Beiträge zur Jagd- und Wildforschung, Bd. 36 (2011) 329–338

Beiträge zur
JAGD
&WILD
forschung · 36

L.C. Straehle, J. Kranz, E. Petzinger, Gießen

Das Mdr1-System der Europäischen Wildkatze (*Felis silvestris silvestris* Schreber, 1777)

Schlagworte/key words: P-gp, Blut-Hirn-Schranke, Rhodamin123-Assay, Pestizide/P-gp, blood brain barrier, rhodamine123 assay, pesticides, Wildkatze, *Felis silvestris*

1. Einleitung

Mdr1/P-Glycoprotein ist ein Membrantransporter, welcher Fremdstoffe über die Plasmamembran verschiedener Zelltypen transportiert. Entdeckt wurde P-glycoprotein (P-gp) durch die Beobachtung, dass Tumorzellen nach Therapie mit Colchizin eine vermehrte Resistenz gegenüber Zytostatika aufwiesen (Juliano und Ling 1976). Diesem Phänomen wurde der Name multidrug resistance (*Mdr*) gegeben. Entsprechend wurde das Gen, welches das humane P-gp codiert, als *MDR1*-Gen bezeichnet. Das bei allen Säugetieren vorkommende Membranprotein enthält zwei variable Substratbindungsregionen und zwei Nukleotid-Bindungsdomänen (NBDs). Die NBDs binden zelluläres ATP, durch dessen Spaltung ein energieabhängiger Transport vermittelt wird. Aufgrund dieser innerhalb der ABC-Transporter hoch konservierten Nukleotidbindungsdomänen wird P-gp in die Proteinfamilie der sog. *ATP-binding cassette transporter* (ABC-Transporter) als ABCB1 eingeordnet (Dean und Allikmets 2001).

P-gp kommt in den verschiedensten Geweben vor und gewährleistet den Efflux von Xenobiotika wie Arzneistoffen, Umweltstoffen und einigen wenigen endogenen Substraten (Ueda et al. 1992, Mealey et al. 2003, Müller et al. 2003). Im ZNS ist der Transporter in der apikalen Membran der Gefäß-Endothelzelle lokalisiert (Abb. 1) (Cordon-Cardo et al. 1989, Schlachetzki und Pardridge 2003). Damit dient P-gp an der Blut-Hirn-Schranke der Entgiftung des Gehirns durch Efflux bzw. Reflux potenziell neurotoxischer Fremdstoffe in das Blut.

Obwohl P-gp unter den Säugetieren hoch konserviert ist, kann es durch einzelne Polymorphismen zu einem vollständigen Funktionsverlust des Proteins kommen.

Dies ist bei der Spezies Hund bereits bekannt. Hier führt eine 4-Basenpaardeletion im Exon 4 des Gens (*Nt230*(del4)) bestimmter Hunderassen zu einem vorzeitigen Stopcodon (Abb. 2) (Mealey et al. 2001, Roulet et al. 2003, Geyer et al. 2005a, 2005b, 2007, Gramer et al. 2010). In Folge dessen wird ein verkürztes P-gp gebildet, wodurch es zu einem vollständigen Funktionsverlust des Mdr1-Transporters kommt, welcher sich u. a. in einer erhöhten Empfindlichkeit der Defekt-Träger gegenüber Makrozyklischen Laktonen wie Ivermectin äußert (Linek et al. 2007). Auch bei Hauskatzen wird von Intoxikationserscheinungen nach der Applikation von Arzneistoffen berichtet, die bekanntermaßen Substrate des P-gp sind. Daher kann man ver-

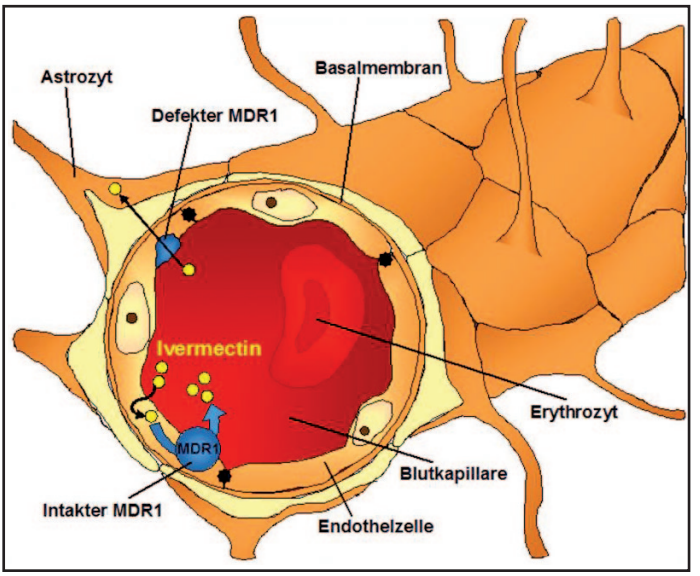

Abb. 1 Modell der endothelialen Blut-Hirn-Schranke

Neben den tight junctions (✹) welche die Blut-Hirn-Schranke für wasserlösliche Substanzen nahezu undurchlässig machen (Reese und Karnovsky 1967), ist diese auf funktioneller Ebene durch Effluxtransporter gekennzeichnet. P-gp wird an der apikalen Seite der Blutkapillaren im Gehirn exprimiert (Cordon-Cardo et al. 1989, Schlachetzki und Pardridge 2003). Von dort vermittelt es den Efflux von Stoffen aus dem intrazellulären Milieu nach extrazellulär oder den Reflux in das extrazelluläre Milieu nach Diffusion von Substraten in die Plasmamembran der Gefäß-Endothelzelle (Fromm 2004). Bei einem Defekt des Mdr1-Transporters passieren lipophile Mdr1-Substrate ungehindert das Endothel und können so eine Neurotoxizität vermitteln.

