

• 综 述 •

凝固曲线波形分析在凝血功能检测中的应用研究进展

董红梅,王 环,丁惠惠 综述,陈 红[△]审校
重庆医科大学附属第二医院检验科,重庆 400010

摘 要:凝血功能的检测有助于血液疾病的诊断、患者出血与血栓风险的评估和止血与抗凝治疗,在疾病的诊断、治疗、预防等方面具有重要作用。凝固曲线波形分析是近期发展起来的一种新的凝血功能评估方法。它通过对常规凝血试验中反映凝血过程的波形图进行求阶导数,获得更多敏感的参数用于评估机体的止凝血功能。与传统凝血功能试验相比,凝固曲线波形分析对出血及血栓形成风险的评估更全面有效。

关键词:凝血功能; 凝固曲线波形分析; 凝血试验

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2025.15.015

中图法分类号:R446.1

文章编号:1673-4130(2025)15-1879-06

文献标志码:A

Progress in the application of coagulation curve waveform analysis in the detection of coagulation function

DONG Hongmei, WANG Huan, DING Huihui, CHEN Hong[△]
Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of
Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China

Abstract: The detection of coagulation function is helpful for the diagnosis of blood diseases, the assessment of bleeding and thrombus risks in patients, and the treatment of hemostasis and anticoagulation. It plays an important role in the diagnosis, treatment, and prevention of diseases. Solidification curve waveform analysis is a newly developed method for assessing coagulation function. It obtains more sensitive parameters for evaluating the coagulation function of the body by taking the order derivative of the waveform reflecting the coagulation process in routine coagulation experiments. Compared with traditional coagulation function tests, coagulation curve waveform analysis curves is more comprehensive and effective in assessing the risk of bleeding and thrombosis.

Key words: coagulation function; coagulation curve waveform analysis; coagulation experiment

凝血分析仪的凝固曲线是指在进行凝血功能检测时,对测试杯中纤维蛋白凝块形成过程的图形描述。凝固曲线由 3 期组成:基线期、纤维蛋白生成期和平台期,正常的凝固曲线为典型的“懒 S”型。凝固曲线反映了标本与试剂反应的全过程,包含丰富信息。近年来,随着医学研究的发展,人们发现凝固曲线波形特征及其衍生的相关参数能够极大地丰富相关凝血指标,更有助于凝血功能的分析。本文旨在对凝固曲线波形分析(CWA)在凝血功能检测中的应用研究进展作一综述。

1 传统的凝血功能检测

凝血功能检测作为患者入院、术前检查项目,是诊断血液疾病,评估患者出血与血栓风险及指导止血与抗凝治疗的重要手段。传统的凝血功能检测主要有血浆凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)及凝血酶时间(TT)等项目。通过对上述指标的分析,有助于患者出血与血栓风险的评估,对部

分血液疾病的诊断也具有一定的参考意义。作为体外功能性凝血筛查试验,传统的凝血检测项目也存在部分不足,例如:凝血过程不能可视化,面对复杂繁多的干扰因素不能准确地反映体内的出血、凝血情况等。此外,面对不同厂家的仪器和试剂,以“秒”为单位的传统凝血检测项目较难实现标准化,这些因素也限制了传统凝血检测项目在新的止血与血栓领域的发展。因此,如何利用传统凝血检测项目对新形势下止血与血栓疑难问题进行解释与分析具有重要的临床意义。

