

# Verbrauchskoagulopathie und Hyperfibrinolyse bei Hunden mit metastasierendem Mammakarzinom

Autor(en): **Mischke, R. / Wohlsein, P. / Busse, L.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires**

Band (Jahr): **140 (1998)**

Heft 12

PDF erstellt am: **21.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-593689>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

# Verbrauchskoagulopathie und Hyperfibrinolyse bei Hunden mit metastasierendem Mammakarzinom

R. Mischke<sup>1</sup>, P. Wohlsein<sup>2</sup>, L. Busse<sup>1</sup>, J. Poblenz<sup>2</sup>

## Zusammenfassung

Diese Untersuchung beschreibt die Veränderungen des Hämostasesystems (Thrombozytenzahl, aktivierte partielle Thromboplastinzeit [APTT], Thromboplastinzeit [Standardtest, modifizierter Test], Thrombinzeit, Fibrinogenkonzentration, Aktivität der Einzelfaktoren II, V, VII, X, VIII:C, IX, XI, XII, von Präkallikrein, Hochmolekulargewichtskininogen, Antithrombin III, Protein C, Plasminogen und  $\alpha_2$ -Plasmininhibitor, Konzentration des löslichen Fibrins und der Fibrin[ogen]spaltprodukte [FSP], Resonanzthrombogramm) bei sieben Hunden mit hämorrhagischer Diathese, die auf ein infiltrativ wachsendes Mammakarzinom mit multifokaler Blut- und Lymphgefässinvasion zurückzuführen war. In den meisten Fällen liessen sich Metastasen in verschiedenen Organen nachweisen. Bei allen Tieren lag eine schwere Verlaufsform einer Verbrauchskoagulopathie und Hyperfibrinolyse im Defibrinierungsstadium vor. Diese war neben einer erheblich erhöhten Konzentration ( $p < 0,0001$ ) des löslichen Fibrins (27,7 [16,0-79,2]  $\mu\text{g/ml}$ , Median [Minimum-Maximum], Referenzbereich [RB]:  $< 9,4 \mu\text{g/ml}$ ) und der FSP (340 [50-860]  $\mu\text{g/ml}$ , RB.:  $< 18 \mu\text{g/ml}$ ) durch einen verminderten Plasmaspiegel nahezu aller Komponenten des Gerinnungs- und Fibrinolyse systems gekennzeichnet, die bei der Fibrinogenkonzentration (0,16 [0,01-0,46] g/l, RB.: 1,17-3,09 g/l), der Aktivität der Faktoren V (30 [21-40] %, RB.: 75-158%) und VIII:C (9 [4-16] %, RB.: 72-136%) sowie der Protein C - Aktivität (8 [3-13] %, RB.: 68-139%) besonders ausgeprägt war (jeweils:  $p < 0,0001$ ).

**Schlüsselwörter:** Hund – metastasierendes Mammakarzinom – Hämostasepotential – lösliches Fibrin – Fibrin(ogen)spaltprodukte

## Disseminated intravascular coagulation and hyperfibrinolysis in dogs with metastasized mammary carcinoma

The alterations of the haemostatic system (platelet count, activated partial thromboplastin time [APTT], thromboplastin time [standard test, modified test], thrombin time, fibrinogen concentration, activity of the coagulation factors II, V, VII, X, VIII:C, IX, XI, XII, of prekallikrein, high molecular weight kininogen, antithrombin III, protein C, plasminogen and  $\alpha_2$ -plasmin inhibitor, concentration of soluble fibrin and fibrin(ogen) degradation products [FDP], resonance thrombogram) were described in seven dogs with haemorrhagic diathesis in consequence of an infiltratively growing mammary carcinoma with multifocal invasion of lymphatic and blood vessels. In most of the cases metastases in different organs could be demonstrated. In every case a serious stage of disseminated intravascular coagulation and hyperfibrinolysis was existent. This was indicated by the distinctly increased concentration ( $p < 0,0001$ ) of soluble fibrin (27,7 [16,0-79,2]  $\mu\text{g/ml}$ , median [minimum - maximum], reference range [RR.]:  $< 9,4 \mu\text{g/ml}$ ) and FDP (340 [50-860]  $\mu\text{g/ml}$ , RR.:  $< 18 \mu\text{g/ml}$ ) as well as a diminished plasma level of nearly all components of the coagulation and fibrinolytic system concerning especially the concentration of fibrinogen (0,16 [0,01-0,46] g/l, RR.: 1,17-3,09 g/l), the activity of factors V (30 [21-40] %, RR.: 75-158%) and VIII:C (9 [4-16] %, RR.: 72-136%) as well as the activity of protein C (8 [3-13] %, RR.: 68-139%) (each:  $p < 0,0001$ ).

**Key words:** Dog – metastasized mammary carcinoma – haemostatic potential – soluble fibrin – fibrin(ogen) degradation products

## Einleitung

Schwerste Verlaufsformen der Verbrauchskoagulopathie und Hyperfibrinolyse sind auch beim Hund ein seltenes Ereignis. Dies wird u. a. daran deutlich, dass für diese Spezies hierzu bislang in erster Linie Einzelfallbeschreibungen vorliegen. Neben verschiedenen anderen Ätiologien wie Magendilatation (Lees et al., 1977), Transfusion inkompatiblen Blutes (Schalm, 1980), Hyperthermie (Nakama et al., 1985) und toxischer Leberzelldegeneration (Hagiwara et al., 1990) werden hierbei insbesondere Karzinome als ursächliche Erkrankung angegeben (Slappendel et al., 1970, 1972; Schalm, 1980). Diese Arbeiten enthalten allerdings – über die Ergebnisse von Screeningtests der Hämostase hinaus – keine bzw. unvollständige Angaben zum Verhalten einzelner Komponenten des Gerinnungs- und Fibrinolyse systems. Entsprechende Untersuchungsergebnisse sind jedoch für die Differentialdiagnose von Hämostasestörungen und zur Erarbeitung pathophysiologischer Grundlagen von Bedeutung. Von den in den letzten Jahren aus dem Patientengut der Klinik für kleine Haustiere der Tierärztlichen Hochschule untersuchten Hunden mit Hämostasestörungen liess sich ein wesentlicher Teil der dramatisch verlaufenden Verbrauchskoagulopathien im Defibrinierungsstadium letztlich ursächlich auf ein metastasierendes Mammakarzinom zurückführen. Die wenig differenzierten bisher vorliegenden Untersuchungsergebnisse veranlassten uns, die hämostaseologischen Veränderungen bei bislang sieben dieser Hunde detailliert zu untersuchen, wobei zahlreiche Einzelfaktoren des Gerinnungssystems, die Inhibitoren Antithrombin III und Protein C, die Komponenten des Fibrinolyse systems Plasminogen und  $\alpha_2$ -Plasmininhibitor und die Konzentration der Aktivierungsmarker lösliches Fibrin und Fibrin(ogen)-spaltprodukte (FSP) einbezogen waren. Die Ergebnisse sollen in der vorliegenden Arbeit mitgeteilt werden.

