

MDR1-Defekt beim Hund:

Betroffene Rassen und pharmakologische Relevanz

Stefanie Klintzsch, Joachim Geyer

Zusammenfassung

Bei den Hunderassen Collie, Shetland Sheepdog, Australian Shepherd, Old English Sheepdog, Wäller, Border Collie, McNab, English Shepherd, Longhaired Whippet, Silken Windhound und Weißer Schäferhund ist der sogenannte MDR1-Gendefekt weit verbreitet. Bei reinerbig auftretendem MDR1-Gendefekt, wird bei den betroffenen Hunden kein funktioneller MDR1-Transporter gebildet. Dieser, bei allen Säugern vorkommende Transporter, wird bei intaktem MDR1-Gen in Darm, Leber, Niere, Hoden, Plazenta und vor allem im Zentralen Nervensystem gebildet. Dieses phylogenetisch alte Transportsystem schützt den Organismus vor dem Eindringen von Arzneistoffen, schädlichen Stoffen und Giften aus der Umwelt. Im Darm wird der MDR1-Transporter in der Bürstensaummembran gebildet und vermindert dort die Aufnahme von Arzneistoffen aus dem Darmlumen. In Niere und Leber ist der Transporter an der Ausschei-

dung von Arzneistoffen in Galle und Urin beteiligt. Die bedeutendste Rolle kommt MDR1 aber in den Blutgefäßen des Zentralen Nervensystems zu. Hier bildet der MDR1-Transporter eine sehr wirkungsvolle Barriere gegen das Eindringen von schädlichen Fremdstoffen im Allgemeinen und von Arzneistoffen im Speziellen in das empfindliche Gehirngewebe.

Die Anwendung einer Vielzahl an Arzneistoffen bei Hunden mit homozygoter Ausprägung des Gendefektes, führt zu einer Veränderung der pharmakokinetischen Eigenschaften, sowie einem vermehrten Übertritt des Wirkstoffes in das Gehirn. Folglich kommt es zu einer unbewussten Überdosierung bei der Arzneitherapie und einer Zunahme unerwünschter, insbesondere neurotoxischer Nebenwirkungen.

Zu schwerwiegenden Vergiftungen bei Hunden mit homozygotem MDR1-Gendefekt (Genotyp MDR1-/-) kommt es zum Beispiel bei der Anwendung von Antiparasitika wie

Ivermectin, Doramectin und Moxidectin, in deren Folge betroffene Hunde häufig versterben. Aufgrund der großen Diversität der vom MDR1-Defekt betroffenen Hunderrassen (Hütehunde und Windhunde) wurde vermutet, dass noch weitere Hunderrassen mit züchterischer oder genetischer Verwandtschaft zu oben genannten Rassen von diesem Gendefekt betroffen sind. Zu diesen zählten die Rassen Australian Kelpie, Australian Cattle Dog, Barsoi, Belgischer Schäferhund, Greyhound und Irischer Wolfshund. In der vorliegenden Studie konnte dies jedoch nicht bestätigt werden. So wurde bei der MDR1-Genotypisierung von insgesamt 261 Hunden der genannten Rassen kein Hund mit MDR1-Gendefekt identifiziert. Interessanterweise wurde der MDR1-Gendefekt aber bei einem Australian Cattle Dog sowie mehreren Huskies nachgewiesen, welche zwar nicht durch Zuchtpapiere ausgewiesen waren, von der äußeren Erscheinung her aber eindeutig diesen Rassen zugeordnet werden konnten. Für einen Tierarzt, der vor einer Behandlung aufgrund der äußeren Erscheinung eines Hundes entscheiden muss, ob möglicherweise ein MDR1-Gendefekt vorliegt oder nicht, gilt es demnach bei mindestens 13 Hunderrassen an dieses Problem zu denken.

Hintergrund

Bereits seit zwanzig Jahren ist bekannt, dass einige Hunderrassen, insbesondere der Collie, eine auffallende Überempfindlichkeit gegenüber manchen Arzneistoffen (wie z.B. dem Antiparasitikum Ivermectin) zeigen. Im Falle des Ivermectin treten dabei bereits bei einer Dosierung von 0,1 mg/kg Körper-

