

Möglichkeiten der molekulargenetischen Diagnostik in der Umweltmedizin - eine Übersicht

Eckart Schnakenberg

Die Durchführung molekulargenetischer Analysen zum Nachweis einzelner genetischer Polymorphismen gewinnt zunehmend an Bedeutung, insbesondere bei genetisch bedingter Unverträglichkeit von Medikamenten. Genetische Polymorphismen sind Sequenzvariationen, die, wenn sie in einem funktionellen Bereich des menschlichen Genoms liegen, einen pathogenetischen Einfluss haben können. Das Auftreten einer einzelnen Sequenzvariation kann dazu führen, dass ein Stoffwechselweg eingeschränkt oder vollständig gestört ist. Dabei kann eine akute oder chronische Exposition gegenüber exogenen Noxen zu einem uneinheitlichen Krankheitsbild führen. Genetische Polymorphismen treten mit einer Häufigkeit von 1 bis 50 % in einer Bevölkerung auf. Bereits seit vielen Jahren ist bekannt, dass Polymorphismen bei Einnahme von Arzneimittelwirkstoffen zu genetisch bedingten unerwünschten Arzneimittelreaktionen führen können (Pharmakogenetik). Aber auch bei genetisch bedingten Nahrungsmittelunverträglichkeiten (Nutrigenetik) oder bei chronischer Exposition gegenüber Schadstoffen hat die Bestimmung genetischer Polymorphismen einen hohen differentialdiagnostischen Nutzen. Dabei ist die Bestimmung genetischer Polymorphismen bei chronischer Exposition mit Schadstoffen im Niedrigdosisbereich dann von besonderem Nutzen, wenn begleitende Analysen wie Laborparameter, baubiologische Untersuchungen im Wohnbereich oder Messung von Schadstoffkonzentrationen am Arbeitsplatz die Beweiskette einer genetisch bedingten Suszeptibilität unterstützen. Da genetische Polymorphismen erblich erworben werden und lebenslang unverändert bleiben, liegt einer der Vorteile der Diagnostik in der einmaligen Durchführung.

Einleitung

Das menschliche Genom gilt in weiten Teilen als entschlüsselt und die Kenntnis über die Bedeutung und Funktion einzelner Gene

nimmt stetig zu. Etwa 28.000 Gene sind auf 46 Chromosomen organisiert und das gesamte Genom besteht aus etwa 3×10^9 Einzelbausteinen (Nukleotiden). Es wird geschätzt, dass die Gensequenz von Mensch zu Mensch zu ca. 98 % übereinstimmt und in ca. 3.000.000 Nukleotiden voneinander abweicht (engl. ‚single nucleotide polymorphisms‘, SNPs oder Sequenzvariationen oder Polymorphismen, Abb. 1). Die Sequenz eines Gens bzw. die einzelnen Nukleotide lassen sich mit Hilfe molekulargenetischer Verfahren routinemäßig in einem entsprechend spezialisierten Labor untersuchen. Im wissenschaftlichen Mittelpunkt der vergangenen Jahre stand die Lokalisation der Gene auf den menschlichen Chromosomen, deren Sequenzanalyse und inwieweit Sequenzvariationen zu einer Funktionsänderung füh-

Kontakt:

Dr. rer. nat. Eckart Schnakenberg
 Institut für Pharmakogenetik und Genetische Disposition
 Ostpassage 7
 30853 Langenhagen
 Tel.: 0511/20 30 448
 Fax: 0511/20 30 447
 es@ipgd.org
 www.ipgd.org

Summary

An overview of molecular diagnostic in the area of environmental medicine – opportunities and drawbacks

The identification of single nucleotide polymorphisms (SNP's) is of increasing importance. Single nucleotide polymorphisms may have a pathogenetic impact if functional sequences of the human genome are affected. These SNP's may disturb the metabolism of distinct substances leading to undefined disorders. Polymorphisms are observed with a frequency of 1-50% within a population. Since many years it is known that SNP's contribute to adverse drug reactions (pharmacogenetic). Furthermore, diseases caused by food ingredients (nutrigenetic) or permanent low level exposure to chemicals and other harmful substances may be explained by mutations. The investigation of SNP's are of particular interest if further analyses like lab tests, measurement of pollutants at home or at working places explain the genetic susceptibility. This is of crucial advantage, since these kind of molecular analyses are performed once at lifetime.

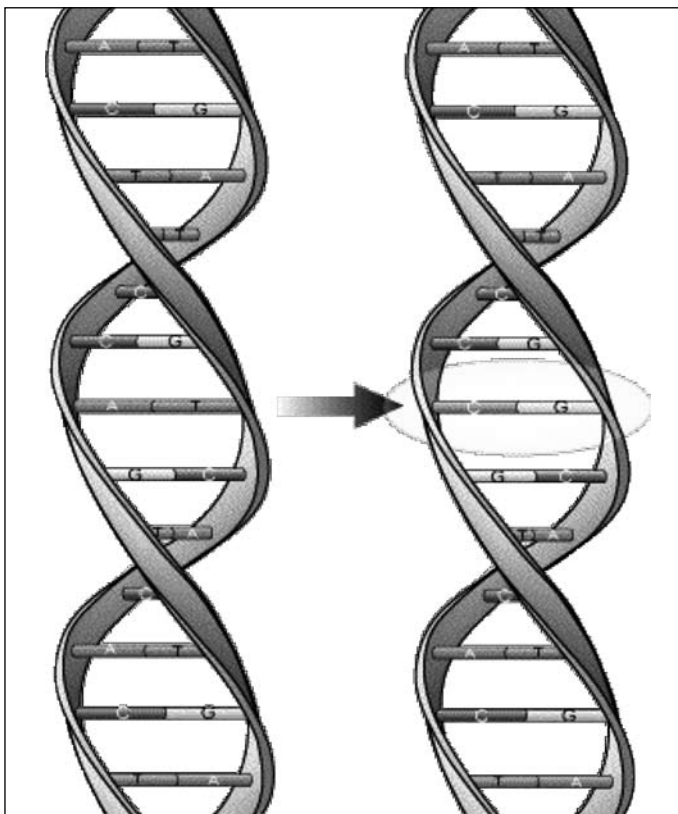


Abb. 1: Sequenzvariation; ein Basenpaar (A/T) wird durch ein anderes Basenpaar (C/G) ausgetauscht (Quelle:www.scq.ubc.ca)

ren. Mittlerweile wurde bei zahlreichen Genen entdeckt, dass die einzelnen Sequenzvariationen zu einer großen Variabilität des menschlichen Erscheinungsbildes (Phänotyp) beitragen. Dies kann beispielsweise zu einer deutlichen Einschränkung der Stoffwechsellistung (Metabolismus) beitragen oder sogar zu einem völligen Funktionsverlust einzelner oder mehrerer Enzyme

bzw. Proteine führen. Folge sind Komplikationen im Stoffwechsel endogener (z.B. Fettstoff-, Vitamin-, Hormonstoffwechsel) und exogener Substanzen (z.B. Nahrung, Chemikalien, Arzneimittel). Manche der Sequenzvariationen können für das tägliche Leben wichtig sein, während andere zunächst völlig unauffällig sind. So führt beispielsweise das Vorliegen einer Sequenzvariation im Laktase Gen zu einer Milchzuckerunverträglichkeit (Laktoseintoleranz), während eine genetische Variante, die zu einem veränderten Abbau eines Arzneimittels beiträgt, erst dann auffällig wird, wenn die Einnahme des Medikaments zu einer unerwünschten Arzneimittelwirkung geführt hat.

