

Originalia:

Erhöhte genetische Suszeptibilität gegenüber Umweltgiften bei schadstoffbelasteten Patienten mit chronischem Erschöpfungssyndrom

N. S. Prang, Volker von Baehr, W. P. Bieger

Einleitung

Eine steigende Anzahl von Menschen leidet heute unter chronischer Erschöpfung (Chronic Fatigue Syndrom, CFS) und multipler Chemikalienüberempfindlichkeit (MCS). Die Symptome der Erkrankungen reichen von anhaltender körperlicher Schwäche und Antriebslosigkeit über Konzentrationsstörungen, rezidivierende Infektionen, Enzephalo- und Neuropathien, unspezifische Magen-Darm-Erkrankungen (zum Beispiel chronische Gastritis, „Reizdarm“), Gelenkschmerzen sowie Schwellungen, Myopathien, Muskelschmerzen, Fibromyalgien, Harnblasenreizung und Cystitis, Erkrankung der Prostata, der Lunge und Leber [1]. Lässt sich der Krankheitszustand der Patienten mit einer herkömmlichen Diagnostik nicht klären, werden leider allzu oft psychische Ursachen für die Erkrankung vorgebracht. Tatsächlich entwickeln viele Patienten, die an einem chronischen Erschöpfungssyndrom erkrankt sind oder unter einer Chemikalienüberempfindlichkeit leiden, gerade wegen der erfolglosen Suche nach diagnostisch greifbaren Kriterien Zukunftsängste und sogar Depressionen. Dabei ist nur unzureichend bekannt, dass auch eine dauerhafte Belastung mit Umweltschadstoffen bei Personen mit einer genetischen Suszeptibilität zur Entwicklung eines CF- oder MC-Syndroms oder sogar einer Tumorerkrankung führen kann [2, 3].

Entscheidend für eine effiziente Entgiftung von Umweltschadstoffen ist das Zusammenspiel der Phase-I- und Phase-II-Detoxifikationsenzyme. In der Phase-I werden Substanzen reduziert, hydrolysiert und oxidiert. Dies geschieht durch verschiedene mikrosomale Enzyme, die Cytochrom P450 Mixed Function Oxidasen (MFO) [4]. Die MFO-Enzyme sind im Bereich der Membran des endoplasmatischen Retikulums der Leberzellen angesiedelt und katalysieren dort den Abbau von Stoffwechselprodukten und Schadstoffen. Die Leberzellen können durch Induktion mit unterschiedlichen chemischen Stoffen eine Reihe von spezifischen Cytochrom P450-Isoenzymen (CYP-Familie) bilden [5].

Aufgrund genetischer Unterschiede (Polymorphismen) können einige Enzyme sehr leicht induziert werden und mit hoher Aktivität metabolisieren. Ein Beispiel hierfür sind die Phase-I-Enzyme Cytochrom P450 IA1 und IA2, die zahlreiche Xenobiotika, darunter polyzyklische Kohlenwasserstoffe, verstoffwechseln [6, 7]. Durch die Aktivität dieser Enzyme entstehen hochgiftige Metaboliten, die normalerweise in den Phase-II-Reaktionen umgehend verstoffwechselt werden. Dazu werden in der Leber kleine polare, hydrophile Moleküle wie Glutathion, Acetat, Cystein, Sulfat, Glycin oder Glukuronat an Metabolite und Zellgifte addiert, um sie für die Ausscheidung über die Leber und die Niere in eine wasserlösliche Form zu überführen. Zu den wichtigsten Phase-II-Enzymen zählen die Glutathion-S-Transferasen (GSTs) und die N-Acetyltransferasen (NATs).

Eine besondere Bedeutung misst man heute den Glutathion-abhängigen Enzymen bei [8, 9]. Sie entschärfen die bei der Verstoffwechslung von Umweltgiften entstehenden, hoch reaktiven freien Radikale durch Oxidation des nukleophilen Glutathions. Ein Ungleichgewicht durch eine reduzierte oder eine fehlende Proteinbiosynthese der GSTs bewirkt einen Stau an elektrophilen Metaboliten. Personen, bei denen aufgrund einer genetischen Veranlagung die Enzymaktivität einer oder sogar mehrerer Glutathion-S-Transferasen fehlt oder reduziert ist, neigen bei Belastung mit Xenobiotika verstärkt zur Entwicklung von Multiorganerkrankungen und einer erworbenen Immunschwäche [10]. Häufig sind bei diesen Patienten Phase-I-Enzyme stark aktiviert, die entstehenden Stoffwechselprodukte können jedoch nicht umgehend metabolisiert werden. Die Folge kann eine Akkumulation von Schadstoffen sein, die dauerhaft den Organismus belasten.