2 CWA

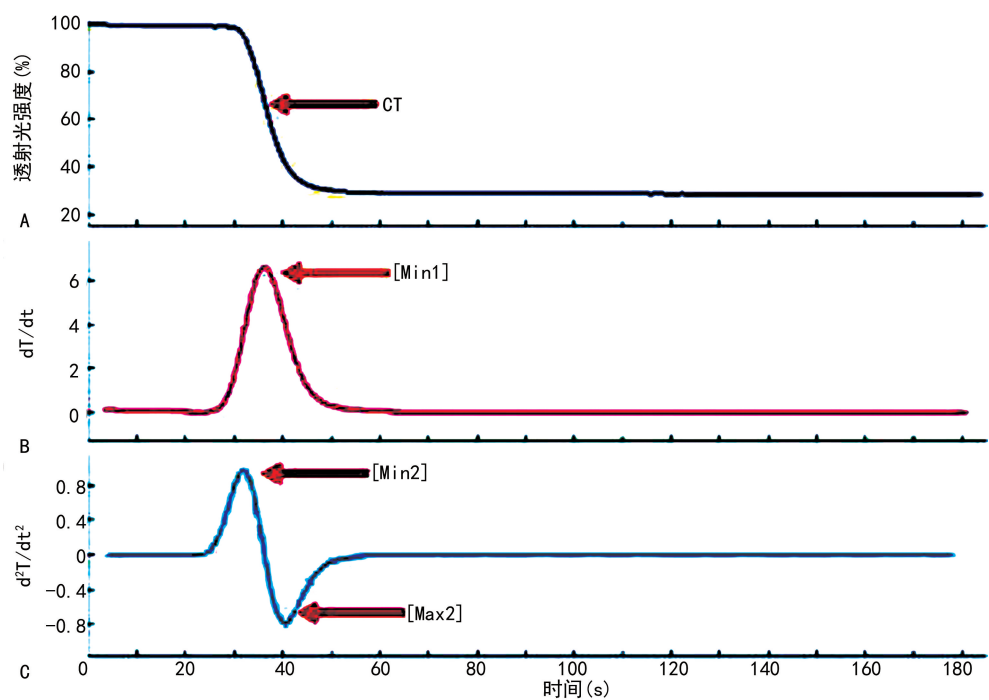
CWA 是新开发的一项系统性凝血评估试验。它基于对光学法原理检测传统凝血项目(包括 APTT、PT、TT)的反应过程中,因纤维蛋白形成而触发的透光率、吸光度或光散射变化的连续观察,绘制成凝固曲线波形图,进一步对波形图进行求阶导数可得出凝血反应过程中的最大反应速度、最大凝血加速度、最

[△] 通信作者, E-mail: chen hong15427@163. com.

大凝血减速度等新的凝血参数,为患者凝血功能的分析提供了更多信息。基于现有的全自动凝血分析仪和试剂,CWA 可作为凝血功能新的简便评估方法,应用于临床各种具有特殊出血问题疾病的分析^[1-2]。

以 APTT 实验为例:如图 1^[1],图 A 为 APTT 实验过程中纤维蛋白生成曲线,横轴表示时间(s),纵轴表示透射光强度(%),最大透射光强度为 100%,最小透射光强度为 0%。随着试验过程中纤维蛋白的不断产生,透射光强度逐渐下降,在 0%~100%,选择预先设定的终点(一般设定 50%)读数,此终点下的凝血时间(CT)即为 APTT 的测试时间;图 B 为将增量吸光度除以增量时间得到的透射光强度的一阶导数,以获

得与速度相对应的一阶导数曲线,反映了每个时间点的凝血反应速度,|Min1|(dT/dt)为最大凝血反应速度;图 C 为将速度变化除以时间变化得到的透射光强度的二阶导数,以获得与加速度相对应的二阶导数曲线,反映了每个时间点的凝血反应加速度,|Min2|(d²T/dt²)为最大凝血加速度,|Max2|(d²T/dt²)为最大凝血减速度。凝血过程主要涉及 3 种机制:级联系统反应、凝血酶暴发和血小板膜磷脂表面凝血因子活性增强,分别由纤维蛋白生成曲线、一阶导数曲线和二阶导数曲线反映。一阶导数和二阶导数曲线图中都获得了峰值时间、高度和宽度等参数,峰值时间、高度和宽度均与止血功能相关^[3-4]。



注:A 为纤维蛋白生成曲线图;B 为透射光强度的一阶求导曲线图;C 为透射光强度的二阶求导曲线图。

图 1 基于 APTT 的凝固曲线波形图

3 CWA 的类型

3.1 CWA-APTT 传统的 APTT 试验通过在反应体系中添加硅土、鞣花酸(Elg)等接触激活剂,激活内源性凝血系统,根据 APTT 测试时间来实现对内源性凝血途径功能的筛查。内源性凝血因子缺乏、狼疮抗凝物(LA)及凝血因子抑制物的存在等均可导致 APTT 检测时间延长,实验室通常采用 APTT 纠正试验、凝血因子活性测定、凝血因子抑制物检测或 LA 检测等进一步分析导致 APTT 延长的原因,但由于技术水平、试验成本等问题,一般实验室不易开展。LA 阳性患者大多数凝血因子活性正常,但是由于存在抗磷脂抗体结合了 APTT 试剂中的磷脂成分而引起 APTT 延长,患者通常没有凝血障碍或出血倾向,这与凝血因子缺乏导致 APTT 延长的原因不同。凝血因子抑制物的产生可降低或抵消凝血因子的作用,加