Die Kenntnis über das Vorliegen genetischer Polymorphismen hat in der Folge dazu beigetragen, dass die Zahl molekulargenetischer Untersuchungen mit unterschiedlichen Fragestellungen ständig zugenommen hat. Während bei monogenen Erkrankungen häufig eine vollständige Sequenzanalyse des betroffenen Gens erforderlich ist, reicht bei der Untersuchung von Polymorphismen der punktuelle Nachweis der Sequenzvariation mit moderatem technischen Aufwand. Genetische Polymorphismen sind dadurch definiert, dass sie in einer Population mit einer Häufigkeit von mindestens ein Prozent auftreten; Polymorphismen mit einer Häufigkeit von weniger als ein Prozent werden als Keimbahnmutationen bezeichnet. Keimbahnmutationen betreffen im Gegensatz zu somatischen Mutationen den gesamten Organismus und werden an die Folgegenerationen vererbt, genauso wie genetische Polymorphismen.

Worin bestehen die Stärken und Schwächen der Untersuchung einer genetischen Sequenzvariante? Grundsätzlich ist eine molekulargenetische Untersuchung nicht mit einer labormedizinischen Untersuchung vergleichbar. Während beispielsweise eine Blutbilduntersuchung den jeweilige Ist-Zustand der Blutwerte widerspiegelt, hat die Information einer molekulargenetischen Untersuchung lebenslang Bestand und ändert sich in dieser Zeit nicht, d.h. es ist eine einmalige Untersuchung. Das Ergebnis ist unveränderbar, da genetische Polymorphismen, im Gegensatz zu somatischen Mutationen, nicht durch Krankheit, Umweltschadstoffe und andere toxische Einflüsse veränderbar sind. Dies bedeutet aber auch, dass im Falle eines belastenden Ergebnisses, z.B. bei Vorliegen von Sequenzvariationen, die zur Chorea Huntington führen, keine Therapie im ursächlichen Sinne zur Verfügung steht. Daher muss jeder Patient vor einer Untersuchung über die Tragweite der Untersuchung aufgeklärt werden. Gemäß der Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Humangenetik sollte die Durchführung einer molekulargenetischen Untersuchung mit dem Angebot einer genetischen Beratung verbunden sein (<http://www.medgenetik.de/sonderdruck/1996-3-4.PDF>). Die Inanspruchnahme der genetischen Beratung ist freiwillig. Andererseits bedeutet das Vorliegen eines genetischen Untersuchungsergebnisses z.B. im Falle eines genetisch bedingt erhöhten Thromboserisikos aber auch, dass es durch den persönlichen Lebensstil möglich ist, weitere Risikofaktoren wie Rauchen oder Einnahme von Kontrazeptiva kritisch zu überdenken und ggf. durch gezielte sportliche Betätigung und Ernährung präventiv das Thromboserisiko zu reduzieren. Jeder Mensch führt einen individuell unterschiedlichen Lebensstil und an der Pathogenese multifaktorieller Erkrankungen sind in der Regel mehrere Gene beteiligt. Das bedeutet aber auch, dass nicht jede Risiko behaftete Sequenzvariation zum Ausbruch einer Krankheit führt.

Deutlich schwieriger ist in der Regel die Situation für umweltmedizinisch Erkrankte, da eine genetisch bedingt erhöhte Suszeptibilität beispielsweise gegenüber Chemikalien im Niedrigdosisbereich in der Regel erst nach mehreren Jahren auffällig wird. Um die häufig verdeckten Ursachen aufzufindig zu machen, ist eine strukturierte Befragung des Patienten hinsichtlich Arbeitsplatz, Ernährungsgewohnheiten und Lebensstil sowie eine systematische Analyse von Laborparametern essentiell.

Genetisch bedingte Arzneimittelunverträglichkeit

Ein Gen wird regelmäßig im Zellkern ‚abgeschrieben‘ und dessen Information in der Zelle in ein Enzym oder Protein umgesetzt. Das Vorliegen einer Sequenzvariante in einem Gen führt zur Informationsänderung, woraus nachfolgend eine reduzierte, vollständig fehlende oder gar eine viel zu hohe Enzymaktivität resultieren kann. Ist das genetisch bedingt veränderte Enzym am Stoffwechsel (Metabolismus) von Arzneimitteln beteiligt (Pharmakogenetik), werden diese nur unzureichend oder viel zu schnell abgebaut. Im Falle eines reduzierten Abbaus eines Arzneimittels können Metabolite und/oder das Arzneimittel selbst akkumulieren und unerwünschte Arzneimittelwirkungen (UAW) hervorrufen. Kommt es zu einem genetisch bedingt schnellen Stoffwechsel des verabreichten Arzneimittels, bleibt der gewünschte Therapieerfolg aus (sog. non-responder), da der Wirkstoffspiegel nicht ausreichend aufgebaut werden kann. Eins der am besten untersuchten Beispiele in der Pharmakogenetik ist der TPMT Polymorphismus, der in der Behandlung mit Wirkstoffen wie 6-Mercaptopurin, Thioguanin und Azathioprin zur Therapie der Leukämie sowie chronisch entzündlicher Darmerkrankungen eine wichtige Bedeutung hat (siehe Beitrag M. Stanulla auf S. 273 ff.).

Neuroleptika, Antidepressiva und andere Psychopharmaka

Zahlreiche Psychopharmaka (siehe Tab. 1), aber auch Betablocker wie Carvedilol und Metoprolol sowie das in der Behandlung des Brustkrebses häufig eingesetzte Antiöstrogen Tamoxifen werden zu einem erheblichen Teil in der Leber durch das Enzym Cytochrom P450 2D6 (CYP2D6) metabolisiert. Das CYP2D6 Gen ist auf dem menschlichen Chromosom 22 (22q13.1) lokalisiert und innerhalb des Gens befindet sich eine Vielzahl von Sequenzvariationen, die zu einer veränderten CYP2D6 Enzymaktivität führen. Diese genetischen Varianten führen beim Menschen zu unterschiedlichen Phänotypen: den sog. ‚poor (PM), intermediate (IM), extensive metabolizer (EM)‘ sowie ‚ultrapid metabolizer (UM)‘. Personen, die unter Einnahme der empfohlenen Dosis eines Arzneimittels, das zu einem maßgeblichen Teil durch das CYP2D6 Enzym metabolisiert wird, an unerwünschten Arzneimittelwirkungen leiden, können Träger einer solchen Sequenzvariation des CYP2D6 Gens sein. Diese werden zu den sog. ‚schlechten Metabolisierern‘ (‚poor metabolizer‘) gezählt. Etwa 5 bis 10 % unserer Bevölkerung tragen diese Sequenzvariationen. Menschen mit einer intermediären CYP2D6 Enzymaktivität (etwa 20 % der Bevölkerung) können diese Arzneimittel in der Regel gut vertragen. Wird allerdings gleichzeitig mit Wirkstoffen therapiert, die ebenfalls durch CYP2D6 Enzyme metabolisiert werden, kann ein Wettbewerb zwi-