In der hier vorgestellten Untersuchung wurde bei 40 Patienten, die unter einem CFS oder MCS leiden, erstmals der Zusammenhang zwischen einer Belastung mit Schadstoffen und einer genetisch festgelegten Entgiftungskapazität untersucht.

Patienten und Untersuchungsparameter

Patienten: In Kooperation mit Selbsthilfeorganisationen und umweltmedizinisch tätigen Praxen wurden 40 Patienten aus Gesamtdeutschland rekrutiert, die an einem chronischen Erschöpfungssyndrom und/oder multipler Chemikalienüberempfindlichkeit litten. Es nahmen 20 Frauen und 20 Männer an der Studie teil. Die Altersverteilung lag zwischen 27–59 Jahren. Die Patienten unterzogen sich einer eingehenden Anamnese ihrer Symptome, klinischer und labortechnischer Vorfunde und ihrer derzeitigen Umweltbelastungssituation. Nach Auswertung der Anamnesebögen wurden die Patienten in drei Kategorien eingeteilt:

Kategorie A, Pestizidbelastete: Das Durchschnittsalter der Patienten lag bei 42,8 Jahren. Bei 14 Personen (8 Frauen und 6 Männer) waren erhöhte Konzentrationen an Pestiziden im peripheren Blut oder Urin messbar. Mit Hilfe von Gaschromatographie-Massenspektroskopie (GC/MS) wurde im Serum bzw. Urin bei 11 Patienten das Fungizid Pentachlorphenol (PCP) in Konzentrationen zwischen 50 µg/l und 0,5 mg/l gemessen. Im Falle eines Landwirts lag die Konzentration mit 12 mg/l nahezu 500-fach über den Referenzwerten (<25µg/l). In fünf Fällen wurde das Insektizid g-Hexachlorcyclohexan (HCH, Lindan) nach vorhergehender Differenzierung von a-, b- und g-HCH durch Verwendung polarer Kapillarsäulen im EDTA-Blut in Konzentrationen von 0,4 µg–1,2 µg nachgewiesen. Des Weiteren wurden in drei Fällen erhöhte Konzentrationen an polychlorierten Biphenylen (PCB) in Höhe von 0,8–1,6 µg/l im EDTA-Blut mittels GC/MS gefunden und in einem Fall 0,4 µg/l Cumarinderivate, die vermutlich von Rodentiziden stammen, mit Hilfe der HPLC-Methodik aufgespürt.

Bei zwei Landwirten und einer Floristin konnte die erhöhte Belastung mit Pestiziden in direktem Zusammenhang mit einer beruflichen Exposition gebracht werden. Unter den übrigen Patienten waren vier Hausfrauen, ein Versicherungskaufmann, zwei Büro- und Bankangestellte und vier Personen, die aufgrund ihrer körperlichen Leiden zum Zeitpunkt der Untersuchung arbeitslos gemeldet waren. Bei vier der mit PCP und/oder HCH belasteten Patienten wurde durch Raumluftsammlung eine Wohnraumbelastung dokumentiert. Krankheitssymptomatisch dominierten in der Gruppe der Patienten mit Pestizidbelastung neben chronischem Erschöpfungssyndrom neurologische Störungen, darunter Migräne, Sehstörungen, Gleichgewichtsverlust, Schwindel, Muskelschwäche und Lähmungen.

Kategorie B, Patienten mit Schwermetallbelastung: Das Durchschnittsalter der Patienten lag bei 37,6 Jahren. Bei 14 Personen (6 Frauen und 8 Männer) wurde eine Belastung mit dem Schwermetall Quecksilber (Hg) festgestellt, die mit größter Wahrscheinlichkeit auf Amalgamfüllungen bei den betroffenen Personen zurückzuführen war. Die Bestimmung der Hg-Konzentration aus EDTA-Blut oder Speichel wurde mittels Atom-Absorptions-Spektroskopie durchgeführt.