## Tiere, Material und Methoden

### Patienten

Die Grundlage dieser Untersuchung bildeten sieben Tiere aus dem Patientengut der Klinik für kleine Haustiere der Tierärztlichen Hochschule Hannover. Sie waren in sechs von sieben Fällen wegen einer hämorrhagischen Diathese auffällig geworden und unterlagen somit einer Vorselektion. Bei der pathologisch-histologischen Untersuchung im Institut für Pathologie der Tierärztlichen Hochschule wurde in allen Fällen ein infiltrativ wachsendes Mammakarzinom mit multifokalen Einbrüchen in Blut- und Lymphgefässe gefunden. In jeweils zwei Fällen handelte es sich um ein solides Karzinom bzw. ein teils komplexes, teils solides Karzinom. In je einem Fall lag ein anaplastisches Karzinom, ein tubuläres Adenokarzinom und ein teils solide, teils tubulo-adenoid wachsendes Mammakarzinom vor. In vier von sechs Fällen, in denen der gesamte Tierkörper für die Sektion zur Verfü-

gung stand, konnten Fernmetastasen in verschiedenen Organen (Lunge: n = 3, Leber: n = 3, Herzmuskel: n = 2, Milz, Niere, Nebenniere, Gehirn: jeweils n = 1) nachgewiesen werden. Eine Tumorzellenembolie in der Lunge bestand bei zwei Tieren mit nachweisbaren Fernmetastasen und auch bei einem der beiden übrigen Hunde. Für den Vergleich der Ergebnisse verschiedener Fibrinogenbestimmungsmethoden wurden von einem Teil der Patienten mehrere Proben herangezogen, die an verschiedenen Tagen entnommen worden waren.

Als Kontrollgruppe und zur Erstellung von Referenzbereichen erfolgten für jede Messgrösse Untersuchungen an jeweils mindestens 100 adulten (1–8 Jahre alten) Hunden, die auf der Grundlage der klinischen Untersuchung und verschiedener labordiagnostischer Messergebnisse (Leukozytenzahl, Hämatokrit, Albumin-, Gesamteiweiss-, Kreatinin-, Harnstoff- und Bilirubinkonzentration, GLDH- und ALT-Aktivität) gesund waren und sowohl beiden Geschlechtern als auch verschiedenen Rassen angehörten.

### Gewinnung von Probenmaterial

Nach Punktion der allenfalls kurzzeitig und leicht gestauten Vene mit sterilen Einmalkanülen (1,1 x 30 mm) wurde Blut für Gerinnungsuntersuchungen in mit 1 ml 0,11 molarer Na-Citrat-Lösung (Boehringer Mannheim, Mannheim) beschickten Polyethylenzentrifugenröhrchen (10 ml, mit Graduierung, Sarstedt, Nümbrecht) bis zur 10 ml-Markierung gefüllt (1 Teil Na-Citrat und 9 Teile Blut). Ausserdem wurde Blut für die Serumgewinnung zur Messung der Konzentration von FSP in speziell konfektionierten Glasröhrchen (FDP tubes, Boehringer Mannheim) entnommen und mindestens 30 Minuten bei 37 °C inkubiert. Schliesslich wurde Blut in mit EDTA bzw. Li-Heparinat beschickten Probengefässen (jeweils ca. 1 ml) entnommen. Die Plasma- bzw. Serumgewinnung erfolgte jeweils nach 20minütiger Zentrifugation bei 2000x g.

### Thrombozytenzahl

Die Thrombozytenzahl wurde mit dem halbautomatischen Hämatologiesystem F-800 (Sysmex Medical Electronics GmbH, Norderstedt) nach Anweisung des Herstellers gemessen.

### Gruppentests

Die Thromboplastinzeit (TPZ) wurde mit Thromborel®s (Behringwerke, Marburg) einerseits nach der beigefügten, für den Menschen optimierten Testvorschrift (Standardtest, TPZ<sub>ST</sub>) und andererseits mit einem für canines Plasma modifizierten Test (TPZ<sub>MT</sub>) (MISCHKE, 1995; MISCHKE und NOLTE, 1997) gemessen. Für letzteren wurde Zitratplasma mit Diäthylbarbiturat-Acetat (DBA)-

Pufferlösung (pH = 7,6, Behringwerke, Marburg) 1:20 verdünnt und 100 µl der Verdünnung mit 100 µl Fibrinogenlösung [lyophilisiertes Humanfibrinogen (Haemochrom Diagnostica, Essen) gelöst in isotoner NaCl-Lösung zu einer Konzentration von 2 g/l, portioniert bei -70 °C gelagert] für 2 Minuten bei 37 °C temperiert. Nach Zugabe von 100 µl Aktivatorreagenz wurde die Gerinnungszeit wie bei allen koagulometrischen Tests im Koagulometer nach Schnitger und Gross (Amelung, Lemgo) gemessen. Mittels einer reagenzchargenspezifischen Referenzkurve, die durch Messung verschiedener Verdünnungsstufen von caninem Poolplasma (CPP: Mischung des Zitratplasmas von n ≥ 100 gesunden Hunden) erstellt wurde, konnte anschliessend die Gerinnungszeit in «Prozent Aktivität der Norm» (% Aktivität) transformiert werden. Die Messung der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (APTT) erfolgte mit dem Reagenz Pathromtin® (Behringwerke), die der Thrombinzeit mit Test-Thrombin (30 I.U., Gebrauchslösung: 3 I.U./ml, Behringwerke) jeweils nach Herstelleranleitung.

### Fibrinogenkonzentration

Die Fibrinogenkonzentration wurde photometrisch mit der kinetischen Methode (Boehringer Mannheim) mittels des Analysenautomaten Hitachi 704 (Boehringer Mannheim) angelehnt an die vom Hersteller vorgeschlagene Geräteadaptation gegen verschiedene Verdünnungen eines caninen Standardplasmas gemessen, dessen Fibrinogengehalt mit der Jacobsson-Methode ermittelt wurde. Vergleichend erfolgten Messungen mit der Methode nach Jacobsson (1955) und nach Clauss (1957). Die Jacobsson-Methode beruht auf der vollständigen Überführung des Fibrinogens in ein Fibringerinnsel durch Thrombinzugabe, wobei die Quantifizierung des Fibrins durch Messung der Extinktion bei 280 nm nach Lösen in alkalischer Harnstofflösung erfolgt. Die Clauss-Methode wurde mit einem kommerziellen Testkit (Boehringer Mannheim) ausgeführt, wobei zur Eichung ebenfalls verschiedene Verdünnungen des o.a. caninen Standards zur Anwendung gelangten.

### Aktivität einzelner Gerinnungsfaktoren

Zur Messung der Aktivität der Gerinnungsfaktoren II, V, VII und X im Koagulometer wurden 50 µl des 1:40 mit DBA-Puffer vorverdünnten Zitratplasmas mit 50 µl kommerziellen Mangelplasmas humanen Ursprungs [Boehringer Mannheim; Faktor VII: Behringwerke] gemischt. Nach einer einminütigen Inkubation bei 37 °C wurde als Startreagenz 200 µl Thromborel® S hinzugefügt und die Gerinnungszeit registriert.