gewicht neurotoxische Symptome, wie Bewegungs- und Koordinationsstörungen, Zittern, Benommenheit, Erbrechen, Desorientiertheit und vermehrter Speichelfluss auf. Bei der üblichen, allerdings beim Hund nicht zugelassenen therapeutischen Dosierung von 0,2 mg/kg Körpergewicht, kommt es zu komatösen Zuständen und häufig zum Tod des Hundes. Der Zusammenhang zwischen MDR1-Gendefekt und Ivermectin Überempfindlichkeit beim Hund gelang erst auf Umwegen, als eine Knockout-Maus generiert wurde, bei welcher gezielt das sog. *mdr1*-Gen ausgeschaltet wurde. Im Verlauf einer Milbenbehandlung des Mausbestandes mit Ivermectin kam es bei den reinerbigen *mdr1*^{-/-} Knockout-Mäusen, nicht jedoch bei den heterozygoten (*mdr1*^{+/-}) und den Wildtyp-Tieren (*mdr1*^{+/+}), zu zahlreichen Todesfällen. Im Gehirn der *mdr1*^{-/-} Knockout-Mäuse wurde dabei fast 100-mal mehr Ivermectin gefunden als bei den *mdr1*^{+/+} Mäusen [Schinkel et al. 1994]. Da auch bei einem nach Ivermectin Vergiftung verstorbenen Collie eine hohe Konzentration an Ivermectin im Gehirn nachgewiesen wurde [Pulliam et al. 1985], lag die Vermutung nahe, dass Collies (entsprechend der *mdr1*-Knockout Maus) eine Mutation im MDR1-Gen haben müssten. Damit begann in der Veterinärmedizin eine intensive Suche nach einem Defekt im MDR1-Gen des Collies.

MDR1 ist ein Membran-Transporter und wurde in den frühen 70er Jahren in Krebszellen entdeckt, die gegen eine Vielzahl von Zytostatika resistent waren. Für dieses Phänomen wurde der Begriff ‚multidrug-resistance‘ (MDR) geprägt. Die physiologische Funktion von MDR1 ist bis heute nicht vollständig aufgeklärt, allerdings wird vermu-

tet, dass dieser Multidrug-Transporter den Organismus vor schädlichen Stoffen aus der Umwelt schützt, indem er deren Aufnahme im Darm vermindert und deren Ausscheidung in Leber und Niere fördert. Eine besondere Rolle hat der MDR1-Transporter in der Blut-Hirn-Schranke. Hier bildet er eine wirkungsvolle Barriere für den Übertritt potenziell neurotoxischer Substanzen in das Nervengewebe.

Vor einigen Jahren sind die genetischen MDR1-Sequenzen eines Beagles und eines Ivermectin-sensitiven Collies bekannt geworden [Mealey et al. 2001]. Im direkten Sequenzvergleich fehlen in der MDR1-Sequenz des Ivermectin-sensitiven Collies vier Erbbausteine. Durch diese als nt230(del4) bezeichnete Genmutation kann der Multidrug-Transporter MDR1 nicht mehr gebildet werden [Roulet et al. 2003]. Die Entstehung der MDR1-Mutation beim Collie wurde auf das frühe 19. Jahrhundert datiert, also in eine Zeit in welcher noch keine Rassestandards und Zuchtordnungen etabliert waren [Neff et al. 2004]. Entsprechend ist es nicht verwunderlich, dass diese Genmutation neben dem Collie auch in anderen genetisch verwandten Hunderassen nachgewiesen wurde und zwar beim Shetland Sheepdog, Australian Shepherd, Wäller, Old English Sheepdog, Border Collie, English Shepherd, Longhaired Whippet, McNab und Silken Windhound [Neff et al. 2004; Geyer et al. 2005a,b].

Untersuchungsvorgehen

In diesem von der GKF geförderten Projekt wurde eine Auswahl weiterer Hunderassen

auf das Vorkommen der MDR1-Mutation untersucht. Für die Auswahl der untersuchten Rassen waren unterschiedliche Aspekte ausschlaggebend: Mittels Mikrosatellitenanalyse wurde für die Rassen Australian Kelpie, Australian Cattle Dog, Barsoi, Belgischer Schäferhund, Greyhound und Irischer Wolfshund eine genetische Verwandtschaft zum Collie nachgewiesen [Parker et al. 2004]. Des Weiteren wurde beim Weißen Schäferhund und Australian Terrier aus der klinischen Praxis vereinzelt von Vergiftungsfällen mit makrozyklischen Laktonen berichtet, was einen deutlichen Hinweis auf das Vorliegen eines MDR1-Gendefektes auch bei diesen Rassen gab.