Die Konzentrationen lagen im Fall von Blutproben bei 11–68 µg/l, im Fall von Speichelproben bei 4–13 µg/l. Bei 5 Patienten bestätigte ein MELISA-Test zusätzlich eine Dentalmetallsensibilisierung. Bei einem Angestellten in der Metall verarbeitenden Industrie wurde eine Aluminiumkonzentration von 101 µg/l im Serum nachgewiesen und als bedenklich eingestuft.

Von den Patienten wurden vorwiegend lokale Symptome wie Stomatitis und Parodontitis, vegetative Störungen (zum Beispiel Reizmagen, Reizdarm) und eine erhöhte Neigung zur Entwicklung von Autoimmunerkrankungen sowie Allergien gegen Hausstaub, Nahrungsmittel und Pollen angegeben.

Kategorie C, Nichtschadstoffbelastete: Das Durchschnittsalter der Patienten lag bei 51 Jahren. 11 Personen (6 Frauen und 5 Männer) gaben entweder an, keine Exposition mit Umweltschadstoffen gehabt zu haben, oder es wurde bei ihnen kein Hinweis auf eine Belastung durch entsprechende Laboranalysen erbracht. In dieser Patientengruppe überwogen rezidivierende virale und bakterielle Infektionen einhergehend mit Gelenk- und Kopfschmerzen sowie vegetative Störungen.

Enzym- und Gentests: In Zusammenarbeit mit den ortsansässigen Hausärzten wurden jeweils EDTA- und Vollblutproben entnommen und mit einem Kurier innerhalb von 24 Stunden ins Zentrallabor nach München transportiert. Die Aktivität der Phase-I-Enzyme CYP1A2 und CYP1A6 wurde enzymatisch mittels des Detox-Tests (Coffein-Clearance-Test) bestimmt [11, 12]. Des Weiteren wurde die Menge der Phase-II-Enzyme GST-a, GST-m, GST-p und GST-q in einem Immunosassay ermittelt [13–15]. Zudem wurden die Gensequenzen der Phase-II-Enzyme GST-m, GST-p und GST-q sowie der NAT2 untersucht. Dazu wurde DNA aus peripheren Blutproben gewonnen und Polymorphismen, die einen Einfluss auf die

Enzymaktivität und damit Entgiftungsgeschwindigkeit haben, mittels nachfolgender PCR und Restriktionsfragmentlängen-Polymorphismenanalyse [16–19] beziehungsweise DNA-Sequenzierung (310, Applied Biosystems, Weiterstadt) untersucht.

Ergebnisse

Gentests: Die humangenetischen Untersuchungen der Phase-II-Entgiftungsenzyme zeigten deutliche Unterschiede in den Polymorphismen bestimmter Enzyme bei den verschiedenen Patientengruppen. Von den Personen, die unter einer Pestizidbelastung litten (Kategorie A), waren Polymorphismen im Enzym Glutathion-S-Transferase p (GSTP1*B und *C) mit 71% signifikant häufig. Bei gesunden Europäern liegt der Anteil des B-Allels bei 28%. Das C-Allel ist in der mitteleuropäischen Bevölkerung extrem selten [20].

Bei den Personen mit einer Schwermetallbelastung (Kategorie B) konnten bei 87% in der N-Acetyltransferase-2 (langsame Acetylierer), bei 67% in der Glutathion-S-Transferase m (GSTM1-0-Typ) sowie bei 20% in der Glutathion-S-Transferase q (GSTT1-0-Typ) funktionsrelevante Mutationen nachgewiesen werden. Die Verteilung von Polymorphismen der Glutathion-S-Transferase p (GSTP1) entsprach der Häufigkeit in der gesunden, mitteleuropäischen Bevölkerung [20].

Bei nichtschadstoffbelasteten CFS-Patienten (Kategorie C) traten Polymorphismen in den untersuchten Phase-II-Enzymen dagegen genauso häufig auf wie in der gesunden, europäischen Gesamtbevölkerung. Dies entsprach in 55% der Fälle dem Typ des langsamen Acetylierers (Häufigkeit in Mitteleuropa 57%), in 45% dem Glutathion-S-Transferase m (GSTM1) 0-Typ (Häufigkeit in Mitteleuropa 49%), in 3% dem Glutathion-S-Transferase q (GSTT1) 0-Typ (Häufigkeit in Mitteleuropa 5%) und in 16% dem Glutathion-S-Transferase p (GSTT1) B*- und C*-Typ (Häufigkeit in Mitteleuropa 28%).