Bei der Messung der Aktivität der Gerinnungsfaktoren VIII:C, IX, XI und XII, des Präkallikreins und Hochmolekulargewichtskininogens (HMWK) wurden zunächst analog 50 µl einer 1:40-Probenverdünnung zu 50 µl Mangelplasma (Boehringer Mannheim; Präkallikrein und

HMWK: Sigma Chemie, Deisenhofen) gegeben und dann 100 µl Pathromtin® als Aktivatorreagenz hinzugefügt. Nach dreiminütiger Inkubation der Mischung bei 37 °C im Koagulometer erfolgte die Zugabe von 100 µl 25 mM CaCl<sub>2</sub>-Lösung und Messung der Gerinnungszeit. Die Gerinnungszeit wurde anhand einer - für jede verwendete Chargenkombination aus Aktivatorreagenz und Mangelplasma mit verschiedenen Verdünnungsstufen von CPP mit DBA-Puffer (1:20-200%, 1:26,7-150%, 1:32-125%, 1:40-100%, 1:53,3-75%, 1:80-50%, 1:160-25%, 1:400-10%, 1:800-5%, 1:4000-1%) erstellten - Referenzkurve in % Aktivität des jeweiligen Gerinnungsfaktors transformiert.

### Antithrombin III, Protein C, Plasminogen und Plasmininhibitor

Mit Hilfe chromogener Substratmethoden wurde am Analysenautomaten Hitachi 704 die Aktivität von Antithrombin III und Protein C (Systempackungen von Boehringer Mannheim), Plasminogen (Coamatic® Plasminogen, Haemochrom Diagnostica, Essen) und α<sub>2</sub>-Plasmininhibitor (Coatest® Antiplasmin, Haemochrom Diagnostica) gemessen. Die Geräteadaptation folgte für die Antithrombin III- und Protein C-Aktivität der beigegeführten Testanleitung bzw. wurde für die Messung von Plasminogen und α<sub>2</sub>-Plasmininhibitor auf der Grundlage der Herstellervorschrift für andere Typen von Analysenautomaten bzw. der manuellen Pipettiervorschrift selbst erstellt.

Zur Eichung der Messung von Antithrombin III und α<sub>2</sub>-Plasmininhibitor fanden isotonische NaCl-Lösung (Reagenzienleerwert, 0%) und canines Poolplasma (100% Aktivität) Anwendung, für die Protein C- und Plasminogenmessung neben der isotonischen NaCl-Lösung verschiedene auf Verdünnungen des CPP (25, 50, 75, 100%) bzw. einem mittels Ultrafiltration erstellten CPP-Konzentrat (125%) basierende Standards.

### Lösliches Fibrin und Fibrin(ogen)spaltprodukte

Die Konzentration des löslichen Fibrins wurde mit Hilfe eines chromogenen Substrats (Coaset® Fibrinmonomer; Haemochrom Diagnostica) gegen einen selbst hergestellten Standard aus caninen Fibrinmonomeren gemessen. Zur quantitativen Messung der FSP-Konzentration wurde Serum in verschiedenen Verdünnungsstufen in den Latexagglutinationstest (FDP-Test; Boehringer Mannheim) eingesetzt. Die Nachweisgrenze des Tests wurde hierzu über Plasma mit definierter Fibrinogenkonzentration chargenspezifisch durch Variation der Inkubationszeit auf 2 µg (Fibrinogenäquivalent)/ml eingestellt.

### Resonanzthrombographie

Zur Messung des Resonanzthrombogramms mit dem Gerät Orbitometer ROM-4 (Amelung, Lemgo) wurden

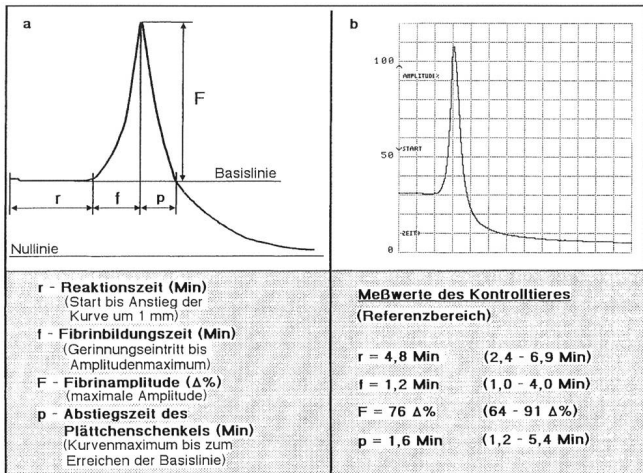


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Auswertung eines Resonanzthrombogramms (a) und typisches Resonanzthrombogramm eines gesunden Hundes (b). Die angegebenen Referenzbereiche beziehen sich auf das 2,5%- und 97,5%-Quantil der Ergebnisse von 305 gesunden Hunden

300 µl Zitratblut in die Kunststoffküvette einpipettiert und mit dem Ablauf der Inkubationszeit von 2 Minuten durch Zugabe von 100 µl isotoner, 25 mmol/l CaCl<sub>2</sub>-Lösung rekalkifiziert. Nach kurzem Mischen des Testansatzes mittels eines Kunststoffrührspatels wurde der Messkopf abgesenkt und damit der Metallstempel in die Probe eingetaucht. Die Auswertung erfolgte durch das Gerät automatisch mit den Kenngrößen RTG-r, RTG-f, RTG-F und RTG-p (Abb. 1).

### Statistische Auswertung

Als deskriptive Messgrößen fanden für die Messergebnisse der Patienten teilweise Minimum (x<sub>Min</sub>), 25%-Quantil (x<sub>0,25</sub>), Median (x<sub>0,50</sub>), 75%-Quantil (x<sub>0,75</sub>) und Maximum (x<sub>Max</sub>) Verwendung. Für den statistischen Vergleich mit der Kontrollgruppe wurde der Mann-Whitney-Test, für den Methodenvergleich bei der Fibrinogenkonzentration der Wilcoxon-Test herangezogen. Die angegebenen Referenzbereiche basieren auf dem 2,5%- und 97,5%-Quantil mit der Ausnahme der Konzentration der FSP und des löslichen Fibrins, wo die obere Referenzbereichsgrenze dem 95%-Quantil entspricht.

