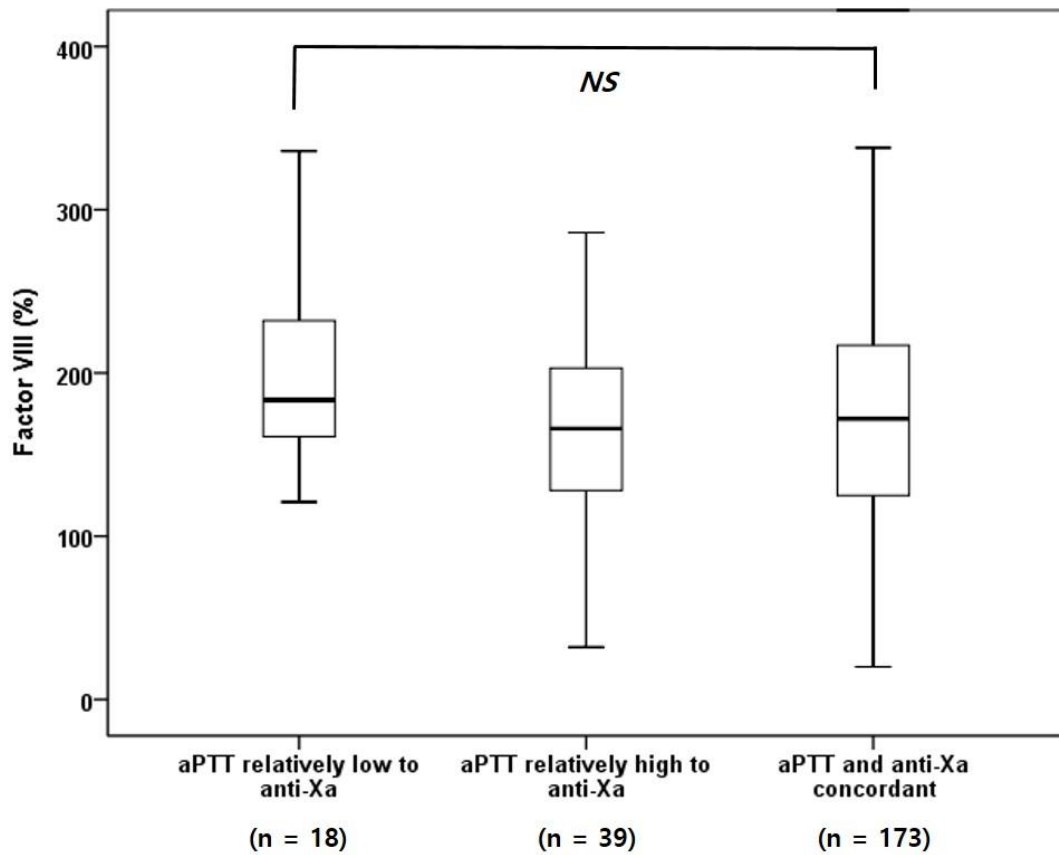


Figure 7. Difference in factor VIII level according to the concordance between activated partial thromboplastin time (aPTT) and 1 stage heparin anti-Xa in hospitalized patients treated with unfractionated heparin (n = 230).

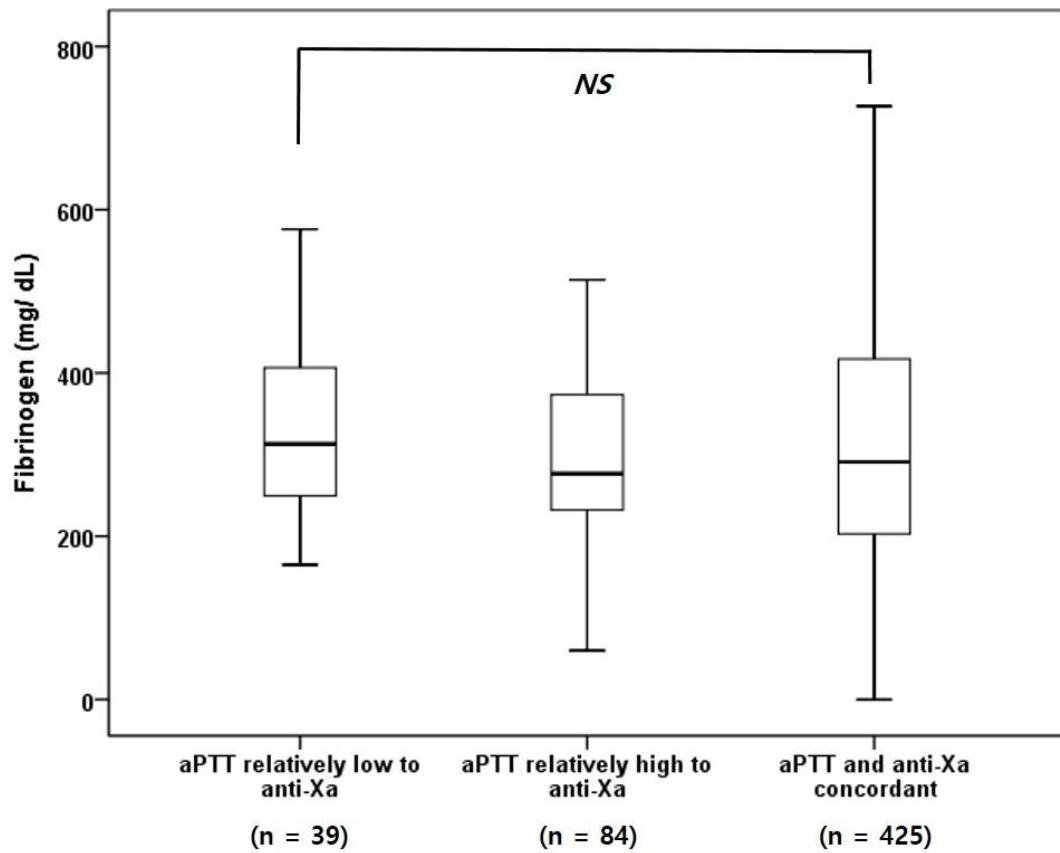


Figure 8. Difference in fibrinogen level according to the concordance between activated partial thromboplastin time (aPTT) and 1 stage heparin anti-Xa in hospitalized patients treated with unfractionated heparin (n = 548).

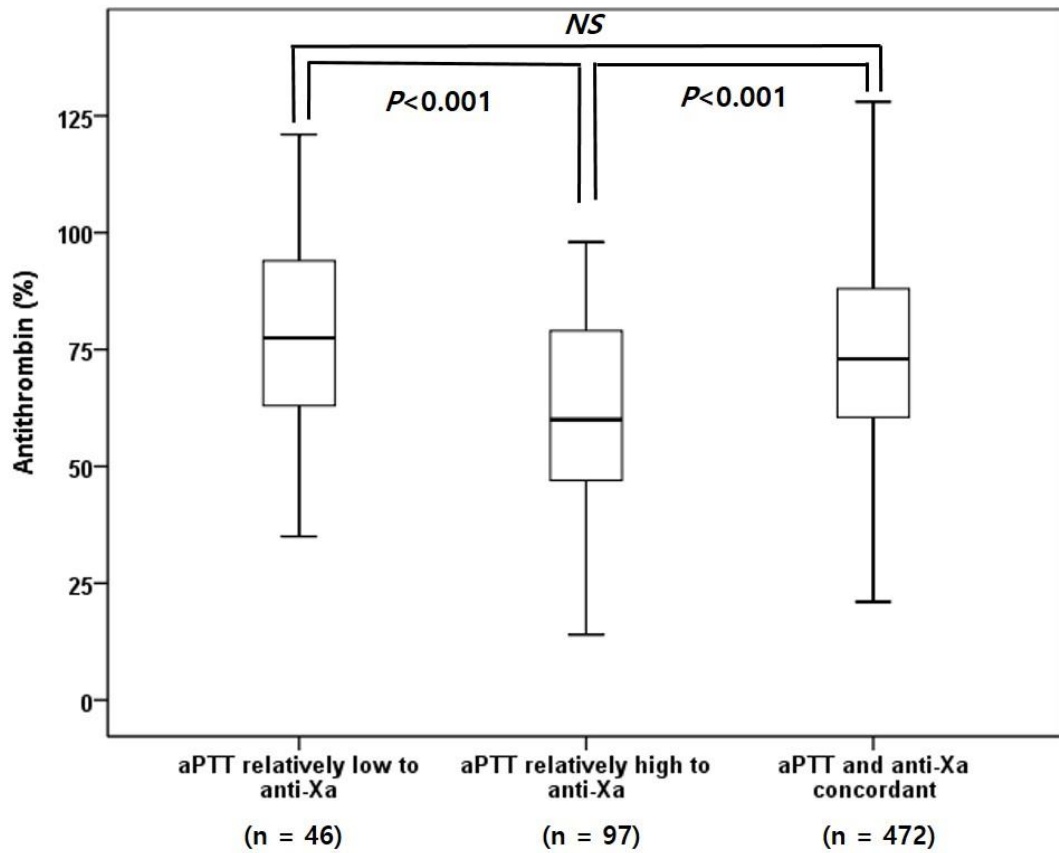


Figure 9. Difference in antithrombin level according to the concordance between activated partial thromboplastin time (aPTT) and 1 stage heparin anti-Xa in hospitalized patients treated with unfractionated heparin (n = 615).

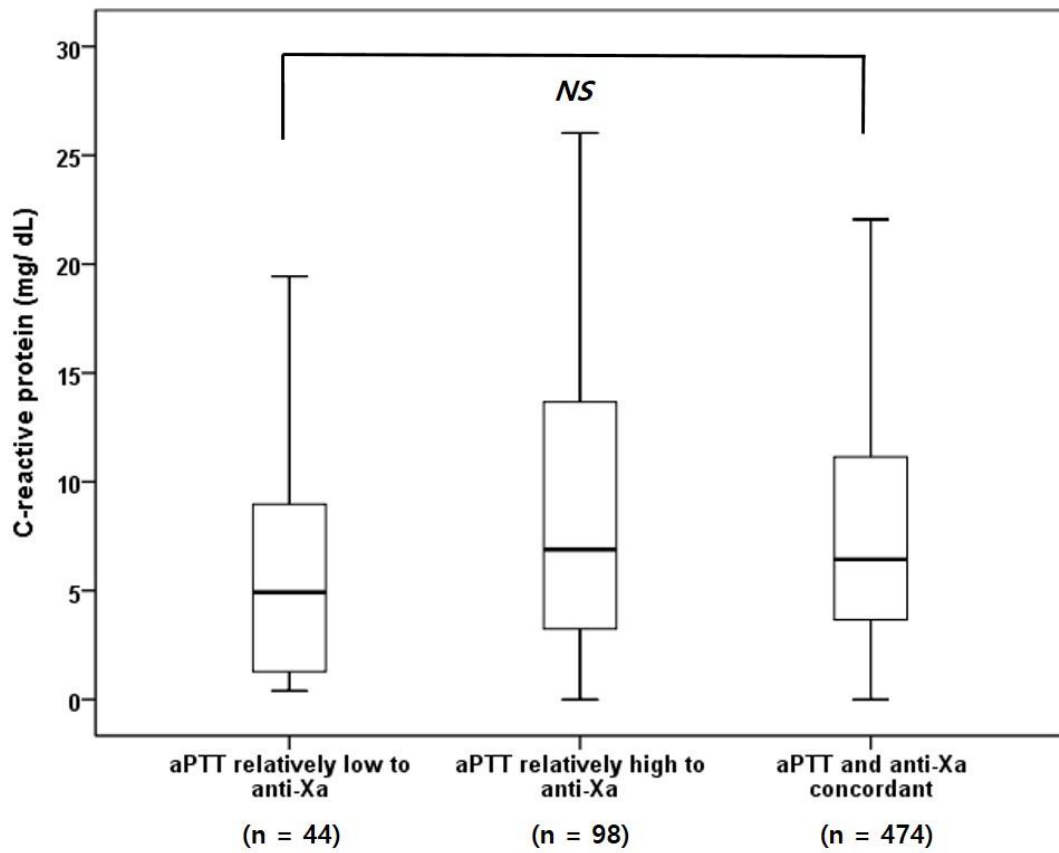


Figure 10. Difference in C-reactive protein level according to the concordance between activated partial thromboplastin time (aPTT) and 1 stage heparin anti-Xa in hospitalized patients treated with unfractionated heparin (n = 616).