Enzymtests: Proteinbestimmungen des Phase-I-Enzyms CYP1A2 ergaben, mit Ausnahme von zwei Patienten aus der Gruppe der Nichtschadstoffbelasteten, eine im Durchschnitt erhöhte Basalaktivität, die eine oxidative Stresssituation vermuten ließ. Bei 83% der Untersuchten aus allen Gruppen war dagegen die Menge des Phase-I-Enzyms CYP1A6 mit $< 0,16$ SEM erniedrigt (siehe auch Tabellen 1–3).

46% der Patienten wiesen eine erniedrigte Proteinkonzentration beim Phase-II-Entgiftungsenzym GST-a auf. Bei zwei Patienten wurde eine erhöhte Menge an GST-a gemessen. Die Proteinmenge des Phase-II-Enzyms GST-m lag bei 17 Personen $\leq 0,2$ U/ml, hinweisgebend für eine Gendeletion vom Typ 0/0. In 18 Fällen (45%) wurde eine entsprechende Gendeletion bestätigt. Damit stimmte der Enzymtest zu 94% mit dem Gentest überein. Insgesamt wurden bei 29 Personen (72,5%) erniedrigte Proteinkonzentrationen der GST-m nachgewiesen. Ebenfalls eine gute Übereinstimmung ergab sich in unserer Untersuchung beim Vergleich des GST-q-Proteintests mit dem Gentest. Danach lagen die Proteinmengen bei vier Personen mit einem GST-q-0-Typ (0/0 Allele) bei $\leq 0,3$ U/ml. Insgesamt waren bei 75% der Patienten erniedrigte Proteinmengen unterhalb von 1,6 ng/ml festzustellen. Bei 60% der Personen waren erhöhte GST-p Proteinmengen nachweisbar. Nur in zwei Fällen (5%) lag die Konzentration des Proteins unterhalb des Normbereichs.

Die Ergebnisse der Testauswertung sind in den Tabellen 1–3 zusammengefasst.

Diskussion

Wir haben in einer Studie an 40 Personen den Zusammenhang zwischen einem genetisch bedingten Entgiftungsdefizit und der Entwicklung eines chronischen Erschöpfungssyndroms oder einer Chemikalienüberempfindlichkeit bei Belastung mit Schadstoffen untersucht.

Die Testergebnisse ergaben in 95% der Fälle eine erhöhte Phase-I-Enzymaktivität, die für eine Induktion mit Xenobiotika, Medikamenten oder für entzündliche Prozesse sprach. Bei der Auswertung der Proteinanalyse der Phase-II-Enzyme GST-a, GST-m und GST-q ergab sich in den meisten Fällen ein Entgiftungsdefizit. Bei Werten unter 0,2 U/ml für die GST-m und Werten unter 0,3 ng/ml für die GSTT1 konnte ein entsprechender Null-Polymorphismus im Gentest bestätigt werden. In den übrigen Fällen könnte ein Mangel an Glutathion oder der Glutathion-Vorstufe Cystein zu einer reduzierten Enzymfunktion geführt haben. Ein Glutathion-Defizit bestätigte sich bei fünf Patienten mit erniedrigter

GST-m-Aktivität, bei denen in den peripheren Blutzellen die Konzentration an intrazellulärem Glutathion bestimmt wurde.

Eine Auswertung der Genanalysen aller Studienpatienten ergab im Vergleich zur gesunden Normalbevölkerung eine nahezu für die europäische Bevölkerung typische Verteilung relevanter Polymorphismen der Phase-II-Enzyme GSTM1 (48%) und GSTT1 (10%). Polymorphismen in den Enzymen GSTP1 und NAT2 traten dagegen mit 42% (Häufigkeit in Mitteleuropa 28%) beziehungsweise 65% (Häufigkeit in Mitteleuropa 57%) häufiger auf. Eine Berücksichtigung der individuellen Umweltbelastungssituation führte zu signifikanteren Ergebnissen.