### Resultate

Während bei drei der sieben Hunde mit Verbrauchskoagulopathie und Hyperfibrinolyse infolge metastasierendem Mammakarzinom die Thrombozytenzahl noch innerhalb des Referenzbereichs lag (Abb. 2), war allen untersuchten Proben eine hochgradig verminderte Fibrinogenkonzentration gemeinsam (Abb. 3). Diese fand in Verbindung mit der deutlich erhöhten FSP-Konzentration und der Aktivitätsverminderung von Einzelfaktoren ihren Ausdruck auch in einer hochgradig verlängerten bzw. nicht messbaren Gerinnungszeit von APTT (x<sub>Min</sub> = 162 s, x<sub>0,50</sub>, > 500 s, Referenzbereich: 14,1-18,6 s, p

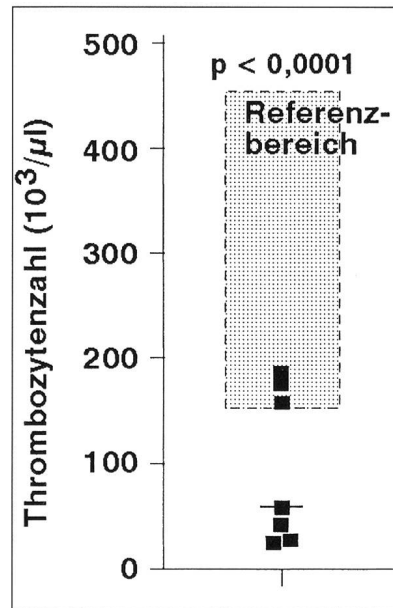


Abbildung 2: Thrombozytenzahl bei 7 Hunden mit metastasierendem Mammakarzinom im Vergleich zum Referenzbereich (2,5%- bis 97,5%-Quantil aus n = 487). Der Median wurde durch Querstrich gekennzeichnet. Der angegebene p-Wert resultiert aus dem statistischen Vergleich mit der Kontrollgruppe unter Verwendung des Mann-Whitney-Tests

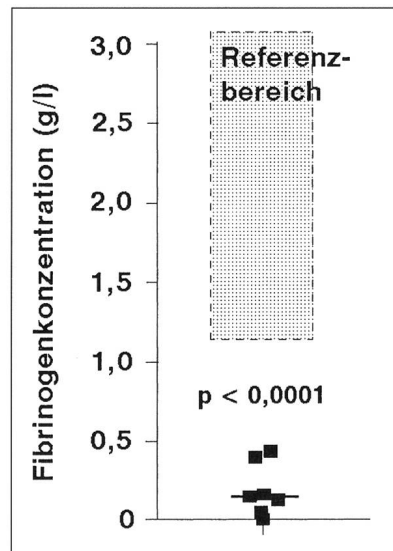


Abbildung 3: Mit der kinetischen Methode gemessene Fibrinogenkonzentration bei 7 Hunden mit metastasierendem Mammakarzinom (Querstrich = Median) im Vergleich zur Kontrollgruppe (n = 209 gesunde Hunde, Referenzbereich: 2,5%- bis 97,5%-Quantil, p-Wert des Mann-Whitney-Tests)

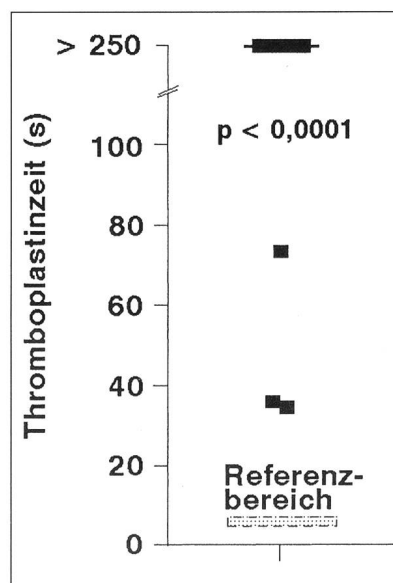


Abbildung 4: Thromboplastinzeit - Standardtest (TPZ<sub>ST</sub>) bei 7 Hunden mit metastasierendem Mammakarzinom (Querstrich = Median) im Vergleich zur Kontrollgruppe (n = 261 gesunde Hunde, Referenzbereich: 2,5%- bis 97,5%-Quantil, p-Wert des Mann-Whitney-Tests)

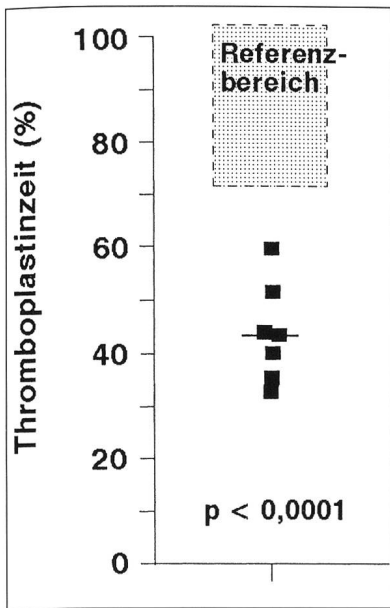


Abbildung 5: Thromboplastinzeit-modifizierter Test (TPZ<sub>MT</sub>) bei 7 Hunden mit metastasierendem Mammakarzinom (Querstrich = Median) im Vergleich zur Kontrollgruppe (n = 295 gesunde Hunde, Referenzbereich: 2,5%- bis 97,5%-Quantil, p-Wert des Mann-Whitney-Tests)

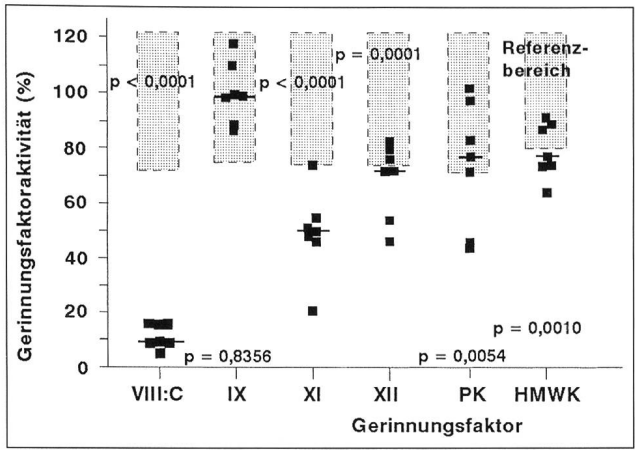


Abbildung 7: Aktivität der Gerinnungsfaktoren VIII:C, IX, XI, XII, des Präkallikreins (PK) und Hochmolekulargewichtskininogens (HMWK) bei 7 Hunden mit metastasierendem Mammakarzinom (Querstrich = Median) im Vergleich zur Kontrollgruppe (n > 120, Referenzbereich: 2,5%- bis 97,5%-Quantil, p-Wert des Mann-Whitney-Tests)

