



Doctoral Thesis

## Die Hämophilie A beim Schaf und das Schaf als Tiermodell zum Testen antihämophiler Stoffe

**Author(s):**

Neuenschwander, Stefan

**Publication Date:**

1991

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000601684> →

**Rights / License:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

28. Aug. 1991

Diss. ETH Nr. 9438

**DIE HÄMOPHILIE A BEIM SCHAF  
UND DAS SCHAF ALS TIERMODELL ZUM TESTEN  
ANTIHAEMOPHILER STOFFE**

ABHANDLUNG  
zur Erlangung des Titels  
DOKTOR DER NATURWISSENSCHAFTEN  
der  
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE  
ZÜRICH

vorgelegt von  
STEFAN NEUENSCHWANDER  
Dipl. Ing.-Agr. ETH  
geboren 10. August 1959  
von Lützelflüh (BE)

Angenommen auf Antrag von  
Prof. Dr. V. Pliška, Referent  
Dr. E. O. Meili, Korreferentin  
Prof. Dr. G. Stranzinger, Korreferent

*V. Pliška*

Zürich 1991

*Stranzinger*

## Zusammenfassung

### Die Hämophilie A beim Schaf und das Schaf als Tiermodell zum Testen antihämophiler Stoffe

Stefan Neuenschwander

In der vorliegenden Arbeit konnte die Blutgerinnungsstörung, die beim Weissen Alpenschaf beobachtet wurde, als eine F VIII-Hämophilie, vergleichbar mit der Hämophilie A beim Menschen, wie folgt beschrieben werden:

- Die partielle Thromboplastinzeit (PTT) war bei manifest erkrankten Tieren gegenüber Normaltieren pathologisch verlängert, während die übrigen Globaltests (TT, Quick) im Normalbereich waren.
- Der Defekt im intrinsischen System der Blutgerinnung konnte auf die minimale Aktivität des Blutgerinnungsfaktors VIII (F VIII) zurückgeführt werden. Die untenstehende Tabelle zeigt die Durchschnitte und die Standardabweichungen von PTT und F VIII sowie die jeweilige Anzahl der untersuchten Tiere.
- Der Defekt ist X-chromosomal gebunden. Die Kreuzung eines manifest erkrankten Widders mit einer Konduktorin brachte eine manifest erkrankte weibliche Bluterin, wie in 50% der Fälle zu erwarten ist. Der Gerinnungsstatus und das Krankheitsbild waren vergleichbar mit denjenigen der männlichen Bluter.
- Blutertiere reagierten über längere Zeit gut auf humane F VIII-Konzentrate. Sie wären daher geeignete Tiermodelle für die Überprüfung von gentechnologisch hergestellten F VIII-Präparaten.

	Normalschafe	Konduktorinnen	Bluter	Bluterin
PTT	1.00 ± 0.16 (N=44)	0.94 ± 0.20 (N=8)	0.36 ± 0.10 (N=5)	0.42 (N=1)
F VIII (%)	100.0 ± 21.4 (N=53)	68.1 ± 26.7 (N=8)	1.7 ± 1.7 (N=7)	3.5 (N=1)

Weil kein Schaf-Referenzplasma zur Verfügung stand, wurden die F VIII-Verdünnungskurven analysiert. Verschiedene Modelle werden für die Beschreibung des normalen F VIII, des defekten F VIII bei den Blutertieren, respektive des Anteils an mutiertem F VIII im Plasma bei Konduktorinnen diskutiert. Obwohl Unterschiede in den drei Tiergruppen auftraten, konnten einzelne Konduktorinnen anhand der Charakteristik der Verdünnungskurven nicht sicher als solche erkannt werden.

Im zweiten Teil der Arbeit wurden potentiell F VIII-steigernde Agonisten und Antagonisten von Neurohypophysenhormonen untersucht (Antihämophilika). Es hat sich gezeigt, dass gerinnungsnormale Schafe als Tiermodelle geeignet sind, um Reihenuntersuchungen durchzuführen.