제 VIII 인자 200%, 피브리노겐 350 mg/dL, 안티트롬빈 60%, CRP 10 mg/dL 를 기준으로 각각 두 그룹으로 나누어 aPTT 와 1 단계 헤파린 항 Xa 검사의 일치 및 불일치를 비교하였다. 모든 그룹에서 제 VIII 인자, 피브리노겐, 안티트롬빈, CRP 수치에 상관없이 aPTT 와 1 단계 헤파린 항 Xa 검사의 일치 사례, 1 단계 헤파린 항 Xa 에 비해 aPTT 가 연장된 사례, 1 단계 헤파린 항 Xa 에 비해 aPTT 가 짧아진 사례 순으로 많았다. 또한 aPTT 와 1 단계 헤파린 항 Xa 검사의 일치 및 불일치와 상관없이 안티트롬빈 60% 이상, 제 VIII 인자 200% 미만, 피브리노겐 350 mg/dL 이하, 및 CRP 10 mg/dL 미만인 사례가 많았다. 하지만 aPTT 와 1 단계 헤파린 항 Xa 검사의 일치 여부와의 연관성 분석에서는 안티트롬빈에서만 통계적으로 유의한 차이를 보였다 ($P = 0.007$) (그림 11, 12, 13, 14).

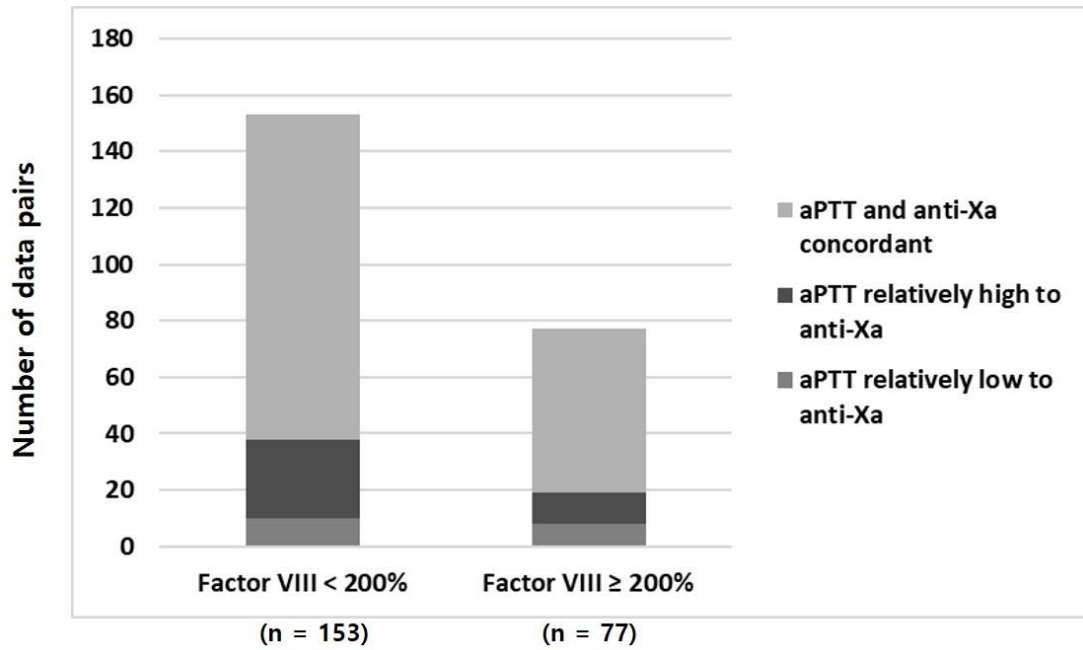


Figure 11. Proportion of data pairs with a high versus low factor VIII in each group of hospitalized patients treated with unfractionated heparin ($P = 0.667$).

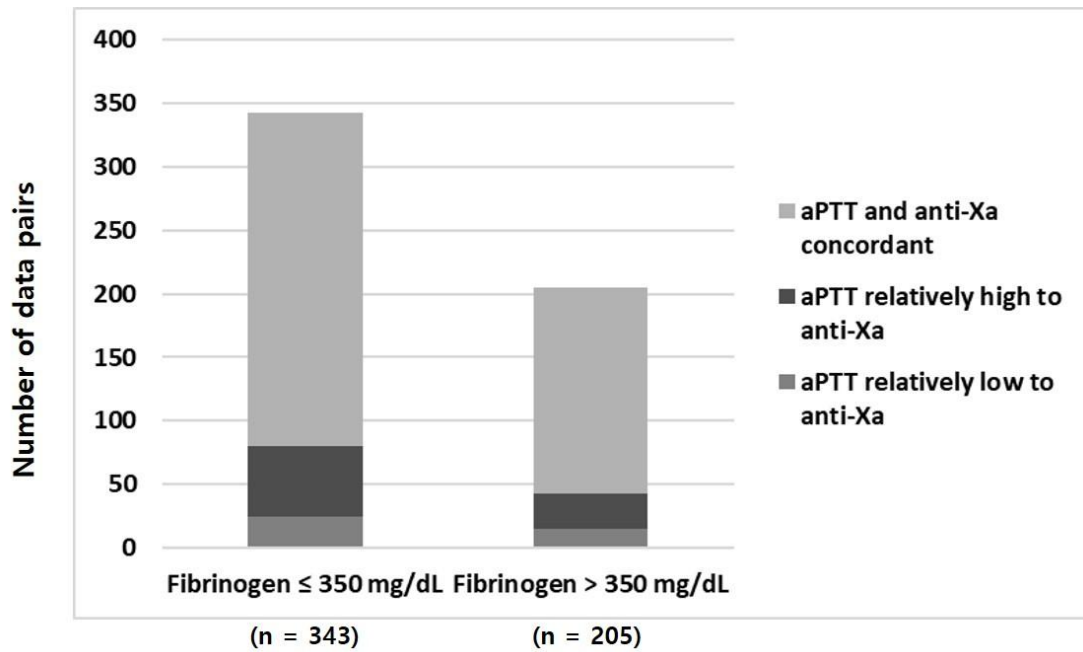


Figure 12. Proportion of data pairs with a high versus low fibrinogen in each group of hospitalized patients treated with unfractionated heparin ($P = 0.698$).

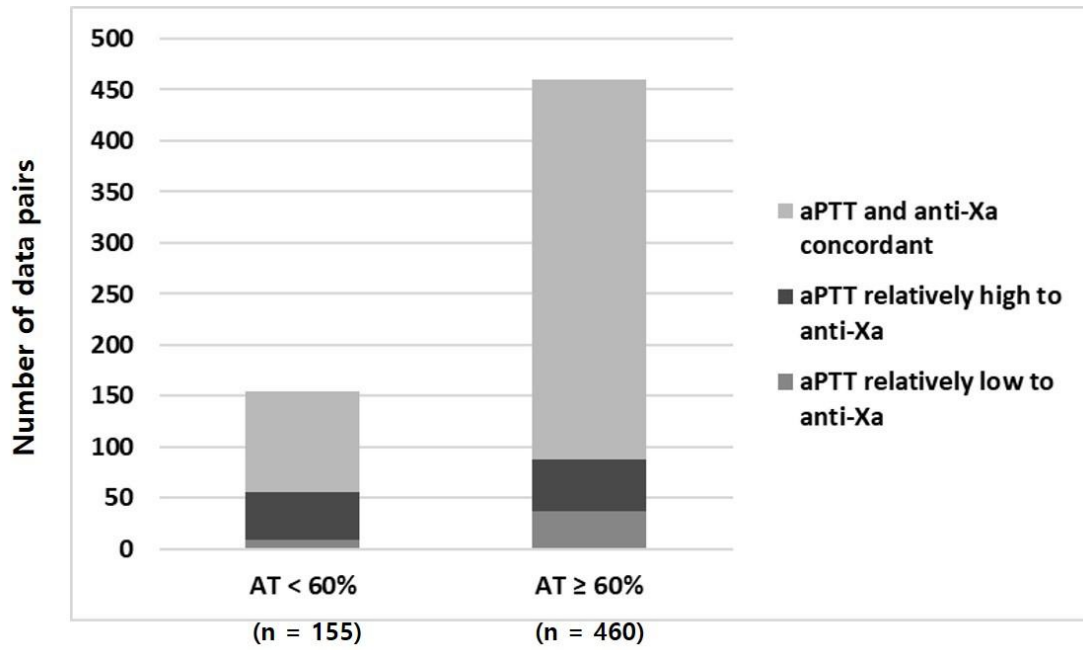


Figure 13. Proportion of data pairs with a high versus low antithrombin in each group of hospitalized patients treated with unfractionated heparin ($P = 0.007$).

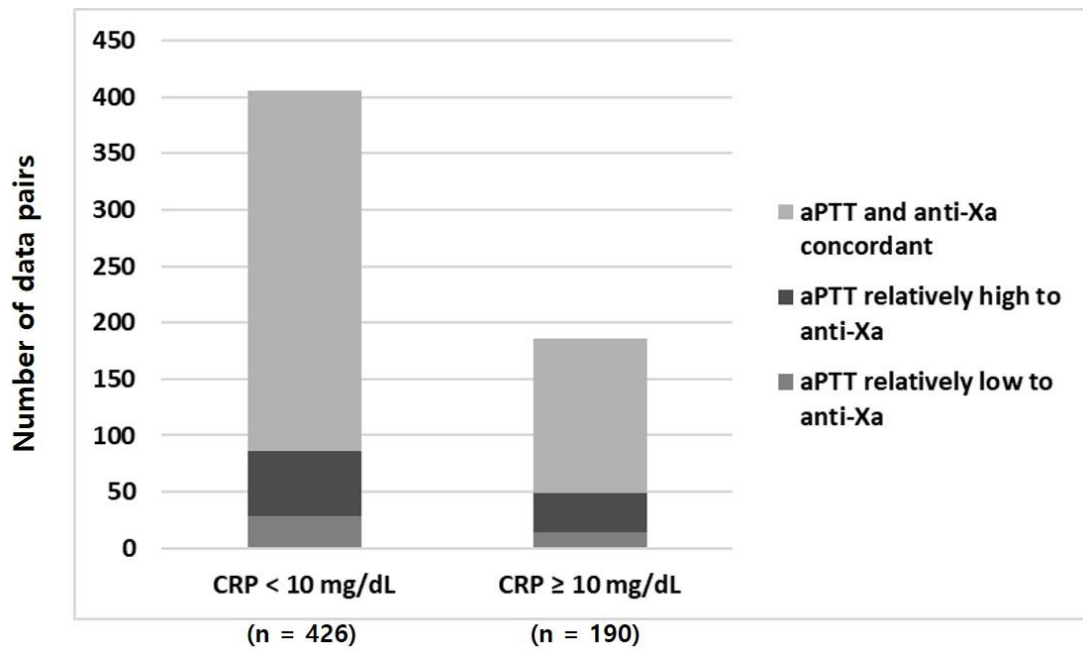


Figure 14. Proportion of data pairs with a high versus low C-reactive protein in each group of hospitalized patients treated with unfractionated heparin ($P = 0.294$).

4. 헤파린 투여 중인 환자에서 헤파린 모니터링에 영향을 미치는 생물학적 인자

제 VIII 인자 200%, 피브리노겐 350 mg/dL, 안티트롬빈 60%, CRP 10 mg/dL 를 기준으로 각각 두 그룹으로 나누어 환자의 특성과 검사 결과를 비교하였다. 제 VIII 인자 200% 초과인 그룹에서 통계적으로 유의하게 환자의 나이가 젊었으며, 피브리노겐과 CRP 가 높게 관찰되었다 (각각 $P = 0.040$, $P < 0.001$, $P = 0.049$) (표 4). 피브리노겐이 350 mg/dL 이상인 그룹에서는 통계적으로 유의하게 남성의 비율이 높았고, 제 VIII 인자와 CRP 가 높게 관찰되었다 (각각 $P = 0.025$, $P < 0.001$, $P < 0.001$) (표 5).

