

1. Einleitung

1.1. Primaten in der biomedizinischen Forschung

Primaten werden in den vergangenen 50 Jahren in verschiedenen Gebieten der biomedizinischen Forschung als Tiermodelle eingesetzt. So wurde der Polio-Impfstoff tierexperimentell an Rhesusaffen untersucht (Hendrickx und Henrickson, 1988). Zur Zeit finden Primaten Verwendung in der AIDS-Forschung, auch hier finden Versuche zur Testung von Impfstoffen an diesen Tieren statt (Kaup et al., 1998).

1.1.1. Primaten in der Toxikologie

In der Toxikologie wurde die besondere Bedeutung der Primaten erstmalig in Folge der Thalidomidkatastrophe offenbar; eine ausführliche Zusammenstellung der Hintergründe wurde bereits vorgestellt (Neubert und Neubert, 1997). Seit den 60er Jahren haben Primaten Eingang in die Prüfung von Arzneimitteln gefunden und werden - neben dem Hund - als Nichtnagetierspezies in Untersuchungen insbesondere des Arzneistoffmetabolismus eingesetzt. Zu den verwendeten Spezies gehören der Rhesusaffe (*Macaca mulatta*), der Cynomolgusaffe (*Macaca fascicularis*) und der Marmosettaffe (*Callithrix jacchus*). Letzterer ist ein Neuweltaffe und wesentlich kleiner als die beiden Makakkenarten. Weitere Vorteile, die für den Einsatz des Marmosets sprechen, sind die leichte Handhabbarkeit und eine gute Reproduktion in der Zucht. Damit entfällt die Notwendigkeit von Wildfängen, die bei Primaten zum einen aus ethischen Gründen problematisch sind und zum anderen durch die Möglichkeit der Durchseuchung mit virulenten Humanpathogenen (Marburgfieber) eine Gefahr für das Laborpersonal darstellen (Johnson, 1990).

Im Metabolismus von Arbeitsstoffen, Arzneistoffen und Umweltchemikalien wurden in den vergangenen Jahrzehnten eine Reihe von fundamentalen Unterschieden zwischen Mensch und den - in der Forschung besonders häufig eingesetzten - Nagetieren festgestellt (Guengerich, 1997; Hengstler et al., 1999). Für den Einsatz von Primaten werden insbesondere die enge phylogenetische Verwandtschaft mit dem Menschen als auch die dem Menschen vergleichbare Empfindlichkeit gegen Thalidomid als Begründung herangezogen.

Eine Voraussetzung für den rationalen Einsatz von Primaten in der Erforschung des Fremdstoffmetabolismus ist die gründliche Kenntnis der Fremdstoff-metabolisierenden Enzyme (FME) und ihrer Regulation in den betroffenen Spezies.

Die Vertiefung dieser Kenntnisse war das Anliegen der vorgelegten Schrift.

Die toxikokinetischen Studien ausgewählter polyhalogener Dibenzo-p-Dioxine (PHDD) wurden mit funktionalen Untersuchungen verschiedener FME ergänzt.

Auf den folgenden Seiten werden zuerst die Marmosettaffen kurz dargestellt – die im Gegensatz zum Rhesusaffen noch nicht allgemein bekannt sind - bevor eine Übersicht über die FME und die ausgesuchten Problembereiche folgt. Abschließend wird die Bedeutung der PHDDs kurz dargestellt.

1.1.2. Marmosettaffen

Am Institut für klinische Pharmakologie und Toxikologie der Freien Universität Berlin existiert seit 20 Jahren eine Marmosetkolonie. Die Kolonie besteht aus 100 Zuchtpaaren, deren Verpaarung durch ein Computerprogramm überwacht wird, um Inzucht zu vermeiden. In der Vergangenheit sind große Marmosetkolonien, wie die des englischen Unternehmens ICI / Zeneca, aufgrund von Inzuchtproblemen zusammengebrochen (PD Dr. Wolfgang Heger, persönliche Mitteilung).

Zur Zeit verwenden verschiedene pharmazeutische Unternehmen Marmosets in der präklinischen Forschung.

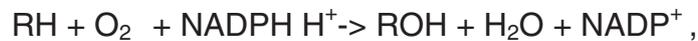
Ausgewachsene Marmosets wiegen etwa 300 bis 400 g, werden mit 18 Monaten geschlechtsreif und werfen nach einer Tragzeit von ca 140 Tagen Zwillinge oder Drillinge.

1.2. Fremdstoffmetabolismus

Die meisten der exogen zugeführten Fremdstoffe, zu denen auch Arbeits- und Arzneistoffe gehören, sind so lipophil, dass sie ohne weitere metabolische Modifikationen nicht eliminiert werden können. Dies gilt auch für viele endogen synthetisierte Verbindungen, die nach erfolgreicher Signalübermittlung ebenfalls inaktiviert und eliminiert werden müssen. Dem Säugetierorganismus stehen für den Fremdstoffmetabolismus solcher Verbindungen eine Vielzahl von Enzymsystemen zur Verfügung, die sich alle durch ein bemerkenswert breites Substratspektrum auszeichnen. Es werden Phase I- und Phase II-Reaktionen unterschieden: Phase I-Reaktionen umfassen im wesentlichen oxidative Reaktionen, die zur Bildung von polaren und reaktiven Metaboliten führen. Diese Metaboliten werden dann durch Konjugierungsreaktionen der Phase II im allgemeinen hydrophiler und damit renal oder biliär eliminierbar. Hierbei entstehen in der Regel biologisch inaktive Metaboliten. Es können aber auch biologisch aktive Substanzen gebildet werden;

dies geschieht meist über die oxidativen Reaktionen. Diese aktiven Metaboliten können einerseits selbst das Wirkprinzip darstellen (z.B. Cyclophosphamid), sie können andererseits aber auch mit Proteinen oder DNA reagieren (Schulz und Hallier, 1999). Es wird diskutiert, dass etwa 25% aller Arzneistoffe und umweltrelevanten Schadstoffe ihre unerwünschten Wirkungen erst nach Aktivierung durch FMEs entfalten (Nebert, 1997).