In der Patientengruppe (Kategorie A) mit einer Pestizidexposition fanden wir neben der Wildtypgenkonstellation (GSTP1*A) signifikant gehäuft in 10 von 14 Fällen (71%) die kürzlich beschriebene Basentransition A313 \rightarrow G, die einen Aminosäureaustausch Ile105Val zur Folge hat (GSTP1*B). Zusätzlich wurde in einem Fall die Basenverschiebung C341 \rightarrow T, die zu einer Änderung der Aminosäure Ala114Val (GSTP1*C) führt, festgestellt. Aus In-vitro-Expressionsstudien ist bekannt, dass die Polymorphismen *B und *C das katalytische Zentrum des Enzyms betreffen. Vor allem die Aminosäureposition 105 spielt für die Substratspezifität der GSTP1 eine bedeutende Rolle [21]. Der Polymorphismus *C scheint dagegen die Halbwertszeit des Enzyms zu verkürzen [22].

Personen mit den GSTP1-Polymorphismen *B und *C haben damit eine verminderte Entgiftungsfähigkeit gegenüber Substraten der GSTP1, darunter zyklische Kohlenwasserstoffe (zum Beispiel Benzo[a]pyren) und Stoffwechselzwischenprodukten wie Epoxiden. Wie heute bekannt ist, werden auch Pestizide über das Enzym GSTP1 entgiftet [23]. Da GSTP1 die einzige Glutathion-S-Transferase ist, die im Gehirn und der Blut-Hirn-Schranke gebildet wird, kommt ihr eine wichtige Funktion bei der Detoxifikation von Neurotoxinen zu [19].

Wie Studien an Parkinsonpatienten zeigten, tritt bei Personen, die pestizidbelastet und die Träger der Polymorphismen GSTP1*B oder *C sind, die Erkrankung häufiger auf als bei Pestizidbelasteten mit einer intakten GSTP1-Entgiftungsfunktion. Man vermutet daher, dass die Polymorphismen GSTP1*B und *C die Suszeptibilität gegenüber Neurotoxinen und damit das Risiko für die Entwicklung neurologischer Krankheiten erhöhen [19]. Auch in unserer Patientengruppe traten verstärkt neurologische Störungen, darunter Migräne, Sehstörungen, Gleichgewichtsverlust, Schwindel, Muskelschwäche und Lähmungen, auf. Ein Zusammenhang zwischen der Häufung relevanter GSTP1-Polymorphismen und dem Auftreten der beschriebenen Symptome scheint daher nahe liegend.

In der Gruppe der Personen mit einer Schwermetallbelastung (Kategorie B) lag bei 66% (10/15) der Untersuchten ein Glutathion-S-Transferase-m-Defizit (GSTM1 Genotyp 0/0) vor. Zudem waren in 87% (13/15) der Fälle relevante Mutationen im N-Acetyl-Transferase-Gen nachweisbar, die mit dem Phänotyp des langsamen Acetylierers einhergehen.

Man weiß heute, dass es zwischen einer Belastung mit Schwermetallen und dem Glutathion-Stoffwechsel einen wichtigen Zusammenhang gibt. Besonders eingehende Untersuchungen wurden für Quecksilberbelastung aus Amalgamfüllungen durchgeführt. Durch Galvanisierung gelangt anorganisches Quecksilber meist als zweiwertiges Quecksilber (Hg^{2+}) über den Speichel in den Magen-Darm-Trakt. Über den Darm wird ein Großteil des Hg^{2+} ausgeschieden. Ein Teil wird jedoch durch die intestinale Darmflora zu Methylquecksilber (CH_3Hg) methyliert [24], welches vielfach schneller aufgenommen wird als anorganisches Quecksilber. Im Blutstrom angelangt, kann CH_3Hg sogar die Blut-Hirn-Schranke und die Placenta passieren. In der Leber wird Hg^{2+} über den Na^+ - K^+ -ATPase-Carrier aufgenommen [25]. Aufgrund der hohen Affinität bindet Hg im Cytosol der Leberzelle sehr schnell an freies GSH und bildet das Hg-GSH. Hg-GSH wird wie auch andere GSH-Konjugate über Exportpumpen aus der Zelle geschleust. Lösliche GSH-Konjugate werden dann in der Regel schnell über die Nieren ausgeschieden. Seit kurzem ist bekannt, dass die Familie der Multi-Drug-Resistant-Proteins (MDR) hierbei eine entscheidende Rolle spielt [26].