Carvedilol	Haloperidol	Bufuralol
Fluoxetin	Ondansetron	Metoprolol
Perphenazin	Chlorpheniramin	Fluvoxamin
Oxycodon	Propafenon	Risperidon
Chlorpromazin	Lidocain	Perhexilin
Timolol	Thioridazin	Codein
Metoclopramid	Promethazin	Amitriptylin
Zuclopenthixol	Debrisoquin	Methoxyamphetamin
Propranolol	Clomipramin	Alprenolol
Dexfenfluramin	Mexilletin	Tamoxifen
Desipramin	Amphetamin	Duloxetin
Minaprin	Tramadol	Imipramin
Aripiprazol	Encainid	Nebivolol
Venlafaxin	Paroxetin	Atomoxetin
Flecainid	Nortriptylin	

Tab.1 Arzneimittel, die durch das P450 Cytochrom 2D6 (CYP2D6) metabolisiert werden (Quelle: <http://medicine.iupui.edu/flockhart/table.htm>)

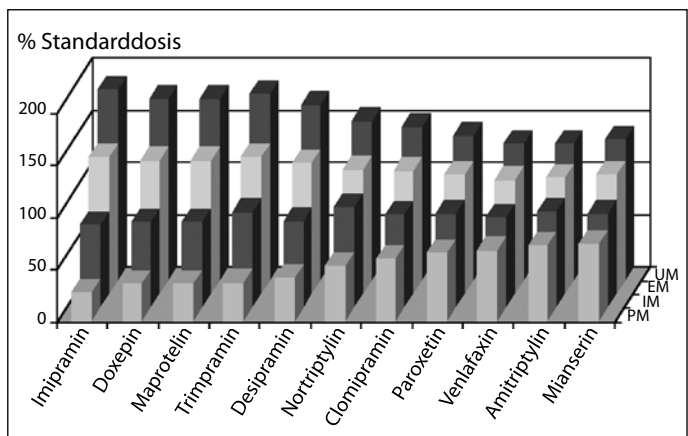


Abb. 2: Dosisanpassung in Abhängigkeit vom CYP2D6 Genotyp (Quelle: KIRCHHEINER et al. 2004).

schen diesen Wirkstoffen entstehen. Insbesondere, wenn gleichzeitig mit Arzneimitteln therapiert wird, die das Enzym CYP2D6 hemmen, führt die dadurch ausgelöste CYP2D6 Inaktivierung zu einer Störung des Arzneimittelstoffwechsels. Da das CYP2D6 Enzym gehemmt wird treten Betroffene plötzlich als ‚schlechte Metabolisierer‘ (PM) phänotypisch in Erscheinung. Hingegen werden bei Menschen mit hoher CYP2D6 Enzymaktivität (‚ultrapid metabolizer‘, ca. 3 % unserer Bevölkerung) die Wirkstoffe viel zu schnell metabolisiert und die therapeutische Wirkung bleibt aus. Es werden in der Literatur beispielsweise Vorschläge zur Dosisanpassung verschiedener Psychopharmaka gemacht, um eine Therapieoptimierung zu erzielen und dem Auftreten genetisch bedingter Arzneimittelunverträglichkeiten vorzubeugen (KIRCHHEINER et al. 2004; Abb. 2). Eine therapeutische Maßnahme mit Psychopharmaka kann insbesondere bei Patienten mit einer umweltmedizinischen Problematik und gleichzeitigem Vorliegen von CYP2D6 Sequenzvariationen zu erheblichen Problemen führen, wenn eine Psychiatrisierung des Krankheitsbildes im

Vordergrund steht. Die Bestimmung der Sequenzvariationen des CYP2D6 Gens hat den Vorteil, dass bereits vor Beginn einer Arzneimitteltherapie abgeschätzt werden kann, ob eine genetische Ursache zu einer unerwünschten Arzneimittelreaktion führt. Auch wenn nicht in jedem Fall eine unerwünschte Arzneimittelreaktion auf das Vorliegen eines genetischen Polymorphismus zurückgeführt werden kann, so bietet das Verfahren einer Genotypisierung überhaupt erst die Möglichkeit, dem Grund einer genetisch bedingten unerwünschten Arzneimittelreaktion auf die Spur zu kommen (GARDINER & BEGG 2006).

Laktoseintoleranz

Eine Milchzuckerunverträglichkeit (Laktoseintoleranz) kann als Sekundärerkrankung infolge von Darmerkrankungen auftreten. Sie kann aber auch genetische Gründe haben. Hierbei kann der molekulargenetische Nachweis einer Sequenzvariation differentialdiagnostisch sehr hilfreich sein. Ursache der genetisch bedingten Laktoseintoleranz ist eine genetische Variante im Bereich des LCT-Gens, die mit der Laktoseintoleranz assoziiert ist (ENATTAH et al. 2002). Dies konnte mittels Familienanalysen und weiteren Studien bestätigt werden. In diesen Fällen kommt es zu einem Mangel bzw. Fehlen des milchzuckerspaltenden Enzyms Laktase (bzw. Laktasephlorizin Hydrolase). Der Milchzucker wird aufgrund des Enzymmangels gar nicht oder nur unvollständig (zu Glukose und Galaktose) gespalten und es können Darmprobleme (Bauchschmerzen, Blähungen, Durchfälle) auftreten.