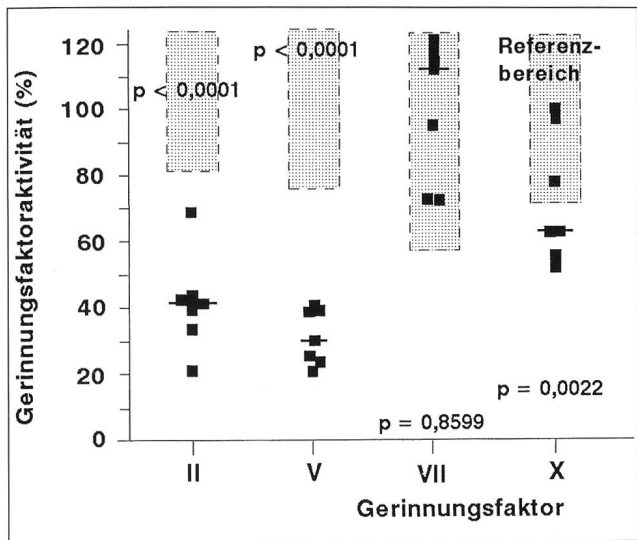


Abbildung 6: Aktivität der Gerinnungsfaktoren II, V, VII und X bei 7 Hunden mit metastasierendem Mammakarzinom (Querstrich = Median) im Vergleich zur Kontrollgruppe (n > 135 gesunde Hunde, Referenzbereich: 2,5%- bis 97,5%-Quantil, p-Wert des Mann-Whitney-Tests)

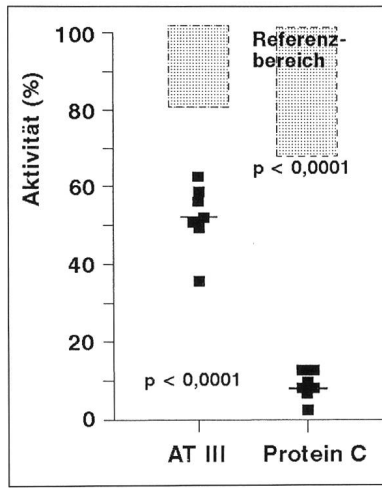


Abbildung 8: Aktivität von Antitrypsin III (AT III) und Protein C bei 7 Hunden mit metastasierendem Mammakarzinom (Querstrich = Median) im Vergleich zur Kontrollgruppe (n = 121 bzw. n = 108, Referenzbereich: 2,5%- bis 97,5%-Quantil, p-Wert des Mann-Whitney-Tests)

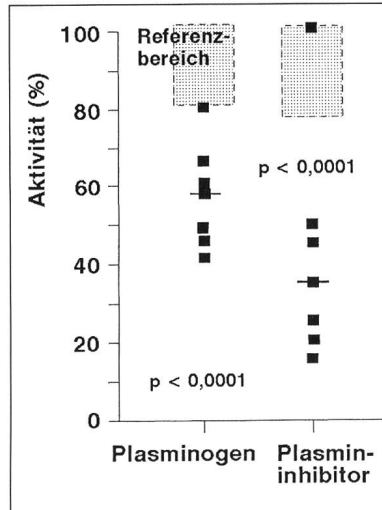


Abbildung 9: Aktivität von Plasminogen und  $\alpha_2$ -Plasmininhibitor bei 7 Hunden mit metastasierendem Mammakarzinom (Querstrich = Median) im Vergleich zur Kontrollgruppe (n = 151, Referenzbereich: 2,5%- bis 97,5%-Quantil, p-Wert des Mann-Whitney-Tests)

< 0,0001), Thrombinzeit ( $x_{\text{Min}} = 59,9$  s,  $x_{0,50} > 500$  s, Referenzbereich: 14,9–21,5 s,  $p < 0,0001$ ) und TPZ<sub>ST</sub> (Abb. 4). Die mit dem TPZ<sub>MT</sub> gemessene Gerinnungsaktivität lag dagegen in dem Bereich der Faktor II- und -V-Aktivität und spiegelte damit die Verhältnisse der am deutlichsten veränderten Gerinnungsfaktoren des Extrinsic-Systems wider (Abb. 5).  
 Ein Vergleich der mit verschiedenen Methoden gemessenen Fibrinogenkonzentration auf der Grundlage von 10 Proben von 6 Hunden zeigte, dass mit der Clauss-Methode die Fibrinogenkonzentration in den meisten Fällen (n = 9) unter der Nachweisgrenze dieser Methode (< 0,1 g/l) und damit - auch wenn für den statistischen Vergleich in diesen Fällen eine Konzentration von 0,09 g/l angenommen wurde - deutlich unter dem mit der ki-

netischen Methode ( $x_{0,50} = 0,16$  g/l;  $p = 0,0284$ ) und auch der Jacobsson-Methode ( $x_{0,50} = 0,15$  g/l;  $p = 0,0382$ ) ermittelten Ergebnis lag. Zwischen den beiden letztgenannten Methoden bestand kein deutlicher Unterschied ( $p = 0,6744$ ).

Mit der Ausnahme der Faktoren VII und IX war die Aktivität der Einzelfaktoren im Vergleich zur Kontrollgruppe deutlich vermindert (Abb. 6 und 7). Dies betraf insbesondere die Faktoren VIII:C und V. Daneben lag eine auf-

fällige Verminderung der Aktivität der Inhibitoren Antithrombin III und Protein C vor, die bei der letztgenannten Messgrösse besonders schwer ausgeprägt war (Abb. 8). Gleichfalls wurde eine deutliche Verminderung der Fibrinolysekomponenten Plasminogen und  $\alpha_2$ -Plasmininhibitor gesehen (Abb. 9).

Bei allen Tieren war sowohl die Konzentration des löslichen Fibrins (Abb. 10) als auch der FSP (Abb. 11) deutlich über den Referenzbereich erhöht. In Verbindung mit der erheblich erhöhten FSP-Konzentration führte die verminderte Fibrinogenkonzentration auch im Resonanzthrombogramm nur zu einer nicht erkennbaren bzw. im Bereich der Nachweisgrenze liegenden Fibrinbildung (RTG -  $F_{Max} = 5 \Delta\%$ ), so dass keine Auswertung erfolgte. Ein Beispiel hierfür ist Abb. 12 zu entnehmen.

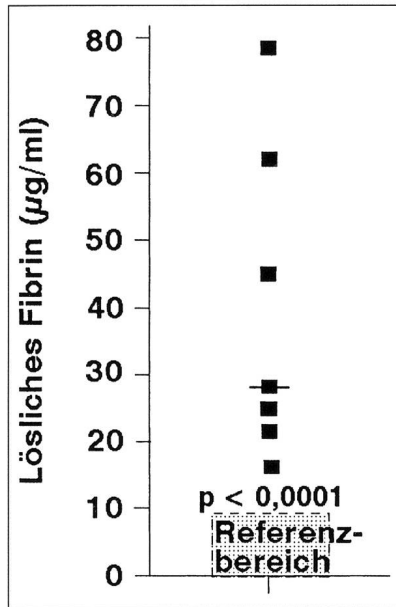


Abbildung 10: Konzentration des löslichen Fibrins bei 7 Hunden mit metastasierendem Mammakarzinom (Querstrich = Median) im Vergleich zur Kontrollgruppe (n = 102, Referenzbereich:  $\leq 95\%$  - Quantil, p-Wert des Mann-Whitney-Tests)

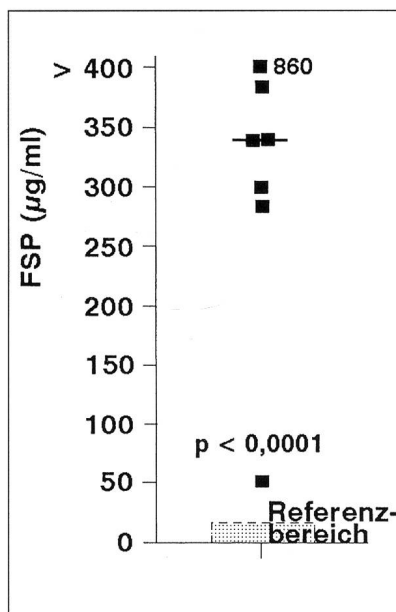


Abbildung 11: Konzentration der Fibrin(ogen)spaltprodukte (FSP) bei 7 Hunden mit metastasierendem Mammakarzinom (Querstrich = Median) im Vergleich zur Kontrollgruppe (n = 154, Referenzbereich:  $\leq 95\%$  - Quantil, p-Wert des Mann-Whitney-Tests).