Die antihämophile und fibrinolytische Wirkung der getesteten Substanzen wurde als Zeitverhalten und als Dosis-Wirkungsbeziehung dargestellt. Die antihämophile Wirkung scheint bei V2-Stoffen höher zu sein als bei V1-Stoffen, den Substanzen der Oxytocin-Gruppe und der Antagonisten.

Bei der fibrinolytischen Wirkung zeigten V1- und V2- Stoffe ein typisches Dosis-Wirkungsverhalten, während die Oxytocin-Gruppe und die Antagonisten unwirksam waren. Bei den wirk-

samen Stoffen zeichnete sich im Dosisbereich von 0.01 bis 10 nmol/kg Körpergewicht kein Maximum ab, dies im Gegensatz zur antihämophilen Wirkung.

Als wichtigste Nebenwirkung trat bei allen Stoffen eine dosisabhängige Zunahme des Plasmavolumens auf (gemessen als Abnahme des Hämatokrites und der Plasmaproteinkonzentration), wobei die Veränderungen beim V1-Agonisten (POVT) am grössten waren. Zudem zeigten Vasopressin und der V2-Agonist (DDAVP) beim Schaf eine dosisabhängige corticotrope Wirkung.

## Summary

### **Hemophilia A in sheep and the use of sheep as a model to test antihemophilic substances**

Stefan Neuenschwander

The coagulation disorder which occurs in the flock of White Alpine sheep at the experimental station of the Swiss Federal Institute of Technology can be described as F VIII hemophilia, similar to hemophilia A in men.

- Partial thromboplastin time (PTT) was pathologically prolonged in the affected animals, while prothrombin time (PT) and thrombin time (TT) were in a normal range.
- The defect in the intrinsic system of the bloodcoagulation cascade can be attributed to minimal activity of the coagulation factor VIII (F VIII). The table below shows the relative mean and the standard deviation of PTT, the F VIII activity and the number of animals tested. The relative mean of PTT in normal animals was arbitrarily set to 1.
- The defect is linked to the X-chromosome. Breeding of an affected ram with a carrier ewe produced an affected female bleeder, as one expects in 50% of the cases. Bloodcoagulation status and pathological alterations are consistent with those of male bleeders.
- Bleeders responded well to human F VIII concentrates over longer periods of time. Bleeder sheep would therefore be suitable animal models to investigate biotechnologically manufactured F VIII.

	normal sheep	carrier	male bleeder	female bleeder
PTT	1.00 ± 0.16 (N=44)	0.94 ± 0.20 (N=8)	0.36 ± 0.10 (N=5)	0.42 (N=1)
F VIII (%)	100.0 ± 21.4 (N=53)	68.1 ± 26.7 (N=8)	1.7 ± 1.7 (N=7)	3.5 (N=1)

Since there was no sheep reference plasma, the F VIII dilution curves were analysed. Various models are discussed for the description of F VIII in normal sheep, the mutated F VIII in bleeders and the interaction between mutated and normal F VIII in carriers. Although differences were apparent in these three groups, particular carriers could not be determined from the characteristics of the dilution curves.

In the second part of the work, potential F VIII enhancing agonists and antagonists of neurohypophyseal hormones were investigated. We consider normal sheep as a suitable animal model for the screening of antihemophilic drugs. The antihemophilic and fibrinolytic potency of the tested substances was demonstrated in a time-course and dose-response manner. The antihemophilic effect seems to be more distinct in V2 compared to V1 substances. The oxytocin group, agonists and antagonists of neurohypophyseal hormones were less effective.

The fibrinolytic activity of V1 and V2 substances showed a typical dose-response curve, whereas the other investigated substances remained ineffective. In the dose range of 0,01 to 10 nmol/kg body weight the maximal effect was not achieved, in contrary to the antihemophilic effect.

We observed a systematic dose dependent increase in plasma volume (measured as decrease of the packed cell volume (PCV) and of the protein concentration in plasma), a very important side

effect for all substances investigated. The increase in plasma volume after the administration of the V1 agonist (POVT) was more significant.

Vasopressin and a V2 agonist (DDAVP) showed a dose-dependent corticotropic effect in sheep.