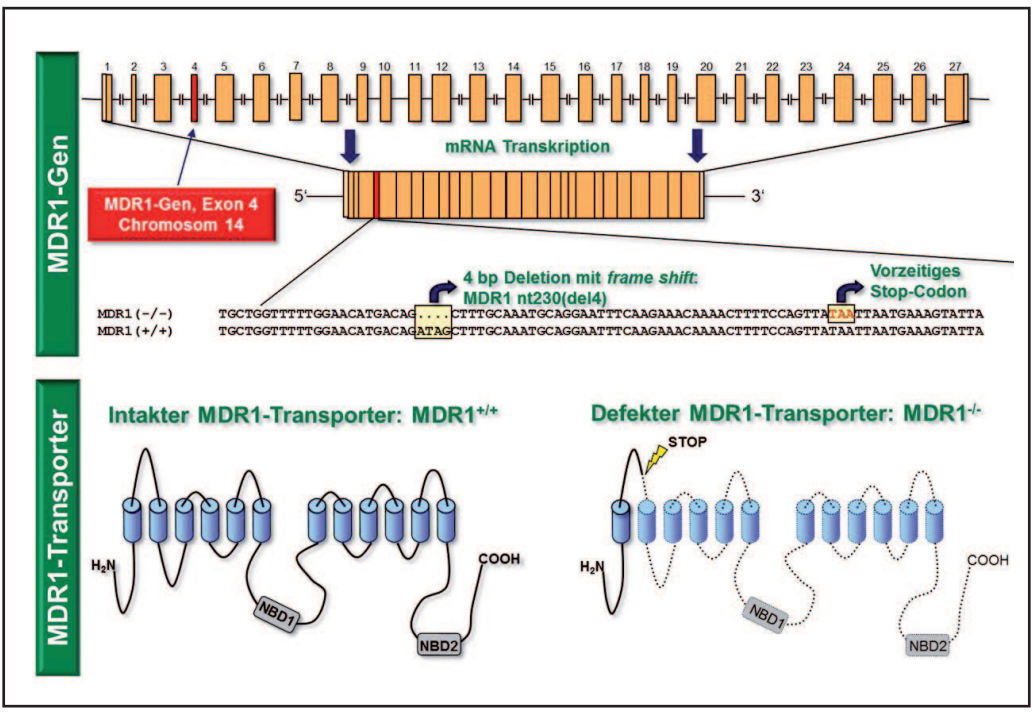

Abb. 2 Nt230(del4) Mutation im Exon 4 des Hunde-Mdr1
Oberer Teil: Darstellung der 4-Basendeletion im Exon 4 des Hunde Mdr1-Gens
Unterer Teil: Auswirkungen auf die Expression des P-Glycoproteins. Ab Position 91 bricht die Aminosäuresequenz im mutierten Protein durch ein vorzeitiges Stopcodon ab.

muten, dass auch bei Katzenartigen (*Felidae*) nicht voll funktionsfähige P-Glykoproteine vorkommen könnten.
Für die Europäische Wildkatze (*Felis silvestris silvestris*) hingegen stellt die orale und dermale Aufnahme von neurotoxischen, antiparasitär und insektizid wirkenden Pestiziden eine potenziell Mdr1-relevante Exposition dar.
Wie von Sarasola et al. 2002 gezeigt, nehmen Hauskatzen durch ihr ausgeprägtes Putzverhalten topisch auf die Haut aufgetragenes Selamectin, ein Makrozyklisches Lakton, in erheblichem Umfang oral auf, so dass hohe Blutkonzentrationen und Organbelastungen auftraten. Auch in die Umwelt ausgebrachte Pestizide können durch Katzen auf diese Weise oral aufgenommen werden. Während in der Literatur viele Berichte zum Transport von Arzneistoffen und Diagnostika durch den Mdr1-Transporter existieren (Ambudkar et al. 1999, Hoffmann und Kroemer 2004, Taub et al. 2005, Alvarez et al. 2008, Mealey 2008, Lee et al. 2010, Li et al. 2010, Cascorbi 2011), sind die Ergebnisse zum Transport von Pestiziden eher lückenhaft (van Kalken et al. 1993, Bain und Leblanc 1996, Lanning et al. 1996, Lecoeur et al. 2006, Oosterhuis et al. 2008, Zschiedrich et al. 2009, Habibollahi et al. 2011).
Die durchgeführten Studien weisen jedoch auf eine Interaktion der Pestizide mit P-gp hin. So kommt es zu einer Hemmung des P-gp-vermittelten Transports von Glucocorticoiden durch Pestizide (van Kalken et al. 1993). Dies könnte eine Auswirkung auf die Stressbelastung insbesondere auch bei Mdr1-defizienten Tieren (z. B. bei Hunden mit Mdr1-Defekt) haben.
In der Humanmedizin wird diskutiert, ob der MDR1-vermittelte Transport von neurotoxischen Pestiziden für die Ausprägung des Morbus Parkinson ein Rolle spielt (Zschiedrich et al. 2009).
Aus Veröffentlichungen des Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit 2009 geht eine Zunahme des Insektizid-Verkaufs um ca. 57 % von 2000 bis 2009 hervor. Das Volumen der Pestizidabgabe innerhalb Deutschlands lag im Jahr 2009 bei 107 640 Tonnen, davon entfielen 9 625 Tonnen auf Insektizide und Akarizide.
Arzneimittelunverträglichkeiten bei Katzen können, wie auch bei bestimmten Hunderassen, möglicherweise durch einen Defekt des P-gp bedingt sein. Darüber hinaus unterliegen Wildkatzen einer hohen Pestizidexposition, welche durch P-gp beeinflusst werden kann. Dies nahmen wir zum Anlass, das Mdr1-Gen der Europäischen Wildkatze zu klonieren und die Funktion von P-gp als Effluxtransporter für Biozide zu untersuchen.