## Diskussion

Die wesentliche Aufgabe der vorliegenden Untersuchung war die Charakterisierung der Veränderungen des Hämostasesystems bei Hunden mit schwerer Verlaufsform einer Verbrauchskoagulopathie und Hyperfibrinolyse im Defibrinierungsstadium.

Aufgrund der erheblich steigerbaren Syntheserate des Fibrinogens (Hardaway et al., 1964), die vor dem Hintergrund seiner Rolle als Akute-Phase-Protein (Eckersall und Conner, 1988) verständlich wird, wird das Defibrinierungsstadium auch beim Hund nur sehr selten erreicht und bringt dann eine erhebliche Aktivierung des Fibrinolyse-Systems zum Ausdruck. Indikator der überschüssigen Fibrinogenolyse bei den hier beschriebenen Fällen mit metastasierendem Mammakarzinom war u. a. die dramatische Erhöhung der FSP-Konzentration. Die selbst angewendete Methode erlaubte keine Differenzierung zwischen Fibrinogen- und Fibrinospaltprodukten, so dass hierdurch auch nicht zu unterscheiden war, ob eine primäre Hyperfibrinogenolyse oder eine sekundäre Aktivierung des Fibrinolyse-Systems mit Proteolyse von Fibrin- und Fibrinogenmolekülen vorlag. Das Ausmass der FSP-Erhöhung in den vorliegenden Fällen wird in Verbindung mit anderen Erkrankungen, die eine Verbrauchskoagulopathie und sekundäre Hyperfibrinolyse induzieren, z. B. Polytrauma und Hämolyse, nur ausnahmsweise erreicht (Mischke, 1997).

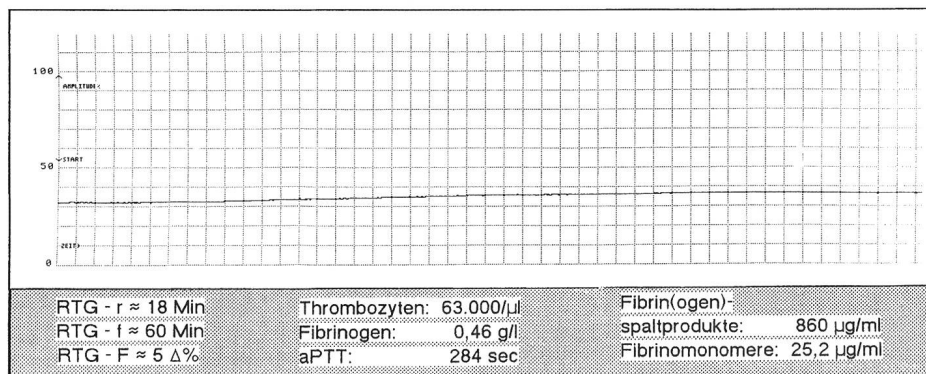


Abbildung 12: Resonanzthrombogramm und Ergebnisse ausgewählter hämostaseologischer Untersuchungen eines 10 Jahre alten, weiblichen Cocker Spaniels mit hochgradiger Verbrauchskoagulopathie und Hyperfibrinolyse infolge eines hochgradig infiltrativ wachsenden Mammakarzinoms, das durch zahlreiche Gefässeinbrüche und Metastasen in Lymphknoten, Lunge, Leber und Nieren gekennzeichnet war.

Die durch den auffälligen Fibrinogenmangel in Verbindung mit der erhöhten FSP-Konzentration ausgelöste schwere Fibrinbildungsstörung, die quasi einer Ungerinnbarkeit des Blutes gleichkommt, ist wesentlich mitverantwortlich für die klinisch auffällige Blutungsneigung. Sie wurde neben einer deutlichen Verlängerung der Gerinnungszeiten der Screeningtests insbesondere anhand des Resonanzthrombogramms deutlich, wobei der Anstieg der Kurve als Spiegelbild der Fibrinbildung nahezu völlig fehlte. Die Resonanzthrombographie liefert als einziges der verwendeten Verfahren eine Aussage über die Qualität des gebildeten Fibrins (Hartert, 1983). Als Ursache der gesteigerten Aktivität des Fibrinolyse-systems ist grundsätzlich eine primäre Stimulierung im Sinne einer Fibrinogenolyse durch die neben verschiedenen anderen Tumoren auch in Mammatumorzelllinien zumindest beim Menschen nachweisbaren Plasminogen-aktivatoren (O'Grady et al., 1985) denkbar. So fand sich bei einem Menschen mit metastasierendem Prostatakarzinom eine Fibrinogenolyse, ohne dass Anzeichen einer Verbrauchskoagulopathie vorlagen (Okajima et al., 1992). Obgleich eine Beteiligung dieses Pathomechanismus auch bei den hier beschriebenen Hunden mit metastasierendem Mammakarzinom nicht auszuschliessen ist und möglicherweise den im Vergleich zu anderen Erkrankungen ausgeprägten Grad der Hyperfibrinogenolyse erklärt, weist der gleichzeitig bestehende deutliche Verbrauch von Thrombozyten, Faktor II und Antithrombin III wie auch die deutlich erhöhte Konzentration von löslichem Fibrin darauf hin, dass eine erhebliche disseminierte intravasale Gerinnung vorliegt und somit die Hyperfibrinogenolyse wohl im wesentlichen sekundären Charakter besitzt. Dieser lässt sich auch anhand der Besserung des Blutgerinnungsstatus in Intervallen der Heparinbehandlung in dem von Slappendel et al. (1972) dargestellten Fall eines Irish Setter mit metastasierendem Mammakarzinom ablesen, die eigenen klinischen Erfahrungen entspricht.