Ein Teil der intrazellulären Hg-GSH-Komplexe gelangt durch die Kernporen in den Zellkern und induziert durch Bindung an einen definierten DNA-Abschnitt (Metallothionein-Responsive-Element) die Bildung von Metallothionein (MT) [25]. Durch eine hohe Nukleophilie kann das neu synthetisierte MT mit Metallionen einen Chelatkomplex bilden. Die MT trägt damit wesentlich zur Entgiftung von Quecksilber, anderen Schwermetallen und freien Radikalen bei. Die Nukleophilie des MT wird durch reduziertes Glutathion (GSH) erhalten. Eine Voraussetzung für einen funktionellen MT-Stoffwechsel ist

daher ein ausreichendes Depot an GSH bzw. der Vorstufe L-Cystein. Oxidative Stresszustände, wie sie unter chronischer Schadstoffbelastung auftreten, zehren jedoch die Glutathion-Depots auf. Eine Übersicht über den Glutathionhaushalt ist in der Abbildung 1 dargestellt.

Da bei allen untersuchten Patienten aus der Gruppe der Schwermetallbelasteten die Phase-I-Enzymaktivität erhöht war, ist mit einem Mangel an intrazellulärem Glutathion und somit einer Akkumulation von Stoffwechselzwischenprodukten und Schwermetallen zu rechnen. Ein Zusammenhang zwischen der erhöhten Neigung zu Allergien in der Gruppe der Patienten mit Schwermetall und einer Akkumulation von Quecksilber in Zellen des Immunsystems scheint vor diesem Hintergrund wahrscheinlich [29–31].

Eine Genanalyse der Phase-II-Enzyme in der Gruppe der Nichtschadstoffbelasteten (Kategorie C) ergab eine Verteilung von Genpolymorphismen, wie sie für die mitteleuropäische Bevölkerung typisch ist [20]. Bei allen untersuchten Patienten waren die Konzentrationen des Phase-I-Enzyms CYP1A2 erhöht. Dies spricht für eine oxidative Stresssituation, wie sie auch unter Entzündungsreaktionen auftreten kann. Die untersuchten Patienten gaben bis auf zwei Ausnahmen an, unter rezidivierenden Infekten zu leiden. Bei einer Patientin konnte durch eine erweiterte Diagnostik eine floride Epstein-Barr-Virusinfektion nachgewiesen werden. Zudem ergab sich in einem Zytokin-Release-Test eine erhöhte immunologische Basalaktivität, die auf eine Präaktivierung des Immunsystems z. B. durch die chronische Virusinfektion hindeutete.

Da sich die Ursachen für die Entstehung eines CFS und MCS individuell genauso stark unterscheiden wie die Symptome, in denen sich die Erkrankungen äußern, kann letztlich nur ein differentialdiagnostischer Ansatz weiterführend sein. Neben einer ausführlichen Anamnese, die auch die potentielle Belastung mit Schadstoffen erfassen sollte und einen Ausschluss organischer Ursachen, ist eine Untersuchung auf eine angeborene oder erworbene Störung des Immunsystems in Hinblick auf eine Immunsuppression, aber auch Autoimmunerkrankung empfehlenswert. Des Weiteren sollte eine Abklärung einer chronisch aktiven Infektion mit herpesviralen Erregern, darunter Epstein-Barr-Virus [32], Cytomegalie-Virus [33] und Herpes-Virus 6 [34], die latent im Körper persistieren können, erfolgen. Auch bakterielle Infektionen wie z.B. eine chronische Infektion mit Mycoplasmen [35, 36] sowie persistierende Candidosen sind als Krankheitsursachen des CFS auszuschließen.

Wie unsere Untersuchungen an einer kleinen Patientengruppe gezeigt haben, kann eine Untersuchung der Phase-I- und -II-Entgiftungswege unter Einbeziehung von Gentests bei Personen sinnvoll sein, die eine nachgewiesene Schadstoffbelastung haben. Möglicherweise kann zukünftig durch eine Untersuchung der individuellen Entgiftungsfähigkeit ein potentielles Risiko für eine Krankheitsentstehung erkannt werden und die Entwicklung eines schadstoffinduzierten CF- oder MC-Syndroms durch frühzeitige Maßnahmen verhindert werden [37].