2. Material und Methoden

Probenakquirierung

Die Gewebeprobenentnahme erfolgte an Totfunden Europäischer Wildkatzen, die im Rahmen des Felis-Projekts des Arbeitskreises für Wildbiologie (Gießen) gesammelt wurden. Bei den an den Europäischen Wildkatzen durchgeführten Sektionen konnten sowohl Leber-, als auch Gehirnproben entnommen werden. Die Gewebeproben wurden für eine anschließende RNA-Isolierung in RNA*later* (Applied Biosystems, Darmstadt) überführt, wohingegen für die Untersuchung mittels Immunhistologie das Gewebe in 4 %-iger Formaldehyd-Lösung fixiert wurde. Weiterhin konnten frische EDTA-Blutproben von zwei Luchsen (*Lynx lynx*) und acht weiteren Europäischen Wildkatzen (*Felis silvestris silvestris*) im Rahmen einer diagnostischen Untersuchung gewonnen werden, welche sofort nach der Entnahme in RNA*later*® überführt wurden.
Bis zu einer weiteren Analyse wurden die Blutproben bei -20°C und die Gewebeproben bei -80°C gelagert.

Sequenzanalyse des Mdr1 der Europäischen Wildkatze

Sowohl aus den Blutproben, als auch aus den Gehirn-Gewebeproben wurde die RNA mit Tri-Reagent® (Sigma, Taufkirchen) isoliert und mit dem SuperScript III Synthesis System (Invitrogen, Karlsruhe) in cDNA umgeschrieben. Diese wiederum wurde in einer PCR-Amplifikation (Polymerase Chain Reaction) eingesetzt, bei der jeweils 5 überlappende Teilstücke von je ca. 800–1000 Basenpaaren mit Hilfe von felinen Mdr1-Primern amplifiziert und anschließend sequenziert wurden.

Direkter P-Glycoprotein Nachweis mittels Immunhistologie

Die Gehirn-Gewebeproben der Europäischen Wildkatze wurden für 24 h in 4 %-iger Formaldehyd-Lösung fixiert und nach mehreren Waschschritten mit 70 %-igem Alkohol in Paraffin eingebettet.
Schnitte von 4 µm wurden entparaffiniert und das Antigen durch Kochen in Citratpuffer demaskiert. Die endogene Peroxidase wurde mittels einer Inkubation in Wasserstoffperoxid blockiert und die Paraffinschnitte mit dem monoklonalen Mdr1-Primärantikörper C219 aus der Maus (Merck, Darmstadt) über Nacht bei 4 °C inkubiert.
Nach Inkubation mit dem biotinylierten polyklonalen Sekundärantikörper Ziege anti Maus (Dako Cytomation, Hamburg) wurde dieser mit präformierten Avidin-Biotin-Meerrettichperoxidase-Komplexen (Vectastain Elite ABC Standard Kit-Peroxidase: Biologo, Kronshagen) gebunden. Anschließend wurde das Chromogen 3-Amino-9-Ethyl Carbazol (Universal-Färbekit AEC, Biologo, Kronshagen) zugegeben. Das zunächst farblose Chromogen AEC wird unter Anwesenheit von Wasserstoffperoxid oxidiert und kann daraufhin als roter Niederschlag visualisiert werden. Die Gegenfärbung erfolgte mit Hämatoxilin.

Funktionelle Analyse des P-Glycoproteins der Europäischen Wildkatze

Der mittels PCR generierte vollständige Mdr1-Leserahmen einer Europäischen Wildkatze wurde in den Expressionsvektor pcDNA5/FRT/TO-TOPO (Invitrogen, Karlsruhe) kloniert und in chemisch kompetenten *E. coli* (TOP10 chemically competent E.coli, Invitrogen, Karlsruhe) vermehrt. Nach einer Plasmid Isolation aus den Bakterien wurden Flp-In T-REx 293 Zellen (HEK-FlpIn) (Invitrogen, Karlsruhe) mit dem Plasmid mittels Lipofectamin 2000 (Invitrogen, Karlsruhe) transient transfiziert.
Zur Kontrolle der Transfektionseffizienz und der Mdr1-Lokalisation in den Zellen wurde eine Immunfluoreszenz mit dem Mdr1-Primärantikörper C219 und dem fluoreszenzgekoppelten Sekundärantikörper Alexa Fluor 488 (Invitrogen, Karlsruhe) durchgeführt. Zusätzlich wurden HEK-FlpIn Zellen mit Hilfe des FlpIn-Systems von Invitrogen stabil transfiziert und mit Hygromycin B selektioniert.
Einzelzellklone der Wildkatze und native HEK-FlpIn Zellen wurden im 24-well Format ausgesät. Bei 90 % Konfluenz wurden diese mit je 0 und 30 µmol/l des P-gp-Hemmers Verapamil (Vera) (Sigma-Aldrich, Steinheim) vorinkubiert. Anschließend wurden die Zellen mit 0 bzw. 30 µmol/l Rhodamin123 (Rh123) (PromoCell, Heidelberg) und der jeweiligen Konzentration an Vera inkubiert. In dieser Zeit konnten die Zellen Rh123 aufnehmen. Um einen P-gp vermittelten Efflux des Rh123 zu gewährleisten, wurden die Zellen danach ohne Rh123, aber mit 0 bzw. 30 µmol/l Vera inkubiert.
Nach mehreren Waschschritten mit eiskalter phosphatgepufferter Salzlösung (PBS; phosphate buffered saline) erfolgte die Lyse der Zellen mit dem Detergenz 0,5 % Sodiumdodecylsulfat in PBS und die fluorimetrische Bestimmung des intrazellulären Rh123-Gehalts.