Der Triggermechanismus der Aktivierung des Gerinnungssystems im Rahmen einer Tumorerkrankung liegt in Inhaltsstoffen der Tumorzellen begründet, von denen dem Gewebefaktor (Callander et al., 1992) und dem Tumorprokoagulan, einer Cystein-Protease, die Faktor X direkt aktivieren kann (Gordon und Cross, 1981), die grösste Bedeutung zufällt. Diese erfüllen für den Tumor den «biologischen Sinn» der Bildung einer Fibrinmatrix, die den Tumor vor der Immunantwort schützt und Grundlage der Bildung der Gefässversorgung darstellt und somit eine wesentliche Grundlage für das Tumorstadium liefert (Dvorak, 1986; Gunji et al., 1990). Die in Verbindung mit multifokalen Gefässeinbrüchen bzw. einer Fernmetastasierung auftretende Verbrauchskoagulopathie ist Ausdruck der multizentrischen Aktivierung des Hämostasesystems, so dass die Kapazität hemmender und kompensatorischer Mechanismen für eine Gegenregulation nicht ausreicht.

Von dem Verbrauch war unter den Gerinnungsfaktoren neben dem Fibrinogen und Faktor II besonders auffällig auch die Aktivität der Faktoren V und VIII:C betroffen,

wobei letztere in den Bereich von Hunden mit Hämophilie A abgesunken war. Dies geht auch mit den von Slappendel et al. (1972) beschriebenen Befunden konform. Die besonders ausgeprägte Empfindlichkeit der Faktor V- und Faktor VIII:C-Aktivität bei schweren Fällen der Verbrauchskoagulopathie und Hyperfibrinolyse lässt sich einerseits darauf zurückführen, dass diese Gerinnungsfaktoren durch Protein C, nach dessen Aktivierung durch Thrombin, proteolysiert werden (Marlar et al., 1982). Andererseits unterliegen diese Faktoren einem Abbau durch Plasmin (McNicol und Davies, 1973).

Die dramatisch - in den Bereich der Nachweisgrenze - verminderte Protein C-Aktivität bei den hier untersuchten Patienten ist die Folge einer durch die erhebliche Thrombinbildung massiven Aktivierung von Protein C mit anschliessender Neutralisierung. Der deutliche Verbrauch des Proteins C im Rahmen der disseminierten intravasalen Gerinnung wird von Griffin et al. bereits 1982 für den Menschen beschrieben. Unter dem Gesichtspunkt der Blutgerinnungsdiagnostik zeigt unsere Untersuchung einen wesentlichen Vorzug des TPZ<sub>MT</sub> im Vergleich zum TPZ<sub>ST</sub> auf, d. h. unabhängig von der Fibrinbildung über die Aktivität der Faktoren II, V, VII und X zu informieren (Mischke und Nolte, 1997). Die niedrigere Fibrinogenkonzentration bei der Clauss-Methode im Vergleich zur Jacobsson-Methode und kinetischen Methode ist Spiegelbild der geringeren bzw. fehlenden Interferenz mit den FSP bei diesen Methoden. Die deutliche FSP-Empfindlichkeit der Clauss-Methode liegt in ihrem Messprinzip als koagulometrischer Test begründet und geht auch aus zahlreichen Arbeiten vom Menschen hervor (Hoffman und Greenberg, 1987; Spannagl und Schramm, 1987). Inwieweit allerdings die Clauss-Methode gerade dadurch eher ein Abbild der In-vivo-Gerinnbarkeit des Blutes liefert, wird dort unterschiedlich beurteilt (Donati et al., 1971; Hoffman und Greenberg, 1987).

Abschliessend muss nochmals betont werden, dass der bei den hier beschriebenen Fällen gefundene, schwere Ausprägungsgrad der Hämostasestörung sicher nicht repräsentativ für Hündinnen mit metastasierendem Mammakarzinom ist, da im wesentlichen Tiere mit klinisch auffälliger Blutungsneigung gezielt untersucht wurden. Dies wird auch aus einer systematischen Untersuchung von Stockhaus et al. (1997) deutlich, in der unter Hündinnen mit Fernmetastasen eines Mammakarzinoms eine Verbrauchskoagulopathie nur bei 26% nachweisbar ist. Allerdings zeigt die im eigenen Untersuchungsgut in Verbindung mit einem metastasierenden Mammakarzinom beobachtete Häufung von Patienten mit hochgradiger Verbrauchskoagulopathie und Hyperfibrinolyse im Defibrinierungsstadium andererseits die Bedeutung dieser Erkrankung als Differentialdiagnose beim Vorliegen entsprechender hämostaseologischer Veränderungen auf, die durch eine entsprechende Fallbeschreibung in der veterinärmedizinischen Literatur (Slappendel et al., 1972) bislang nicht ausreichend gewürdigt wurde.



## Literatur

Callander N.S., Varki N., Moban Rao L.V. (1992): Immunohistochemical identification of tissue factor in solid tumors. *Cancer* 70, 1194-1201.

Clauss (1957): Gerinnungsphysiologische Schnellmethode zur Bestimmung des Fibrinogens. *Acta Haematol.* 17, 237-246.

Donati M.B., Vermeylen J., Verstraete M. (1971): Fibrinogen degradation products and a fibrinogen assay based on clotting kinetics. *Scand. J. Haematol.* 8, Suppl. 13, 255-256.

Dvorak H.M. (1986): Tumors: wounds that do not heal. *N. Engl. J. Med.* 315, 1650-1659.

Eckersall P.D., Conner J.G. (1988): Bovine and canine acute phase proteins. *Vet. Res. Commun.* 12, 169-178.

Gordon S.G., Cross B.A. (1981): A factor X-activating cysteine protease from malignant tissue. *J. Clin. Invest.* 67, 1665-1671.

Griffin J.H., Mosber D.F., Zimmermann T.S., Kleiss A.J. (1982): Protein C, an antithrombotic protein, is reduced in hospitalized patients with intravascular coagulation. *Blood* 60, 261-264.

Gunji Y., Lewis J., Gorelik E. (1990): Fibrin formation inhibits the in vitro cytotoxic activity of human natural and lymphokine-activated killer cells. *Blood Coagul. Fibrinol.* 1, 663-672.

Hardaway R.M., Johnson D.G., Elovitz M.J., Houchin D.N., Jenkins E.B., Burns J.W., Jackson D.R. (1964): Studies on the fibrinogen replacement rate in dogs. *Ann. Surg.* 160, 835-838.

Hagiwara M.K., Kogika M.M., Malucelli B.E. (1990): Disseminated intravascular coagulation in dogs with aflatoxicosis. *J. Small Anim. Pract.* 31, 239-243.

Hartert H. (1981): Resonance-thrombography: theoretical and practical elements. *Biorheology* 18, 693-701.

Hoffman M., Greenberg C.S. (1987): The effect of fibrin polymerisation inhibitors on quantitative measurements of plasma fibrinogen. *Am. J. Clin. Pathol.* 88, 490-493.