Literatur

1. Kuklinski B: Glutathion-Transferasen und Krankheit. Zeitschrift für Umweltmedizin 7,1 (1999) 39-45
2. Seidegard J, Vorachek WR, Pero RW, Pearson WR: Hereditary differences in the expression of the human glutathione transferase active on trans-stilbene oxide are due to a gene deletion. Proc Natl Acad Sci USA 85 (1988) 7293–7297
3. Perera FP: Environment and cancer: who are susceptible? Science 278 (1997) 1068–1073
4. Spatzenegger M, Jaeger W: Clinical importance of hepatic cytochrome P450 in drug metabolism. Drug Metab Rev 27 (1995) 397–417
5. Vessey DA, Hu J, Kelley M: Interaction of salicylate and ibuprofen with the carboxylic acid: CoA ligases from bovine liver mitochondria. J Biochem Toxicol 11 (1996) 73–78
6. Sachse C, Brockmoller J, Bauer S, Roots I: Functional significance of a C-->A polymorphism in intron 1 of the cytochrome P450 CYP1A2 gene tested with caffeine. Br J Clin Pharmacol 47 (1999) 445–449

7. Nakajima M, Yokoi T, Mizutani M, Kinoshita M, Funayama M, Kamataki T: Genetic polymorphism in the 5'-flanking region of human CYP1A2 gene: effect on the CYP1A2 inducibility in humans. *J Biochem (Tokyo)* 125 (1999) 803–808
8. Mannervik B, Alin P, Guthenberg C, Jensson H, Tahir MK, Warholm M, Jornvall H: Identification of three classes of cytosolic glutathione transferase common to several mammalian species: correlation between structural data and enzymatic properties. *Proc Natl Acad Sci USA* 82 (1985) 7202–7206
9. Mannervik B, Danielson UH: Glutathione transferases – structure and catalytic activity. *CRC Crit Rev Biochem* 23 (1988) 283–337
10. Davies MH, Elias E, Acharya S, Cotton W, Faulder GC, Fryer AA, Strange RC: GSTM1 null polymorphism at the glutathione-S-transferase M1 locus: phenotype and genotype studies in patients with primary biliary cirrhosis. *Gut* 34 (1993) 549–553
11. Renner E, Wietholt H, Huguenin P, Arnaud MJ, Preisig R: Caffeine: a model compound for measuring liver function. *Hepatology* 4 (1984) 38–46
12. Jost G, Wahllander A, von Mandach U, Preisig R: Overnight salivary caffeine clearance: a liver function test suitable for routine use. *Hepatology* 7 (1987) 338–344
13. Kodera Y, Isobe K, Yamauchi M, Kondo K, Akiyama S, Ito K, Nakashima I, Takagi H: Expression of glutathione-S-transferases a and p in gastric cancer: a correlation with cisplatin resistance. *Cancer Chemother Pharmacol* 34 (1994) 203–208
14. Szarka CE, Pfeiffer GR, Hum ST, Everley LC, Balschem AM, Moore DF, Litwin S, Goosenberg EB, Frucht H, Engstrom PF. Glutathione-S-transferase activity and glutathione-S-transferase m expression in subjects with risk for colorectal cancer. *Cancer Res* 55 (1995) 2789–2793
15. Setiawan VW, Zhang ZF, Yu GP, Li YL, Lu ML, Tsai CJ, Cordova D, Wang MR, Guo CH, Yu SZ, Kurtz RC: GSTT1 and GSTM1 null genotypes and the risk of gastric cancer: a case-control study in a Chinese population. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 9 (2000) 73–80
16. Cascorbi I, Drakoulis N, Brockmoller J, Maurer A, Sperling K, Roots I: Arylamine N-acetyltransferase (NAT2) mutations and their allelic linkage in unrelated Caucasian individuals: correlation with phenotypic activity. *Am J Hum Genet* 57 (1995) 581–592
17. Fryer AA, Zhao L, Aldersea J, Pearson WR, Strange RC: Use of site-directed mutagenesis of allele-specific PCR primers to identify the GSTM1 A, GSTM1 B, GSTM1 A,B and GSTM1 null polymorphisms at the glutathione-S-transferase, GSTM1 locus. *Biochem J* 295 Pt 1 (1993) 313–315
18. Kempkes M, Wiebel FA, Golka K, Heitmann P, Bolt HM. Comparative genotyping and phenotyping of glutathione-S-transferase GSTT1. *Arch Toxicol* 70 (1996) 306–309
19. Menegon A, Board PG, Blackburn AC, Mellick GD, Le Couteur DG: Parkinson's disease, pesticides, and glutathione transferase polymorphisms [see comments]. *Lancet* 352 (1998) 1344–1346
20. Wormhoudt LW, Commandeur JN, Vermeulen NP: Genetic polymorphisms of human N-acetyltransferase, cytochrome P450, glutathione-S-transferase, and epoxide hydrolase enzymes: relevance to xenobiotic metabolism and toxicity. *Crit Rev Toxicol* 29 (1999) 59–124
21. Hu X, Xia H, Srivastava SK, Herzog C, Awasthi YC, Ji X, Zimniak P, Singh SV: Activity of four allelic forms of glutathione-S-transferase hGSTP1-1 for diol epoxides of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Biochem Biophys Res Commun* 238 (1997) 397–402
22. Zimniak P, Nanduri B, Pikula S, Bandorowicz-Pikula J, Singha SSI, Srivastava SK, Awasthi S, Awasthi YC: Naturally occurring human glutathione-S-transferase GSTP1-1 isoforms with isoleucine and valine in position 104 differ in enzymic properties. *Eur J Biochem* 224 (1994) 893–899