안티트롬빈이 60% 미만인 그룹에서 환자 나이가 더 많았고, aPTT 와 CRP 는 더 높게, 헤파린 항 Xa 은 더 낮게 관찰되었다 (각각 $P = 0.032$, $P < 0.001$, $P < 0.001$, $P = 0.022$) (표 6). CRP 가 10 mg/dL 이상인 그룹에서는 제 VIII 인자와 피브리노겐은 더 높게, 안티트롬빈은 더 낮게 관찰되었다 (각각 $P = 0.049$, $P < 0.001$, $P < 0.001$) (표 7). 또한 CRP 는 안티트롬빈과 음의 상관관계 ($r = -0.315$, $P < 0.001$) (그림 15), 제 VIII 인자와 양의 상관관계 ($r = 0.191$, $P = 0.004$) (그림 16), 피브리노겐과 양의 상관관계 ($r = 0.531$, $P < 0.001$)를 보였다 (그림 17).

Table 4. Patient characteristics and laboratory results according to factor VIII levels

	Factor VIII <200% (n = 153)	Factor VIII ≥200% (n = 77)	<i>P</i>
Age (yrs)	57.6 ± 1.14	53.1 ± 1.85	0.040
Male (%)	51.6	62.3	0.160
aPTT (sec)	49.12 ± 2.653	45.09 ± 2.495	0.814
Anti-Xa (IU/mL)	0.155 ± 0.0171	0.251 ± 0.0447	0.089
Factor VIII (%)	139.0 ± 3.26	260.1 ± 7.65	< 0.001
Fibrinogen (mg/dL)	276.0 ± 11.86	412.1 ± 20.46	< 0.001
Antithrombin (%)	67.4 ± 1.47	72.5 ± 2.21	0.067
CRP (mg/dL)	7.949 ± 0.5566	10.252 ± 0.9804	0.049

aPTT, activated partial thromboplastin time; CPR, C-reactive protein

Table 5. Patient characteristics and laboratory results according to fibrinogen levels

	Fibrinogen ≤ 350 mg/dL (n = 343)	Fibrinogen >350 mg/dL (n = 205)	<i>P</i>
Age (yrs)	56.2 \pm 0.70	57.2 \pm 1.06	0.861
Male (%)	55.4	65.4	0.025
aPTT (sec)	44.69 \pm 1.279	43.88 \pm 1.505	0.267
Anti-Xa (IU/mL)	0.147 \pm 0.0128	0.169 \pm 0.0117	0.056
Factor VIII (%)	159.7 \pm 5.17	214.4 \pm 9.64	< 0.001
Fibrinogen (mg/dL)	226.2 \pm 3.76	501.3 \pm 9.08	< 0.001
Antithrombin (%)	73.5 \pm 1.19	73.5 \pm 1.30	0.579
CRP (mg/dL)	6.399 \pm 0.3070	12.341 \pm 0.5996	< 0.001

aPTT, activated partial thromboplastin time; CPR, C-reactive protein

Table 6. Patient characteristics and laboratory results according to antithrombin levels

	Antithrombin <60% (n = 155)	Antithrombin ≥60% (n = 460)	<i>P</i>
Age (yrs)	58.0 ± 1.44	54.2 ± 0.70	0.032
Male (%)	65.2	58.3	0.155
aPTT (sec)	53.33 ± 2.528	41.89 ± 0.807	< 0.001
Anti-Xa (IU/mL)	0.147 ± 0.0180	0.171 ± 0.0108	0.022
Factor VIII (%)	184.2 ± 11.53	177.1 ± 5.35	0.783
Fibrinogen (mg/dL)	326.6 ± 14.96	328.8 ± 7.91	0.209
Antithrombin (%)	48.5 ± 0.74	81.7 ± 0.73	< 0.001
CRP (mg/dL)	12.227 ± 0.7324	7.261 ± 0.2867	< 0.001

aPTT, activated partial thromboplastin time; CPR, C-reactive protein

Table 7. Patient characteristics and laboratory results according to C-reactive protein levels

	CRP <10 mg/dL (n = 426)	CRP ≥10 mg/dL (n = 190)	<i>P</i>
Age (yrs)	54.6 ± 0.073	57.0 ± 1.23	0.275
Male (%)	58.22	63.68	0.155
aPTT (sec)	44.44 ± 1.119	45.65 ± 1.471	0.516
Anti-Xa (IU/mL)	0.174 ± 0.0120	0.139 ± 0.0123	0.069
Factor VIII (%)	171.2 ± 5.28	196.4 ± 10.60	0.049
Fibrinogen (mg/dL)	283.1 ± 6.57	432.1 ± 14.76	< 0.001
Antithrombin (%)	76.5 ± 0.98	65.6 ± 1.40	< 0.001
CRP (mg/dL)	4.601 ± 0.1297	17.531 ± 0.4762	< 0.001

aPTT, activated partial thromboplastin time; CPR, C-reactive protein

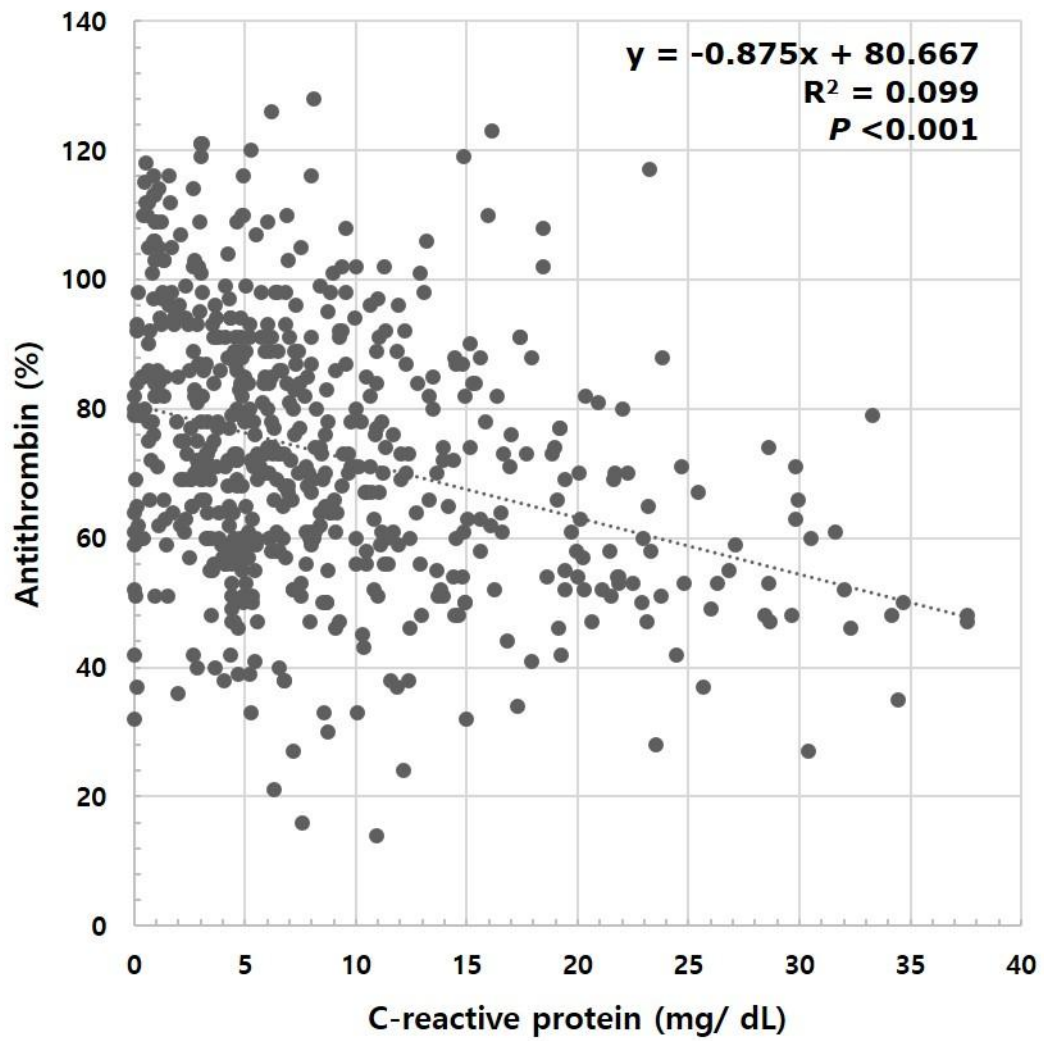


Figure 15. Correlation between C-reactive protein and antithrombin in hospitalized patients treated with unfractionated heparin (n = 606).

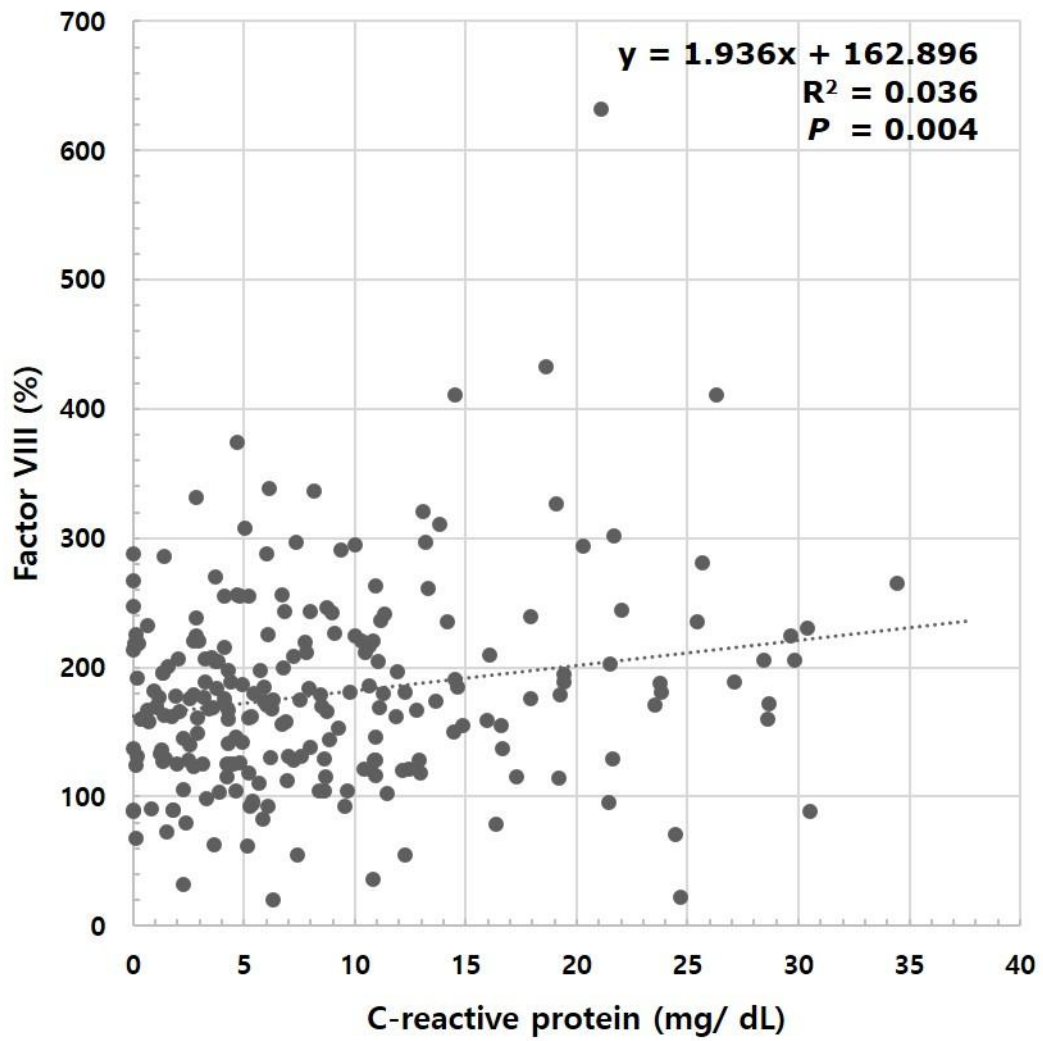


Figure 16. Correlation between C-reactive protein and factor VIII in hospitalized patients treated with unfractionated heparin (n = 229).