3. Ergebnisse

In der vorliegenden Studie haben wir den vollständigen Leserahmen des Mdr1-Gens von 8 Europäischen Wildkatzen und einem Luchs experimentell ermittelt.
Die Untersuchung auf cDNA-Ebene ergab eine Sequenzhomologie der Europäischen Wildkatze von 99,7 % zur Hauskatze. Alle Sequenzen konnten dabei *in vitro* in ein Protein translatiert werden. Die Sequenzhomologie zum Luchs betrug 99,0 %, während sie zum Hund nur 92,2 % betrug (Tabelle 1).
Auf Proteinebene wurde ein immunhistologischer Nachweis von P-gp an Gehirnschnitten der Europäischen Wildkatze durchgeführt. Die Gehirngefäße färbten sich mit dem Mdr1-Primärantikörper C219 rot an (Abb. 4).
Die Immunfluoreszenz an transient transfizierten HEK-FlpIn Zellen wies eine membranständige Expression des Mdr1 der Europäischen Wildkatze auf (Abb. 5). Ein funktioneller Rhodamin123-Efflux Assay an den stabil transfizierten HEK-FlpIn Zellen zeigte einen durch Verapamil deutlich hemmbaren Efflux von Rhodamin123. Sie wiesen eine 20-fach höhere

intrazelluläre Rh123 Fluoreszenz auf. Die nativen HEK-FlpIn Zellen hingegen zeigten keine Verapamil abhängige Akkumulation von Rhodamin123 (Abb. 6).

4. Diskussion

Die aus den PCR-Amplifikaten gewonnenen Sequenzinformationen wurden einer bioinformatischen Analyse unterzogen. Die Sequenzierungen aus den frischen Blutproben lieferten dabei, im Gegensatz zu den meist älteren und teils autolytischen Gewebeproben, die besseren und konsistenteren Ergebnisse. Der mittels des Sequenzauswertungsprogramms DNAStar (Lasergene, Madison, USA) erstellte phylogenetische Stammbaum der experimentell ermittelten Mdr1-Sequenzen der Europäischen Wildkatze und des Luchses sowie der Gendatenbankeinträge für Hauskatze und des Hund lässt einen Rückschluss auf den Verwandtschaftsgrad der gezeigten Spezies zu (Tabelle 1 und Abb. 3). Die Europäische Wildkatze wird dabei erwartungsgemäß in enger Verwandtschaft zur Hauskatze eingeordnet. Laut Literatur gehört die Wildkatze (*Felis silvestris silvestris*) wie auch die Hauskatze (*Felis catus*), die Sandkatze (*Felis margarita*), die Schwarzfußkatze (*Felis nigripes*) und die Rohrkatze (*Felis chaus*) zu der sogenannten Hauskatzenlinie (O`Brien und Johnson 2008). Haus und Wildkatze trennten sich dabei vor weniger als einer Million Jahren, wobei die Hauskatze gemäß O`Brien und Johnson 2008 von einer Unterart der Wildkatze abstammt. Haltenorth stuft die Europäische Wildkatze 1953 und 1957 als Unterart der Art *Felis silvestris* ein. Eine Literaturzusammenfassung zu der systematischen Stellung der Wildkatze bieten Piechocki 1990, Eckert 2003 und Stefen und Görner 2009. Auch aus diesen Angaben lässt sich die nahe Verwandtschaft der beiden Katzen-Mdr1 Gene erklären.

Die Immunhistologie an einem Gehirnschnitt der Europäischen Wildkatze zeigte eine rote Anfärbung der Gefäße, welche der Mdr1-

Tabelle 1 Mdr1-Sequenzhomologien der Mdr1-Sequenzen der Europäischen Wildkatze und des Luchses (experimentell ermittelt) und der Mdr1-Sequenzen der Hauskatze und des Hundes (Sequenzen aus der Gendatenbank)

	Prozentuale Identität				
	ABCB1	**GU222365.1** *Felis catus*	*Lynx lynx*	**NM_001003215.1** *Canis familiaris*	*Felis silvestris silvestris*
Divergenz	GU222365.1 *Felis catus*		98,8	91,6	99,7
	Lynx lynx	1,2		92,2	99,0
	NM_001003215.1 *Canis familiaris*	9,0	8,2		92,2
	Felis silvestris silvestris	0,3	1,0	8,3	

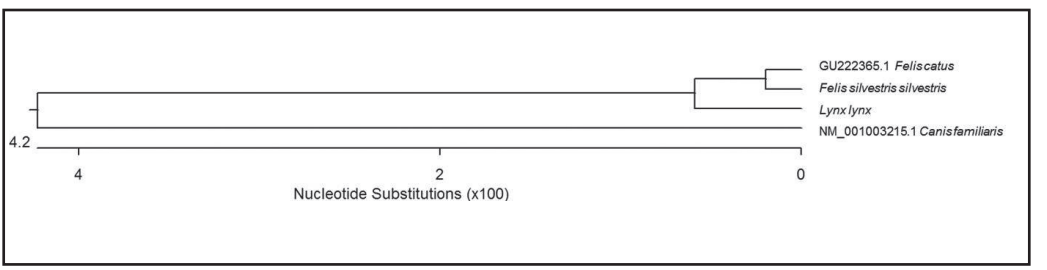

Abb. 3 Phylogenetischer Baum der experimentell ermittelten Mdr1-Sequenzen der Europäischen Wildkatze und des Luchses und der Mdr1-Sequenzen der Hauskatze und des Hundes (Gendatenbank)

Lokalisation im Gehirn als wichtiger Bestandteil der Blut-Hirn-Schranke entspricht (Abb. 1 und Abb. 4). Auch Van der Heyden et al. 2009 beschreiben an Gehirnschnitten der Hauskatze eine Anfärbung der Gefäßendothelien mit dem C219 Antikörper. Der C219 Antikörper weist eine Kreuzreaktivität zum Mdr3-Protein auf (Kartner et al. 1985, Georges et al. 1990), welches aber hauptsächlich in der Leber exprimiert wird (Kim et al. 2008, Langmann et al. 2003, Smit et al. 1994, Zhou 2008 Spencer et al. 2010). Daher gehen wir bei den Gehirnschnitten von einer spezifischen Mdr1-Anfärbung aus. Der gegen ein intrazelluläres Epitop des humanen Mdr1 gerichtete Antikörper C219 wurde hier erstmals bei der Europäischen Wildkatze erfolgreich eingesetzt.