23. di Ilio C, Sacchetta P, Angelucci S, Bucciarelli T, Pennelli A, Mazzetti AP, Lo BM, Aceto A: Interaction of glutathione transferase P1-1 with captan and captafol. *Biochem Pharmacol* 52 (1996) 43–48
24. Barkay T, Gillman M, Turner RR: Effects of dissolved organic carbon and salinity on bioavailability of mercury. *Appl Environ Microbiol* 63 (1997) 4267–4271
25. Bhattacharya S, Bose S, Mukhopadhyay B, Sarkar D, Das D, Bandyopadhyay J, Bose R, Majumdar C, Mondal S, Sen S: Specific binding of inorganic mercury to Na(+)-K(+)-ATPase in rat liver plasma membrane and signal transduction. *Biometals* 10 (1997) 157–162
26. Keppler D: Export pumps for glutathione S-conjugates. *Free Radic Biol Med* 27 (1999) 985–991
27. Ryan JA, Hightower LE: Stress proteins as molecular biomarkers for environmental toxicology. *EXS* 77 (1996) 411–424
28. Dieter HH: Essential biochemical aspects and toxicology of copper. *Öffentl Gesundheitswes* 51 (1989) 222–227
29. Pollard KM, Hultman P: Effects of mercury on the immune system. *Met Ions Biol Syst* 34 (1997) 421–440
30. Crinnion WJ: Environmental medicine, part three: long-term effects of chronic low-dose mercury exposure. *Altern Med Rev* 5 (2000) 209–223
31. Moszczynski P: Immunological disorders in men exposed to metallic mercury vapour. A review. *Cent Eur J Public Health* 7 (1999) 10–14
32. Schwarzmann F, von Baehr R, Jager M, Prang N, Bohm S, Reischl U, Wolf H, Bieger WP: A case of severe chronic active infection with Epstein-Barr virus: immunologic deficiencies associated with a lytic virus strain. *Clin Infect Dis* 29 (1999) 626–631
33. Wallace HL, Natelson B, Gause W, Hay J: Human herpesviruses in chronic fatigue syndrome. *Clin Diagn Lab Immunol* 6 (1999) 216–223
34. Cater RE: Chronic intestinal candidiasis as a possible etiological factor in the chronic fatigue syndrome. *Med Hypotheses* 44 (1995) 507–515
35. Choppa PC, Vojdani A, Tagle C, Andrin R, Magtoto L: Multiplex PCR for the detection of *Mycoplasma fermentans*, *M. hominis* and *M. penetrans* in cell cultures and blood samples of patients with chronic fatigue syndrome. *Mol Cell Probes* 12 (1998) 301–308
36. Nasralla M, Haier J, Nicolson GL: Multiple mycoplasmal infections detected in blood of patients with chronic fatigue syndrome and/or fibromyalgia syndrome. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 18 (1999) 859–865
37. Perera FP: Molecular epidemiology: on the path to prevention? *J Natl Cancer Inst* 92 (2000) 602–612

Korrespondenzadresse: Dr. Nadja S. Prang, Medizinisch Immunologische Laboratorien, Drs. Bieger & Partner, Bayerstraße 53, 80335 München

Fr, 23.02.2001 08:48 / N. S. Prang, V. von Baehr, W. P. Bieger