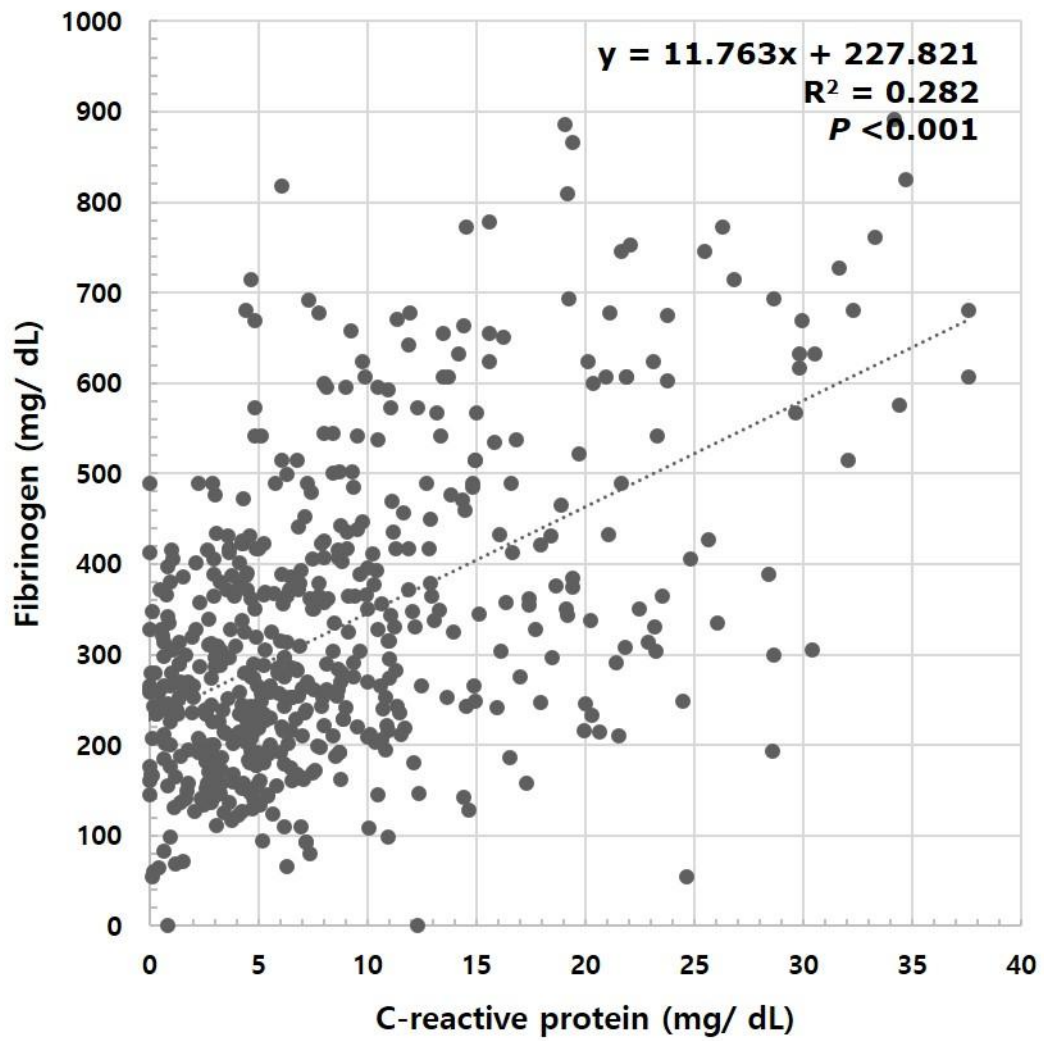


Figure 17. Correlation between C-reactive protein and fibrinogen in hospitalized patients treated with unfractionated heparin (n = 544).

5. 체외에서 헤파린 첨가한 혈장에서 안티트롬빈이 헤파린 모니터링에 미치는 영향 분석

aPTT 는 안티트롬빈 농도 0%를 포함한 6 개의 그룹 모두에서 혼합한 헤파린 농도 (0 - 1.0 U/mL)에 비례하여 직선성을 보였다 ($P < 0.001$). 안티트롬빈 농도가 낮을수록 짧아진 aPTT 결과를 보였으며, 안티트롬빈이 40% 이상인 군, 안티트롬빈이 20%인 군, 및 안티트롬빈이 0%인 군 순서로 현저하게 짧아진 aPTT 를 보였다 ($P < 0.001$) (그림 18).

안티트롬빈의 추가가 없는 1 단계 헤파린 항 Xa 검사에서는 안티트롬빈 농도에 따른 결과의 차이가 더 확연하게 나타났다. 안티트롬빈이 60% 이상인 군, 안티트롬빈이 40%인 군, 안티트롬빈이 20%인 군, 및 안티트롬빈이 0%인 군 순서로 낮은 헤파린 항 Xa 결과를 보였으며 ($P < 0.001$), 안티트롬빈이 0%인 검체에서는 헤파린 항 Xa 가 전혀 측정되지 않았다 (그림 19).

안티트롬빈의 추가가 있는 2 단계 헤파린 항 Xa 검사에서는 안티트롬빈 농도에 따른 결과의 차이가 없었다 ($P = 0.083$). 헤파린 농도 0 - 0.5 U/mL 과 0.6 - 1.0 U/mL 사이에서는 안티트롬빈 농도에 상관없이 오직 헤파린 농도에만 비례하여 측정되었으나, 모든 안티트롬빈 농도에서 헤파린 농도 0.5 U/mL 에 비해 0.6 U/mL 이 오히려 헤파린 항 Xa 가 낮아지는 결과를 보였다 (그림 20).

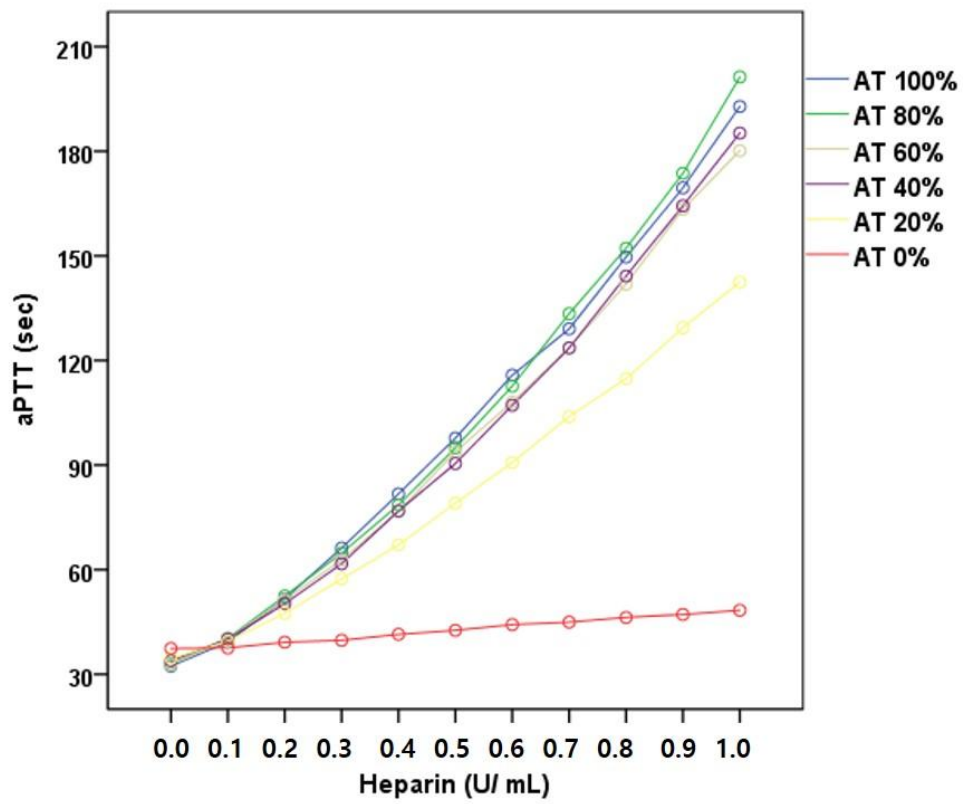


Figure 18. Analysis for activated thromboplastin time (aPTT) vs heparin level according to the antithrombin levels *in vitro* heparin-spiked plasma.

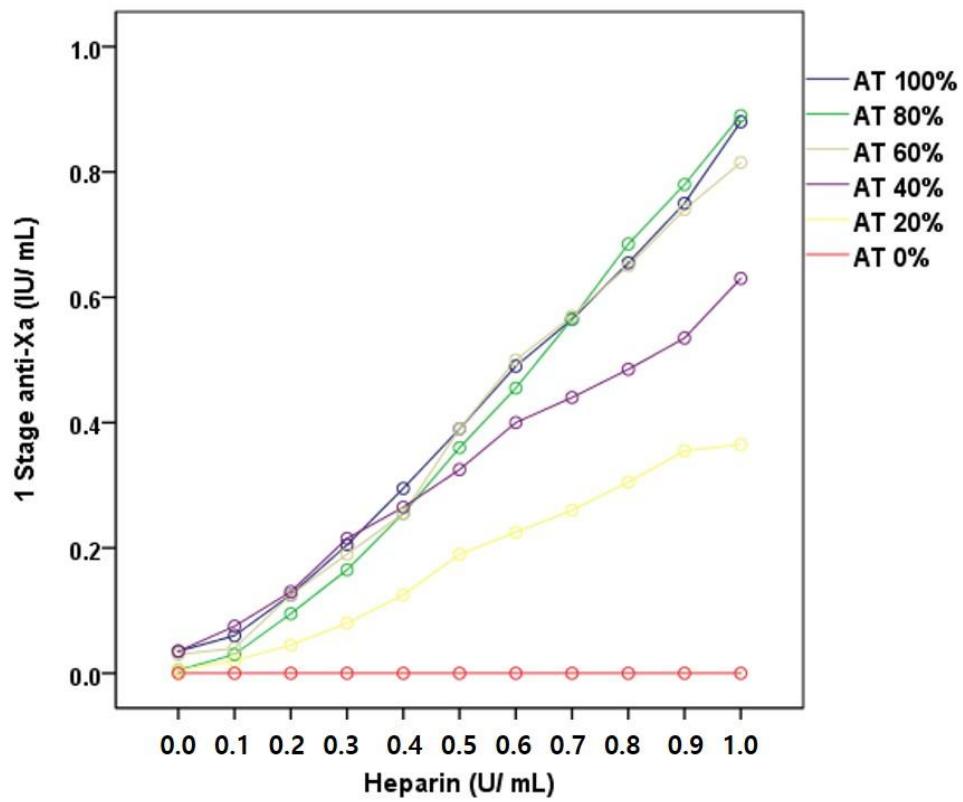


Figure 19. Analysis for 1 stage heparin anti-Xa vs heparin level according to the antithrombin levels *in vitro* heparin-spiked plasma.