Laktasemangel ist der weltweit häufigste Enzymdefekt und tritt u.a. bei Verzehr von Milch in Erscheinung. In nordischen Ländern wie Skandinavien sind 3-8 % der Bevölkerung, in Deutschland etwa 15% und im Mittelmeerraum etwa 70 % der Menschen laktoseintolerant. Der entwicklungsbedingte Laktasemangel ist eine seltenere Form der Milchzuckerintoleranz, da Laktase erst in den letzten Wochen der Schwangerschaft gebildet wird. Diese Art des Laktasemangels kann bei Frühgeburten auftreten und sagt nichts über die Verträglichkeit von Laktose im Erwachsenenalter aus. Sekundäre Formen der Laktoseintoleranz treten dann auf, wenn das Dünndarmepithel durch Krankheiten, z.B. Infektionserkrankungen, bakterielle Fehlbesiedelung des Dünndarms oder Zöliakie, geschädigt wird. Zur primären Form der Laktoseintoleranz zählt die genetisch bedingte Milchzuckerunverträglichkeit. Die Ursache dieser Erkrankung ist eine Sequenzvariation (Nukleotid -13910) vor dem Laktase-Gen, das die Menge der zu bildenden Laktase festlegt. Diese Form der Laktoseintoleranz geht langsam etwa ab dem 5. Lebensjahr verloren. Nicht jeder Patient mit einem genetisch bedingten Laktasemangel hat auch klinische Beschwerden. Häufig liegt gleichzeitig eine bakterielle Fehlbesiedelung oder andere Kohlenhydratresorptionsstörungen vor. Ein Großteil der laktoseintoleranten Menschen zeigt eine Fruktosemalabsorption, welches ebenfalls Einfluss auf die Darmflora hat und das klinische Beschwerdebild mitbestimmt. Es sollte bedacht werden, dass die Fruktoseintoleranz auch eine genetische Ursache haben kann. Bei der hereditären Form der Fruktoseintoleranz liegen Sequenzvariationen im Gen der Aldolase B vor, die jedoch mit einer Häufigkeit von 1:20.000 in der westeuropäischen Bevölkerung extrem selten und daher sehr wahrscheinlich nicht Ursache der häufig auftretenden Fruktoseintoleranz ist. Es wird vermutet,

dass genetische Variationen in einem Gen für den Zuckertransport (SLC5A1 bzw. GLUT-5) zur Fruktosemalabsorption führen. Ähnlich wie bei der Laktoseintoleranz wird dabei die Fruktose nicht im Dünndarm resorbiert sondern weiter bis in den Dickdarm geführt, wodurch dort mit der Laktoseintoleranz vergleichbare Symptome auftreten.

Die Laktoseintoleranz kann differentialdiagnostisch mittels eines Laktosebelastungstests untersucht werden. Dazu wird eine definierte Menge Laktose verabreicht und nach einer Blutentnahme der Anstieg des Blutzuckers gemessen oder durch einen H₂-Atemtest die Wasserstoffkonzentration bestimmt. Alternativ kann ohne Provokation mit den damit verbundenen Unannehmlichkeiten die oben beschriebene Sequenzvariation molekulargenetisch untersucht werden (RASINPERA et al. 2004).

Neben einer gleichzeitig vorliegenden Fruktoseintoleranz, die auch frühe Zeichen einer depressiven Symptomatik zeigen kann, liegen Untersuchungen vor, denen zufolge Patienten mit einer Laktoseintoleranz eine höhere Wahrscheinlichkeit haben, an Osteoporose zu erkranken und ein signifikant höheres Frakturrisiko tragen (OBERMAYER-PIETSCH et al. 2004). Man nimmt an, dass laktoseintolerante Menschen die Aufnahme von Milch und Milchprodukten meiden und somit auch weniger Kalzium zu sich nehmen.

Die Therapie der Laktoseintoleranz besteht in erster Linie in der Reduktion der Aufnahme laktosehaltiger Nahrung. Durch das Stehen lassen von Joghurt und Kefir kann der Laktosegehalt oft reduziert werden, ist aber mit dem Risiko verbunden, dass es zum Verderben des Nahrungsmittels kommt. Man kann durch Zugabe eines flüssigen Laktasepräparats zum laktosehaltigen Produkt den Laktoseanteil nach etwa 12 Stunden reduzieren. Insbesondere bei Verdacht auf eine (familiär bedingte) Osteoporose sollte durch Substitution mit Kalzium und Vitamin D und ggf. Knochendichtemessung dem Risiko einer reduzierten Knochendichte rechtzeitig begegnet werden.

Schimmelpilze

Mykotoxine sind Stoffwechselprodukte aus Schimmelpilzen mit hoher Toxizität bereits in niedrigen Dosen und stellen in vielen Ländern ein erhebliches Problem dar (WILLIAMS et al. 2004). Neben einer karzinogenen, teratogenen und mutagenen Wirkung können sie neurotoxisch und immunsuppressiv wirken. Es werden etwa 200 verschiedene Toxine beschrieben: die wichtigsten Stoffgruppen sind Aflatoxin B₁, Fusarium-Toxine, Mutterkornalkaloide, Ochratoxine und Trichothecene (BENNETT & KLICH 2003). Mykotoxine entstehen, wenn Schimmelpilze bestimmte Nutzpflanzen befallen, die zu unseren Grundnahrungsmitteln zählen, wie Reis, Mais, Hirse und Erdnüsse. Pilzgifte, wie Aflatoxin B₁, sind farb-, geruch- und geschmacklos, weshalb sich eine Verunreinigung mit Mykotoxinen nicht durch simples Betrachten oder Probieren nachweisen lässt. Zudem kann einerseits die Konzentration an Mykotoxinen bei einem offensichtlichen Befall mit Schimmelpilzen (noch) relativ gering sein. Andererseits schließt die makroskopische Abwesenheit von Pilzen auf Maiskörnern oder Reis die Anwesenheit von Aflatoxin B₁ nicht aus.

Aflatoxin B1 ist chemisch sehr stabil und kann über importiertes Tierfutter auch in unseren Breiten in die Nahrungskette gelangen. Weshalb es so wichtig ist, Nahrungsmittel aflatoxinfrei zu halten, ergibt sich aus der Tatsache, dass dieses Gift ein hochpotenter Verursacher von Leberkrebs ist (TANG 2001). Neuere Forschungsergebnisse haben gezeigt, dass Aflatoxin gleich an drei wichtigen Stellen in den Zellstoffwechsel eingreift und so die Entartung einer Zelle fördert. Durch Umbau des Aflatoxin B1 in der Leber des Menschen entsteht eine sogenannte Epoxid-Form. Solche Epoxide haben die Eigenschaft an bestimmten Stellen der DNA zu binden (sog. N7-Guanin Addukte). Diese DNA-Addukte genannten Komplexe führen nahezu zwangsläufig zu Kopierfehlern der Erbsubstanz, wenn diese Bereiche des Erbmaterials abgeschrieben werden. Auch wenn menschliche Zellen grundsätzlich über enzymatische Reparaturmechanismen verfügen, sind diese jedoch keine Garantie für fehlerfreie Kopien des Erbmaterials. Werden die Epoxide schließlich abgebaut, entstehen Dihydro-diol-Verbindungen, aggressive Moleküle, die an zahlreiche Eiweiße binden und deren Funktionen unterbinden. Schließlich inaktiviert das Aflatoxin-Epoxid Schlüsselenzyme des Zellstoffwechsels, die Glutathion-S-Transferasen (GST), insbesondere GSTM1 (GUENGERICH et al. 1998). Dieses Enzym wiederum ist für den kompletten Abbau des Aflatoxin B1 zu ungiftigen Substanzen unerlässlich. Seine Blockade bzw. das Fehlen des GSTM1 Gens, wie es hereditär bei 50 % der Menschen unserer Bevölkerung auftritt, erhöht also die Präsenz des Giftes auf Dauer.