### Coagulopathie de consommation et hyperfibrinolyse chez des chiens atteints d'un carcinome de la glande mammaire avec métastases

Cette étude examine les modifications du système homéostatique (nombre des thrombocytes, thromboplastinoformation activée partielle, thromboplastinoformatin [test standard, test modifié], thrombinoformation, concentration du fibrinogène, activité des facteurs II, V, VII, X, VIII: C, IX, XI, XII, prékallicréine, kiniogène à haut poids moléculaire, antithrombine III, protéine C, plasminogène et inhibiteur de l' $\alpha_2$ -plasmin, concentration de la fibrine soluble et des métabolites du fibrinogène, thrombogramme par résonance) chez 7 chiens avec une diathèse hémorragique qui était causée par un carcinome croissant et infiltrant de la glande mammaire avec plusieurs foyers d'invasion des vaisseaux sanguins et lymphatiques. Dans la plupart de cas, des métastases ont été détectées dans plusieurs organes. Tous les animaux avaient une forme grave de coagulopathie de consommation avec hyperfibrinolyse dans un stade de défibrination. Mis à part par une concentration extrêmement élevée ( $p < 0,0001$ ) de la fibrine soluble (27,7 [16,0-79,2]  $\mu\text{g/ml}$ , médian [minimum-maximum]; domaine de référence:  $< 9,4 \mu\text{g/ml}$ ) et des métabolites du fibrinogène (340 [50-860]  $\mu\text{g/ml}$ ;  $< 18 \mu\text{g/ml}$ ) cette hyperfibrinolyse était caractérisée par une diminution de la concentration de tous les composants de la coagulation et du système fibrinolytique qui était particulièrement prononcée (chaque fois  $p < 0,0001$ ) pour la concentration du fibrinogène (0,16 [0,01-0,46] g/l; 1,17-3,09 g/l), l'activité des facteurs V (30 [21-40] %; 75-158%) et VIII: C (9 [4-16] %; 72-136%) ainsi que de la protéine C (8 [3-13] %; 68-139%).

### Coagulopatia e iperfibrinolisi in cani affetti da carcinoma mammario con metastasi

Quest'indagine descrive i cambiamenti nel sistema emostatico [numero di trombociti, tempo della tromboplastina attivata parziale, tempo della tromboplastina (test standard, test modificato), tempo della trombina, concentrazione di fibrinogeno, attività dei singoli fattori II, V, VII, X, VIII: C, IX, XI, XII, della pre-callicreina, del chininogeno ad alta massa molecolare, dell'antitrombina III, della proteina C, del plasminogeno e dell'inibitore della plasmina  $\alpha_2$ , le concentrazioni di fibrina solubile e dei prodotti derivanti dalla scissione del fibrinogeno, il trombogramma di risonanza] in sette cani con diatesi emorragica dovuta ad un carcinoma infiltrativo della mammella accompagnato da infiltrazioni ematiche e linfatiche. In tutti i soggetti era riscontrabile una forma grave della coagulopatia e dell'iperfibrinolisi giunta ad uno stadio di defibrinazione. L'iperfibrinolisi era caratterizzata da elevate concentrazioni di fibrina solubile ( $p < 0,0001$ ) [27,7 (16,0-79,2)  $\mu\text{g/ml}$ , mediano (minimo e massimo), valori di controllo:  $< 9,4 \mu\text{g/ml}$ ] e di prodotti derivati dalla scissione della fibrina [340 (50-860)  $\mu\text{g/ml}$ , valori di controllo:  $< 18 \mu\text{g/ml}$ ]. Inoltre le concentrazioni nel sangue di quasi tutti i componenti del sistema coagulativo e fibrinolitico erano ridotte, soprattutto la concentrazione di fibrinogeno [0,16 (0,01-0,46) g/l, valori di controllo: 1,17-3,09 g/l]. Era ridotta anche l'attività dei fattori V [30 (21-40) %], valori di controllo: 75-158%, VIII: C [9 (4-16) %], valori di controllo: 72-136% e della proteina C [8 (3-13) %], valori di controllo: 68-139%. Tutti questi valori erano significativamente minori dei controlli per un valore di  $p < 0,0001$ .

- Jacobsson K.* (1955): Studies on fibrinogen: I. Studies on determination of fibrinogen in human blood plasma. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 7, 1-54.
- Lees G.E., Leighton R.L., Hart R.* (1977): Management of gastric dilatation-volvulus and disseminated intravascular coagulation in a dog: a case report. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 13, 463-469.
- Marlar R.A., Kleiss A.J., Griffin J.H.* (1982): Mechanism of action of human activated protein C, a thrombin-dependent anticoagulant enzyme. *Blood* 59, 1067-1072.
- McNicol G.P., Davies J.A.* (1973): Fibrinolytic enzyme system. *Clin. Hematol.* 2, 23-51.
- Mischke R.* (1995): Evaluation of a prothrombin time optimized for the dog on plasmas with defined coagulation factor activity due to coumarin intoxication. *J. Vet. Med. A* 42, 589-599.
- Mischke R.* (1997): Überprüfung der Aussagekraft und Optimierung von Methoden zur Untersuchung des Hämostasesystems des Hundes. *Tierärztl. Hochsch. Hannover, Habil. - Schrift.*
- Mischke R., Nolte I.* (1997): Optimization of prothrombin time - measurements in canine plasma. *Am. J. Vet. Res.* 58, 236-241.
- Nakama S., Tanaky M., Goto N., Komatsu T.* (1985): A case report of canine disseminated intravascular coagulation (DIC). *Jpn. J. Vet. Sci.* 47, 329-332.
- O'Grady P., Lijnen H.R., Duffy M.J.* (1985): Multiple forms of plasminogen activator in human breast tumors. *Cancer Res.* 45, 6216-6221.
- Okajima K., Kobno I., Tsuruta J., Okabe H., Takatsuki K., Binder B.R.* (1992): Direct evidence for systemic fibrinogenolysis in a patient with metastatic prostatic cancer. *Thromb. Res.* 66, 717-727.
- Schalm O.W.* (1980): Disseminated intravascular coagulation (DIC) in the dog. *Canine Pract.* 7, 52-54.
- Slappendel R.J., De Maat C.E.M., Rijnberk A., Van Arkel C.* (1970): Spontaneous consumption coagulopathy in a dog with thyroid cancer. *Thromb. Diathes. Haemorrh.* 24, 129-135.
- Slappendel R.J., Van Arkel C., Mieog W.H.W., Bouma B.N.* (1972): Response to heparin of spontaneous disseminated intravascular coagulation. *Zentralbl. Vet. Med. A* 19, 502-513.
- Spannagl M., Schramm W.* (1987): Klinische Erprobung eines kinetischen Trübungstestes zur Fibrinogenbestimmung. *Lab. med.* 11, 123-127.
- Stockhaus C., Kohn B., Rudolph R., Giger U., Brunberg L.* (1997): Gerinnungsstörungen beim Mammakarzinom des Hundes. In: 6. Jahrestagung der Fachgruppe «Innere Medizin und Klinische Laboratoriumsdiagnostik» der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft, München, 5.-9. März 1997, Zusammenfassung der Vorträge, DVG-Selbstverlag, Gießen, S. 144 (Abstr.).

*Korrespondenzadresse: Priv.-Doz. Dr. Reinhard Mischke, Klinik für kleine Haustiere, Tierärztliche Hochschule Hannover, Bischofsholer Damm 15, D-30173 Hannover*

Manuskripteingang: 19. Dezember 1997

In vorliegender Form angenommen: 1. März 1998