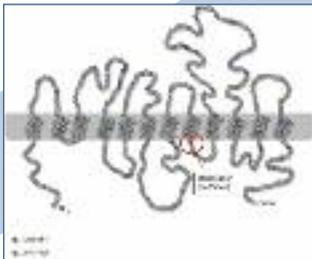




Abschlussbericht

# Vielgestaltige Transportprobleme

aus der gkf-Info 41 | Juni 2015



## Abschlussbericht

# Vielgestaltige Transportprobleme

*Der Transport von schädlichen Substanzen in die Leberzelle ist der erste Schritt zur „Entgiftung“ des Körpers. Hierfür sind spezielle Transportproteine nötig, denn ohne deren „Schlepperhilfe“ könnten die meisten Substanzen die Außenmembran der Leberzellen nicht überwinden. Beim Hund sind die für den Transport zuständigen Eiweiße bisher kaum erforscht. An der Justus-Liebig-Universität Gießen hat Jana Bartholomeyzik unter der Anleitung von Joachim Geyer einige Wissenslücken zu diesem Thema schließen können.*

Die Dosis macht das Gift: Ein Medikament kann in der richtigen Dosierung heilen oder zumindest Symptome lindern. Eine Überdosis kann den gleichen Arzneistoff aber auch zu einem Gift machen. Solch eine Überdosis entsteht nicht nur, wenn der Patient zu viel Arzneimittel auf einmal zu sich nimmt, eine Überdosis kann auch dann zustande kommen, wenn der Patient den Wirkstoff nicht mehr oder nur verlangsamt ausscheiden kann. Nimmt ein Patient das Medikament, das er nicht mehr richtig ausscheiden kann, unwissentlich weiter ein, reichert es sich im Körper an, bis im schlimmsten Fall eine giftige Überdosis erreicht ist.

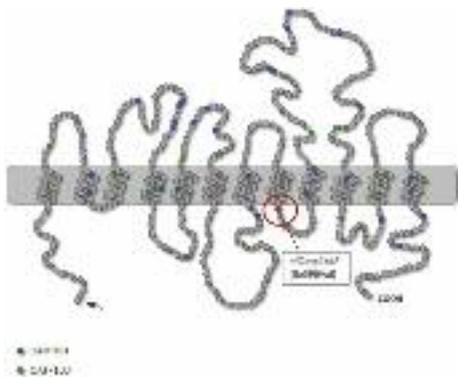
Die Leber spielt eine zentrale Rolle bei der Ausscheidung und Entgiftung vieler Sub-

stanzen. Neben Abfallprodukten aus dem Stoffwechsel entgiftet sie auch Umweltgifte und viele Arzneimittel. Entgiftung bedeutet dabei, dass die Leberzellen die entsprechenden Substanzen chemisch umbauen und sie für die Ausscheidung durch Harn oder Kot transportfähig machen.

Der erste Schritt zur Entgiftung ist jedoch der Transport der fraglichen Substanzen aus dem Blut in die Leberzelle. Dafür sind besondere Transportproteine nötig, denn Leberzellen sind von einem dünnen Häutchen, der Zellmembran, umgeben, die für die meisten Substanzen undurchlässig ist. Die Transportproteine nehmen bestimmte Stoffe aus dem Blut auf und befördern sie über die Zellmembran in die Leberzellen.

## Wichtige Transporterfamilie

Eine wichtige Gruppe von Transportproteinen in der Leber bildet die Familie der *Organic Anion Transporting Polypeptides* (OATP). Beim Menschen kennt man elf Mitglieder dieser Familie von „Arzneimittelschleppern“, wobei zwei namens OATP1B1 und OATP1B3 in der Leber eine besondere Rolle spielen. Man hat jedoch festgestellt, dass bereits minimale genetische Änderungen von nur einer einzelnen Base im DNA-Strang bei den menschlichen OATPs einen



Die OATP-Transporter sitzen in dem grau hinterlegten Bereich in der Zellmembran von Leberzellen und transportieren Fremdstoffe über diese Membran. Die OATPs von Mensch und Hund sind grundsätzlich gleich aufgebaut. An den blau und grün markierten Positionen gibt es bekannte Veränderungen in den humanen OATP1B1 und OATP1B3. Rot hervorgehoben ist der neu identifizierte SNP im Oatp1b4 des Hundes an Aminosäureposition 396 (Austausch von Isoleucin zu Valin).

erheblichen Einfluss auf deren Funktion als Transportproteine haben können.

Dies führt beispielsweise dazu, dass Leberzellen bestimmte Cholesterin-senkende Arzneistoffe (sog. Statine) nicht mehr richtig aufnehmen können und diese daher nicht mehr richtig entgiftet und ausgeschieden werden. Man nennt den Austausch einzelner Basen im DNA-Strang auch *Single Nucleotide Polymorphismen* (SNPs gesprochen Snips). SNPs kommen bei den OATP1B1 und OATP1B3 Transportern des Menschen verhältnismäßig häufig vor.