大患者的出血风险和治疗难度,因此及时识别凝血因子抑制物的存在对临床诊疗十分重要^[5]。与 LA 阳性患者相比,凝血因子缺乏患者的血浆在 APTT 试验中|Min1|、|Min2|和|Max2|均减低^[6]。而凝血因子抑制物阳性患者 APTT 的 CWA 参数|Min1|和|Min2|又明显低于单纯的因子缺乏患者和健康对照者^[7]。有研究利用不同原因引起 APTT 延长时 CWA 相关参数的差异,建立了通过 CWA-APTT 快速区分 APTT 延长原因的方法^[8]。

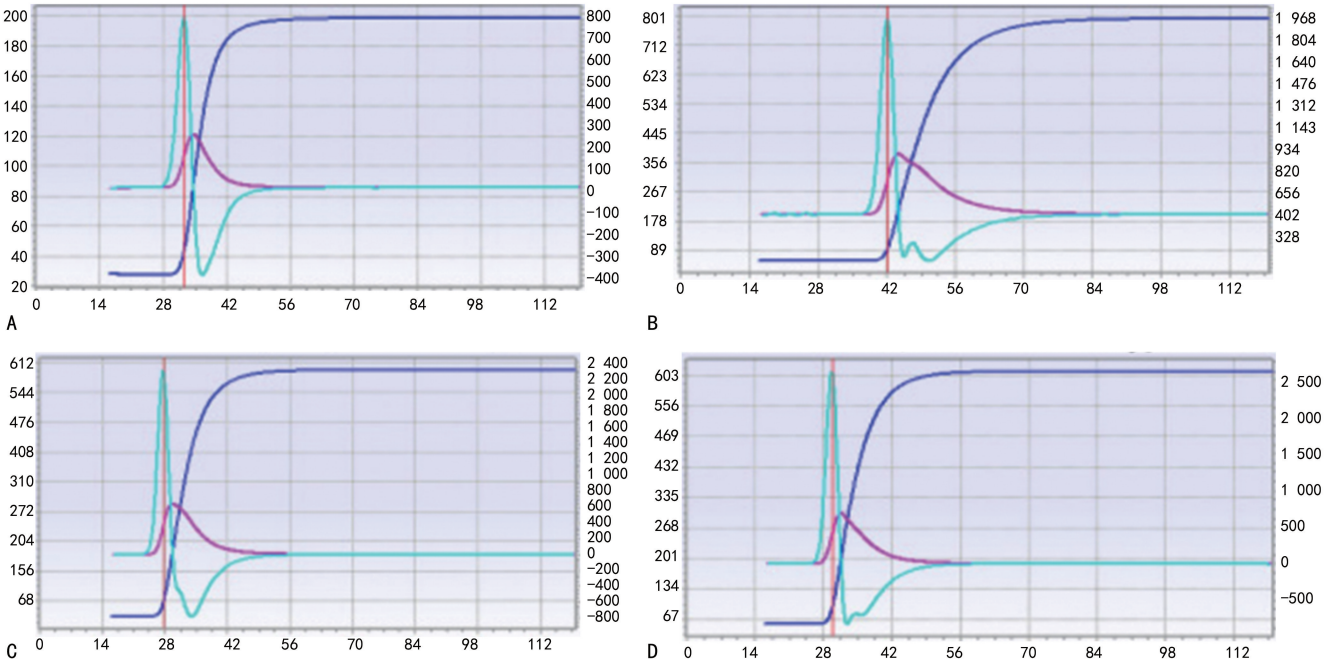
血友病作为一种 X 染色体连锁的遗传性出血性疾病,以 FⅧ/FⅨ减少或缺乏为特征。现有的凝血因子活性检测多采用依赖于 APTT 试验的一期法,对因子活性在 1.0~2.0 IU/dL 以下的重症血友病患者灵敏度低。CWA-APTT 的一阶及二阶导数曲线与凝血酶暴发和血小板膜磷脂表面凝血因子活性增强有关,

可以更好地反映 APTT 测试中凝血酶的生成与凝血因子的活化强度。研究发现, CWA-APTT 中 $|Min1|$ 和 $|Min2|$ 与 FⅧ浓度具有良好的剂量关系, 对低水平 (<1.0 IU/dL) 凝血因子活性的检测, APTT 的 $|Min2|$ 参数变化比目前国内广泛用于凝血因子活性检测的一期法更敏感^[9-10]。因此, 将 CWA-APTT 应用于血友病患者的治疗监测具有重要的临床意义。