Die funktionelle Charakterisierung des Mdr1 der Europäischen Wildkatze erfolgte an den stabil transfizierten Zellen in Form eines Efflux-Assays. Die Klonierung des kompletten Leserahmens gelang nur aus den frischen Blutproben, nicht aber aus den Gewebeproben der zumeist verunfallten Wildkatzen. Eine RNA-Isolierung von hoher Qualität setzt eine Überführung der Probe in flüssigen Stickstoff oder in RNA*later* innerhalb von maximal 30 Minuten voraus, um der bereits nach wenigen Minuten beginnenden RNA-Degradierung durch ubiquitär vorhandene RNAsen entgegenzuwirken. Die sofortige Überführung der Probe in RNA-*later*, welcher die RNA stabilisiert und vor Abbau schützt, konnte nur bei den Blutproben gewährleistet werden.

Das fluoreszierende P-gp Substrat Rhodamin123 (Rh123) akkumuliert in nativen HEK-FlpIn Zellen, da kein bzw. nur ein geringer Mdr1-vermittelter Efflux stattfindet. Die stabil transfizierte Wildkatzen-Mdr1 Zelllinie hingegen transportierte das Rhodamin123 wieder aus der Zelle, was in einer geringeren Fluoreszenz in diesen Zellen resultierte. Der Efflux war in dieser stabil transfizierten Zelllinie durch 30 µmol/l Verapamil, einem Inhibitor des P-gp, hemmbar, was zu einer 20-fach verstärkten Akkumulation und Fluoreszenz von Rh123 führte. Die nativen HEK-FlpIn Zellen, die wenig bzw. kein P-Glycoprotein exprimieren, zeigten keine Beeinflussung durch Verapamil (Abb. 6).

Mit dem funktionellen Rhodamin123-Efflux Assay haben wir die Möglichkeit, sowohl Pestizide auf eine Interaktion mit dem Mdr1 der Europäischen Wildkatze zu untersuchen als auch eventuell vorhandene Polymorphismen weiterer Europäischer Wildkatzen bzw. wildlebender Feliden funktionell zu überprüfen.

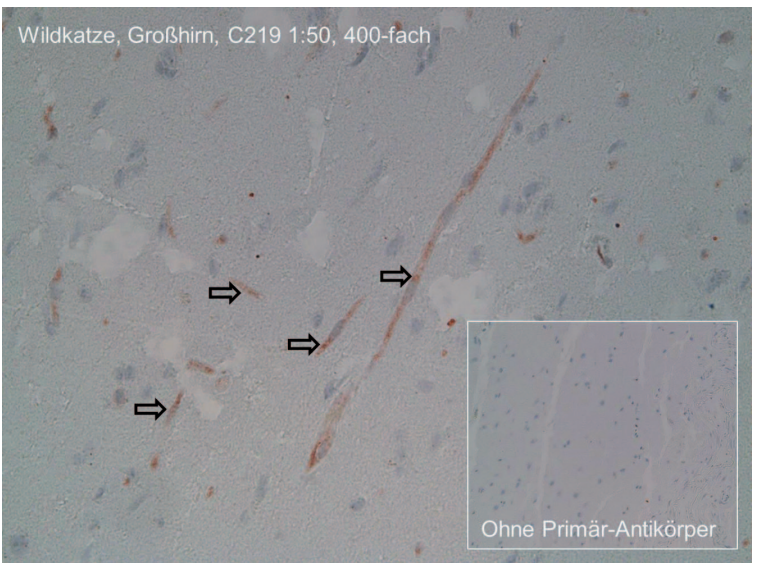

Abb. 4 Immunhistologie an einem Großhirnschnitt der Europäischen Wildkatze. (Pfeile) Anfärbung der Gefäße

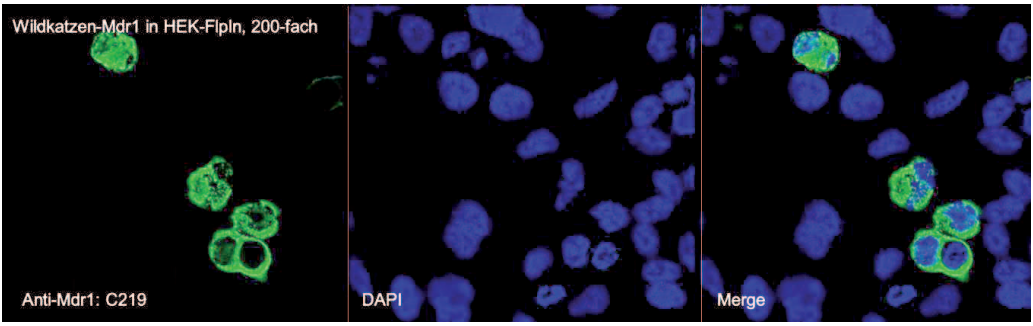

Abb. 5 Immunfluoreszenz an transient transifizierten Flp-In™ T-REx™ 293 Zellen (HEK-FlpIn)
Die Zellen wurden mit dem Wildkatzen-Mdr1-Klon mittels Lipofektion transient transfiziert. Eine Immunfluoreszenz unter Verwendung des monoklonalen Mdr1 Primärantikörpers C219 aus der Maus und eines fluoreszenzgekoppelten Sekundärantikörpers (AlexaFluor488 goat anti mouse) zeigte eine membranständige Expression des P-gp durch die Zellen.