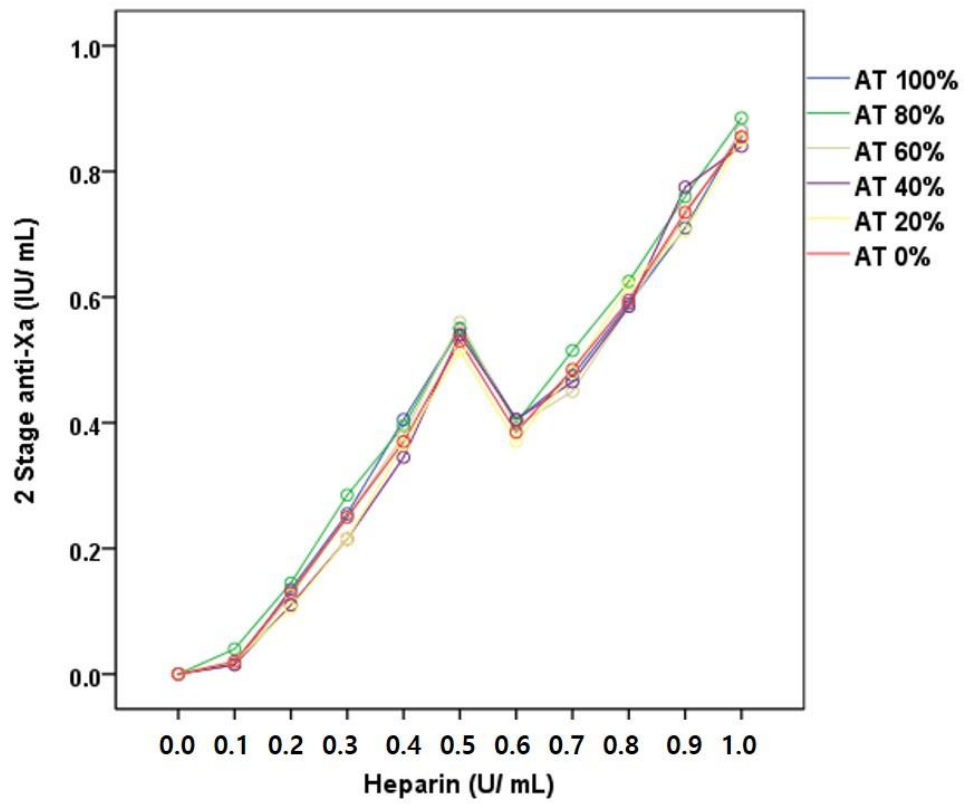


Figure 20. Analysis for 2 stage heparin anti-Xa vs heparin level according to the antithrombin levels *in vitro* heparin-spiked plasma.

고찰 및 결론

1916 년도에 의대생인 Jay McLean 에 의해 처음 발견된 이래로, 헤파린은 임원 및 수술 후 가장 많이 사용되는 항응고제이다[52]. 하지만 헤파린은 개인마다 항응고 효과가 다양하고, 약동학을 예측하기 어렵기 때문에 모니터링이 반드시 필요하다[53]. 1972 년 캐나다 McMaster 대학에서 처음으로 baseline aPTT 의 1.5 - 2.5 배를 헤파린 치료 범위로 설정하였고, 이것이 보편적으로 사용되어왔다[54]. 1977 년에 protamine titration 방법으로 헤파린 농도 0.2 - 0.4 IU/mL 가 제시되었으며[55], 1990 년대에 이르러 여러 임상 연구에 의해 헤파린 항 Xa 활성도에 의한 0.3 - 0.7 IU/mL 가 표준 농도로 제시되어 현재까지 사용되고 있다[56].

aPTT 검사는 비용이 저렴하고, 대부분의 병원에서 자동화법으로 쉽게 검사가 가능한 장점이 있지만, aPTT 시약마다 헤파린에 대한 민감도가 다양하기 때문에 시약 별로 검사 결과의 차이가 존재하여 표준화가 필요하고[57-59], 국내외 여러 가이드라인에서도 헤파린 항 Xa 검사로 보정한 aPTT 값을 헤파린 치료 범위로 제공할 것을 권고하고 있다[19]. 또한 aPTT 는 헤파린 등의 항응고제 이외에도 생물학적 인자에 영향을 많이 받는 검사이다[60, 61].

헤파린 항 Xa 검사는 aPTT, ACT 및 TEG 에 비해 헤파린 농도와 상관성이 우수하며, 안티트롬빈 이외의 다른 생물학적 인자의 영향은 받지 않는다[24]. aPTT 와 달리 헤파린 항 Xa 검사는 직접적으로 헤파린 효과를 측정할 수 있는 것으로 알려져 있다[62]. aPTT 를 단축시키는 제 VIII 인자 및 피브리노겐의 증가에 영향을 받지 않으며, 특히 2 단계 헤파린 항 Xa 검사는 안티트롬빈 결핍의 영향도 받지 않는다[63]. 또한 헤파린 항 Xa 검사는 aPTT 를 연장시키는 응고인자의 결핍 및 루푸스항응고인자의 영향을 받지 않는다[37, 64]. 헤파린 항 Xa 검사로 더 짧은 시간에, 적은 모니터링 횟수와 용량 변경으로 치료 범위에 도달할 수 있다[26]. 최근 한 연구에 의하면 헤파린 모니터링 방법으로 헤파린 항 Xa 검사와 aPTT, 활성화응고시간 및 혈전탄성묘사도를 비교하였을 때, 통계적으로 유의하게 헤파린 항 Xa 검사로 모니터링을 한 환자군에서 출혈이 더 적었고, 전체 생존율도 높아서 임상적 유용성도 확립되었다[65].

하지만 aPTT 와 헤파린 항 Xa 검사 사이의 상관성은 좋지 않은 것으로 알려져

있으며, 실제 임상 상황에서는 aPTT 와 헤파린 항 Xa 검사 치료 범위의 불일치가 흔하게 일어난다[22, 66]. 본 연구에서 실제 헤파린을 투여 중인 환자 검체의 aPTT 와 헤파린 항 Xa 검사의 R^2 값은 0.154 로 낮았지만, 안티트롬빈이 60% 이상인 그룹에서 이상점(outlier)를 제외했을 때는 R^2 이 0.419 까지 증가했다. 이는 헤파린 치료중인 환자 혈장을 이용한 기존 연구들과 비슷한 결과였다[67-69]. 안티트롬빈이 헤파린 모니터링에 미치는 영향은 헤파린을 첨가한 정상혼주혈장을 이용한 실험에서도 증명되었다. 안티트롬빈이 60% 이상일 때의 aPTT 와 1 단계 헤파린 항 Xa 검사의 R^2 은 0.991 로 우수한 상관성과 직선성을 보였다 ($P < 0.001$). 이는 안티트롬빈이 aPTT 와 헤파린 항 Xa 검사 사이의 불일치의 원인이 된다는 것을 의미한다. 실제로 본 연구에서 치료 범위에 따른 분석에서도 aPTT 에 비해 항 Xa 검사가 낮은 불일치 결과를 보이는 그룹에서 통계적으로 유의하게 안티트롬빈이 낮았다 ($P < 0.001$). 또한 안티트롬빈이 60% 미만인 환자 그룹에서는 aPTT 는 더 높게, 헤파린 항 Xa 은 더 낮게 관찰되어 aPTT 와 헤파린 항 Xa 간의 차이를 예상할 수 있었다 (각각 $P < 0.001$, $P = 0.022$).

안티트롬빈 결핍은 헤파린 내성의 가장 흔한 원인으로, 대부분이 후천성 안티트롬빈 결핍이다. 파종혈관내응고, 체외순환막형산화요법, 수술 및 외상 등으로 인한 소모성 결핍이 흔하다[15, 70-72]. 안티트롬빈이 감소하면 aPTT 와 헤파린 항 Xa 검사가 모두 과소 평가 되는 것으로 알려져 있으며 이는 환자의 치료 성적에 영향을 줄 수 있다[26, 73-75]. 이를 해결하기 위해 안티트롬빈의 첨가가 있는 2 단계 헤파린 항 Xa 검사를 할 수 있으며, 안티트롬빈이 낮은 환자에게는 안티트롬빈의 투여가 가능하다[39]. 하지만 헤파린 모니터링에서 안티트롬빈의 역할 및 임상적 유용성에 대해서는 아직까지 잘 적립되어 있지 않다[42, 76-78].

1 단계 헤파린 항 Xa 검사는 비색분석법(colorimetric assay)을 이용하는 자동화검사이다[79]. 액상시약을 사용하기 때문에 준비 시간이 길지 않고, 희석없이 1.1 IU/mL 까지 측정이 가능하여 우수한 직선성을 유지한다[63, 80]. 발색반응을 일으키는 기질 (시약 1)과 충분한 양의 제 Xa 인자 (시약 2)로 검사하며, 환자의 안티트롬빈 수치에 따라 헤파린 활성이 과소 평가될 수 있다는 단점이 있다[39, 63].

반면, 2 단계 헤파린 항 Xa 검사는 응고 분석법(clotting assay)을 이용하며 동결건조 시약으로 증류수에 녹이는 과정이 필요하며 안정성이 짧다는 단점이

있다[63, 81]. 또한 0.6 IU/mL 이상에서는 희석 및 재검이 시행되기 때문에 그 사이 구간에서는 직선성이 잘 유지되지 않는다. 본 연구에서도 헤파린 농도 0.5 U/mL 에서 0.6 U/mL 사이에 직선성이 유지되지 않는 양상을 보였다. 헤파린 농도 0.5 U/mL 에서 0.6 U/mL 는 헤파린 치료 범위에 속하는 구간으로 정확한 헤파린 활성의 측정이 필요하다. 추가적인 연구 및 개선이 되어야 할 부분으로 생각된다.

2 단계 헤파린 항 Xa 검사의 시약으로는 충분한 양의 제 Xa 인자 (시약 2), 인 지질 (시약 3), 그리고 기질이 들어있는 혈장 (시약 1)이 들어가는데 여기에는 안티트롬빈 뿐만 아니라 다른 응고인자들도 정상 농도로 구성되어 있어, 오직 헤파린 농도의 영향만 받게 된다[82]. 2 단계 헤파린 항 Xa 검사는 환자의 안티 트롬빈 수치에 상관없이 정확한 헤파린 농도를 예측할 수 있다는 장점이 있지만 중환자, 특히 안티트롬빈이 낮은 것으로 알려진 신생아의 경우, 이는 헤파린 활성을 과대평가하고 잠재적으로 안티트롬빈 결핍을 은폐할 수 있다[77]. 또한 본 연구의 대상군과 같이 혈전 생성의 예방적 요법으로 헤파린을 투여할 때는 출혈의 위험으로 인해 안티트롬빈의 투여에 논란이 있어 왔다[42, 76]. 2021 년에 미국에서 79 기관을 대상으로 시행한 체외순환막형산화요법 시술에서 소아의 헤파린 모니터링에 대한 조사에서 단지 20%의 기관만이 2 단계 헤파린 항 Xa 검사를 시행하며, 더 많은 수에서 1 단계 헤파린 항 Xa 검사를 시행했다[77]. 약 24%만이 헤파린 모니터링 시에 모든 환자에서 안티트롬빈 수치를 측정하며, 50%의 기관에서 안티트롬빈 수치에 따라서 안티트롬빈을 투여한다고 답했다[77]. 안티트롬빈의 투여 기준에 대해서도 논란이 많은데, 2014 년에 제안된 The Extracorporeal Life Support Organization (ELSO) 가이드라인에서는 성인에서는 50%, 신생아에서는 80%, 영유아에서는 100% 이상을 안티트롬빈 목표로 제시했다[42]. 본 연구에서는 안티트롬빈 60%를 기준으로 안티트롬빈이 헤파린 모니터링에 영향을 미치는, 1 단계 헤파린 항 Xa 가 감소되는, 통계적으로 유의한 결과를 도출했다.

본 연구에서는 실제 헤파린을 투여 중인 환자에서 안티트롬빈이 60% 미만일 때 aPTT 가 오히려 증가하였는데, 안티트롬빈 결핍은 aPTT 를 단축시키는 것으로 알려진 기존 연구와 다른 결과였다[15]. 이는 안티트롬빈 감소와 동반된 CRP 증가로 인한 것으로 생각된다. 급성기반응물질인 CRP 는 aPTT 를 연장시키는 것으

로 알려져 있는데[50, 83], 이는 aPTT 시약 내의 phosphatidylcholine 에 부착하여, phosphatidylcholine 을 감소시키는 효과를 나타내며 aPTT 를 연장시킨다[84]. aPTT 시약 마다 phospholipid 의 종류 및 농도가 매우 다양하며, 그에 따라 phosphatidylcholine 의 농도는 시약 종류에 따라 50 배 이상의 차이를 보일 수 있다[85]. 이는 aPTT 에서 CPR 영향의 민감도 차이를 야기한다[85]. 본 연구의 헤파린을 첨가한 정상혼주혈장을 이용한 실험에서 aPTT 는 안티트롬빈 농도가 40% 미만일 때 aPTT 를 단축시키는 것을 실험적으로 증명하였다.