Die häufigsten Pilze in Innenräumen sind *Aspergillus*, *Penicillium* und *Cladosporium*. Oft erkennt man sie sofort als hässliche blaue, grüne, schwarze oder gelbe Flecken oder an ihrem typisch moderigen Geruch. Bewohner pilzbelasteter Räume klagen häufig über Husten, Schnupfen, Bindehautentzündung, Kopfschmerzen und Müdigkeit. Für einen Teil dieser Beschwerden sind allergische Reaktionen gegen die Sporen der Pilze verantwortlich. Zusätzlich können verschiedene von den Pilzen freigesetzte Giftstoffe Haut und Schleimhäute reizen, auch ohne dass eine Allergie vorliegt. Hauptursache für Schimmelbildung in Gebäuden ist Feuchtigkeit.

Wie alle Mykotoxine wird auch Aflatoxin B1 hauptsächlich in der Leber zu Aflatoxin-Epoxiden (AFB1-exo-8,9-epoxide) metabolisiert und nachfolgend über Glutathion S-Transferasen in eine wasserlösliche, und somit ausscheidbare Form, überführt (Abb. 3). Ergebnisse aus in-vitro Studien zeigen, dass das Cytochrom P450 1A2 Enzym (CYP1A2) zu etwa 95 % an der Epoxidbildung beteiligt ist (GALLAGHER et al. 1996). Das CYP1A2 Enzym ist dafür bekannt, dass es individuell eine sehr unterschiedliche Enzymaktivität hat. Sequenzvariationen des CYP1A2 Gens können zu einer deutlich erhöhten CYP1A2 Aktivität führen, aber auch exogene Noxen wie das Rauchen können die CYP1A2 Enzymaktivität zum Teil stark erhöhen. Insbesondere ungünstig ist das Vorliegen beider Faktoren, was sogar dazu führen kann, dass Psychopharmaka, die via CYP1A2 Enzym metabolisiert werden, bei Änderung des Rauchverhaltens in der Dosierung angepasst werden sollten. Mit Hilfe molekulargenetischer Verfahren ist es möglich, das am Aflatoxin B1 Metabolismus beteiligte CYP1A2 Gen zu untersuchen, mit dem Ziel, Träger einer genetischen Variante, die mit einer hohen CYP1A2 Enzymaktivität assoziiert ist, zu identifizieren.

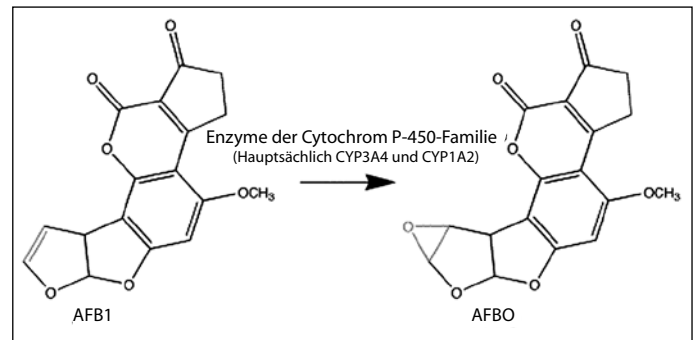


Abb. 3: Bildung des stark hepatotoxischen Aflatoxin-Exopoxid durch Enzyme des Cytochrom P450.

Es liegen erste klinische Studien vor, die darauf hinweisen, dass der Wirkstoff Oltipraz zur Therapie bei einer Mykotoxin Intoxikation geeignet ist (SUDAKIN 2003). Der Wirkstoff Oltipraz, der eigentlich gegen die Wurmerkrankung Schistosomiasis entwickelt wurde, hat einen protektiven Einfluss auf die Bildung der hepatotoxischen Substanz Aflatoxin B1-Epoxid, da er einerseits die Aktivität der P450 Cytochrom Enzyme hemmt und andererseits die Bildung der detoxifizierenden Glutathion S-Transferasen induziert. In einer asiatischen Studie konnte in einer Untersuchung an Menschen gezeigt werden, dass sich die Bildung des Aflatoxin B1-Epoxids nach Gabe von Oltipraz um mehr als 50 % reduzieren ließ und gleichzeitig konnte durch Stimulation der Glutathion S-Transferasen der Anteil der Glutathion-konjugierten Metabolite erhöht werden (WANG et al. 1999). Dies erleichtert die Ausscheidbarkeit aus dem menschlichen Organismus.

Ähnlich wie für Aflatoxin B1 wird auch für andere Mykotoxine wie beispielweise Ochratoxin A ein genetisch bedingt unterschiedlicher Ochratoxin A Metabolismus beschrieben. Aus verschiedenen Untersuchungen geht hervor, dass das 4-Hydroxyochratoxin A und 10-Hydroxyochratoxin A durch P450 Cytochrom Enzyme gebildet wird und aus tierexperimentellen Untersuchungen ist eine Beteiligung des P450 Cytochrom 2D6 (CYP2D6) bekannt (CASTEGNARO et al. 1989). Wie bereits im Abschnitt ‚Genetisch bedingte Arzneimittelunverträglichkeit‘ beschrieben, wird für dieses Enzym beim Menschen zwischen sog. ‚poor, intermediate, extensive‘ und ‚ultrapid metabolizer‘ unterschieden. In der größten dazu vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass bei Patienten mit einer im Balkan endemischen Nephropathie signifikant häufiger extensive Metabolisierer zu beobachten waren (NIKOLOV et al. 1991). Dies wird darauf zurückgeführt, dass ‚poor‘ Metabolisierer in geringerem Maße das nierentoxische 4- bzw. 10-Hydroxyochratoxin A bilden, was auch nach lang zurückliegender Exposition noch ein hohes toxisches Potenzial haben soll. Im weiteren Verlauf des Stoffwechsels von Mykotoxinen wird eine Beteiligung der Glutathion S-Transferasen beschrieben (GSTM1, GSTP1 und GSTT1), wobei das Fehlen der Gene GSTM1 und GSTT1 bzw. eine reduzierte GSTP1 Enzymaktivität mit einer erhöhten Toxizität assoziiert werden ebenso wie eine genetische Variante im Gen der mikrosomalen Epoxidhydrolase (EPHX1). Studien aus verschiedenen Regionen mit einer hohen Aflatoxin B1 Belastung zeigen ein signifikant erhöhtes Risiko für das Auftreten eines hepatozellulären Karzinoms (CHEN et al. 2000).