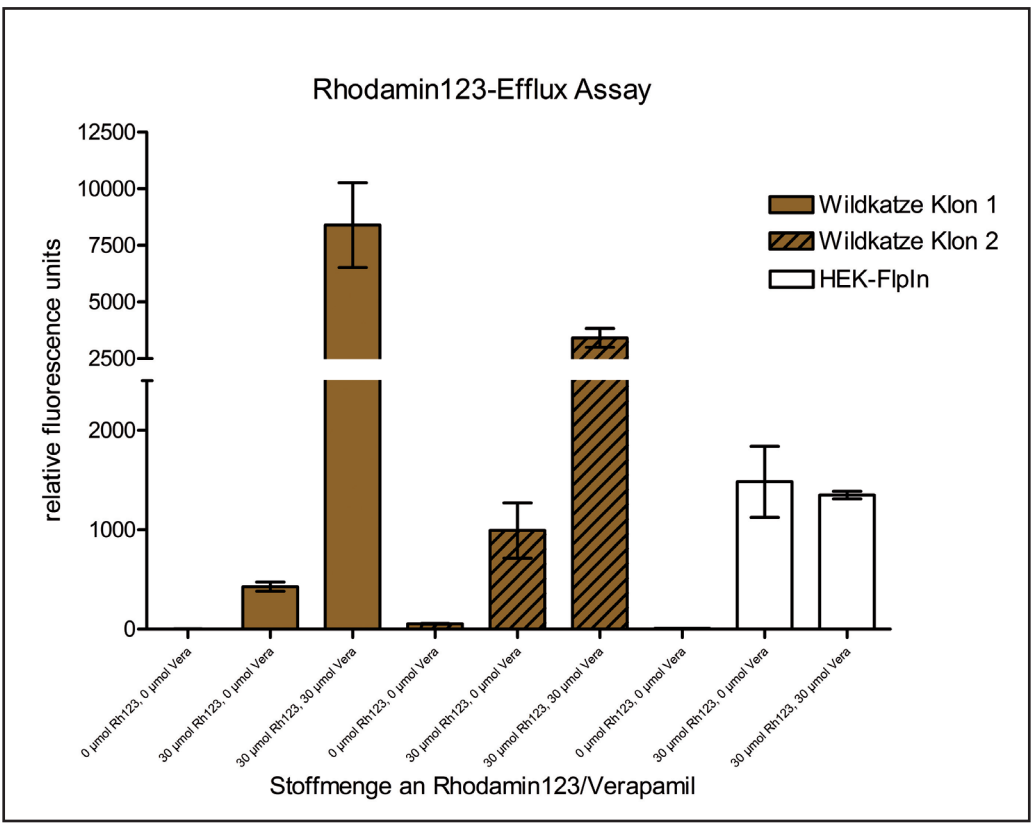

Abb. 6 Rhodamin123-Efflux Assay zur Funktionsbestimmung des Mdr1 der Europäischen Wildkatze an stabil transfizierten Zellen

Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie haben wir erstmals den kompletten Leserahmen des Mdr1-Gens der Europäischen Wildkatze (*Felis silvestris silvestris*) sequenziert und kloniert. Das Mdr1 ließ sich im Gehirn der Europäischen Wildkatze sowohl auf cDNA-Ebene als auch auf Proteinebene darstellen. Ein funktioneller Rhodamin123 Assay zeigte einen durch Verapamil hemmbaren Efflux von Rhodamin123. Die nativen HEK-FlpIn Zellen hingegen zeigten keine Verapamil abhängige Akkumulation von Rhodamin123.
Weitere Studien müssen überprüfen, ob im Mdr1 der Europäischen Wildkatze vorkommende Polymorphismen die Transportfunktion des P-gp beeinträchtigen. Ferner werden Substanzen wie Pestizide auf ihre Eigenschaft als P-gp Substrat, P-gp Hemmer oder P-gp Induktor untersucht, um eine Gefährdung der Europäischen Wildkatze durch solche Substanzen, auch in Hinblick auf mögliche Polymorphismen, abschätzen zu können.

Summary

The Mdr1-System of the European Wildcat (*Felis silvestris silvestris*)

In this study we sequenced and cloned the full length Mdr1 sequence of the European Wildcat (*Felis silvestris silvestris*). Mdr1 was detectable in the brain of the European Wildcat on cDNA level as well as on protein level. A functional rhodamine123-assay showed a rhodamin123 efflux, which was inhibited by verapamil. The native HEK-FlpIn cell line however showed no verapamil induced accumulation of rhodamine123.
Further studies have to determine, whether detected Mdr1 polymorphisms of the European Wildcat have an impact on the protein functionality. Moreover, substances like pesticides should be screened whether they are P-gp substrates, P-gp inhibitors or P-gp inducers in order to evaluate a possible hazard exposure of the European Wildcat by such substances.

Literatur

Alvarez, A.I.; Pérez, M.; Prieto, J.G.; Molina, A.J.; Real, R.; Merino, G. (2008): Fluoroquinolone efflux mediated by ABC transporters. – J. Pharm. Sci. **97** (9): 3483–93.

Ambudkar, S.V.; Dey, S.; Hrycyna, C.A.; Ramachandra, M.; Pastan, I.; Gottesman, M.M. (1999): Biochemical, cellular, and pharmacological aspects of the multidrug transporter. – Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. **39**: 361–98.