하지만 본 연구의 CRP 10mg/dL 이상인 환자에서 aPTT 의 연장은 관찰되지 않았는데, 함께 증가한 제 VIII 인자와 피브리노겐으로 인해 영향이 상쇄된 것으로 생각된다. 한 연구에 의하면 체외에서 CRP, 제 VIII 인자, 및 헤파린을 혼합하여 aPTT 를 측정하였을 때 CRP 와 헤파린만 첨가한 검체에서는 aPTT 의 연장을 보였지만, CRP, 제 VIII 인자, 및 헤파린을 첨가한 검체에서는 제 VIII 인자 증가로 인한 CRP 의 작용이 상쇄되어 aPTT 가 연장되지 않았다[50]. CRP 가 증가하는 급성기 환자들은 제 VIII 인자 및 피브리노겐의 증가와 함께 안티트롬빈의 감소 등이 복합적으로 일어난다. 실제 본 연구의 환자들의 CRP 결과도 통계적으로 유의하게 제 VIII 인자 ($r = 0.191, P = 0.004$) 및 피브리노겐과 양의 상관관계 ($r = 0.531, P < 0.001$), 안티트롬빈과 음의 상관관계 ($r = -0.315, P < 0.001$)를 보였다. 염증이나 감염 등과 같은 급성기에 증가하는 CRP 는 aPTT 를 연장시키지만, 함께 증가하는 제 VIII 인자[86, 87], 피브리노겐[41], 및 헤파린결합 단백질(heparin-binding protein) 및 반대로 감소하는 안티트롬빈[70, 71]은 모두 aPTT 를 단축시킨다. 이런 여러 생물학적 인자의 복합적인 작용은 급성기 환자들의 aPTT 결과를 예측하기 어렵게 하며, aPTT 와 헤파린 항 Xa 검사 결과의 불일치의 원인이 될 수 있다.

헤파린 내성은 aPTT 및 ACT 가 적정 치료 범위에 도달하기 위해 고용량의 헤파린을 필요로 하는 것으로[23], 헤파린 치료 환자의 약 20 - 30%에서 헤파린 내성을 겪게 된다[88-93]. 헤파린 내성의 원인으로는 안티트롬빈 결핍이 가장 흔하며, 다음으로 급성기반응물질 즉, 제 VIII 인자, 피브리노겐, 및 헤파린 결합 단백질의 증가와 헤파린 제거의 증가 (비장 비대 등), 혈소판 수 증가 등이 있다[94-98]. 서울아산병원에서는 헤파린 내성이 의심될 때 진단검사의학과에서 컨설팅을 받고 있는데, 대부분의 환자들에서 제 VIII 인자의 증가와 안티트롬빈

60-80% 사이의 안티트롬빈 결핍이 복합적으로 관찰 되었다. 지속적인 제 VIII 인자 및 안티트롬빈 측정과 함께 정확한 헤파린 모니터링을 위해 헤파린 항 Xa 검사를 추천한다. 하지만 서울아산병원에서는 안티트롬빈의 추가가 없는 1 단계 헤파린 항 Xa 검사를 시행하고 있으며, 헤파린 항 Xa 검사에서도 종종 헤파린 내성을 경험하였다.

헤파린 모니터링시에는 안티트롬빈 추적이 필요하다[42, 75]. 과중혈관내응고, 체외순환막형산화요법, 수술 및 외상 등의 환자 요인 뿐만 아니라, 헤파린 치료시에는 안티트롬빈의 제거가 증가되어 많게는 안티트롬빈 수치가 30%까지 낮아질 수 있기 때문에 안티트롬빈의 결핍이 예상되거나 확인된 환자들에서는 출혈의 위험이 높지 않다면 안티트롬빈의 투여가 헤파린 모니터링에 도움이 된다[15]. 안티트롬빈 농축액 혹은 신선동결혈장을 투여하면서 안티트롬빈을 추적하는 것이 추천된다[42]. 안티트롬빈 농축액은 재조합 혹은 혈장 유래 안티트롬빈 농축액이 있으며, 재조합 안티트롬빈 농축액의 반감기가 10 시간인 것에 비해 혈장 유래 안티트롬빈 농축액의 반감기는 43 - 77 시간으로 길다는 장점이 있어 선호된다[99, 100]. 하지만 앞서 언급했듯이 안티트롬빈 투여에 대한 현재까지의 관찰 또는 후향적 연구는 헤파린 모니터링, 출혈 및 혈전 등 부작용과 관련하여 상충되는 데이터를 나타내고 있으므로 안티트롬빈의 임상적 유용성을 확립하기 위해서는 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다[77].

본 연구의 한계점으로는 실제 헤파린을 투여 중인 환자 검체에서 상당수가 aPTT 와 헤파린 항 Xa 검사 모두에서 치료 범위 미만에 해당되었다는 것이다. 이는 본 연구의 대상군이 대부분 체외순환막형산화요법 시술 중인 환자였기 때문으로 생각된다. 최근 가이드라인에 의하면 체외순환막형산화요법의 헤파린 치료 범위는 출혈 위험이 증가되지 않은 환자에서는 60 - 80 초이며, 출혈 위험이 증가된 환자에서는 40 - 60 초로 다른 헤파린 치료 범위보다 낮게 설정된다[76, 101-103]. 실제 체외순환막형산화요법에서는 혈전을 생성하는 제 XII 인자의 활성 및 혈소판 기능 증가뿐만 아니라, von Willebrand 인자의 분해 및 섬유소 용해 증가, 혈소판 기능 저하, 응고인자의 소모성 감소 등으로 인해 출혈 위험도 증가하기 때문이다[76, 104-106].

본 연구에서는 헤파린 치료중인 환자 검체와 헤파린을 첨가한 정상혼주혈장 검체를 이용하여 안티트롬빈이 헤파린 모니터링에 영향을 미치며, 특히 안티트

롬빈의 추가가 없는 1 단계 헤파린 항 Xa 검사는 안티트롬빈의 영향을 크게 받는다는 것을 확인하여 헤파린 모니터링시에 안티트롬빈의 추적검사의 필요성을 기술하였다. 헤파린 모니터링 시에는 모든 환자에서 안티트롬빈의 측정이 고려되어야 한다. 또한 본 연구에서는 헤파린 치료중인 환자 검체와 헤파린을 첨가한 정상혼주혈장 검체를 이용한 연구 모두에서 안티트롬빈 수치 60%를 기준으로 통계적으로 유의하게 1 단계 헤파린 항 Xa 검사가 낮아진 결과를 보였다. 특히, 헤파린을 첨가한 정상혼주혈장 검체를 이용한 연구에서는 안티트롬빈이 60% 이하일 때 aPTT 와 1 단계 헤파린 항 Xa 검사 회귀분석의 기울기가 증가되는 것을 확인하였고, 이는 1 단계 헤파린 항 Xa 가 낮아진 헤파린 모니터링 검사간의 불일치를 의미한다. 이를 통해 안티트롬빈이 60% 미만인 환자에서는 헤파린 모니터링 시에 체외에서(*in vitro*) 안티트롬빈의 추가가 있는 2 단계 헤파린 항 Xa 검사를 시행하거나, 안티트롬빈의 직접 투여(*in vivo*)가 도움이 될 수 있을 것으로 생각된다. 안티트롬빈 투여 시에는 출혈 위험성을 평가하여, 출혈 위험이 높지 않은 환자에 한해서, 반드시 안티트롬빈 수치를 모니터링하며, 적은 용량부터 투여하는 것을 고려해야 한다. 많은 상황에서 안티트롬빈의 감소는 제 VIII 인자, 피브리노겐, CRP 는 다른 급성기반응물질의 증가를 동반하므로 헤파린 모니터링 시에는 이들의 측정도 고려되어야 하며, 추후 실험적으로도 증명이 필요할 것으로 생각된다.

참고 문헌

1. Andersson L-O, Barrowcliffe T, Holmer E, Johnson E, Söderström G. Molecular weight dependency of the heparin potentiated inhibition of thrombin and activated factor X. Effect of heparin neutralization in plasma. *Thrombosis research* 1979;15:531-41.
2. Johnson EA and Mulloy B. The molecular-weight range of mucosal-heparin preparations. *Carbohydrate research* 1976;51:119-27.
3. Harenberg J. Pharmacology of low molecular weight heparins. In. *Seminars in thrombosis and hemostasis*, 1990:12-8.
4. Brunet P, Simon N, Opris A, Faure V, Lorec-Penet A-M, Portugal H, et al. Pharmacodynamics of unfractionated heparin during and after a hemodialysis session. *American journal of kidney diseases* 2008;51:789-95.
5. Cronin RE and Reilly RF. Unfractionated heparin for hemodialysis: still the best option. In. *Seminars in dialysis: Wiley Online Library*, 2010:510-5.
6. Shen JI and Winkelmayr WC. Use and safety of unfractionated heparin for anticoagulation during maintenance hemodialysis. *American journal of kidney diseases* 2012;60:473-86.
7. Colman E, Yin EB, Laine G, Chatterjee S, Saatee S, Herlihy JP, et al. Evaluation of a heparin monitoring protocol for extracorporeal membrane oxygenation and review of the literature. *Journal of thoracic disease* 2019;11:3325.
8. Oliver WC. Anticoagulation and coagulation management for ECMO. In. *Seminars in cardiothoracic and vascular anesthesia: SAGE Publications Sage CA: Los Angeles, CA*, 2009:154-75.
9. Bembea MM, Annich G, Rycus P, Oldenburg G, Berkowitz I, Pronovost P. Variability in anticoagulation management of patients on extracorporeal membrane oxygenation: an international survey. *Pediatric critical care medicine: a journal of the Society of Critical Care Medicine and the World Federation of Pediatric Intensive and Critical Care Societies* 2013;14:e77.

10. Hessel EA. A brief history of cardiopulmonary bypass. In: *Seminars in cardiothoracic and vascular anesthesia*: SAGE Publications Sage CA: Los Angeles, CA, 2014:87-100.
11. Rosenberg R. The heparin-antithrombin system: a natural anticoagulant mechanism. *Hemostasis and thrombosis, basic principles and clinical practice* 1994:837-60.
12. Maurin N. Heparin resistance and antithrombin deficiency. *Medizinische Klinik (Munich, Germany)* 1983) 2009;104:441-9.
13. Casu B, Oreste P, Torri G, Zoppetti G, Choay J, Lormeau J, et al. The structure of heparin oligosaccharide fragments with high anti-(factor Xa) activity containing the minimal antithrombin III-binding sequence Chemical and ¹³C nuclear-magnetic-resonance studies. *Biochemical Journal* 1981;197:599-609.
14. Hirsh J, Anand SS, Halperin JL, Fuster V. Mechanism of action and pharmacology of unfractionated heparin. In: *Am Heart Assoc*, 2001.
15. Durrani J, Malik F, Ali N, Jafri SIM. To be or not to be a case of heparin resistance. *Journal of community hospital internal medicine perspectives* 2018;8:145-8.
16. Morabia A. Heparin doses and major bleedings. *The Lancet* 1986;327:1278-9.
17. Roden L. Heparin: Chemical and Biological Properties, Clinical Applications. *Heparin; Chemical and Biological Properties, Clinical Applications* 1989:81-96.
18. Hirsh J, Anand SS, Halperin JL, Fuster V. Guide to anticoagulant therapy: Heparin: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation* 2001;103:2994-3018.
19. Garcia DA, Baglin TP, Weitz JI, Samama MM. Parenteral anticoagulants: antithrombotic therapy and prevention of thrombosis: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest* 2012;141:e24S-e43S.
20. Smythe MA, Priziola J, Dobesh PP, Wirth D, Cuker A, Wittkowsky AK. Guidance for the practical management of the heparin anticoagulants in the treatment of venous thromboembolism. *Journal of thrombosis and thrombolysis* 2016;41:165-86.
21. Ryerson LM and Lequier LL. Anticoagulation management and monitoring during pediatric extracorporeal life support: a review of current issues. *Frontiers in pediatrics* 2016;4:67.