Organophosphate

Organophosphate sind Ester der Phosphorsäure und ubiquitär vorhanden (Abb. 4). Zahlreiche Insektizide, Herbizide und Nervengase werden auf Basis von Organophosphaten hergestellt. Außerdem haben Organophosphate aufgrund ihrer chemischen Eigenschaften einen hohen Stellenwert bei der Produktion von Kunststoffen, Weichmachern und in lösemittelhaltigen Produkten. Expositionen treten hauptsächlich bei Anwendern von Pestiziden in der Landwirtschaft, Forstwirtschaft, Schädlingsbekämpfung sowie im Gartenbau und bei Pestizidherstellern auf. Organophosphate können inhalativ, über die Haut oder oral aufgenommen und resorbiert werden. Beim beruflichen Umgang mit Organophosphat-Pestiziden im Freiland dominiert der dermale Aufnahmemodus vor dem inhalativen. Die Verteilung der resorbierten Organophosphate erfolgt im gesamten Organismus, wobei eine kumulative Anreicherung im Fettgewebe festgestellt wurde. Nach Aufnahme der Organophosphate werden diese durch oxidative und hydrolytische Prozesse verstoffwechselt. Die oxidativen Prozesse werden durch P450 Cytochrom Enzyme katalysiert, und die hydrolytische Spaltung der Esterbindung erfolgt durch Esterasen. Durch Transferasen werden die Phosphorsäureester demethyliert. Im menschlichen Körper können aus Organophosphaten die folgenden sechs Metabolite entstehen: Dimethylphosphat (DMP), Diethylphosphat (DEP), Dimethylthiophosphat (DMTP), Diethylthiophosphat (DETP), Dimethyldithiophosphat (DMDTP) und Diethyldithiophosphat (DEDTP) (HEUDORF et al. 2006, WHYATT & BARR 2001).

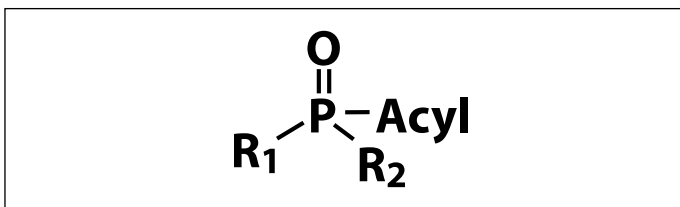


Abb. 4: Grundstruktur eines Organophosphates

Die toxische Wirkung von Organophosphaten zeigt sich in zentralnervösen Störungen, die sich in Erregung, Benommenheit, Koma, Krampfanfällen und Veränderungen im EEG äußern. Schädigungen der parenchymatösen Organe bei alleiniger Exposition gegenüber Organophosphaten (z.B. bei der Herstellung) wurden nicht beschrieben. Dagegen sind bei Anwendern durch die kombinierte Einwirkung verschiedener Wirkstoffe (z.B. mit Pyrethroiden) und durch die in den Präparaten gleichzeitig enthaltenen Lösungsmittel Leberschäden beobachtet worden. Bei Expositionen gegenüber Organophosphaten unterhalb der MAK-Werte-Bereiche sind nach Angaben der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin (DGAUM) keine Leberschäden bekannt (www.dgaum.de). Hierbei muss jedoch wiederum bedacht werden, dass die Ermittlung der MAK-Werte nicht einer Stratifikation nach genetischen Kriterien unterliegt. Da das Vorliegen genetischer Sequenzvariationen, aus denen eine Funktionsänderung der am Stoffwechsel von Organophosphaten beteiligten Enzyme resultiert, die Giftwirkung von Organophosphaten beeinflusst, muss die Sinnhaftigkeit der Anwendung von MAK-Werten bei genetisch bedingt suszeptiblen Menschen angezweifelt werden. Bei chronischer Organo-

phosphatintoxikation sind Degenerationen des Rückenmarks progredient und das Krankheitsbild erinnert in seinem Verlauf an eine multiple Sklerose. Organophosphate wirken in geringen Konzentrationen auf den Hormonhaushalt (HOGDSON & ROSE 2006). Symptome einer akuten Vergiftung sind vermehrte Sekretion der Tränen-, Schweiß- und Speicheldrüsen sowie der Schleimdrüsen im Tracheobronchialtrakt, die Stimulierung der glatten Muskulatur des Bronchialtraktes (Dyspnoe, Bronchospasmus), des Gastrointestinaltraktes (Erbrechen, Diarrhöen, Koliken) und des Urogenitalsystems sowie Vasodilatation, Bradykardie und Herzrhythmusstörungen. Das Krankheitsbild bei chronischer Organophosphat-Intoxikation zeigt die Symptome der akuten Vergiftung in abgeschwächter Form.

Die Exposition mit Pestiziden, die auf Basis von Organophosphaten produziert werden, führt in erster Linie zu einer irreversiblen Hemmung der Acetylcholinesterase. Die Acetylcholinesterase ist ein essentielles Enzym, das den Neurotransmitter Acetylcholin in Essigsäure und Cholin spaltet. Eine Hemmung der Acetylcholinesterase führt zu einer erhöhten Konzentration von Acetylcholin zwischen den Nervenzellen und kann nachfolgend zu o.g. Beschwerden führen.

In den Stoffwechsel von Organophosphaten (z.B. Chlorpyrifos) sind aber auch andere Enzyme involviert. Dazu zählen die Paraoxonase sowie die Cytochrome P450 1A2 (CYP1A2) und CYP2C19. Bei Vorliegen einer Sequenzvariation im Gen der Paraoxonase kann es zu einer reduzierten Hydrolyse von Chlorpyrifos kommen und somit die toxische Wirkung dieses Organophosphates verstärkt werden (LEE et al. 2003). Des Weiteren führt eine genetische Variante im Cytochrom P450 1A2 Gen zu einer erhöhten Aktivität des CYP1A2 Enzyms. Etwa 30% unserer Bevölkerung sind Träger dieser genetischen Variante. Die Aktivitätserhöhung führt bei Exposition mit einem Organophosphat wie Parathion oder Chlorpyrifos zu einer erhöhten Desulfurierung derselben Substanzen und somit zu einer erhöhten Toxizität des Organophosphats (MUTCH & WILLIAMS 2006). Es wird in der internationalen Literatur die Beteiligung weiterer P450 Cytochrom Enzyme im Metabolismus von Organophosphaten beschrieben. Einen wichtigen Beitrag zur Detoxifikation von Parathion und Chlorpyrifos leistet dabei das Enzym P450 Cytochrom 2C19 (CYP2C19), das durch seine Aktivität den Abbau der genannten Organophosphate mitbestimmt (FOXENBERG et al. 2007). Durch Dearylierung trägt es zum Abbau von Organophosphaten bei, vorausgesetzt es ist in seiner Funktion nicht eingeschränkt. Mit einer Prävalenz von 3-5 % in der hiesigen kaukasischen Bevölkerung und 15-20 % in der asiatischen Bevölkerung zeigt dieses Enzym keine Aktivität und kann somit nicht zum Abbau der Organophosphate beitragen. Ein wesentlicher Teil unserer Bevölkerung (etwa 10-15 %) zeigt zumindest eine reduzierte (intermediäre) Aktivität, welches dementsprechend auch zu einem reduzierten Abbau von Organophosphaten führt. Mit Hilfe der (aufwendigen) Bestimmung von Alkylphosphaten ist es möglich, die individuelle Belastung im Urin und Blut zu messen.