Bain, L.J.; LeBlanc, G.A. (1996): Interaction of structurally diverse pesticides with the human MDR1 gene product P-glycoprotein. – Toxicol. Appl. Pharmacol. **141** (1): 288–98.

Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (2009): Absatz an Pflanzenschutzmitteln in der Bundesrepublik Deutschland. – **2009**: 9.

Cascorbi, I. (2011): P-glycoprotein: tissue distribution, substrates, and functional consequences of genetic variations. – Handb. Exp. Pharmacol. **201**: 261–83.

Dean, M.; Allikmets, R. (2001): Complete Characterization of the Human ABC Gene Family. – J. Bioenerg. Biomembr. **33** (6): 475–9.

Eckert, I. (2003): DNA-Analysen zum genetischen Status der Wildkatze (*Felis silvestris*) in Deutschland. – Dissertation an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel: 7–8.

Fromm, M.F. (2004): Importance of P-glycoprotein at blood-tissue barriers. – Trends Pharmacol. Sci. **25** (8): 423–9.

Georges, E.; Bradley, G.; Gariepy, J.; Ling, V. (1990): Detection of P-glycoprotein isoforms by gene-specific monoclonal antibodies. – Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **87** (1): 152–6.

Geyer, J.; Döring, B.; Godoy, J.R.; Leidolf, R.; Moritz, A.; Petzinger, E. (2005A): Frequency of the nt230(del4) MDR1 mutation in Collies and related dog breeds in Germany. – J. Vet. Pharmacol. Ther. **28** (6): 545–51.

Geyer, J.; Döring, B.; Godoy, J.R.; Moritz, A.; Petzinger, E. (2005B): Development of a PCR-based diagnostic test detecting a nt230(del4) MDR1 mutation in dogs: verification in a moxidectin-sensitive Australian Shepherd. – J. Vet. Pharmacol. Ther. **28** (1): 95–9.

Geyer, J.; Klintzsch, S.; Meerkamp, K.; Wöhlke, A.; Distl, O.; Moritz, A.; Petzinger, E. (2007): Detection of the nt230(del4) MDR1 mutation in White Swiss Shepherd dogs: case reports of doramectin toxicosis, breed disposition, and microsattelite analysis. – J. Vet. Pharmacol. Therap. **30**: 482–485.

Gramer, I.; Leidolf, R.; Döring, B.; Klintzsch, S.; Krämer, E.M.; Yalcin, E.; Petzinger, E.; Geyer, J. (2010): Breed distribution of the nt230(del4) MDR1 mutation in dogs. – Vet. J. doi:10.1016 / j.tvjl.2010.06.012.

Habibollahi, P.; Ghahremani, M.H.; Azizi, E.; Ostad, S.N. (2011): Multi drug resistance-1 (MDR1) expression in response to chronic diazinon exposure: an in vitro study on Caco-2 cells. – Bull. Environ. Contam. Toxicol. **86** (1): 105–9.

Haltenorth, T. (1953): Die Wildkatzen der Alten Welt. Eine Übersicht über die Untergattung *Felis*. – Geest & Portig Verlag, Leipzig.

Haltenorth, T. (1957): Die Wildkatze. – Ziemsen Verlag, Wittenberg Lutherstadt.

Hoffmann, U.; Kroemer, H.K. (2004): The ABC transporters MDR1 and MRP2: multiple functions in disposition of xenobiotics and drug resistance. – Drug. Metab. Rev. **36** (3–4): 669–701.

Juliano, R.L.; Ling, V. (1976): A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. – Biochim. Biophys. Acta. **455** (1): 152–62.

Kartner, N.; Evernden-Porelle, D.; Bradley, G.; Ling, V. (1985): Detection of P-glycoprotein in multidrug-resistant cell lines by monoclonal antibodies. – Nature **316** (6031): 820–3.

Kim, W.S.; Weickert, C.S.; Garner, B. (2008): Role of ATP-binding cassette transporters in brain lipid transport and neurological disease. – J. Neurochem. **104** (5): 1145–66.

Langmann, T.; Mauerer, R.; Zahn, A.; Moehle, C.; Probst, M.; Stremmel, W.; Schmitz, G. (2003): Real-time reverse transcription-PCR expression profiling of the complete human ATP-binding cassette transporter superfamily in various tissues. – Clin. Chem. **49** (2): 230–8.

Lanning, C.L.; Fine, R.L.; Sachs, C.W.; Rao, U.S.; Corcoran, J.J.; Abou-Donia, M.B. (1996): Chlorpyrifos oxon interacts with the mammalian multidrug resitance protein, P-glycoprotein. – J. Toxicol. Environ. Health. **47**: 395–407.

Lecoeur, S.; Videmann, B.; Mazallon, M. (2006): Effect of organophosphate pesticide diazinon on expression and activity of intestinal P-glycoprotein. – Toxicol. Lett. **161** (3): 200–9.

Lee, C.A.; Cook, J.A.; Reyner, E.L.; Smith, D.A. (2010): P-glycoprotein related drug interactions: clinical importance and a consideration of disease states. – Expert Opin Drug Metab. Toxicol. **6** (5): 603–19.

Linek, J.; Spiess, B.; Dallmeyer, C.; Geyer, J. (2007): Ivermectin-Intoxikation bei drei Hunden mit und ohne MDR1-Gen-Defekt durch ein für Pferde zugelassenes Antiparasitikum. – Tierärtl. Praxis **35** (K): 272–276.

Li, Y.; Yuan, H.; Yang, K.; Xu, W.; Tang, W.; Li, X. (2010): The structure and functions of P-glycoprotein. – Curr. Med. Chem. **17** (8): 786–800.