血栓性疾病是全球性的健康问题, 但血栓是一种可防、可治、可控的疾病, 其早期评估和诊疗对降低患者医疗负担, 提高患者生存率至关重要^[11]。CWA-APTT 提供了 APTT 反应过程中凝血酶暴发强度、凝血因子激活程度等详细信息, 在血栓风险监控、抗凝治疗监测、出血风险评估等方面均具有重要价值。TAN 等^[12] 研究发现急性静脉血栓栓塞 (VTE) 患者和健康者之间的平均 APTT 没有差异 ($P=0.830$), 但 VTE 患者的平均 CWA 参数 ($|Min1|$ 、 $|Min2|$ 、 $|Max2|$) 均显著高于健康者, 表明较高的 CWA-APTT 参数与急性 VTE 显著相关。WAKUI 等^[13] 发现使用直接凝血酶抑制剂 (DTIs) 和 FⅩa 抑制剂抗凝的患者 CWA-APTT 中 $|Min2|$ 明显降低, $|Min2|$ 的降低证实了此类抗凝药物对凝血酶的生成具有阻断作用, 且 CWA-APTT 中 $|Min1|$ 、 $|Min2|$ 、 $|Max2|$ 与药物浓度呈剂量依赖性降低, 表明 CWA-APTT 在抗凝治疗监测方面 also 具有重要的临床应用价值。当

前市面上现有 APTT 试剂仅可筛查出凝血因子活性低于 20%~50% 的患者^[14], 这对于一些大型术后患者及创伤患者出血风险的监控不够敏感。CWA-APTT 中一阶导数曲线和二阶导数曲线峰高的降低提示凝血酶生成不足或凝血因子活性低下, 对大型肝胆胰术后患者出血风险的评估优于传统的 APTT 检测^[15]。

炎症反应与凝血过程相互交联、相互影响。过度的炎症反应会导致凝血异常, 而凝血过程的激活又会进一步放大炎症反应, 进而加重组织损伤, 最终导致器官功能障碍等严重的后果。有研究发现在弥散性血管内凝血 (DIC) 或危重症患者的凝血功能检测中, C 反应蛋白与极低密度脂蛋白形成的 Ca^{2+} 依赖性复合物, 可使 APTT 凝固曲线波形图呈双相波形形态, 这种 APTT 凝固曲线双相透射波形形态可能是预测 DIC 的一种新标志物^[16-17]。此外, 在新型冠状病毒感染 (COVID-19) 患者发病 2 周左右, 其 APTT 的二阶导数曲线可以观察到高频率的早期肩型、晚期肩型或双相型的异常波形 (图 2), 且 $|Min1|$ 、 $|Min2|$ 较高, $|Max2|$ 较低, 这些结果表明 COVID-19 患者可能存在特定的凝血功能障碍^[18]。不同病原微生物的感染会导致不同程度的止血功能障碍, 进而影响 CWA-APTT 的波形形态与相关衍生参数, CWA-APTT 可能对辅助鉴别感染类型也有一定的帮助^[19]。



注: A 为正常波形; B 为双相波形; C 为早期肩型; D 为晚期肩型。

图 2 各类 APTT 凝固曲线波形形态

CWA-APTT 在不增加患者检测费用的条件下, 通过分析传统 APTT 反应波形曲线形态特征与相关衍生参数, 将单一的 APTT 结果扩展至凝血酶暴发时

间、强度、因子活化强度等多维度信息, 具有高效、简便、低成本、高特异性的优势, 适合各级实验室用于分析处理各类复杂的出凝血问题。

3.2 CWA-PT PT 通过在反应体系中提供组织因子(TF),激活外源性凝血系统,常作为外源性凝血途径的筛查指标。生理性凝血过程由外源性凝血系统快速启动,经内源性凝血系统进一步放大,故外源性凝血反应时间短,生成凝血酶数量低,因而常规 PT 凝固曲线波形峰值时间短,波形图小,限制了在 CWA 中的发展。近期研究显示,TF 触发的凝血活动反映了基于细胞的现代凝血模型^[20],这促使人们开始探索通过在 PT 测试中引入适量 APTT 试剂扩大凝血反应来获得改良的 CWA-PT 以实现对整体凝血功能的监测。