Auch beim Hund gibt es OATPs. Bekannt ist das Oatp1b4 Transportprotein in der Hundeleber. Insgesamt weiß man bislang jedoch nur wenig über diese Transportproteine beim Hund. Jana Bartholomeyzik und Joachim

Geyer untersuchten nun, ob es bei dem Oatp1b4 Transporter des Hundes Polymorphismen (SNPs) gibt, ob große Unterschiede bei der Bildungsrate (Genexpression) des Oatp1b4 in der Leber verschiedener Hunde bestehen und wie die Funktion des Oatp1b4 beim Hund zu bewerten ist.

## Weniger Snips als erwartet

Hierzu untersuchten sie die Leberproben von 42 Hunden, die ihnen in den vergangenen zwei Jahren von der Kleintierklinik für Chirurgie an der JLU Gießen zur Verfügung gestellt wurden. Um mögliche minimale Änderungen im Erbgut (SNPs) des Oatp1b4 beim Hund festzustellen, mussten aus den Leberproben zuerst die entsprechenden Teile des Erbguts identifiziert, isoliert und vervielfältigt (kloniert) werden. Danach wurden die Gen-Klone mithilfe eines Spezialverfahrens nach SNPs abgesucht. Dabei entdeckten die Forscher beim Hund wider Erwarten nur einen einzigen relevanten SNP, der an einer Stelle des Transportproteins die Aminosäure Isoleucin durch die Aminosäure Valin ersetzt. Diese neue Variante des Oatp1b4 wurde bei insgesamt 14 Hunden identifiziert. Insgesamt zeigte sich das Oatp1b4-Gen des Hundes damit weit weniger vielgestaltig (polymorph) als die entsprechenden Gene beim Menschen und als die Forscher erwartet hatten. Auch die Bildungsrate des Oatp1b4-Transporters in der Leber war für die untersuchten Hunde überraschend einheitlich.

## Funktionelle Bewertung

Der dritte Schritt der Studie, nämlich die Bewertung der Funktion von Oatp1b4 erwies

## Aus Genen werden Proteine

Die Erbinformation ist in Genen enthalten und im Zellkern auf dem DNA-Strang gespeichert. Die Gene stellen dabei nichts anderes als Bauanleitungen für Proteine dar. Eine Wirkung auf den Organismus hat ein Gen nur, wenn es abgelesen und dann in die Tat beziehungsweise in der Proteinproduktion umgesetzt wird. Man nennt diesen Vorgang „Expriemieren eines Gens“ oder „Genexpression“. Doch sowie auch so

manche Bauanleitung nie umgesetzt wird und nur als Plan im Archiv des Architekten Staub ansetzt, kann auch ein Gen nie abgelesen werden. Tatsächlich ist das das Schicksal vieler Gene. Bei der nächsten Zellteilung werden die Gene oder „Protein-Baupläne“ zwar kopiert, aber sie werden nie expriemiert. Statt im Archiv „verstauben“ die unbenutzten Gene allerdings im Zellkern.

sich als sehr schwierig und als große Herausforderung für die Forscher. Ursprünglich wollte man in bestimmte Zellkulturen das Gen für Oatp1b4 mittels Plasmiden einbringen. Plasmide sind vom normalen Zellerbgut unabhängige DNA-Stränge, die separat abgelesen und expriemiert werden können. Nach der Expression der Oatp1b4-Gene sollte die Aktivität der entstandenen Transportproteine mittels radioaktiv markierter Testsubstanzen bestimmt werden. Leider funktionierten die ersten Tests nicht. Die Forscher tauschten die Zelllinien im Versuch aus. Als der Versuch bei vier verschiedenen Zelllinien nicht funktionierte, änderten sie die Vorgehensweise, indem sie das Gen für Oatp1b4 nun direkt in das Erbgut der Zellen einpflanzten. Auch dies brachte keinen Erfolg.

Schließlich verwendeten die Forscher die Eizellen von Krallenfröschen für die Versuche. Nun endlich zeigte sich eine Transportaktivität, die für beide Varianten des Oatp1b4 für die meisten Testsubstanzen ähnlich war. Damit kann davon ausgegangen werden, dass die neu entdeckte Oatp1b4

Variante des Hundes zu keiner verzögerten Ausscheidung von vielen Substanzen über die Leber führt. Ob dies jedoch für alle relevanten Arzneistoffe gilt, muss nun weiter untersucht werden.

*Barbara Welsch*

### Titel der Studie

**Genetische Variabilität im Arzneistofftransport in der Leber des Hundes**

### Kontakt

Jana Bartholomeyzik  
Prof. Dr. Joachim Geyer  
Institut für Pharmakologie und  
Toxikologie  
Fachbereich Veterinärmedizin  
Justus-Liebig-Universität Gießen  
Biomedizinisches Forschungszentrum  
Seltersberg (BFS)  
Schubertstraße 81  
35392 Gießen  
Joachim.M.Geyer@vetmed.uni-giessen.de



**Gesellschaft zur Förderung  
Kynologischer Forschung e.V.**

Postfach 14 03 53

53058 Bonn

Service-Telefon 0180/3 34 74 94

[info@gkf-bonn.de](mailto:info@gkf-bonn.de)

[www.gkf-bonn.de](http://www.gkf-bonn.de)