Demnach wurden die Rassen Australian Kelpie, Australian Cattle Dog, Barsoi, Belgischer Schäferhund, Greyhound, Irischer Wolfshund, Weißer Schäferhund und Australian Terrier in die Studie aufgenommen. Im weiteren Vorgehen wurden die unter dem Dachverband des VDH züchtenden Rassehunde-Zuchtvereine per E-Mail kontaktiert und über die Problematik des MDR1-Gendefektes, sowie über die anstehende Untersuchung informiert. Jedem Rassehunde-Zuchtverein wurde die Möglichkeit zur Teilnahme an der Studie mittels Gutschein für die kostenfreie genetische Untersuchung der Blutprobe im Institut für Pharmakologie und Toxikologie des Fachbereichs Veterinärmedizin angeboten. Bei bestehendem Interesse erhielten die Mitglieder der Vereine eine entsprechende Anzahl gekennzeichnete Gutscheine. Zur Teilnahme an der Studie wurde eine EDTA-Vollblutprobe des Patienten mit einer Kopie der Ahnentafel und dem Gutschein an das Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Ve-

Tabelle 1: Verbreitung der nt230(del4) MDR1-Mutation beim Weißen Schäferhund (White Swiss Shepherd, Berger Blanc Suisse)

	Anzahl	MDR1-Genotypen in %			Allelfrequenz MDR1(-) in %
		MDR1+/+	MDR1+/-	MDR1-/-	
Gesamt	219	76,3	21,4	2,3	13,0
Deutschland	103	80,6	16,5	2,9	11,2
Holland	74	71,6	25,7	2,7	15,6
Schweiz	40	72,5	27,5	-	13,8
Österreich	2	2	-	-	0

terinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Giessen gesendet.

Zur MDR1-Diagnostik wird genomische DNA aus einer Vollblutprobe isoliert und der betroffene Genabschnitt in einer Polymerase-Kettenreaktion (PCR) amplifiziert. Die Identifizierung der drei Genotypen MDR1+/, MDR1+/- und MDR1-/- erfolgt dann über eine hochauflösende Polyacrylamidgelelektrophorese. Diese diagnostische Methode wurde von unserer Gruppe entwickelt und 2005 publiziert [Geyer et al. 2005a].

Ergebnisse

Aus der täglichen Praxis wurde uns von Ivermectin bzw. Doramectin Unverträglichkeiten bei Weißen Schäferhunden berichtet. In zwei konkreten Fällen wurden wir über das etablierte Vigilanzsystem (siehe unten) kontaktiert. Nach einer Behandlung mit Doramectin in therapeutischer Dosierung traten erhebliche neurotoxische Nebenwirkungen auf. Die Hunde zeigten zunächst Bewegungs- und Koordinationsstörungen, Schluckbeschwerden und verändertes Verhalten und fielen nach einigen Stunden in

einen komatösen Zustand. Erst nach mehreren Tagen intensivmedizinischer Therapie in einer Tierklinik verbesserte sich der Zustand. Beide Hunde wurden auf das Vorliegen eines MDR1-Defektes untersucht und zeigten wie vermutet den homozygoten MDR1-/- Genotyp. Da das Auftreten des MDR1-Gendefektes bisher nicht beim Weißen Schäferhund bekannt war, wurden 217 weitere Weiße Schäferhunde genotypisiert (siehe Tabelle 1). Dabei zeigte sich eine relativ hohe Allelfrequenz für das mutierte MDR1(-) Allel von 13% [Geyer et al. 2007]. Bei den weiteren untersuchten Hunderassen, Australian Kelpie (n=20), Greyhound (n=74), Barsoi (n=22), Irischer Wolfshund (n=36), Belgischer Schäferhund (Groenendael und Tervueren, n=58) wurde der MDR1-Gendefekt dagegen nicht nachgewiesen. Eine besondere Situation ergab sich jedoch für den Australian Cattle Dog. Für diese Rasse wurden 50 Rassehunde untersucht und der MDR1-Gendefekt bei keinem dieser Hunde nachgewiesen. Allerdings erreichte uns auch eine weitere Probe eines Australian Cattle Dogs, welcher durch Bildmaterial eindeutig als solcher zu erkennen war, jedoch ohne Zuchtpapiere. Bei diesem Hund wurde das Vorliegen des MDR1-Gendefektes