Man erklärt sich u. a. auch die hohe Zahl der Verletzten (n = 5500) beim Anschlag am 20. März 1995 auf die Tokioter U-Bahn mit der hohen Zahl von Menschen, die in dieser Bevölkerung keine oder eine reduzierte CYP2C19 Enzymaktivität aufweisen und dadurch

mit dem auf Organophosphatbasis hergestellten Nervengas Sarin eine genetisch bedingt erhöhte Giftungswirkung hatten. Am Beispiel des Stoffwechsels von Organophosphaten wird die Komplexität der individuellen genetischen Disposition deutlich. Zum einen nehmen am Metabolismus von Organophosphaten verschiedene Enzyme teil und zum anderen können diese Enzyme durch Vorliegen individueller Sequenzvariationen oder durch Einnahme anderer modifizierender Substanzen in ihrer Funktion verändert sein. Insbesondere die chronische Exposition in niedriger Dosierung ist vor dem Hintergrund der Möglichkeit genetisch bedingt veränderter Enzymfunktionen und insbesondere für Träger einer homozygoten CYP1A2 Sequenzvariation (d.h. hohe CYP1A2 Enzymaktivität=Toxikation) als auch für Träger einer homozygoten CYP2C19 Sequenzvariation (d.h. keine CYP2C19 Enzymaktivität=reduzierte Detoxifikation) kritisch zu überdenken. Somit ist die molekulargenetische Bestimmung von Sequenzvariationen ein kleiner, aber wichtiger Teil in der toxikologisch-differentialdiagnostischen Beurteilung.

Hyperbilirubinämie

Glukuronidierung ist ein wichtiger Stoffwechselschritt, der durch Kopplung von aktivierter Glukuronsäure an das jeweilige Substrat zu einer besseren Ausscheidung über die Nieren führt. Glukuroniert werden z.B. Alkohole, Phenole, Amine oder Carbonsäuren, aber auch körpereigene Substanzen wie Steroide und Gallensäure sowie körperfremde Stoffe wie Arzneimittel und Drogen. Zu den Arzneistoffen zählen beispielsweise Paracetamol, Morphin, Codein und Dihydrocodein. Paracetamol wird insbesondere bei hohen Dosen nicht nur glukuroniert sondern via P450 Cytochrom Enzyme auch oxidiert, woraus nachfolgend durch Glutathion-Konjugation und N-Acetylierung Cystein-Konjugate und Mercapturate entstehen, die über den Harn ausgeschieden werden können. Steht nicht genügend Glutathion zur Verfügung bzw. kann es (genetisch bedingt) nicht ausreichend gekoppelt werden, binden diese Metabolite bevorzugt an Leberproteine und führen zu Leberzellschädigungen und -nekrosen. Daher ist Paracetamol in hohen Dosen hepatotoxisch. Wird Paracetamol gleichzeitig mit anderen Substanzen eingenommen, die eine P450 Cytochrom Enzyminduktion bewirken, wie z.B. Carbamazepin, Rifampicin oder Johanniskraut, können auch bei sonst nicht toxischen Dosen Leberschäden auftreten, ebenso wenn auch die Glukuronidierung eingeschränkt ist.

UDP-Glukuronosyltransferasen (UGT) katalysieren die Glukuronidierung von hydrophoben Verbindungen. Dazu zählen metabolische Intermediärprodukte, Medikamente, Umweltsowie Nahrungsbestandteile sowie Karzinogene und Steroide. Im Zusammenspiel mit dem Phase I-Metabolismus führt die Glukuronidierung zur Verminderung reaktiver Sauerstoffmetabolite und verringert neben Entzündungsreaktionen die Zyto- und Genotoxizität sowie Mutagenität von Substanzen und führt zu einer Erhöhung der Medikamentenverträglichkeit.

Bilirubin ist ein wichtiges Abbauprodukt des roten Blutfarbstoffes Hämoglobin und wird durch UGTs in einen wasserlöslichen, nierengängigen Zustand versetzt. Ist der Stoffwechselweg blockiert, kommt es durch Anreicherung des Bilirubins zur Hyper-

bilirubinämie. Dies führt zu einer Ablagerung des Bilirubins in der Haut, weswegen Betroffene manchmal eine Gelbsucht zeigen. Auch Veränderungen der Leberwerte können einen eingeschränkten Bilirubinabbau belegen. Insbesondere das Enzym UGT1A1 ist für diesen Metabolismus verantwortlich. Dabei führt eine Sequenzvariation im UGT1A1-Gen zu einer kongenital verminderten Bilirubinkonjugation und zu vermehrt vorkommendem indirekten Bilirubin, welches sich in einer nichthämolytischen Hyperbilirubinämie, z. B. Crigler-Najjar, M. Meulengracht, äußert. Allerdings neigen auch klinisch nicht betroffene Menschen zu einer gestörten Glukuronidierung, wenn sie gleichzeitig weitere Substanzen, die glukuroniert werden, aufnehmen. Die Bestimmung dieses Polymorphismus empfiehlt sich insbesondere zur Differentialdiagnose einer unklaren oder transienten Hyperbilirubinämie.

Fazit

Die Bestimmung genetischer Polymorphismen bzw. Sequenzvariationen stellt eine diagnostische Option insbesondere bei Unverträglichkeiten von Arzneimitteln, Nahrung bzw. Nahrungsbestandteilen aber auch bei der toxikologischen Beurteilung einer akuten oder chronischen Schadstoffbelastung dar. Die Datenlage zur Anwendung der molekulargenetischen Diagnostik bei Verdacht auf eine Arzneimittelunverträglichkeit (Pharmakogenetik) ist mittlerweile für einige Gene umfassend dokumentiert und gilt als gesichert. Ebenso liegen bei einigen Stoffwechselerkrankungen (z.B. Apolipoprotein E, Hyperbilirubinämie, Hyperhomocysteinämie, Serotonin- und Katecholaminstoffwechsel) hinreichend Daten über den differenzialdiagnostischen Nutzen einzelner genetischer Polymorphismen vor. Darüber hinaus gewinnt die molekulargenetische Diagnostik einzelner Sequenzvariationen bei genetisch bedingten Nahrungsmittelunverträglichkeiten (Nutrigenetik), bislang nur in einigen wenigen Einzelfällen gut dokumentiert, zunehmend an Bedeutung. Der Einsatz der molekulargenetischen Diagnostik bei Mischexpositionen im Niedrigdosisbereich geschieht vor dem Hintergrund einer ständig wachsenden Datenbasis. Dabei muss berücksichtigt werden, dass die Analytik aus verschiedenen Arbeitsbereichen der Labormedizin, Umweltanalytik sowie die Einbeziehung toxikologischen und baubiologischen Sachverständes in vielen Fällen erst zielführend ist. Die Schwierigkeit liegt insbesondere darin, dass experimentelle in-vivo Untersuchungen verständlicherweise nur sehr begrenzt möglich sind.