HAKU 等^[21]研究发现利用包含 Elg 和 TF 的混合物作为触发试剂,可实现对使用 rFⅦa 和活化的凝血酶原复合物(aPCC)等旁路制剂治疗患者凝血功能的监测。NOGAMI 等^[22]使用市售的 PT 和 APTT 试剂分别用作 TF 和 Elg 的来源,通过优化混合比例,可对使用艾美赛珠治疗获得性血友病人实现整体凝血功能监测。低浓度的 TF 不激活 FⅩ 而会激活 FⅨ 诱导产生少量的凝血酶,然而少量的凝血酶虽不足以诱导纤维蛋白的形成,但它却会激活 FⅪ、FⅧ和 FV,并启动凝血因子从 FⅪa 到凝血酶的循环激活,促进凝血酶暴发^[23]。WADA 等^[24]使用血小板或磷脂代替 APTT 试剂,用低浓度 TF 直接激活 FⅨ 引发凝血反应,利用外源性磷脂或血小板中的磷脂扩大凝血反应从而放大波形,进行低浓度 TF 激活 FⅧ的 CWA(CWA-sTF/FⅨa)。研究发现 CWA-sTF/FⅨa 不仅可以检测止血异常,还可以检测血小板计数的变化,该功能在大型骨科手术患者和特发性血小板减少性紫癜(ITP)患者的凝血功能评估中均得到证实^[25]。与其他类型血小板减少症患者相比,ITP 患者 CWA-APTT 和 CWA-sTF/FⅨa 峰高均明显较低,提示 ITP 患者凝血能力较差,CWA-sTF/FⅨa 的低峰高度是 ITP 患者出血风险的潜在预测指标^[26]。此外,在恶性肿瘤患者血栓监测中,血栓患者 CWA-sTF/FⅨa 的峰值高度明显高于非血栓患者,提示 CWA-sTF/FⅨa 峰值升高可能是肿瘤患者高血栓风险的良好监测指标^[27]。

3.3 CWA-TT 凝血酶作为凝血级联反应的核心酶,浓度不同功能作用不同。高浓度的凝血酶主要激活纤维蛋白原生成纤维蛋白,而低浓度的凝血酶则主要激活上游的多个凝血因子,如 FⅪ、FⅧ、FⅩ 和 FV,反式促进凝血酶生成以增强凝血反应,这一过程称为凝血酶暴发^[28]。传统的 TT 试验通过在反应体系中加入标准量的凝血酶(如 1.5 IU/mL),激活纤维蛋白原生成纤维蛋白,通常用于低/异常纤维蛋白原血症的筛查或者凝血酶干扰物的检测。WADA 等^[29]研究发现在凝血酶浓度 ≥ 5.0 IU/mL 时,CWA-TT

与纤维蛋白原浓度相关;而在凝血酶浓度 ≤ 1.0 IU/mL 时,CWA-TT 与凝血酶暴发相关,这表明利用不同浓度凝血酶的特性,稀释 TT 的 CWA(CWA-dTT)是凝血上游系统异常的潜在评估指标。值得一提的是,在 KESHAVA 等^[30]的研究中发现活化的 FⅦ可通过血小板依赖性和血小板非依赖性机制在血友病中产生凝血酶,表明凝血酶暴发机制可能至少部分取决于血小板。WADA 等^[26]通过 CWA-dTT 发现,富血小板血浆(PRP)一阶导数曲线中可以明显观察到第二个峰值,但是在对应的乏血小板血浆一阶导数曲线中第二峰值是缺失的。此一阶导数曲线中的第二个峰值表明血小板可提升凝血酶的暴发强度。此外,与健康对照者相比,在 PRP 标本中,肿瘤患者 CWA-dTT 中一阶导数曲线的第二个峰值显著增高,提示血小板对凝血酶暴发的增强作用可能是肿瘤患者出现高凝状态的主要原因。该团队进一步利用 CWA-dTT 分析了 ITP 患者,发现 CWA-dTT 中 ITP 患者与健康志愿者和其他类型血小板减少症患者相比,峰高更低,峰值时间更长,这表明血小板增强了血液凝固,且 ITP 患者的凝血能力较低。