22. Price EA, Jin J, Nguyen HM, Krishnan G, Bowen R, Zehnder JL. Discordant aPTT and anti-Xa values and outcomes in hospitalized patients treated with intravenous unfractionated heparin. *Annals of Pharmacotherapy* 2013;47:151-8.
23. Eikelboom JW and Hirsh J. Monitoring unfractionated heparin with the aPTT: time for a fresh look. *Thrombosis and haemostasis* 2006;96:547-52.
24. Padhya D, Prutsky G, Nemergut M, Schears G, Flick R, Farah W, et al. Routine laboratory measures of heparin anticoagulation for children on extracorporeal membrane oxygenation: systematic review and meta-analysis. *Thrombosis research* 2019;179:132-9.
25. Kitchens C. To bleed or not to bleed? Is that the question for the PTT? *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2005;3:2607-11.
26. Vandiver JW and Vondracek TG. Antifactor Xa levels versus activated partial thromboplastin time for monitoring unfractionated heparin. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy* 2012;32:546-58.
27. Tripodi A, Primignani M, Chantarangkul V, Dell'Era A, Clerici M, De Franchis R, et al. An imbalance of pro-vs anti-coagulation factors in plasma from patients with cirrhosis. *Gastroenterology* 2009;137:2105-11.
28. Dabbagh O, Oza A, Prakash S, Sunna R, Saettele TM. Coagulopathy does not protect against venous thromboembolism in hospitalized patients with chronic liver disease. *Chest* 2010;137:1145-9.
29. Hirsh J and Raschke R. Heparin and low-molecular-weight heparin: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest* 2004;126:188S-203S.
30. Olson JD, Arkin CF, Brandt JT, CUNNINGHAM T, Giles A, Koepke JA, et al. College of American Pathologists Conference XXXI on laboratory monitoring of anticoagulant therapy. *Arch Pathol Lab Med* 1998;122:782-98.
31. Croles FN, Lukens MV, Mulder R, De Maat MP, Mulder AB, Meijer K. Monitoring of heparins in antithrombin-deficient patients. *Thrombosis research* 2019;175:8-12.
32. Gordon SE, Heath TS, McMichael AB, Hornik CP, Ozment CP. Evaluation of Heparin Anti-Factor Xa Levels Following Antithrombin Supplementation in

- Pediatric Patients Supported With Extracorporeal Membrane Oxygenation. *The Journal of Pediatric Pharmacology and Therapeutics* 2020;25:717-22.
33. Liveris A, Bello RA, Friedmann P, Duffy MA, Manwani D, Killinger JS, et al. Anti-factor Xa assay is a superior correlate of heparin dose than activated partial thromboplastin time or activated clotting time in pediatric extracorporeal membrane oxygenation. *Pediatric Critical Care Medicine* 2014;15:e72-e9.
 34. Ignjatovic V, Lai C, Summerhayes R, Mathesius U, Tawfilis S, Perugini MA, et al. Age-related differences in plasma proteins: how plasma proteins change from neonates to adults. *PloS one* 2011;6:e17213.
 35. Kostousov V, Nguyen K, Hundalani SG, Teruya J. The influence of free hemoglobin and bilirubin on heparin monitoring by activated partial thromboplastin time and anti-Xa assay. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine* 2014;138:1503-6.
 36. Zhang Q and Kang J. An assay for anti-factor Xa activity of low molecular weight heparins by high performance liquid size exclusion chromatography. *Se pu= Chinese journal of chromatography* 2013;31:684-90.
 37. Centeno EH, Militello M, Gomes MP. Anti-Xa assays: what is their role today in antithrombotic therapy? *Cleve Clin J Med* 2019;86:417-25.
 38. Messori A, Vacca F, Vaiani M, Trippoli S. Antithrombin III in patients admitted to intensive care units: a multicenter observational study. *Critical Care* 2002;6:1-5.
 39. Lehman CM, Rettmann JA, Wilson LW, Markewitz BA. Comparative Performance of Three Anti-Factor Xa Heparin Assays in Patients in a Medical Intensive Care Unit Receiving Intravenous, Unfractionated Heparin. *American journal of clinical pathology* 2006;126:416-21.
 40. Levi M, Schouten M, van der Poll T. Sepsis, coagulation, and antithrombin: old lessons and new insights. In. *Seminars in thrombosis and hemostasis*: © Thieme Medical Publishers, 2008:742-6.
 41. Vera-Aguilera J, Yousef H, Beltran-Melgarejo D, Teng TH, Jan R, Mok M, et al. Clinical scenarios for discordant anti-Xa. *Advances in hematology* 2016;2016.
 42. Prime BEC. *ELSO Anticoagulation Guideline*. 2014.
 43. Budd J, Durham A, Gwise T, Iriarte B, Kallner A, Linnet K, et al. Measurement

- procedure comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline: Clinical Laboratory Standards Institute, 2013.
44. Tholen DW, Kroll M, Astles JR, Caffo AL, Happe T, Krouwer J, et al. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: a statistical approach; approved guideline: CLSI Wayne, PA, 2003.
 45. McHugh ML. Interrater reliability: the kappa statistic. *Biochemia medica* 2012;22:276-82.
 46. Thiruvengkatarajan V, Pruet A, Adhikary SD. Coagulation testing in the perioperative period. *Indian journal of anaesthesia* 2014;58:565.
 47. Sapkota B, Shrestha SK, Poudel S. Association of activated partial thromboplastin time and fibrinogen level in patients with type II diabetes mellitus. *BMC research notes* 2013;6:1-5.
 48. Despotis GJ, Levine V, Joist JH, Joiner-Maier D, Spitznagel E. Antithrombin III during cardiac surgery: effect on response of activated clotting time to heparin and relationship to markers of hemostatic activation. *Anesthesia & Analgesia* 1997;85:498-506.
 49. Finley A and Greenberg C. Heparin sensitivity and resistance: management during cardiopulmonary bypass. *Anesthesia & Analgesia* 2013;116:1210-22.
 50. Kostousov V, Devaraj S, Bruzdoski K, Hensch L, Hui SK, Teruya J. C-reactive protein-induced activated partial thromboplastin time prolongation in heparinized samples is attenuated by elevated factor VIII. *International Journal of Laboratory Hematology* 2021;43:139-42.
 51. Thaker A and Chandler W. Prolongation of PTT by CRP Is Magnified in the Setting of Heparin and Warfarin Therapy. *American Journal of Clinical Pathology* 2017;147:S153-S.
 52. Lam CR. The strange story of Jay McLean, the discoverer of heparin. *Henry Ford Hospital Medical Journal* 1985;33:18-23.
 53. Hirsh J, Van Aken W, Gallus A, Dollery C, Cade J, Yung W. Heparin kinetics in venous thrombosis and pulmonary embolism. *Circulation* 1976;53:691-5.
 54. Basu D, Gallus A, Hirsh J, Cade J. A prospective study of the value of monitoring

- heparin treatment with the activated partial thromboplastin time. *New England Journal of Medicine* 1972;287:324-7.
55. Chiu HM, Hirsh J, Yung WL, Regoeczi E, Gent M. Relationship between the anticoagulant and antithrombotic effects of heparin in experimental venous thrombosis. 1977.
 56. Hull RD, Raskob GE, Rosenbloom D, Panju AA, Brill-Edwards P, Ginsberg JS, et al. Heparin for 5 days as compared with 10 days in the initial treatment of proximal venous thrombosis. *New England Journal of Medicine* 1990;322:1260-4.
 57. Brill-Edwards P, Ginsberg JS, Johnston M, Hirsh J. Establishing a therapeutic range for heparin therapy. *Annals of internal medicine* 1993;119:104-9.
 58. 김희진, 조한익, 이동순. 헤파린 치료에 있어 activated partial thromboplastin time 시약이 바뀌면 적정 치료범위가 변하는가? *대한내과학회지* 2000;59:505-10.
 59. Hirsh J, Warkentin TE, Shaughnessy SG, Anand SS, Halperin JL, Raschke R, et al. Heparin and low-molecular-weight heparin mechanisms of action, pharmacokinetics, dosing, monitoring, efficacy, and safety. *Chest* 2001;119:64S-94S.
 60. Winter WE, Flax SD, Harris NS. Coagulation testing in the core laboratory. *Laboratory Medicine* 2017;48:295-313.
 61. Greaves M. Limitations of the laboratory monitoring of heparin therapy. *Thrombosis and haemostasis* 2002;87:163-4.
 62. Levy JH and Connors JM. Heparin Resistance—Clinical Perspectives and Management Strategies. *New England Journal of Medicine* 2021;385:826-32.
 63. Depasse F, Gerotziafas G, Busson J, Van Dreden P, Samama M. Assessment of three chromogenic and one clotting assays for the measurement of synthetic pentasaccharide fondaparinux (Arixtra®) anti-Xa activity. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2004;2:346-8.
 64. Lennon M, Thackray N, Gibbs N. Anti-factor Xa monitoring of anticoagulation during cardiopulmonary bypass in a patient with antiphospholipid syndrome. *Anaesthesia and intensive care* 2003;31:95-8.
 65. Willems A, Roeleveld PP, Labarinas S, Cyrus JW, Muszynski JA, Nellis ME, et al. Anti-Xa versus time-guided anticoagulation strategies in extracorporeal membrane

- oxygenation: a systematic review and meta-analysis. *Perfusion* 2021;36:501-12.
66. Van Roessel S, Middeldorp S, Cheung Y, Zwinderman A, de Pont A. Accuracy of aPTT monitoring in critically ill patients treated with unfractionated heparin. *Neth J Med* 2014;72:305-10.
67. Byun J-H, Jang I-S, Kim JW, Koh E-H. Establishing the heparin therapeutic range using aPTT and anti-Xa measurements for monitoring unfractionated heparin therapy. *Blood research* 2016;51:171-4.
68. Fuentes A, Gordon-Burroughs S, Hall JB, Putney DR, Monsour Jr HP. Comparison of anti-Xa and activated partial thromboplastin time monitoring for heparin dosing in patients with cirrhosis. *Therapeutic drug monitoring* 2015;37:40-4.
69. Koo B-K, Kwon E-H, Ryu K-H, Yun J-W, Kim H-J. Comparison of Two Methods for Heparin Sensitivity; Activated Partial Thromboplastin Time Assay using in vitro Heparin-spiked Sample and Anti-Xa Assay using in vivo Heparin-treated Sample. *Korean Journal of Clinical Laboratory Science* 2011;43:133-7.
70. Schipper H, Roos J, Vd Meulen F, Ten Cate J. Antithrombin III deficiency in surgical intensive care patients. *Thrombosis research* 1981;21:73-80.
71. Owings JT, Bagley M, Gosselin R, Romac D, Disbrow E. Effect of critical injury on plasma antithrombin activity: low antithrombin levels are associated with thromboembolic complications. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery* 1996;41:396-406.
72. Monagle P, Chan AK, Goldenberg NA, Ichord RN, Journeycake JM, Nowak-Göttl U, et al. Antithrombotic therapy in neonates and children: antithrombotic therapy and prevention of thrombosis: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest* 2012;141:e737S-e801S.
73. Bingham KR, Riley JB, Schears GJ. Anticoagulation management during first five days of infant-pediatric extracorporeal life support. *The journal of extra-corporeal technology* 2018;50:30.
74. Garvin S, Muehlschlegel JD, Perry TE, Chen J, Liu K-Y, Fox AA, et al. Postoperative activity, but not preoperative activity, of antithrombin is associated with major adverse cardiac events after coronary artery bypass graft surgery.