Mealey, K.L.; Bentjen, S.A.; Gay, J.M.; Cantor, G.H. (2001): Ivermectin sensitivity in Collies is assocaited with a deletion mutation of the mdr1 gene. – Pharmacogenetics **11**: 727–733.

Mealey, K.L.; Bentjen, S.A.; Gay, J.M.; Hosick, H.L. (2003): Dexamethasone treatment of a canine, but not human, tumour cell line increases chemoresistance independent of P-glycoprotein and multidrug resistance-related protein expression. – Vet. Comp. Oncol. **1** (2): 67–75.

Mealey, K.L. (2008): Canine ABCB1 and macrocyclic lactones: heartworm prevention and pharmacogenetics. – Vet. Parasitol. **158** (3): 215–22.

Müller, M.B.; Keck, M.E.; Binder, E.B.; Kresse, A.E.; Hagemeyer, T.P.; Landgraf, R.; Holsboer, F.; Uhr, M. (2003): ABCB1 (MDR1)-type P-glycoproteins at the blood-brain barrier modulate the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system: implications for affective disorder. – Neuropsychopharmacology **28** (11): 1991–9.

O`Brien, S.J.; Johnson, W.E. (2008): Der neue Stammbaum der Katzen. – Spektrum der Wissenschaft. Evolution: 54–61.

Oosterhuis, B.; Vukman, K.; Vági, E.; Glavinas, H.; Jablonkai, I.; Krajcsi, P. (2008): Specific interactions of chloroacetanilide herbicides with human ABC transporter proteins. – Toxicology **248** (1): 45–51.

Piechocki, R. (1990): Die Wildkatze. – Ziemsen. – ISSN 0138-1423. 1. Auflage: 17.

Reese, T.S.; Karnovsky, M.J. (1967): Fine structural localization of a blood-brain barrier to exogenous peroxides. – J. Cell. Biol. **34** (1): 207–17.

Roulet, A.; Puel, O.; Gesta, S.; Lepage, J.F.; Drag, M.; Soll, M.; Alvinerie, M.; Pineau, T. (2003): MDR1-deficient genotype in Collie dogs hypersensitive to the P-glycoprotein substrate ivermectin. – Eur. J. Pharmacol. **460** (2–3): 85–91.

Sarasola, P.; Jernigan, A.D.; Walker, D.K.; Castledine, J.; Smith, D.G.; Rowan, T.G. (2002): Pharmacokinetics of selamectin following intravenous, oral and topical administration in cats and dogs. – J. Vet. Pharmacol. Ther. **25** (4): 265–72.

Schlachetzki, F.; Pardridge, W.M. (2003): P-glycoprotein and caveolin-I in endothelium and astrocytes of primate brain. – NeuroReport **14**: 2041–2046.

Smit, J.J.; Schinkel, A.H.; Mol, C.A.; Majoor, D.; Mooi, W.J.; Jongsma, A.P.; Lincke, C.R.; Borst, P. (1994): Tissue distribution of the human MDR3 P-glycoprotein. – Lab. Invest. **71** (5): 638–49.

Spencer, E.S.; Minch, J.; Lahmers, K.K.; Haldorson, G.J.; Mealey, K.L. (2010): Canine ABCB4: Tissue expression and cDNA structure. – Res. Vet. Sci. **89** (1): 65–71.

Stefen, C.; Görner, M. (2009): FFH-Anhang-IV-Art Wildkatze (*Felis silvestris*). – Säugetierkundliche Informationen **7** (38): 3–216.

Taub, M.E.; Podila, L.; Ely, D.; Almeida, I. (2005): Functional assessment of multiple P-glycoprotein (P-gp) probe substrates: influence of cell line and modulator concentration on P-gp activity. – Drug Metab. Dispos. **33** (11): 1679–87.

Ueda, K.; Okamura, N.; Hirai, M.; Tanigawara, Y.; Saeki, T.; Kioka, N.; Komano, T.; Hori, R. (1992): Human P-glycoprotein transports cortisol, aldosterone, and dexamethasone, but not progesterone. – J. Biol. Chem. **267** (34): 24248–52.

Van der Heyden, S.; Chiers, K.; Ducatelle, R. (2009): Tissue distribution of P-glycoprotein in cats. – Anat. Histol. Embryol. **38** (6): 455–60.

Van Kalken, C.K.; Broxterman, H.J.; Pinedo, H.M.; Feller, N.; Dekker, H.; Lankelma, J.; Giaccone, G. (1993): Cortisol is transported by the multidrug resistance gene product P-glycoprotein. – Br. J. Cancer. **67**: 284–289.

Zhou, S.F. (2008): Structure, function and regulation of P-glycoprotein and its clinical relevance in drug disposition. – Xenobiotica **38** (7–8): 802–32.

Zschiedrich, K.; König, I.R.; Brüggemann, N.; Kock, N.; Kasten, M.; Leenders, K.L.; Kostić, V.; Vieregge, P.; Ziegler, A.; Klein, C.; Lohmann, K. (2009): MDR1

variants and risk of Parkinson disease. Association with pesticide exposure? – J. Neurol. **256**: 115–120.

Anschrift der federführenden Autorin:

Luise Charlotte Straehle
Justus-Liebig-Universität Gießen
Institut für Pharmakologie und Toxikologie
Fachbereich Veterinärmedizin
Frankfurter Straße 107
D-35392 Gießen
luise.c.straehle@vetmed.uni-giessen.de

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Beiträge zur Jagd- und Wildforschung

Jahr/Year: 2011

Band/Volume: 36

Autor(en)/Author(s): Straehle L. C., Kranz Jürgen, Petzinger E.

Artikel/Article: Das Mdr1-System der Europäischen Wildkatze (Felis silvestris silvestris Schreber, 1777) 329-338