艾美赛珠作为治疗血友病的一种抗Ⅸ/FⅩ双特异性抗体,仅需极少的剂量即可使接受艾美赛珠治疗患者的 APTT 及一期法检测的凝血因子水平维持在正常范围^[31],这类血友病治疗新药的使用也使传统的凝血检测项目面临着巨大挑战。然而,CWA-dTT 可以测量血浆中的 FⅧ活性,与艾美赛珠的存在无关^[32]。因此,CWA-dTT 有助于监测接受艾美赛珠单抗治疗的血友病患者的凝血功能。此外,尽管常规 APTT 评估显示接受 FⅧ浓缩物治疗的患者凝血能力低,但 CWA-dTT 在这些患者中显示出高凝状态,这表明 CWA-dTT 可能在评估接受 FⅧ浓缩物治疗患者的凝血功能中具有更高的敏感性^[33]。

3.4 t-PA 依赖的 CWA-APTT(CFWA) 促凝、抗凝和纤溶之间的平衡对于维持机体凝血功能的稳态至关重要。传统的凝血检测项目往往只能反映单因素水平,CWA 反映了凝血反应的全过程,被视为最有潜力的整体凝血功能监测指标。

研究发现,使用 TF/Elg 混合物作为触发剂的改良凝血酶生成试验提升了对 FⅧ:C 水平极低的血友病 A 患者的凝血功能监测^[34]。MATSUMOTO 等^[35]扩展了该技术,使用包含 TF 和组织型纤溶酶原激活剂(t-PA)的混合物作为触发剂来开发了凝血酶和纤溶酶生成组合测定,以同时评估凝血和纤溶潜力。该方法的监测价值已经在包括获得性血友病、急性白血病、川崎等疾病中得到证实^[36-38]。但该方法由于技术要求高,尚不适宜在临床推广。该团队利用最近热议的 CWA,进一步扩展该技术,结合 CWA-

APTT 和低浓度 t-PA 形成了 CFWA,实现了常规试验条件下对纤维蛋白凝块形成和纤维蛋白溶解的双向监测^[39]。在凝血监测中,CFWA 显示为两个峰:由 APTT 反应引起纤维蛋白形成的正峰和由 t-PA 诱导纤维蛋白溶解形成的负峰。对涵盖了凝血和纤溶双重反应过程的波形进行求阶导数,得到了最大凝血反应速度|Min1|、最大纤溶速度|FL-Min|、纤维蛋白溶解滞后时间及潜在的内源性纤维蛋白溶解水平等一系列参数,可实现同时对凝血系统和纤溶系统动态监测。目前,该团队已经证实通过 CFWA 可实现对 COVID-19、DIC 患者进行凝血和纤溶潜力的监测,帮助临床了解患者的凝血变化和疾病状态,为临床治疗决策提供事实依据^[40-41]。

4 展 望

CWA 在现有仪器和试剂的基础上,可实现对凝血功能进行整体的、可视化的监测,逐渐受到越来越多临床工作者的青睐。尤其是近年来进一步改良的 CWA,通过改进传统凝血检测项目,使 CWA 可以实现对各种复杂的止凝血问题的监测,例如高凝状态、大出血风险及旁路制剂或艾美赛珠单抗治疗的监测等。目前,随着技术的发展,部分厂家已经能够实现将凝固曲线及其衍生的相关参数实时上传到医院实验室信息系统,这为临床更好地利用 CWA 分析临床病例提供了便利。近年来,国内已有实验室逐渐探索建立 CWA 相关衍生参数的参考区间,但关于 CWA 及改良 CWA 的标准化等问题还亟待解决。CWA 应用前景广,有待多学科进行深入研究,不断完善,以便更好地发挥它的效用。

参考文献

- [1] 孙胜利,吴卫.凝固曲线波形分析的临床应用[J].临床检验杂志,2022,40(1):48-51.
- [2] 徐佳,王玲玲,李琦.凝固曲线波形分析的临床应用[J].中华检验医学杂志,2021,44(11):1199-1202.
- [3] SHIMA M, THACHIL J, NARI S C, et al. Towards standardization of clot waveform analysis and recommendations for its clinical applications[J]. J Thromb Haemost, 2013, 11(7):1417-1420.
- [4] LIPPI G, FAVALORO E. Activated partial thromboplastin time: new tricks for an old dogma[J]. Semin Thromb Hemost, 2008, 34(7):604-611.
- [5] 马汝飞,王贤,伍柏青,等.活化部分凝血活酶时间延长混合血浆纠正试验操作流程及结果解读中国专家共识[J].中华检验医学杂志,2021,44(8):690-697.
- [6] 韩立业,翟宏,续薇,等.活化部分凝血活酶时间的凝固曲线波形分析在鉴别血友病 A 和狼疮抗凝物阳性患者的临床应用研究[J].中华检验医学杂志,2024,47(8):920-926.
- [7] MATSUMOYO T, NOGAMI K, TABUCHI Y, et al.