- Anesthesia and analgesia 2010;111:862.
75. Iapichino GE, Protti A, Andreis DT, Panigada M, Artoni A, Novembrino C, et al. Antithrombin during extracorporeal membrane oxygenation in adults: national survey and retrospective analysis. *Asaio Journal* 2019;65:257-63.
 76. Chlebowski MM, Baltagi S, Carlson M, Levy JH, Spinella PC. Clinical controversies in anticoagulation monitoring and antithrombin supplementation for ECMO. *Critical Care* 2020;24:1-12.
 77. Ozment CP, Scott BL, Bembea MM, Spinella PC. Anticoagulation and transfusion management during neonatal and pediatric extracorporeal membrane oxygenation: A survey of medical directors in the United States. *Pediatric Critical Care Medicine* 2021;22:530-41.
 78. Niebler RA, Christensen M, Berens R, Wellner H, Mikhailov T, Tweddell JS. Antithrombin replacement during extracorporeal membrane oxygenation. *Artificial organs* 2011;35:1024-8.
 79. Kakkar V. Low-dose heparin in the prevention of venous thromboembolism—rationale and results. *Heparin* 1975:323-40.
 80. Scully M, Decousus H, Ellis V, Parker C, Girard P, Kakkar V. Measurement of heparin in plasma: influence of inter-subject and circadian variability in heparin sensitivity according to method. *Thrombosis research* 1987;46:447-55.
 81. Chen A, Hershgold E, Wilson D. One-stage assay of heparin. *The Journal of laboratory and clinical medicine* 1975;85:843-54.
 82. Marder V. A simple technique for the measurement of plasma heparin concentration during anticoagulant therapy. *Thrombosis and Haemostasis* 1970;24:230-9.
 83. van Rossum AP, Vlasveld LT, van den Hoven LJ, de Wit CW, Castel A. False prolongation of the activated partial thromboplastin time (aPTT) in inflammatory patients: interference of C-reactive protein. *British journal of haematology* 2012;157:394-5.
 84. Volanakis JE and Wirtz KW. Interaction of C-reactive protein with artificial phosphatidylcholine bilayers. *Nature* 1979;281:155-7.
 85. Kitchen S, Cartwright I, Woods T, Jennings I, Preston F. Lipid composition of seven

- APTT reagents in relation to heparin sensitivity. *British journal of haematology* 1999;106:801-8.
86. Cirisano F, Lee S, Greenspoon J. Apparent heparin resistance from elevated factor VIII in a patient with postoperative deep venous thrombosis. A case report. *The Journal of reproductive medicine* 1996;41:191-4.
 87. Raschke RA, Guidry JR, Foley MR. Apparent heparin resistance from elevated factor VIII during pregnancy. *Obstetrics & Gynecology* 2000;96:804-6.
 88. Lemmer Jr JH and Despotis GJ. Antithrombin III concentrate to treat heparin resistance in patients undergoing cardiac surgery. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery* 2002;123:213-7.
 89. Williams MR, D'Ambra AB, Beck JR, Spanier TB, Morales DL, Helman DN, et al. A randomized trial of antithrombin concentrate for treatment of heparin resistance. *The Annals of thoracic surgery* 2000;70:873-7.
 90. Staples MH, Dunton RF, Karlson KJ, Leonardi HK, Berger RL. Heparin resistance after preoperative heparin therapy or intraaortic balloon pumping. *The Annals of thoracic surgery* 1994;57:1211-6.
 91. Ranucci M, Isgrò G, Cazzaniga A, Ditta A, Boncilli A, Cotza M, et al. Different patterns of heparin resistance: therapeutic implications. *Perfusion* 2002;17:199-204.
 92. Avidan M, Levy J, Van Aken H, Feneck R, Latimer R, Ott E, et al. Recombinant human antithrombin III restores heparin responsiveness and decreases activation of coagulation in heparin-resistant patients during cardiopulmonary bypass. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery* 2005;130:107-13.
 93. Avidan MS, Levy JH, Scholz J, Delphin E, Rosseel PM, Howie MB, et al. A phase III, double-blind, placebo-controlled, multicenter study on the efficacy of recombinant human antithrombin in heparin-resistant patients scheduled to undergo cardiac surgery necessitating cardiopulmonary bypass. *The Journal of the American Society of Anesthesiologists* 2005;102:276-84.
 94. Panicucci F, Sagripanti A, Conte B, Pinori E, Vispi M, Lecchini L. Antithrombin III, heparin cofactor and antifactor Xa in relation to age, sex and pathological condition. *Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis* 1980;9:297-302.

95. Young E, Wells P, Holloway S, Weitz J, Hirsh J. Ex-vivo and in-vitro evidence that low molecular weight heparins exhibit less binding to plasma proteins than unfractionated heparin. *Thrombosis and haemostasis* 1994;71:300-4.
96. Young E, Podor TJ, Venner T, Hirsh J. Induction of the acute-phase reaction increases heparin-binding proteins in plasma. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 1997;17:1568-74.
97. Lane DA and Ulf L. Heparin: chemical and biological properties, clinical applications, 1989.
98. Conlan MG, Folsom AR, Finch A, Davis C, Sorlie P, Marcucci G, et al. Associations of factor VIII and von Willebrand factor with age, race, sex, and risk factors for atherosclerosis. *Thrombosis and haemostasis* 1993;70:380-5.
99. Schwartz RS, Bauer KA, Rosenberg RD, Kavanaugh EJ, Davies DC, Bogdanoff DA, et al. Clinical experience with antithrombin III concentrate in treatment of congenital and acquired deficiency of antithrombin. *The American journal of medicine* 1989;87:S53-S60.
100. Menache D, O'malley J, Schorr J, Wagner B, Williams C, Alving B, et al. Evaluation of the safety, recovery, half-life, and clinical efficacy of antithrombin III (human) in patients with hereditary antithrombin III deficiency. Cooperative Study Group [see comments]. 1990.
101. Koster A, Ljajikj E, Faraoni D. Traditional and non-traditional anticoagulation management during extracorporeal membrane oxygenation. *Annals of cardiothoracic surgery* 2019;8:129.
102. Sklar MC, Sy E, Lequier L, Fan E, Kanji HD. Anticoagulation practices during venovenous extracorporeal membrane oxygenation for respiratory failure. A systematic review. *Annals of the American Thoracic Society* 2016;13:2242-50.
103. Ranucci M, Baryshnikova E, Cotza M, Carboni G, Isgrò G, Carlucci C, et al. Coagulation monitoring in postcardiotomy ECMO: conventional tests, point-of-care, or both? *Minerva anesthesiologica* 2016;82:858-66.
104. Thiagarajan RR, Barbaro RP, Rycus PT, McMullan DM, Conrad SA, Fortenberry JD, et al. Extracorporeal life support organization registry international report 2016.

ASAIO journal 2017;63:60-7.

105. Barbaro RP, Paden ML, Guner YS, Raman L, Ryerson LM, Alexander P, et al. Pediatric extracorporeal life support organization registry international report 2016. ASAIO journal (American Society for Artificial Internal Organs: 1992) 2017;63:456.
106. Reed RC and Rutledge JC. Laboratory and clinical predictors of thrombosis and hemorrhage in 29 pediatric extracorporeal membrane oxygenation nonsurvivors. Pediatric and Developmental Pathology 2010;13:385-92.

Abstract

Backgrounds: Heparin is a commonly used drug for treatment and prevention of various thrombotic diseases and can be categorized by production method and its molecular weight into unfractionated heparin (UFH) and low molecular weight heparin. UFH has the advantage of shorter half-life thus making it preferred for patients with renal insufficiency. It is also commonly used during hospitalization and following surgical operations. Activated partial thromboplastin time (aPTT) and heparin anti-Xa tests are the most frequently utilized tests for heparin monitoring. In addition to heparin use, biological factors are highly influential to aPTT results. Therefore, heparin anti-Xa test is strongly recommended for patients with prolonged baseline aPTT due to heparin resistance, liver failure, presence of lupus anticoagulant, and also for those with shortened aPTT due to increases in factor VIII and fibrinogen.

Heparin anti-Xa test has the advantage of directly measuring heparin activity and being less influenced by biological factors, but antithrombin level is an important interference. Depending on the use of additional antithrombin, reagents for heparin anti-Xa test can be categorized into 1 stage and 2 stage heparin anti-Xa tests, although 1 stage heparin anti-Xa test is preferred by most clinical laboratories regarding convenience and turnaround time. However, evaluation of the effect and clinical implication of antithrombin on the heparin anti-Xa test is scarce and current clinical guidelines have controversy over the measurement and administration of antithrombin during heparin monitoring. In addition, considering the effect of antithrombin on heparin monitoring in various clinical conditions in conjunction with biological factors, investigation of the impact on heparin monitoring is warranted.

Method: Among hospitalized patients who treated intravenous UFH during the period between January 2020 and August 2021 at Asan Medical Center, 628 samples from 192 patients simultaneously analyzed for aPTT and 1 stage heparin anti-Xa test were enrolled. The anonymized data of the patient was extracted using the Asan Biomedical research Environment (ABLE) and the biological factors affecting the heparin monitoring results were retrospectively analyzed. Test results of aPTT and 1 stage heparin anti-Xa used for

heparin monitoring were retrospectively analyzed with additional data. Patient age, sex, body mass index, antithrombin, factor VIII, fibrinogen, C-reactive protein (CRP), lupus anticoagulant were included as biological factors with possible influence to heparin monitoring.

The effect of antithrombin on heparin monitoring was analyzed additionally. Normal pooled plasma from 20 healthy representative individuals and antithrombin-deficient plasma (Affinity Biologicals, Ontario, Canada) were prepared in 6 levels concentrations from 0% to 100% antithrombin. Heparin-spiked plasma were generated by addition of heparin in 11 levels from 0 U/mL to 1.0 U/mL. The effect of antithrombin in heparin-spiked plasma in various concentrations was compared between normal pooled plasma and the antithrombin-deficient plasma using the results from aPTT, 1 stage and 2 stage heparin anti-Xa tests. Statistical analyses were done using SPSS version 24.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Results: aPTT and 1 stage heparin anti-Xa result showed a weak correlation in patients treated with heparin and the correlation was higher in the antithrombin $\geq 60\%$ group ($R^2 = 0.154$, $R^2 = 0.419$, respectively, $P < 0.001$). When using *in vitro* heparin-spiked plasma, the correlation between aPTT and 1 stage heparin anti-Xa test ($R^2 = 0.937$, $P < 0.001$) was better than aPTT and 1 stage heparin anti-Xa ($R^2 = 0.634$, $P < 0.001$) and 1 stage and 2 stage heparin anti-Xa ($R^2 = 0.495$, $P < 0.001$). Especially the correlation was the highest in the heparin-spiked plasma with antithrombin $\geq 60\%$ ($R^2 = 0.991$, $P < 0.001$).

In the patient's antithrombin $<60\%$ group, the patients were of older age, higher aPTT and CRP results and lower heparin anti-Xa result ($P = 0.032$, $P < 0.001$, $P < 0.001$, $P = 0.022$, respectively). On the other hand, in the CRP ≥ 10 mg/dL group, factor VIII and fibrinogen levels were higher and antithrombin level was lower ($P = 0.049$, $P < 0.001$, $P < 0.001$, respectively).

The results of *in vitro* analysis using heparin-spiked plasma, aPTT showed linearity at all levels of antithrombin (0% - 100%) in accordance to the spiked-heparin levels whereas the 1 stage heparin anti-Xa test showed linearity within 5 levels of antithrombin (20% - 100%) ($P < 0.001$, respectively). In addition, the heparin activity was lower as the antithrombin concentration decreased. An underestimation of heparin activity was observed, as aPTT was

lower when antithrombin concentration was below 40% and 1 stage heparin anti-Xa was lower in antithrombin <60%. In particular, the 1 stage heparin anti-Xa test was not at all measurable in the antithrombin 0% heparin-spiked plasma. In comparison, 2 stage heparin anti-Xa test showed no differences in the results according to antithrombin concentrations ($P = 0.083$).

Conclusion: In this study, the necessity of evaluating antithrombin activity was shown by demonstrating the effect of antithrombin on heparin monitoring using both *in vivo* heparin-treated patient samples and *in vitro* heparin-spiked plasma samples. In particular, the effect of antithrombin activity on the result of 1 stage heparin anti-Xa test was profound. Statistically significant differences were observed in antithrombin <60% group suggesting that implementation of 2 stage heparin anti-Xa test and antithrombin administration can be beneficial for heparin monitoring. As in any clinical settings, reduction of antithrombin is accompanied by an increase in acute-phase reactants such as factor VIII, fibrinogen, and CRP, and measurement of such biologic factors should also be considered during heparin monitoring.