Dennoch werden auf Datenbasis von in-vitro Studien, tierexperimentellen Untersuchungen sowie Erfahrungswerten an (genetisch heterogenen) Studienkollektiven Richtwerte zur Expositionsbelastung, z.B. biologische Arbeitstoleranzwerte, festgelegt. Wie an ausgewählten Beispielen der Organophosphat- und Schimmelpilzexposition beschrieben, muss jedoch angenommen werden, dass bei entsprechend genetisch bedingter Suszeptibilität sowohl bei Akutbelastungen als auch bei chronischer Exposition im Niedrigdosisbereich mit toxischen Effekten zu rechnen ist. Da eine Vielzahl von Daten vorliegt, die eine genetische Beteiligung von Toxinen belegen, ist es mittelfristig nötig, eine bessere Stratifikation von Studien nach genetischen


Kriterien einzufordern und die bislang existierenden Daten und Richtwerte kritisch zu überdenken.

Nachweise

BENNETT JW, KLICH M. (2003): Mycotoxins. Clin Microbiol Rev. 16: 497-516.
 CASTEGNARO M, BARTSCH H, BEREZIAT JC, ARVELA P, MICHELON J, BROUSSOLLE L. (1989): Polymorphic ochratoxin A hydroxylation in rat strains phenotyped as poor and extensive metabolizers of debrisoquine. Xenobiotica. 19: 225-230.
 CHEN SY, CHEN CJ, TSAI WY, AHSAN H, LIU TY, LIN JT, SANTELLA RM. (2000): Associations of plasma aflatoxin B1-albumin adduct level with plasma selenium level and genetic polymorphisms of glutathione S-transferase M1 and T1. Nutr Cancer. 38: 179-185.
 ENATTAH NS, SAHI T, SAVILATHI E, TERWILLIGER JD, PELTONEN L, JARVELA I.. (2002): Identification of a variant associated with adult-type hypolactasia. Nat Genet. 30: 233-237.
 FOXENBERG RJ, MCGARRIGLE BP, KNAAK JB, KOSTYNIK PJ, OLSON JR. (2007): Human hepatic cytochrome p450-specific metabolism of parathion and chlorpyrifos. Drug Metab Dispos. 35: 189-193.
 GALLAGHER EP, KUNZE KL, STAPLETON PL, EATON DL. (1996): The kinetics of aflatoxin B1 oxidation by human cDNA-expressed and human liver microsomal cytochromes P450 1A2 and 3A4. Toxicol Appl Pharmacol. 141: 595-606.
 GARDINER SJ, BEGG EJ. (2006): Pharmacogenetics, drug-metabolizing enzymes, and clinical practice. Pharmacol Rev. 58: 521-590.
 GUENGERICH FP, JOHNSON WW, SHIMADA T, UENG YF, YAMAZAKI H, LANGOUET S. (1998): Activation and detoxication of aflatoxin B1. Mutat Res. 402: 121-128.
 HEUDORF U, BUTTE W, SCHULZ C, ANGERER J. (2006): Reference values for metabolites of pyrethroid and organophosphorous insecticides in urine for human biomonitoring in environmental medicine. Int J Hyg Environ Health. 209: 293-299.
 HODGSON E, ROSE RL. (2006): Organophosphorus chemicals: potent inhibitors of the human metabolism of steroid hormones and xenobiotics. Drug Metab Rev. 38: 149-162.
 KIRCHHEINER J, NICKCHEN K, BAUER M, WONG ML, LICINIO J, ROOTS I, BROCKMÖLLER J. (2004): Pharmacogenetics of antidepressants and antipsychotics: the contribution of allelic variations to the phenotype of drug response. Mol Psychiatry. 9: 442-473.

LEE BW, LONDON L, PAULASKIS J, MYERS J, CHRISTIANI DC. (2003): Association between human paraoxonase gene polymorphism and chronic symptoms in pesticide-exposed workers. J Occup Environ Med. 45: 118-122.
 MUTCH E, WILLIAMS FM. (2006): Diazinon, chlorpyrifos and parathion are metabolised by multiple cytochromes P450 in human liver. Toxicology. 224: 22-32.
 NIKOLOV IG, CHERNOZEMSKY IN, IDLE JR. (1991): Genetic predisposition to Balkan endemic nephropathy: ability to hydroxylate debrisoquine as a host risk factor. IARC Sci Publ. 115: 289-296.
 OBERMAYER-PIETSCH BM, BONELLI CM, WALTER DE, KUHN RJ, FAHRLEITNER-PAMMER A, BERGHOLD A, GOESSLER W, STEPAN V, DOBNIG H, LEB G, RENNER W. (2004): Genetic predisposition for adult lactose intolerance and relation to diet, bone density, and bone fractures. J Bone Miner Res. 19: 42-47.
 RASINPERA H, SAVILAHTI E, ENATTAH NS, KUOKKANEN M, TOTTERMAN N, LINDAHL H, JARVELA I, KOLHO KL. (2004): A genetic test which can be used to diagnose adult-type hypolactasia in children. Gut. 53: 1571-1576.
 SUDAKIN DL. (2003): Dietary aflatoxin exposure and chemoprevention of cancer: a clinical review. J Toxicol Clin Toxicol. 41: 195-204.
 TANG ZY. (2001): Hepatocellular carcinoma—cause, treatment and metastasis. World J Gastroenterol. 7: 445-454.
 WANG JS, SHEN X, HE X, ZHU YR, ZHANG BC, WANG JB, QIAN GS, KUANG SY, ZARBA A, EGNER PA, JACOBSEN LP, MUNOZ A, HELZLSOUER KJ, GROOPMAN JD, KENSLER TW. (1999): Protective alterations in phase 1 and 2 metabolism of aflatoxin B1 by oltipraz in residents of Qidong, People's Republic of China. J Natl Cancer Inst. 91: 347-354.
 WILLIAMS JH, PHILLIP TD, JOLLY PE, STILES JK, JOLLY CM, AGGARWAL D. (2004): Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. Am J Clin Nutr. 80: 1106-1122.
 WHYATT RM, BARR DB. (2001): Measurement of organophosphate metabolites in postpartum meconium as a potential biomarker of prenatal exposure: a validation study. Environ Health Perspect. 109: 417-420.

Anzeige



BEDINGUNGSLOS MENSCHLICH.

© Stephan Große-Ruhkamp

Mit ÄRZTE OHNE GRENZEN helfen Sie Menschen in Not.

Bitte schicken Sie mir unverbindlich Informationen

- über ÄRZTE OHNE GRENZEN
- für einen Projekteinsatz
- zur Fördermitgliedschaft
- zu Testamentsspenden
- zu Spendenaktionen


Name

Anschrift

E-Mail

ÄRZTE OHNE GRENZEN e.V. • Am Köllnischen Park 1 • 10179 Berlin
www.aerzte-ohne-grenzen.de

**Spendenkonto 97 0 97
 Bank für Sozialwirtschaft
 BLZ 370 205 00**



1104909