Clot waveform analysis using CS-2000iTM distinguishes between very low and absent levels of factor VIII activity in patients with severe haemophilia A[J]. Hae mophilia, 2017, 23(5):e427-e435.

- [8] MATSUMOYO T, NOGAMI K, SHIMA M. A combined approach using global coagulation assays quickly differentiates coagulation disorders with prolonged APTT and low levels of FVIII activity[J]. Int J Hematol, 2017, 105: 174-183.
- [9] SHIMA M, MATSUMOTO T, FUKUDA K, et al. The utility of activated partial thromboplastin time (APTT) clot waveform analysis in the investigation of hemophilia A patients with very low levels of factor VIII activity (FVIII: C)[J]. Thromb Haemost, 2002, 87(3):436-441.
- [10] MATSUMOTO T, SHIMA M, TAKEYAMA, et al. The measurement of low levels of factor VIII or factor IX in hemophilia A and hemophilia B plasma by clot waveform analysis and thrombin generation assay [J]. J Thromb Haemost, 2006, 4(2):377-384.
- [11] STEVENS SM, DOUKETIS JD. Deep vein thrombosis prophylaxis in hos pitalized medical patients: current recommendations, general rates of implementation, and initiatives for improvement[J]. Clin Chest Med, 2010, 31(4): 675-689.
- [12] TAN C W, CHEEN M, WONG W, et al. Elevated activated partial thromboplastin time-based clot waveform analysis markers have strong positive association with acute venous thromboembolism[J]. Biochem Med, 2019, 29(2):020710.
- [13] WAKUI M, FUJIMORI Y, KATAGIRI H, et al. Assessment of in vitro effects of direct thrombin inhibitors and activated factor X inhibitors through clot waveform analysis[J]. J Clin Pathol, 2019, 72(3):244-250.
- [14] TOULON P, ELOIT Y, SMAHI M, et al. In vitro sensitivity of different activated partial thromboplastin time reagents to mild clotting factor deficiencies[J]. Int J Lab Hematol, 2016, 38(4):389-396.
- [15] MAEDE K, WADA H, SHINKAI T, et al. Evaluation of hemostatic abnormalities in patients who underwent major hepatobiliary pancreatic surgery using activated partial thromboplastin time-clot waveform analysis[J]. Thromb Res, 2021, 201:154-160.
- [16] TOH C H, GILES A R. Waveform analysis of clotting test optical profiles in the diagnosis and management of disseminated intravascular coagulation (DIC) [J]. Clin Lab Haematol, 2002, 24(6):321-327.
- [17] TOH C H, SAMIS J, DOWNEY C, et al. Biphasic transmittance waveform in the APTT coagulation assay is due to the formation of a Ca²⁺-dependent complex of C-reactive protein with very-low-density lipoprotein and is a novel marker of impending disseminated intravascular coagulation[J]. Blood, 2002, 100(7):2522-2529.