Die bedeutendste Enzymgruppe, die Phase I-Reaktionen vermittelt, sind die Cytochrom P450-abhängigen Monooxygenasen. Die Cytochrome P450 sind Hämproteine, die zusammen mit der Cytochrom P450-Reduktase im Organismus als Monooxygenase fungieren. Die allgemeine Reaktionsgleichung für die Monooxygenierungen lautet:



wobei R einen aliphatischen oder einen aromatischen Rest darstellen kann. Die Nomenklatur der Cytochrome P450 leitet sich aus der Sequenz ab; die P450-Enzyme sind nach Familien und Unterfamilien zusammengefaßt, wobei für den Fremdstoffmetabolismus im Säugetierorganismus nur die Familien eins bis drei von Bedeutung sind.

Die Familie **CYP1** besteht nur aus drei Genen, die wegen der hohen Konservierung der Aminosäuresequenz und damit verbunden, der sehr ähnlichen Funktionen und enzymatischen Eigenschaften, in allen (Säugetier)Spezies den gleichen Namen erhielten: CYP1A1, CYP1A2 und CYP1B1. Zur genauen Unterscheidung werden hier immer noch die Spezies genannt, in Anlehnung an die GST-Nomenklatur ist auch die Spezifizierung mit einem kleinen Buchstaben denkbar, so z.B. hCYP1A1 für humanes CYP1A1 oder rCYP1A2 für das Rattenzym. Das einzige weitere Cytochrom P450, das als ortholog zwischen den Spezies betrachtet wird, ist CYP2E1; für alle anderen CYP-Enzyme ist der Speziesvergleich sehr schwierig, wenn nicht teilweise unmöglich.

Die Familie **CYP2** besteht aus 8 Unterfamilien, die teilweise eine Reihe von verschiedenen Genprodukten enthalten. Entwicklungsgeschichtlich wird die Diversifizierung dieser Subfamilie mit der Besiedlung des Festlandes durch Pflanzen und Tiere vor ca. 300 Millionen Jahren in Verbindung gebracht. Im Pflanzenreich wurde versucht, den Nachteil eines festen Standortes durch die Synthese sekundärer Inhaltsstoffe, die entweder als Bitterstoffe oder als Fraßgifte wirken, auszugleichen. Damit erhielten für die Pflanzenfresser die FME, die die sekundären

Inhaltsstoffe inaktivieren konnten, eine wichtige Rolle im Evolutionsprozeß. Eine Vielzahl von Cytochromen P450 in den Säugetierorganismen lassen sich damit jetzt charakterisieren, die beschriebene Auseinandersetzung läuft im angelsächsischen Schrifttum auch unter der Bezeichnung "*Animal-Plant-Warfare*" (Gonzalez und Nebert, 1990).

Im Menschen ist in der CYP2A- und der CYP2B-Unterfamilie mit CYP2A6 und CYP2B6 nur je ein Gen bekannt, während die CYP2C-Unterfamilie mit vier CYP-Enzymen vielfältiger ist; hier wurde auch ein klinisch-pharmakologisch relevanter Polymorphismus für CYP2C19 beschrieben (Goldstein und deMorais, 1994). Zur generellen Bedeutung von Polymorphismen der FME in der Arbeitsmedizin sei hier auf eine aktuelle Übersichtsarbeit verwiesen (Schulz und Hallier, 1999).

CYP2D6 ist mit seiner Vielzahl von Polymorphismen, die zum einen einen Aktivitätsverlust, zum anderen aber auch erhebliche Aktivitätssteigerungen zur Folge haben, von herausragender klinisch-pharmakologischer Bedeutung. In der mitteleuropäischen Bevölkerung weisen etwa 5 bis 10% eine geringe bis fehlende CYP2D6-Expression auf, ein Befund, der unter Berücksichtigung der vielen Arzneimittel, die - teilweise ausschließlich - vom CYP2D6 metabolisiert werden, verstärkt im klinischen Alltag beachtet werden sollte (Mikus et al., 1994).

CYP2E1 metabolisiert kleine Moleküle, wie Ethanol, Benzol, Vinylchlorid und Nitrosamine (Yang et al., 1990, Lieber, 1997) und ist daher arbeits- und umweltmedizinisch von großer Bedeutung. Ethanol ist nicht nur Substrat für dieses Enzym, sondern auch Induktor; neben dem Zigarettenrauch hat Ethanol mit Sicherheit für die Allgemeinbevölkerung die größte Bedeutung als Induktor der FME.

CYP3A4 und CYP3A5 machen mengenmäßig den größten Teil der menschlichen hepatischen Cytochrome P450 aus. Klinisch fiel insbesondere CYP3A4 durch eine Reihe von relevanten Arzneimittelinteraktionen auf, z.B. führt die gleichzeitige Gabe von Ketoconazol und Cyclosporin zu stark erhöhten Cyclosporinplasmakonzentrationen, ein Befund, der zur Überlegung Anlaß gab, den Bedarf an diesem teureren Immunsuppressivum durch die gleichzeitige Gabe des Antimykotikums zu reduzieren (Keogh et al., 1995). CYP3A4 kann aber auch durch Nahrungsinhaltsstoffe wie Grapefruitsaft gehemmt werden (Clifford et al., 1997).