auf einem Allel (MDR1+/-) nachgewiesen. Da ein behandelnder Tierarzt und auch ein Hundebesitzer allerdings auf Grund der äußeren Erscheinung an die Problematik des MDR1-Defektes denken muss, sollte diese Rasse in die Liste der predisponierten Hunderassen mit aufgenommen werden. Im Gegensatz zu den genannten Hunderassen musste der Australian Terrier aufgrund der schlechten Resonanz bei Besitzern und Züchtern aus der Untersuchung herausgenommen werden. Da aber wie oben erwähnt aus Vergiftungsfällen mit Ivermectin abgeleitet werden kann, dass diese Rasse möglicherweise vom MDR1-Gendefekt betroffen ist, sollte auch beim Australian Terrier an das MDR1-Problem gedacht werden. Überraschenderweise wurden uns zum Ende der Studie mehrere Vergiftungsfälle nach der Applikation von Ivermectin beim Husky bekannt. Bei diesen Tieren handelte es sich um einen aufgelösten Rennstall, Identitätsnachweise lagen allerdings nicht vor.

Laut Besitzer wurden fünf untereinander verwandte Tiere (Mutter und Geschwister) mit einer unbekanntem Menge Ivermectin behandelt und zeigten daraufhin im typischen Zeitverlauf die ersten Symptome einer zentralnervösen Ivermectinintoxikation (Apathie, Ataxie, vermehrter Speichelfluss, Koordinationsstörungen, usw.), drei Tiere verstarben trotz intensiver Therapie. Drei Tiere konnten auf den MDR1-Gendefekt untersucht werden und zeigten den heterozygoten MDR1+/- Genotyp. Bildmaterial, welches uns von diesen Hunden zur Verfügung steht, belegt eindeutig, dass es sich bei den untersuchten Hunden tatsächlich um Huskies handelte. Damit muss in Zukunft auch bei Hunden dieser Rasse mit

dem Auftreten eines MDR1-Gendefektes gerechnet werden.

Datenerfassung problematischer Arzneistoffe: Vigilanzsystem

Aufgrund des kompletten Fehlens des Multidrug-Transporters MDR1 in Blut-Hirnschranke, Darm, Leber und Niere, kann die Pharmakotherapie von MDR1-/- Hunden mit bestimmten Arzneistoffen erhebliche Probleme bereiten. Dies gilt insbesondere für Arzneistoffe aus der Gruppe der makrozyklischen Laktone. Wissenschaftlich belegt bei Hunden mit MDR1-/- Genotyp sind Intoxikationen mit Ivermectin, Doramectin und Moxidectin. Daher dürfen Präparate mit diesen Wirkstoffen, welche nicht ausdrücklich für die Anwendung am Hund zugelassen sind, nicht verwendet werden. Als sicher bei MDR1-/- Hunden gelten jedoch spot-on Anwendungen der Präparate Stronghold® und Advocate®.

Neben der Substanzklasse der makrozyklischen Laktone wurde für zahlreiche weitere Arzneistoffe eine Interaktion mit dem Multidrug-Transporter MDR1 mit Hilfe von *in vitro* (z.B. Zellkulturen) und/oder *in vivo* (mdr1 Knockout-Maus) Untersuchungen bestätigt. Zu diesen zählen Zytostatika (Vinblastin, Doxorubicin, Paclitaxel, Docetaxel, Methotrexat, u.a.), Antihypertensiva (z.B. Carvediol, Losartan), Antiarrhythmika (Verapamil, Chinidin, Diltiazem, Digoxin, u.a.), Antibiotika (z.B. Erythromycin, Tetracyclin), Immunsuppressiva (z.B. Cyclosporin A), Neuroleptika (z.B. Chlorpromazin, Flupentixol), Antiepileptika (z.B. Phenobarbital, Phenytoin), Opioide (z.B. Methadon, Mor-

phin, Fentanyl, Loperamid), Antiemetika (z.B. Domperidon, Ondansetron) sowie H₂-Rezeptorblocker (z.B. Cimetidin, Ranitidin) [eine ausführliche Literaturübersicht findet sich bei Fromm 2004, Marzolini et al. 2004, Szakács et al 2006]. Durch das komplette Fehlen von MDR1 bei dem homozygoten MDR1-/- Genotyp muss beim Einsatz dieser Arzneistoffe mit einer Zunahme der oralen Bioverfügbarkeit und einer verminderten Ausscheidung über Leber und Niere gerechnet werden. Dadurch kann es leicht zu einer „unbewussten“ Überdosierung der entsprechenden Arzneistoffe kommen. Zusätzlich ist die Gewebepenetration lipophiler Arzneistoffe durch die Gefäßendothelien der Blut-Hirn-Schranke erhöht. Insgesamt können dadurch vermehrt neurotoxische, nephrotoxische und hepatotoxische Effekte bei der Arzneitherapie auftreten [Petzinger und Moritz 2006].