- [18] SHIMURA T, KURANO M, KANNO Y, et al. Clot waveform of APTT has abnormal patterns in subjects with COVID-19[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1):5190.
- [19] TAN C W, WONG W H, CHEEN M, et al. Assessment of APTT-based clot waveform analysis for the detection of haemostatic changes in different types of infections [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1):14186.
- [20] HOFFMAN M. Remodeling the blood coagulation cascade[J]. *J Thromb Thrombolysis*, 2003, 16(1/2):17-20.
- [21] HAKU J, NOGAMI K, MATSUMOTO T, et al. Optimal monitoring of bypass therapy in hemophilia A patients with inhibitors by the use of clot waveform analysis[J]. *J Thromb Haemost*, 2014, 12(3):355-362.
- [22] NOGAMI K, MATSUMOTO T, TABUCHI Y, et al. Modified clot waveform analysis to measure plasma coagulation potential in the presence of the anti-factor IXa/factor X bispecific antibody emicizumab[J]. *J Thromb Haemost*, 2018, 16(6):1078-1088.
- [23] WADA H, SHIRAKI K, MATSUMOTO T, et al. Clot waveform analysis for hemostatic abnormalities[J]. *Ann Lab Med*, 2023, 43(6):531-538.
- [24] WADA H, SHIRAKI K, MATSUMOTO T, et al. Effects of platelet and phospholipids on clot formation activated by a small amount of tissue factor[J]. *Thromb Res*, 2020, 193:146-153.
- [25] HASEGAWA M, TONS S, WADA H, et al. The evaluation of hemostatic abnormalities using a CWA-small amount tissue factor induced F IX activation assay in major orthopedic surgery patients[J]. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2021, 27:107602962110120.
- [26] WADA H, ICHIKAWA Y, EZAKE M, et al. Clot waveform analysis demonstrates low blood coagulation ability in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura[J]. *J Clin Med*, 2021, 10(24):5987.
- [27] KOBAYASHI M, WADA H, FUKUI S, et al. A clot waveform analysis showing a hypercoagulable state in patients with malignant neoplasms[J]. *J Clin Med*, 2021, 10(22):5352.
- [28] WADA H, ICHIKAWA Y, EZAKE M, et al. The revaluation of thrombin time using a clot wave form analysis [J]. *J Clin Med*, 2021, 10(21):4840.
- [29] WADA H, SHIRAKI K, MATSUMOTO T, et al. A clot waveform analysis of thrombin time using a small amount of thrombin is useful for evaluating the clotting activity of plasma independent of the presence of emicizumab[J]. *J Clin Med*, 2022, 11(20):6142.
- [30] KESHAVA S, PENDURTHI U R, ESMON C T, et al. Therapeutic doses of recombinant factor VIIIa in hemophilia generates thrombin in platelet-dependent and -independent mechanisms[J]. *J Thromb Haemost*, 2020, 18(8):1911-1921.
- [31] MULLER J, PEKRUL I, POTZSCH B, et al. Laboratory monitoring in emicizumab treated persons with hemophilia A[J]. *Thromb Haemost*, 2019, 119(9):1384-1393.
- [32] ØSTERUD B. Commentary on therapeutic doses of recombinant factor VIIIa in hemophilia generates thrombin in platelet-dependent and-independent mechanisms [J]. *J Thromb Haemost*, 2020, 18(8):1853-1854.
- [33] MATSUMOTO T, WADA H, SHIRAKI K, et al. The evaluation of clot waveform analyses for assessing hypercoagulability in patients treated with factor VIII concentrate [J]. *J Clin Med*, 2023, 12(19):6320.
- [34] MATSUMOTO T, NOGAMI K, OGIWARAK, et al. A modified thrombin generation test for investigating very low levels of factor VIII activity in hemophilia A[J]. *Int J Hematol*, 2009, 90(5):576-582.
- [35] MATSUMOTO T, NOGAMI K, SHIMA M. Simultaneous measurement of thrombin and plasmin generation to assess the interplay between coagulation and fibrinolysis [J]. *Thromb Haemost*, 2013, 110(4):761-768.
- [36] TAKEYAMA M, NOGAMI K, KAJIMOTO T, et al. First report of real-time monitoring of coagulation function potential and IgG subtype of anti-FVIII autoantibodies in a child with acquired hemophilia A associated with streptococcal infection and amoxicillin[J]. *Int J Hematol*, 2018, 107(1):112-116.
- [37] ISHIHARA T, NOGAMI K, MATSUMOTO T, et al. Potentially life-threatening coagulopathy associated with simultaneous reduction in coagulation and fibrinolytic function in pediatric acute leukemia after hematopoietic stem-cell transplantation [J]. *Int J Hematol*, 2017, 106(1):126-134.
- [38] YOSHIZAWA H, NOGAMI K, MATSUMOTO T, et al. Dynamic evaluation of hemostasis in the acute phase of Kawasaki disease using comprehensive coagulation functional assays[J]. *Thromb Res*, 2019, 174:76-83.
- [39] NOGAMI K, MATSUMOTO T, SASAI K, et al. A novel simultaneous clot-fibrinolysis waveform analysis for assessing fibrin formation and clot lysis in hemorrhagic disorders[J]. *Br J Haematol*, 2019, 187(4):518-529.
- [40] ONISHI T, SHIMONISHI N, TAAKEYAMA M, et al. The balance of comprehensive coagulation and fibrinolytic potential is disrupted in patients with moderate to severe COVID-19[J]. *Int J Hematol*, 2022, 115(6):826-837.
- [41] ONISHI T, ISHISARA T, NOGAMI K. Coagulation and fibrinolysis balance in disseminated intravascular coagulation[J]. *Pediatr Int*, 2021, 63(11):1311-1318.