Das Fehlen kontrolliert klinischer Studien über die Sicherheit der Arzneitherapie bei MDR1-/- Hunden bereitet in der täglichen Praxis zum Teil erhebliche Probleme. Viele Daten, insbesondere zur Anreicherung von Arzneistoffen im Gehirn, wurden an mdr1-defekten Knockout-Mäusen gesammelt und liefern uns eine lange Liste möglicherweise problematischer Arzneistoffe in der Therapie von MDR1-/- Hunden. Mit dem Aufbau einer Datenbank zur Sammlung von unerwarteten und unerwünschten Arzneimittelwirkungen bei MDR1-/- Hunden wurde im Rahmen dieses Projektes versucht, Arzneistoffe zu erfassen, welche in der tierärztlichen Praxis die größten Probleme bereiten. Hierfür steht auch in Zukunft Tierbesitzern, Züchtern und Tierärzten ein spezielles Vigilanzsystem zur Verfügung ([\[giessen.de/mdr1defekt\]\(http://giessen.de/mdr1defekt\)\), an welches MDR1-bezogene Nebenwirkungen bei der Arzneitherapie und bei Narkosen gemeldet werden können.](http://www.uni-</p>
</div>
<div data-bbox=)

Das etablierte Vigilanzsystem verlangt detaillierte Darstellungen über den Patienten, angewendete Medikamente, Dosierung, Anwendungsart und -dauer, sowie Verlauf und Dauer der aufgetretenen Symptome. Um eine entsprechende Aussage über zeitliche und kausale Zusammenhänge zwischen den vermeintlich problematischen Arzneistoffen und dem MDR1-Gendefekt herstellen zu können, ist diese detaillierte Auskunft unbedingt notwendig, so dass das Ausfüllen des Fragebogens bis zu 30 Minuten in Anspruch nehmen kann. Die Datenerfassung des Vigilanzsystems ist in unerwünschte Arzneimittelwirkungen und Narkosezwischenfälle aufgeteilt.

Insgesamt wurden bisher 31 Fälle an das Vigilanzsystem gemeldet. Unter den unerwünschten Arzneimittelwirkungen wurden mehrere Vergiftungsfälle mit makrozyklischen Laktonen gemeldet, darunter unter anderem Vergiftungsfälle von zwei Weißen Schäferhunden, wodurch der Kontakt zu Besitzern und behandelnden Tierkliniken entstand. Durch diese Kontaktaufnahme konnten die Fälle von uns als Ansprechpartner begleitet und auch dokumentiert werden.

Interessant ist auch die Häufung der gemeldeten Vergiftungsfälle nach der oralen Aufnahme von Ivermectin-Entwurmungspaste von Hunden im Pferdestall, sowie nach Aufnahme von Pferdeäpfeln kurz nach der Behandlung des Pferdes mit Entwurmungs-

paste. Dabei handelte es sich um Hunde mit und ohne MDR1-Gendefekt (Linek et al. 2007).

Auffällig ist die Meldung unerwünschter Nebenwirkungen des Wirkstoffes Ephedrin. Ephedrin wurde zweimal mit einer unerwünschten Nebenwirkung mit motorischen Störungen, Unruhe, Orientierungslosigkeit und Verstörtheit nach der Behandlung mit Caniphedrin® aufgrund von Inkontinenz gemeldet. In beiden Fällen handelte es sich um Hunde der Rasse Collie, ein Tier wies den Genotyp MDR1-/- auf, das andere Tier den Genotyp MDR1+/- . Beide Tiere regenerierten nach Absetzen des Medikamentes. Ein Collie mit unbekanntem Genotyp wurde aufgrund einer Mandelentzündung und Husten mit dem ebenfalls Ephedrin enthal-

tenden Präparat Atussin® behandelt und zeigte hochgradige Störung der Motorik und verminderte Reflexe des Bewegungsapparates. Der Hund verstarb. Inwieweit diese Fälle tatsächlich mit dem MDR1-Gendefekt in Zusammenhang stehen, sollte daher in Zukunft systematisch untersucht werden.

Stefanie Klintzsch, Prof. Dr. Joachim Geyer

*Institut für Pharmakologie und Toxikologie
Fachbereich Veterinärmedizin
Justus-Liebig-Universität Gießen
Frankfurter Str. 107, 35392 Giessen
Joachim.M.Geyer@vetmed.uni-giessen.de
Tel.: +49 (0)641/ 99 38404
Fax: +49 (0)641/ 99 38419*